

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
Біологічний факультет
Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

**Дипломна робота
бакалавра**

**на тему: «Вплив складу поживного середовища на продукцію
антимікробних сполук морських актиноміцетів, виділених з
Чорного моря»**

*Influence of nutrient composition on the production of antimicrobial
compounds of marine actinomycetes isolated from the Black Sea.*

Виконала: студентка IV курсу
денної форми навчання
Спеціальність 162 Біотехнології та
біоінженерія
Гуцул Надія Миколаївна

Науковий керівник
кандидат біологічних наук, доцент
Васильєва Наталія Юріївна

Рецензент:
кандидат біологічних наук, доцент
Мірось Світлана Леонідівна

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ _____ від «___» _____ р.

Захищено на засіданні ЕК № _____
Протокол № _____ від «___» _____ р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри

(підпис) Філіпова Т.О.
(прізвище та ініціали)

Голова ЕК

(підпис)

Галкін Б.М.
(прізвище та ініціали)

АНОТАЦІЯ

Роботу було виконано у Біотехнологічному науково-навчальному центрі при ОНУ імені І.І. Мечникова. Об'єктом дослідження були 6 штамів актинобактерій, ізольованих із біологічних обростань бетону, зануреного у воду Чорного моря. Було досліджено залежність антимікробної активності штамів в залежності від обраного середовища для культивування. Максимальну кількість індикаторних штамів пригнічували штами Conc 19, Conc 24 та Conc 32. Прояв антагоністичної активності досліджених актиноміцетів є строго штампспецифічним.

Дипломну роботу “**Вплив складу поживного середовища на продукцію антимікробних сполук морських актиноміцетів, виділених з Чорного моря**” викладено на 63 сторінках, вона містить 15 рисунків та 10 таблиць. Наведено посилання на 56 джерел літератури (3 кирилицею та 53 латиницею).

Ключові слова: актинобактерії, актиноміцети, *Streptomyces* sp., вторинні метаболіти, антибактеріальна активність.

The work was performed at the Biotechnological Research and Training Center at Odesa Mechnikov National University. The study included 6 strains of actinobacteria isolated from biological fouling of concrete immersed in Black Sea water. The dependence of antimicrobial activity of strains depending on the chosen medium for cultivation was studied. The maximum number of indicator strains was suppressed by strains Conc 19, Conc 24 and Conc 32. Manifestation of antagonistic activity of the studied actinomycetes is strictly strain-specific.

Graduate work "**Influence of nutrient composition on the production of antimicrobial compounds of marine actinomycetes isolated from the Black Sea**" is presented on 63 pages, it contains 15 figures and 10 tables. The link to 56 literature sources (3 Cyrillic and 53 Latin).

Key words: actinobacteria, actinomycetes, *Streptomyces* sp., Secondary metabolites, antibacterial activity.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. Сучасне систематичне положення представників класу <i>Actinobacteria</i>	6
1.1.1. Морфологічна класифікація	7
1.1.2. Хемотаксономічна класифікація	10
1.1.3. Молекулярна класифікація	11
1.2. Біологічні ефекти вторинних метаболітів актиноміцетів	12
1.3. Основні хімічні структурні групи з антибактеріальною активністю	17
1.4. Оптимізація умов культивування для виробництва протимікробних засобів	31
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	34
2.1. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів методом дисків	34
2.1.1. Культивування штамів індикаторів та штамів актиноміцетів	34
2.1.2. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів методом дисків	36
2.2. Статистичний аналіз результатів	38
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	39
3.1. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів ізольованих із поверхонь біологічних обростань бетону методом дисків	39
3.2. Статистичний аналіз результатів антагоністичної активності штамів актиноміцетів, ізольованих із поверхонь біологічних обростань бетону	48
3.3. Біотехнологічна схема оцінки біотехнологічного потенціалу	52
УЗАГАЛЬНЕННЯ	53
ВИСНОВКИ	55
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	56

ВСТУП

Значне місце в сучасному світі посідає розробка хімічних та біологічних методів одержання нових антибіотиків. Потенційними джерелами цих біоактивних сполук є прокаріотичні мікроорганізми. Здатність мікроорганізмів продукувати антиінфекційні агенти виникла у ході тривалої еволюції і представляє собою важливий фактор у боротьбі за існування.

Актиноміцети перевершують усі інші мікроорганізми за продукцією антибіотиків, їм властивий потужний ферментативний апарат. Однією з найважливіших особливостей актиноміцетів є їх здатність виробляти біологічно активні речовини з протипухлинною активністю. Особливої актуальності вивчення вторинного метаболізму актиноміцетів набуває сьогодні. Терапевтичні засоби з новими хімічними структурами та/або механізмами дії терміново необхідні для боротьби з інфекціями, спричиненими множинною резистентністю патогенам, включаючи бактерії, гриби та віруси. Найбільш оптимальним рішенням проблеми резистентності є пошук нових біологічно активних речовин серед вторинних метаболітів мікробного походження. Актинобактеріальні штами зазвичай походять із ґрунту, але вони також у великій кількості присутні в морях та океанах. Крім того, екстремальні місця проживання, такі як печери, пустелі або антарктичні екосистеми, визнані цінними джерелами актиноміцетів, які виробляють нові метаболіти, що мають фармакологічне значення.

Крім того на біологічно активні речовини, які виробляють мікроорганізми, впливають умови культивування продуцента: склад живильного середовища, її рН, температура і час інкубації [Ogunbanwo *et al.*, 2003]. Важливість оптимізації середовища культивування з метою виявлення антибактеріальних властивостей показана для процесів синтезу

низина, педіоціна, баваріціна і лактаціна [Elizete et al., 2012; Головач, 2012; Раскошная и др., 2015].

Таким чином, питання оптимізації складу поживного середовища молочнокислих бактерій є актуальним.

Тому метою нашого дослідження було визначити антимікробну активність штамів актиноміцетів, ізольованих з зони обростання бетону, зануреного в морську воду (Чорне море) в залежності від складу живильних середовищ.

Об'єкт дослідження – штами актиноміцетів, ізольовані із зони біологічного обростання бетону.

Предмет дослідження – показники антагоністичної активності.

Згідно до мети були вирішені наступні завдання:

1. Дослідити антимікробну активність штамів актиноміцетів ізольованих з зони обростання бетону, зануреного в морську воду.
2. Дослідити залежність зміни показника антимікробної активності штамів актиноміцетів в залежності від обраного середовища для культивування.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасне систематичне положення представників класу *Actinobacteria*

Актинобактерії є грампозитивними ниткоподібними бактеріями з високим вмістом гуанін-цитозин пар (G + C) в ДНК. Вони ростуть поєднанням розширення кінчиків і розгалуження гіф. Саме це дало їм назву, що походить від грецьких слів промінь (*aktis* або *aktin*) та гриби (*mukēs*). Традиційно актиноміцети вважалися перехідними формами між грибами та бактеріями. Дійсно, багато актинобактерій продукують міцелій та розмножуються спороношенням подібно до ниткоподібних грибів. Основна відмінність актиноміцетів від мікроскопічних грибів - відсутність ядра у клітинах. Мають кислотостійкий тип клітинної стінки, яка забарвлюється за Грамом як грам-позитивна, однак за структурою ближче до грамнегативних. Клітинна стінка має у складі пептидо-глікани, не містить хітину і целюлози. У фізіологічному та екологічному плані більшість актинобактерій є аеробними, але є винятки. Крім того, вони можуть бути гетеротрофами або хемоавтотрофами, але більшість із них є хемогетеротрофами і можуть використовувати широкий спектр харчових джерел, включаючи різні складні полісахариди. Актинобактерії можуть бути мешканцями ґрунтового або водного середовища (наприклад види *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Rhodococcus* та *Salinispora*), симбіонтами рослин (наприклад *Frankia* spp.), Патогенами рослин або тварин (наприклад *Corynebacterium*, *Mycobacterium* або *Nocardia*) або шлунково-кишкові коменсали (наприклад *Bifidobacterium* spp.).

Актинобактерії представляють одну з найбільших таксономічних одиниць серед вісімнадцять основних ліній, визнаних в даний час у домені *Bacteria*, включаючи п'ять підкласів, шість порядків та чотирнадцять підрядів [Ludwig et al., 2012]. Роди цього виду мають надзвичайно різноманітну морфологію, фізіологію та метаболічні можливості.

Таксономія актинобактерій суттєво еволюціонувала з часом завдяки накопиченню знань.

Тип *Actinobacteria* окреслений на основі його розгалуження в генетичних деревах 16S рРНК. Однак послідовності рРНК погано розрізняють близькоспоріднені види або навіть роди, що може створити двозначність. Додаткові генетичні маркери використовувались для розрізнення між близькими родами, включаючи *rpoB* та, нещодавно, *ssgB*, що особливо корисно для розрізнення між близькими родами [Girard et al., 2013]. Масове збільшення доступності інформації про послідовності геномів дало детальне уявлення про еволюцію геному і дозволило ідентифікувати гени, специфічні для організмів на рівні роду та сім'ї. Таким чином, тип поділяється на шість класів: *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, and *Thermoleophilia*.

Клас *Actinobacteria* містить шістнадцять порядків, включаючи *Actinomycetales* та *Bifidobacteriales*. Порядок *Actinomycetales* обмежений представниками сімейства *Actinomycetaceae*. Отже, 43 із 53 сімей, що входять до складу *Actinobacteria*, віднесені до одного класу, *Actinobacteria*, тоді як інші п'ять класів разом містять лише десять сімей.

1.1.1. Морфологічна класифікація

Основними характеристиками, що використовуються для розмежування систематики актинобактерій на рівні роду та виду, є мікроскопічна морфологія та хемотаксономія. Остання з цих характеристик насамперед стосується складу клітинної стінки та розподілу цукру в цілих клітинах, хоча склад фосфоліпідів та тип менахінону також можуть бути розглянуті з метою тонкої настройки.

Фрагментацію міцелію можна розглядати як особливу форму вегетативного розмноження. Однак актинобактерії з переважно

міцеліальним способом життя розмножуються, утворюючи безстатеві спори. Актинобактерії демонструють найрізноманітніші морфології, що відрізняються головним чином наявністю або відсутністю субстратного міцелію або повітряного міцелію, кольором міцелію, утворенням дифузійних меланоїдних пігментів, а також структурою та зовнішнім виглядом спор.

Морфологія міцелію.

За винятком *Sporichthya* sp., яка утворює повітряні гіфи, які ініціюються вертикально на поверхні середовища затримками, актинобактерії утворюють субстратний міцелій як в занурених, так і в твердих культурах. Однак на твердих поверхнях багато хто диференціюється, утворюючи повітряні гіфи, основною метою яких є утворення репродуктивних спор. Субстратний міцелій розвивається із вирощування проростаючої спори. Міцелій розгалуженого субстрату часто моноподіальний, але в деяких рідкісних випадках актинобактерії, такі як *Thermoactinomyces*, виявляють дихотомічне розгалуження. З іншого боку, представники сімейства *Micromonosporaceae* продукують великий субстратний міцелій з відсутнім або зачатковим повітряним міцелієм.

Актинобактерії демонструють широкий спектр морфологій, включаючи кокоїдні (*Micrococcus*) та стрижневі кокоїдні (*Arthrobacter*), а також фрагментовані гіфальні форми (*Nocardia* spp.), а також форми з постійними та високодиференційованими розгалуженими міцеліями (наприклад, *Streptomyces* spp., *Frankia*). Родококи утворюють витягнуті нитки на підкладці і не продукують справжній міцелій, тоді як коринебактерії взагалі не продукують міцелій. Однак, як і у інших актинобактерій, нитки ростуть на верхівці, а не шляхом розширення бічної стінки. Актинобактерії, що належать до роду *Oerskovia*, характеризуються утворенням розгалужених субстратних гіф, які розпадаються на

джгутикові рухливі елементи. Крім того, мікобактерії та родококи зазвичай не утворюють повітряних гіф, хоча існують деякі винятки.

Морфологія спорового ланцюга.

Спори надзвичайно важливі в систематиці актинобактерій. Початкові етапи спороношення у кількох олігоспорових актинобактерій можна розглядати як процеси бутонізації, оскільки вони відповідають основним критеріям, що використовуються для визначення бутонізації у інших бактерій. Спори можуть утворюватися на субстраті та / або повітряному міцелії як одиничні клітини або в ланцюгах різної довжини. В інших випадках спори можуть переховуватися в спеціальних пухирцях (спорангіях) і наділятися джгутиками.

Довжина спорового ланцюга.

Кількість спор на споровий ланцюг широко варіюється від роду до роду. Родів *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* і *Promicromonospora* виробляти ізольовані суперечки, в той час як *Microbispora* виробляє суперечки в поздовжньому парі. Представники родів *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Sporicthyra* та деякі *Nocardia* spp. мають короткі спорові ланцюги, тоді як представники родів *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Kitasatospora*, *Streptoverticillium* та деякі *Nocardia* spp. виробляють дуже довгі ланцюжки до 100 спор. На відміну від них, види франкії виробляють спорангії, які по суті є мішками зі спорами. Спорові ланцюги стрептоміцетів можна класифікувати як прямі до згинаючих (Rectus-Flexibilis), відкритих петель (Relinaculam-Apertum), відкритих або закритих спіралей (spira) або вертикальних.

Меланоїдні пігменти.

Меланіни - це полімери з різноманітною молекулярною структурою, які зазвичай виглядають чорними або коричневими і утворюються в результаті окислювальної полімеризації фенольних та індольних сполук. Вони виробляються широким колом організмів, починаючи від бактерій і

закінчуючи людиною. *Actinobacteria* вже давно відомо, виробляють пігменти, які можуть бути червоний, жовтий, помаранчевий, рожевий, коричневих, відрізняються коричневими, зеленувато - коричневий, синій або чорний, в залежності від штаму, носія, а також від віку культури.

Зазвичай їх називають меланінами, або меланоїдними пігментами, ці коричнево-чорні метаболічні полімери важливі не лише завдяки своїй корисності в систематичних дослідженнях, а й через схожість із гуміновими речовинами в ґрунті [Dastager, 2006]. Меланіни не є важливими для росту та розвитку організмів, але вони відіграють вирішальну роль у покращенні їх виживання та конкурентоспроможності.

1.1.2. Хемотаксономічна класифікація

Хемотаксономія - це використання розподілу хімічних компонентів між групами організмів відповідно до подібності їх клітинної хімії. Найбільш часто використовуваними хімічними компонентами в такій систематиці є амінокислоти клітинної стінки, ліпіди, білки, менахінони, типи мурамової кислоти, цукри та базовий склад ДНК. Хемотаксономічну класифікацію та ідентифікацію також можна проводити на основі інформації, отриманої в результаті хімічних методів дактилоскопії цілого організму. Нижче наведені хемотаксономічні маркери, які, як повідомляється, мають особливе значення для класифікації та ідентифікації актиноміцетів.

Аналіз складу клітинної стінки актинобактерій є таксономічно цінним, оскільки він відрізняється між підрядам, зокрема, інформація про хімічну архітектуру пептидоглікану в клітинній стінці. Наявність або відсутність специфічних оптичних ізомерів хіральної непротеїногенної амінокислоти 2,6-діамінопімелевої кислоти (DAP) є ще однією хемотаксономічно важливою характеристикою клітинних стінок грампозитивних бактерій: пептидоглікан актинобактерій може містити II -

або dl-(мезо)-DAP, залежно від роду. Стільникові структури жирних кислот є корисними хемотаксономічними показниками для ідентифікації конкретних родів *Actinobacteria*. Бактеріальні жирні кислоти мають довжину ланцюга від двох (C₂) до понад дев'яносто (C₉₀) атомів вуглецю, але лише ті, що знаходяться в діапазоні від C₁₀ до C₂₄, мають особливе таксономічне значення. Кілька типів ізопреноїдних хінонів були охарактеризовані в бактеріях [Barka et al., 2016], з яких менахінони найчастіше містяться в оболонках клітин актиноміцетів. Аналіз на менахінон надав цінну інформацію для класифікації штамів *Actinomadura*, *Microtetraspora* та *Streptomyces*. Крім того, циклічні менахінони характерні для представників роду *Nocardia*, тоді як для повністю насичені циклічні менахінони були зареєстровані для *Pyrobaculum organotrophum* [Tindall et al., 2006]. Актинобактерії класифікували на п'ять фосфоліпідних груп на основі напівкількісних аналізів основних фосфоліпідних маркерів, що містяться в екстрактах цілого організму. Нарешті, аналіз складу цукру також важливий для хемотаксономії.

1.1.3. Молекулярна класифікація

Зовсім недавно морфологічна та хімічна класифікація актиноміцетів була оскаржена молекулярними таксономічними даними, більшість з яких були отримані завдяки швидкому прогресуванню послідовності геномів. Деякі організми, які були неналежним чином розміщені в певних таксономічних групах, нещодавно були перекваліфіковані на основі молекулярного аналізу [Zhi et al., 2009].

В даний час на новий вид не можна заявляти без генетичного аналізу, заснованого на секвенуванні гена 16S рРНК та гібридизації ДНК-ДНК, і навіть секвенування геному стає звичним явищем. Молекулярні і хімічні параметри складу були використані для групування порядку *Actinomycetales* в 14 підрядів: *Actinomycineae*, *Actinopolysporineae*,

Catenulisporineae, *Corynebacterineae*, *Frankineae*, *Glycomycineae*, *Jiangellineae*, *Kineosporineae*, *Micrococcineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae*, and *Streptosporangineae*. Більше того, секвенування генів 16S рРНК призвело до визнання 39 сімей та 130 родів. Всі групи, раніше присвоєні таксономічному рангу "порядку", були відновлені як суворо монофілетичні на основі цих молекулярних та хімічних критеріїв, але деякі парафілетичні групи були знайдені в рангу "підряд". Це може бути пов'язано з тим, що класифікація в основному базувалася на генетичних деревах 16S рРНК, які були сформовані без підтримки початкового завантаження, і тому можуть містити оманливі результати.

1.2. Біологічні ефекти вторинних метаболітів актиноміцетів

Вторинні метаболіти, створені *Actinomycetes*, демонструють неймовірну кількість різноманітних біологічних ефектів. Порядок *Actinomycetales* відповідає за виробництво біологічно активних сполук із значним списком понад 10 000 антимікробних засобів у фармацевтиці (табл.1).

Таблиця 1

Види *actinomycetales*, включаючи всі рідкісні актиноміцети, які виробляють біологічно активні метаболіти [Sharma et al., 2014]

<i>Actinomycetales species</i>	Кількість вторинних метаболітів	<i>Actinomycetales species</i>	Кількість вторинних метаболітів
<i>Streptomycetaceae</i>		<i>Thermomonosporaceae</i>	
<i>Streptomyces</i>	8000	<i>Actinomadura</i>	345
<i>Streptoverlicillium</i>	258	<i>Saccharothrix</i>	68

Продовження таблиці 1

<i>Kitasatosporia</i>	37	<i>Microbispora</i>	54
<i>Chainia</i>	30	<i>Actinosynnema</i>	51
<i>Microellobosporia</i>	11	<i>Nocardiopsis</i>	41
<i>Nocardioides</i>	9	<i>Microtetraspora/Nonomuria</i>	26/21
<i>Micromonosporaceae (Actinoplanetes)</i>		<i>Thermomonospora</i>	19
<i>Micromonospora</i>	740	<i>Micropolyspora/Faenia</i>	13/3
<i>Actinoplanes</i>	248	<i>Thermoactinomyces</i>	14
<i>Dactylosporangium</i>	58	<i>Thermopolyspora</i>	1
<i>Ampullariella</i>	9	<i>Thermoactinopolyspora</i>	1
<i>Glycomyces</i>	2	<i>Mycobacteriaceae (Actinobacteria)</i>	
<i>Catenuloplanes</i>	3	<i>Nocardia</i>	357
<i>Catellatospora</i>	1	<i>Mycobacterium</i>	57
<i>Pseudonocardiaceae</i>		<i>Arthrobacter</i>	25
<i>Saccharopolyspora</i>	131	<i>Brevibacterium</i>	17
<i>Amycalotopsis/Nocardia</i>	120/357	<i>Proactinomyces</i>	14
<i>Kibdellosporangium</i>	34	<i>Rhodococcus</i>	13
<i>Pseudonocardia</i>	27	<i>Other (unclassified) species</i>	
<i>Amycolata</i>	12	<i>Actinosporangium</i>	30
<i>Saccharomonospora</i>	2	<i>Microellobosporia</i>	11

Продовження таблиці 1

<i>Actinopolyspora</i>	1	<i>Frankia</i>	7
<i>Streptosporangiaceae (Maduromycetes)</i>		<i>Westerdykella</i>	6
<i>Streptosporangium</i>	79	<i>Kitasatoa</i>	5
<i>Streptoalloteichus</i>	48	<i>Synnenomyces</i>	4
<i>Spirillospora</i>	11	<i>Sebekia</i>	3
<i>Planobispora</i>	10	<i>Elaktomyces</i>	3
<i>Kutzneria</i>	4	<i>Excelsospora</i>	3
<i>Planomonospora</i>	2	<i>Waksmania</i>	3
		<i>Alkalomyces 1</i>	1
		<i>Catellatospora 1</i>	1
		<i>Erythrosporangium</i>	1
		<i>Streptoplanospora</i>	1
		<i>Microechinospora</i>	1
		<i>Salinospora</i>	1

Антибіотики є винятковим видом хіміотерапевтичних засобів, що виробляються живими організмами (бактерії, гриби та актиноміцети), які в невеликих кількостях можуть перешкоджати росту мікроорганізмів або навіть вбивати їх. Антибіотики визначають як низькомолекулярні органічні сполуки, що виробляються мікроорганізмами [Adegboye et al., 2013]. Близько 75% антибіотиків, переважно антибактеріальних, виробляються актиноміцетами. Величезна кількість антибактеріальних

засобів демонструє широкий спектр дії та різноманітні системи активності. Вони продемонстрували високу інтенсивність проти величезної кількості грампозитивних та грамнегативних бактерій. Історично найбільшу кількість нових антибіотичних препаратів походили від стрептоміцетів у порівнянні з бактеріями та грибами (рис.1) [Hong et al., 2017]. Тільки цей порядок створив близько 45% відомих біоактивних метаболітів; більше десяти тисяч сполук було виділено з різних видів *actinomycetales*, близько 34% від *Streptomyces* і 11% від інших *actinomycetes* [Baltz, 2009].

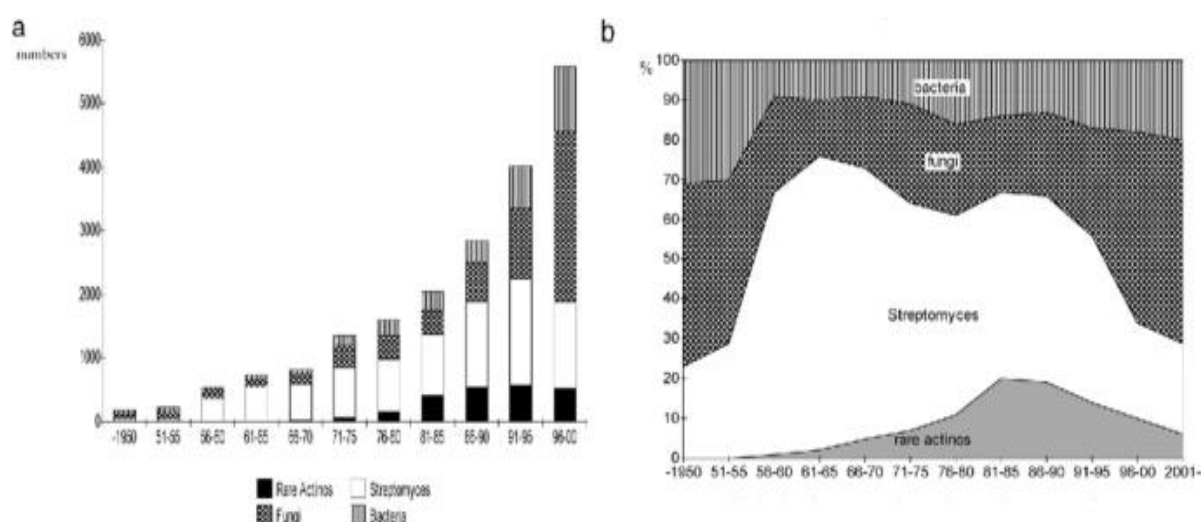


Рис. 1. Розподіл виявлених антибіотиків за походженням а (кількість) і b (відсоток) [Hong et al., 2017].

Полікетиди є дуже важливими природними продуктами через їх фармацевтичне застосування. Прикладами таких полікетидів є еритроміцин (антибактеріальний), ністатин (протигрибковий), а також авермектин (протипаразитарний). Усі попередні антибіотики були вироблені *Streptomyces* sp. які розглядаються як основні виробники антибіотиків (табл. 2).

Таблиця 2

Список деяких антибіотиків, що виробляються *Streptomyces* sp.

[Hasani et al., 2014]

<i>Streptomyces</i> sp.	Антибіотики	<i>Streptomyces</i> sp.	Антибіотики
<i>S. orchidaccus</i>	Cycloserin n	<i>S. erythraeus</i>	Erythromycin
<i>S. orientalis</i>	Vancomycin	<i>S. vensuella</i>	Chloramphenicol
<i>S. fradiae</i>	Neomycin, actinomycin, fosfomycin, dekamycin	<i>S. aureofaciens</i>	Chlortetracycline, dimethylchlor
<i>S. nodosus</i>	Amphotricin B	<i>S. ambofaciens</i>	Spiramycin
<i>S. noursei</i>	Nistatin	<i>S. avermitilis</i>	Avermicin
<i>S. mediterranei</i>	Rifampin	<i>S. alboniger</i>	Puromycin
<i>S. griseus</i>	Streptomycin	<i>S. niveus</i>	Novobicin
<i>S. knanamyceticus</i>	Kanamycin	<i>S. platensis</i>	Platenmycin
<i>S. tenebrarius</i>	Tobramycin	<i>S. roseosporus</i>	Daptomycin
<i>S. spectabilis</i>	Spectinomycin	<i>S. ribosidificus</i>	Ribostamycin
<i>S. viridifaciens</i>	Tetracycline	<i>S. garyphalus</i>	Cycloserine
<i>S. lincolensis</i>	Lincomycin, clindamycin	<i>S. vinaceus</i>	Viomycin
<i>S. rimosus</i>	Oxytetracyclin	<i>S. clavuligerus</i>	Cephalosporin

1.3. Основні хімічні структурні групи з антибактеріальною активністю

Сполуки спіротетронату. Серед молекул, про які повідомлялося з 2011 року, є макламіцин (рис. 2), новий полікетид класу спіротетронату. Це поліциклічна сполука з екстракту культури ендоефітної *Micromonospora* sp. GMKU326 ізольованої в Таїланді. Макламіцин виявив потужну протимікробну дію щодо грампозитивних бактерій, включаючи *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* та *Enterococcus faecalis* із значеннями МІК 0,2, 1,7, 6,5, 13 та 13 мкг, відповідно. Значно нижчою є активність проти *Candida albicans* (МІК = 50 мкг/мл). Сполука також виявила помірну цитотоксичність ракових клітин [Igarashi et al., 2011]

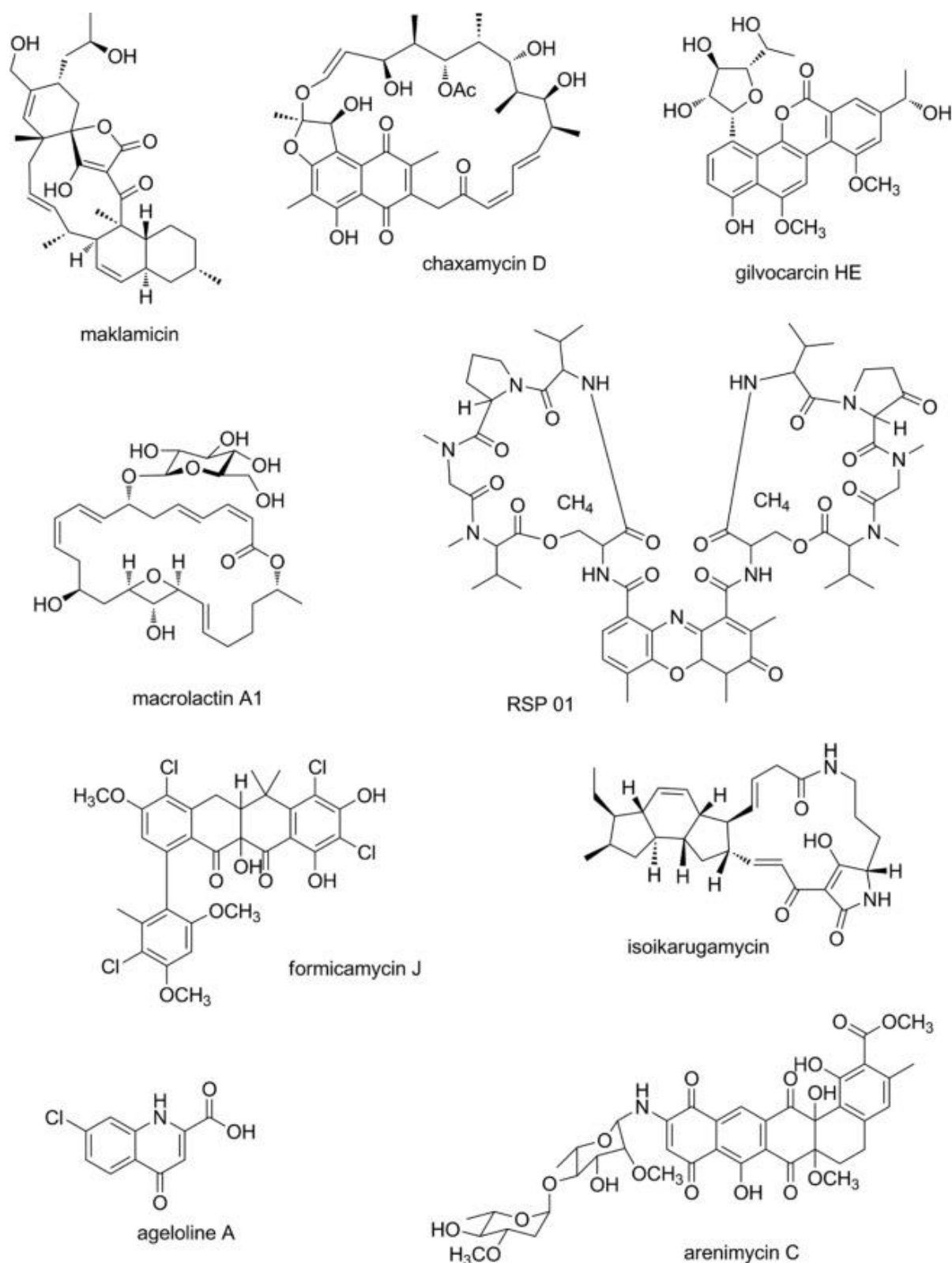


Рис. 2. Хімічні структури сполук з антибактеріальною активністю.

Іншим спіротетратним антибіотиком полікетидного походження є номіміцин, виділений з культурального екстракту *Actinomadura* sp. TP-A0878. Молекула виявила антимікробну активність щодо *M. luteus*, *S.*

albicans та *Kluyveromyces fragilis* із значеннями МІК 6,3, 12,5 та 12,5 мкг/мл відповідно. Більше того, номіцин демонстрував слабку цитотоксичність щодо ракових клітин людини [Igarashi et al., 2012].

Значну антибактеріальну та протипухлинну активність продемонстрував лобофорин F, молекула спіротетронату, виділена з *Streptomyces* sp. SCSIO 01127. Значення МІК для *Bacillus thuringiensis*, *S. aureus* та *E. faecalis* становили 2, 8, 8 мкг/мл відповідно [Niu et al., 2011]. Цікаву біологічну активність продемонстрували вторинні метаболіти *Streptomyces* sp. штам MS1 00061, що походить з Південно-Китайського моря. Три виявлені вторинні метаболіти належать до сімейства лобофоринів, і один з них, лобофорин G, був описаний вперше. Інші, лобофорин А і В, раніше були відомі як протизапальні засоби. Разом ці три метаболіти виявляли значний анти-БЦЖ (anti-*Mycobacterium bovis*) ефект. Крім того, вони виявляли помірні протитуберкульозні (anti-*Mycobacterium tuberculosis*) властивості та різноманітну активність щодо *B. subtilis* [Chen et al., 2013]. Інший, новий лобофорин Н пригнічував ріст *M. tuberculosis*, *B. subtilis* і *S. aureus* і був токсичним для клітинної лінії СЕМ-TART людини [Pan et al., 2013; Lin et al., 2014].

Сполуки анзаміцинового типу. Чотири нових полікетіди анзаміцинового типу (ароматична частина, переплетена аліфатичним ланцюгом) під назвою хаксаміцини А-D були виділені з *Streptomyces* sp. штам С34 з чилійського гіперпосушливого ґрунту пустелі Атакама. Дослідження антибактеріальної активності показали, що хаксаміцин D (рис. 2) демонструє найсильнішу активність проти *S. aureus* ATCC 25923 та *Escherichia coli* ATCC 25922 (МІК = 0,05 та 1,21 мкг/мл, відповідно), а також проти групи клінічних ізолятів *S. aureus* (MRSA), стійких до метициліну з МІК в межах 0,06–0,25 мкг/мл [Rateb et al., 2011a]. Інші хаксаміцини (А-С) також виявляли здатність пригнічувати внутрішню

АТФазну активність білка теплового шоку 90 (Hsp) (41–46% інгібування при 100 мкМ).

β -дикетони, ароматичні кетони. Три нові біологічно активні β -дикетони були виявлені з культурального бульйону *S. asenjonii* KNN 42.f, виділеного з екстремально гіперпосушливого ґрунту пустелі Атакама на півночі Чилі. Крім тринадцяти вже відомих речовин, були очищені три нові сполуки – асенжонаміди А, В і С. Ці нові активні метаболіти були згруповані в сімейство полікетидів β -дикетонів. Найвищу антибактеріальну активність було визначено для асенжонаміду С, який демонстрував МІК = 1,8 мкг/мл проти метицилін-чутливого *S. aureus* (MSSA), МІК = 3,9 мкг/мл щодо *E. faecium* і МІК = 5,4 мкг/мл щодо *E. coli* [Abdelkader et al., 2018].

Крім того, значні антимікробні властивості щодо *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* та *C. albicans* (МІК між 0,25–2,5 мкг/мл) були визначені для нового полікетидного глікозиду, гільвокарцину HE (рис. 2), отриманий з етилацетатного екстракту *Streptomyces* sp. QD01-2 (ізолят із зразка ґрунту, зібраного на площі Хуйцюань у Китаї). Сполука також виявила помірну цитотоксичність щодо клітинних ліній MCF-7, K562 та P388, зі значеннями ІС₅₀ 36, 39 та 45 мкМ відповідно. Результати доводять, що вініловий бічний ланцюг сприяє підвищенню цитотоксичності та антимікробної активності глікозидів типу гільвокарцину [Hou et al., 2012].

Два нових антибіотики хлорантрабензоксоцинону – зунійміцини В і С – були виділені з ферментаційного бульйону *Streptomyces* sp. FJS31-2. Штам був виділений із зразка ґрунту з гори Фаньцзін провінції Гуйчжоу, Китай. Зуніміцин С має хорошу антимікробну активність щодо *S. aureus* ATCC 29213 (МІК = 0,94 мкг/мл) і п'яти клінічних ізолятів MRSA (МІК 3,75–8,14 мкг/мл) [Latha et al., 2017].

Тетрацендіони. Нові полікетиди під назвою формиміцини А-Л були виявлені як продукти вторинного метаболіту штаму *S. formicae* KY5,

виділеного з кенійських мурах *Tetraponera penzigi*. Було показано, що формаміцин J (рис. 2) пригнічує ріст клінічно значущих патогенів – MRSA та ванкоміцин-резистентного *Enterococcus faecium* (VRE) з МІК 0,41 та 0,82 мкг/мл відповідно. Інші випробувані формаміцини були менш ефективними [Qin et al., 2017].

Лактони. Застосування підходу «один штам - багато сполук» до штаму *Streptomyces* з використанням ряду культиваційних середовищ призвело до виділення та ідентифікації кількох нових сполук. Серед них три нові хаксалактини А-С з рідкісного класу макролактонових полікетидів, виявлених разом з уже відомими деферроксаміном Е, гігроміцином А та 5''-дигідрогігроміцином А. Нові молекули виявили сильну активність проти грампозитивних бактерій, таких як *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis* (МІК коливаються від 0,2 до 6,3 мкг/мл) і слабкіша активність проти грамнегативних штамів, таких як *V. parahemolyticus* з МІК 12,5 мкг/мл для хаксалактинів А і С і 20 мкг/мл для хаксалактину В (Rateb et al., 2011b).

У 2013 році Джанг і його колеги описали новий, багатообіцяючий натуральний продукт, особливо ефективний проти *Bacillus anthracis* (МІК = 0,03 мкг/мл). З'єднання було позначено як антрациміцин, і було показано, що воно демонструє антибактеріальну активність також проти *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, MSSA, MRSA та стійкого до ванкоміцину *S. aureus* з МІК у діапазоні від 0,03 до 4 мкг/м . Антрациміцин виділено з *Streptomyces* sp. штам CNH365, зібраний з морських відкладень поблизу Санта-Барбари, Каліфорнія, США. З'єднання було класифіковано як полікетидний антибіотик і має 14-членне лактонне кільце та хімічну структуру, подібну до тієї, що спостерігається для макроліду хлортонілу. Механізм дії антрациміцину заснований на пригніченні синтезу ДНК/РНК [Jang et al. 2013]. Крім того, експерименти *in vivo* показали, що антрациміцин був здатний захистити мишей від

смертності, спричиненої MRSA на моделі інфекції перитоніту мишей [Hensler et al., 2014].

Було виявлено, що штам актиноміцетів, виділений з морського осаду з Чуука, Федеративні Штати Мікронезії, виробляє два нових макролактини – А1 (рис. 2) і В1 (полієнові циклічні макролактони), а також раніше відомий лаурамід-діетаноламін. Усі вони суттєво пригнічували ріст грампозитивних (*B. subtilis*, *S. aureus*) та грамнегативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*) бактерій із МІК від 0,015 до 0,125 мкг/мл. Крім того, вони також продемонстрували потужний протидріжджовий ефект (МІК щодо *S. cerevisiae* – 0,125 мкг/мл). На жаль, активність цих сполук була слабкішою порівняно з азитроміцином та амфотерицином В, які служили позитивним контролем у дослідженнях [Mondol and Shin, 2014].

Круз та ін. описав перші гіперхлоровані ангуциклінони, вироблені *Actinoallomurus* sp. ID145698. Завдяки їх унікальним структурним особливостям і широкому поширенню серед актиноалломурисів, автори позначили ці ангуциклінони як алоциклінони. Ці сполуки характеризуються незвичайним лактонним кільцем і містять до чотирьох галогенів на молекулу, причому один конгенер представляє перший природний продукт, що містить трихлорметильний заміщення в ароматичній системі. Встановлено, що антибактеріальна активність чотирьох ізольованих алоциклінонів зростає із збільшенням кількості хлорних заступників на метильній групі. Алоциклінон А має три додаткові атоми хлору на вуглецю С-13. Ця сполука виявила найвищу антибактеріальну активність. МІК були в межах 0,25–0,5 мкг/мл щодо *S. aureus*, *S. pyogenes* та *E. faecalis*, за винятком *E. faecium* (МІК = 4 мкг/мл). Як і очікувалося, жоден з оцінених клінічно значущих механізмів резистентності не вплинув на активність сполук [Cruz et al., 2017].

Вперше зареєстрована сполука RSP 01 (рис. 2) є біциклічним хромопептидним лактоном з групи актиноміцину. Було виявлено, що вона

біосинтезується разом з уже описаним RSP02 *Streptomyces* sp. RAB12 виділено із зразків ґрунту. І RSP 01, і 02 виявили хімічну структуру, подібну до актиноміцину D. Проте RSP 01 має кетокарбонільну групу на четвертому вуглецю пролінової частини, яка відсутня в актиноміцині D. Результати аналізів біоактивності свідчать про те, що RSP 01 має вищий антимікробний ефект. потенціал порівняно з актиноміцином D. Значення МІК для RSP 01 коливалися від 0,007 до 0,06 мкг/мл щодо *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* та *B. subtilis* [Rathod et al., 2018].

Макроліди також вважаються лактонами. Вони належать до класу натуральних продуктів, що складається з макроциклічного лактонного кільця (14 або більше членів), до якого може бути приєднаний один або кілька дезокси-цукрових фрагментів. Два 16-членних макроліди, аналоги тилозину, були отримані з мутанта *Streptomyces ansochromogenes*, що руйнує wbIA (wbIA, специфічний для *Actinobacteria* ген, що контролює основний перехід у розвитку). Ці нові натуральні продукти виявляли помірну активність щодо грампозитивних бактерій, таких як: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *B. subtilis*, *B. cereus* та *S. aureus* із значеннями МІК в діапазоні 3,53–58,5 мкг/мл. Варто зазначити, що похідні тилозину виявляли сильнішу бактерицидну дію щодо *S. pneumoniae*, ніж сам тилозин [Lu et al., 2015].

Новий 48-членний поліольний макролід під назвою квадоктоміцин був виділений із *Streptomyces* sp. MM168-141F8. Він показав потужну антибактеріальну активність проти *S. aureus*. Значення МІК оцінювали для трьох штамів MSSA, п'яти MRSA та шести штамів *E. faecalis* і коливалися в межах 1–2 мкг/мл. У свою чергу, квадоктоміцин не виявив антимікробної активності щодо грамнегативних бактерій [Sawa et al., 2018].

У 2017 році Кхаліл з колегами повідомили про ідентифікацію аміколатопсинів А, В і С, представників рідкісного сімейства глікозильованих полікетидних макролідів, які споріднені апоптолідину, та

нових метаболітів структурного класу аммоцидину, отриманих з південноавстралійського ґрунтового ізоляту *Amycolatopsis* sp. MST-108494. Лише аміколатопсини А і С були активними щодо *M. bovis* та *M. tuberculosis*, досягаючи значень IC_{50} 0,5–7,0 мкг/мл. У свою чергу, всі три сполуки виявили цитотоксичність щодо клітин NCIH-460 та SW620 ссавців [Khalil et al., 2017].

Лактами. Було виявлено, що *Streptomyces zhaozhouensis* CA-185989 з морського осаду, зібраного поблизу Утонде, Екваторіальна Гвінея, виробляє нові біологічно активні вторинні метаболіти з класу макролактамів поліциклічної тетрамінової кислоти, ізойкаругаміцину (рис. 2) і 28-N-метилікаругаміцину. Ці нові сполуки продемонстрували потужну антибактеріальну та протигрибкову активність і, як було показано, активні щодо *S. aureus*, *C. albicans* та *A. fumigatus*, які мають МІК від 1 до 8 мкг/мл [Lacret et al., 2014].

Хінони. Гетерологічна експресія специфічних генних кластерів (відповідних двом міткам послідовності KS β , отриманим з eDNA) у *Streptomyces albus* дозволила виділити нові полікетіди, ареніміцини С (рис. 2) і D з потужною антибактеріальною активністю. Ареніміцини С і D належать до бензо[α]нафтаценхінонів, і було показано, що вони активні щодо MRSA USA300 (МІК = 0,098 і 0,19 мкг/мл відповідно) і *B. subtilis* RM125 (МІК = 0,0015 і 0,39 мкг/мл відповідно) [Kang and Brady, 2014].

Ідентифікація псевдонокардіанів А-С, нових аналогів дізаантрахінону, обґрунтувала потенціал морських актиноміцетів як джерела нових лікарських засобів. Ці дві сполуки, отримані з *Pseudonocardia* sp. SCSIO 01299, зібраний з глибоководних відкладень Південно-Китайського моря. Профіль активності показав, що псевдонокардіани А і В були особливо потужними проти бактеріальних штамів, а також ліній пухлинних клітин. Значення МІК щодо *S. aureus*, *E. faecalis* та *B. thuringensis* коливаються в межах 2–4 мкг/мл [Li et al., 2011].

Іншу групу хінонів – піранонафтохінонових антибіотиків, відомих як селективні інгібітори серин-треонін кінази АКТ (протеїнкінази В), у 2015 році було розширено до нового члена – ксіакеміцину А. З'єднання виділено з культурального бульйону *Streptomyces* sp. CC8-201 походить із ґрунту китайської карстової печери. У групі антибактеріальних та антипроліферативних аналізів ксіакеміцин А продемонстрував активність щодо грампозитивних бактерій (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* та *E. faecium*) з МІК від 2 до 16 мкг/мл [Jiang et al., 2015].

У 2013 році було повідомлено про виділення чотирьох нових сесквітерпеноїдних нафтохінонів, марфурахіноцинів А-D, із ферментаційного бульйону *Streptomyces niveus* SCSIO 3406 (Південно-Китайське море, зразок осаду). Усі сполуки були оцінені на предмет їх потенційних антибактеріальних та цитотоксичних властивостей. Марфурахіноцини А, С і D були активні щодо *S. aureus* ATCC 29213 з еквівалентними МІК 8 мкг/мл. Крім того, марфурахіноцини С і D виявляли антибактеріальну активність проти метицилін-резистентного клінічного ізоляту *S. epidermidis* shhs-E1 з однаковими значеннями МІК (8 мкг/мл) [Song et al., 2013].

Хін та його колеги виявили також інші похідні хінону з антибактеріальними та протипухлинними властивостями, які виробляються актиноміцетами як вторинні метаболіти. Серед них були нові модифіковані антрахінони – фрадимицини А і В (засоби капоаміцинового типу), виділені з морських *Streptomyces fradiae* PTZ0025. Ці дві речовини були активними проти *S. aureus* з МІК 6 і 2 мкг/мл відповідно. Крім того, ці сполуки виявляли цитотоксичність щодо ліній ракових клітин людини [Xin et al., 2012].

Хінолони. Цікаву біоактивність спостерігали для нещодавно визнаного хлорованого хінолону актиноміцетного походження (*Streptomyces* sp. SBT345), отриманого із середземноморської губки *Agelas*

oroides. Цей новий натуральний продукт, позначений як агелолін А (рис. 2), показав антихламідійну та антиоксидантну дію. Агелолін пригнічував ріст включення *Chlamydia trachomatis* зі значенням IC_{50} 2,1 мкг/мл. Більше того, було показано, що сполука не тільки зменшує окислювальний стрес, а й зменшує пошкодження генома, спричинене 4-нітрохінолін-1-оксидом, індуктором окисного стресу [Cheng et al., 2016].

Ксантони. Іншою багатообіцяючою речовиною з антимікробним потенціалом є буанміцин, новий пентациклічний ксантон, виділений з культури морського штаму *Streptomyces* з припливного мулу в Буані (Республіка Корея). Буанміцин проявляє не тільки сильну інгібуючу активність як проти грампозитивних (*S. aureus*, *B. subtilis*, *K. rhizophila*), так і грамнегативних бактерій (*Salmonella enterica*, *P. hauseri*) з МІК 0,42–12,5 мкг/мл, але також для інгібування сортази А *S. aureus*, ферменту, який відіграє ключову роль у адгезії та інвазії хазяїна грампозитивними бактеріями (зі значенням IC_{50} 43,2 мкМ порівняно з IC_{50} = 104,4 мкМ для р-гідроксимеркурибензойної кислоти, позитивний контрольна сполука). Крім того, буанміцин виявляв потужну цитотоксичність із субмікромолярними значеннями IC_{50} , а також помірну протигрибкову активність щодо *C. albicans* (МІК = 12,5 мкг/мл) [Moon et al., 2014]. Чотири нові ксантони (цитреаміцин θ А (рис. 3), цитреаміцин θ В, цитреаглікон А і дегідроцитреаглікон) були отримані з морського штаму *Streptomyces caelestis*. Усі ці сполуки продемонстрували сильну активність щодо *S. haemolyticus*, *S. aureus* та *B. subtilis* із значеннями МІК у діапазоні 0,25–16 мкг/мл. Однак цитреаміцин θ А і цитреаміцин θ В були безумовно більш активними, ніж інші метаболіти, ймовірно, завдяки п'ятичленному гетероциклу азоту в їхніх структурах. Крім того, вони також виявили цитотоксичність щодо клітин HeLa [Liu, Xu et al., 2012].

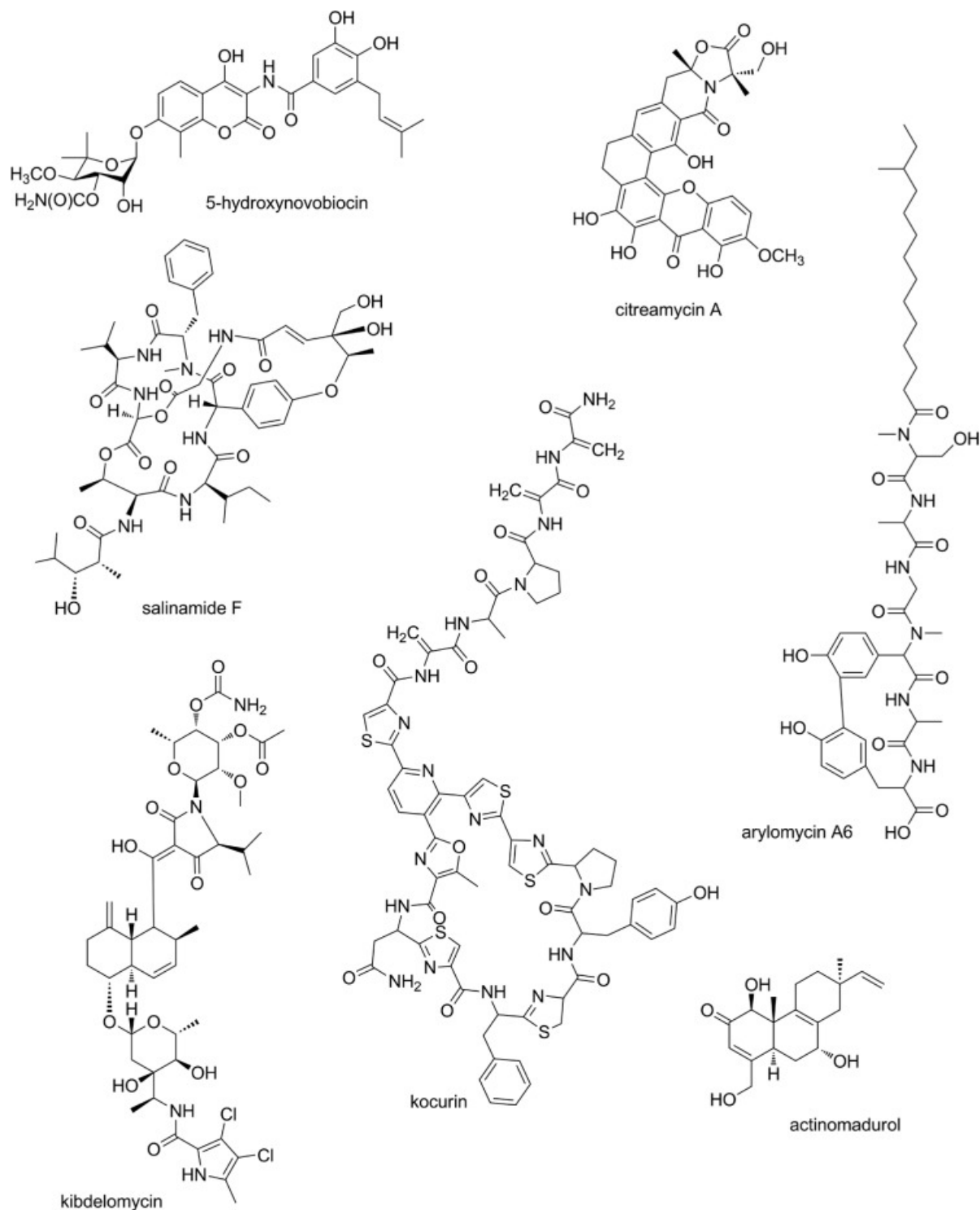


Рис. 3. Хімічні структури сполук з антибактеріальною активністю.

Амінокумарин. Комбінований підхід філогенетичного та хімічного аналізу співтовариства *Streptomyces* із морських відкладень Британської Колумбії в Канаді дозволив виявити низку структурно різноманітних вторинних метаболітів актиноміцетів. Чотири з них були визначені як нові

аналоги новобіоцину. Два з них, десметилновобіоцин та 5-гідроксиновобіоцин (рис. 3), були активними проти MRSA ATCC 33591 із значеннями МІК 16 та 8 мкг/мл відповідно. Відомо, що новобіоцин спрямований на бактеріальну гіразу, пригнічуючи гідроліз АТФ [Maxwell and Lawson, 2003]. Дослідження зв'язків між структурою та активністю (SAR) продемонстрували, що аналоги, що містять різні заступники в 3''-карбамоїлових і 4''-ОМе-новіозних частинах або 5-Н гідроксибензоатному кільці, демонстрували різке зниження або повне усунення інгібуючої активності проти MRSA [Dalisay et al., 2013].

Терпеноїди. Як вторинні метаболіти *Streptomyces* sp були виділені три нові меротерпеноїди – напірадіоміцини разом із шістьма вже відомими аналогами. Серед них були 4-дегідро-4а-дехлоронапірадіоміцин А1, 3-дехлор-3-бромонапірадіоміцин А1 та 3-хлор-6,8-дигідрокси-8- α -лапахон, з яких друга сполука виявила найширший діапазон біоактивності. Антибактеріальні дослідження показали, що 3-дехлор-3-бромонапірадіоміцин А1 активний щодо *S. aureus*, *B. subtilis* та *B. thuringensis* із значеннями МІК на рівні 0,5–1 мкг/мл. З'єднання також виявило цитотоксичність щодо чотирьох ліній ракових клітин людини [Wu et al., 2013].

З рідкісного штаму актиноміцетів *Actinomadura* KC191 було виділено новий вторинний метаболіт актиномадуrol (рис. 3). Структура сполук виявила унікальний 19-нордистерпеноїд-вуглецевий скелет, який створив новий каркас для відкриття антибіотиків. Ця молекула виявила значну інгібуючу активність щодо різних штамів бактерій, таких як *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 6538p, *K. rhizophila* NBRC 12708, *P. hauseri* NBRC 3851 і *S. enterica* ATCC 14028 значень μg 14028. /мл [Shin et al., 2016].

Пептиди. Перспективним основою для лікування грампозитивних бактеріальних інфекцій є кокурин (PM181104) (рис. 3), новий тіазозильний

пептид, отриманий з *Kocuria palustris* F-276,345. Цей метаболіт демонструє набагато нижчі МПК (0,008–0,512 мкг/мл) щодо *B. subtilis* та стійких до ліків штамів *S. aureus*, *E. faecium* або *E. faecalis*, ніж стандартний антибіотик лінезолід. Найімовірнішим способом дії цього агента є пригнічення росту бактерій шляхом блокування їх біосинтезу білка на стадії трансляції. Крім того, дослідження *in vivo* показали, що кокурин захищає мишей від специфічних для органів або навіть системних інфекцій [Mahajan et al., 2013].

Паргаміцини В, С і D є новими циклічними пептидними метаболітами, які були виділені з ферментаційного бульйону штаму ґрунтового актиноміцету *Amycolatopsis* sp. ML1-hF4. Паргаміцини — це структурно унікальні циклічні пептиди, що складаються з N-метил-3-гідрокси валіну, 4-гідроксипіперазинової кислоти (4-OH-Pip), саркозину, фенілаланіну, N-гідроксиізолейцину (NOH -Ile) і піперазинової кислоти (Pip). Єдина структурна відмінність між паргаміцинами полягає в частині Pip(NOH-Ile). Однак, незважаючи на таку структурну схожість, антимікробна активність паргаміцинів показала значні відмінності. Паргаміцини А і С виявляли потужну антибактеріальну активність щодо грампозитивних бактерій, включаючи MRSA та VRE. Значення МПК паргаміцину С щодо MSSA та MRSA були в межах від 2 до 4 мкг/мл, а щодо *E. faecium* та *E. faecalis* – від 0,5 до 1 мкг/мл. У свою чергу, антибактеріальна активність паргаміцину В і D щодо цих бактерій була слабкішою. Обидва агенти продемонстрували значення МПК, що дорівнюють 8 мкг/мл щодо *E. faecium* та *E. faecalis*. При аналізі на штамів MSSA та MRSA він виявив МПК у діапазоні 8–16 та 32–64 мкг/мл для паргаміцину В та D відповідно [Hashizume et al., 2017].

Депсипептиди. Дослідження мікроорганізмів з унікальних середовищ привели до відкриття омюнгсаміцинів А і В, вироблених *Streptomyces* sp. Ці нові циклічні депсипептиди містять незвичайні

амінокислотні одиниці (N-метил-4-метокситритофан, β -гідроксифенілаланін і N,N-диметилвалін). Дві молекули виявляли різну інгібуючу активність щодо як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, включаючи *B. subtilis*, *Kocuria rhizophila* та *Proteus hauseri* (МІК = 1,56–49,5 мкг/мл). Омюнгсаміцин А набагато ефективніший, ніж омюнгсаміцин В, щодо його цитотоксичності та антибактеріальних властивостей [Um et al., 2013].

У 2014 році новий біциклічний депсипептид, салінамід F (рис. 3), був виділений з морського *Streptomyces* sp. CNB-091. Профіль активності салінамиду F показав, що він активний щодо *E. coli* D21f2tolC, *Haemophilus influenzae*, *E. faecalis* та *Neisseria gonorrhoeae* із значеннями МІК 0,20, 12,5, 12,5 та 25 мкг/мл відповідно. Крім того, він показав значне інгібування грампозитивної та грамнегативної бактеріальної РНК-полімерази з $IC_{50} = 4$ мкМ для RNAP *S. aureus* і 2 мкМ для РНКП *E. coli* [Hassan et al., 2015].

Нові природні продукти, відкриті Сан та його колегами, під назвою фіджіміцини А і С, виявляли активність проти трьох різних штамів MRSA з МІК в діапазоні 4–32 мкг/мл. Ці нові депсипептиди класу етаміцин були ідентифіковані з ферментаційного бульйону *Streptomyces* sp. Штам CNS-575 [Sun et al., 2011].

Ліпопептиди. Використання ультраефективної рідинної хроматографії в поєднанні з тандемною квадрупольною мас-спектрометрією високої роздільної здатності та часу польоту (UPLC-Q-TOF-HRMS) призвело до ідентифікації двох ліпопептидів із *Streptomyces parvus* HCCB10043. Один з них, ариломіцин А6 (рис. 3), був новою сполукою і виявив антибактеріальну активність щодо *Staphylococcus epidermidis* HCCB20256 з МІК 1 мкг/мл [Rao et al., 2013].

Інші хімічні сполуки. У 2011 році Філліпс і його співробітники з Merck Research Laboratories, Merck & Co. повідомили про сполуку під назвою кібделоміцин (рис. 3), яка становила перший структурний клас

інгібіторів ДНК-гірази, відкритих протягом 60 років досліджень. Цей вторинний метаболіт являє собою гексациклічний полікетид-пептидний гібрид з дихлорпірольною частиною, що продукується *Kibdelosporangium* sp. MA7385. Механізм дії кібделоміцину подібний до кумаринового антибіотика – новобіоцину, оскільки він спрямований на дві субодиниці топоізомерази IV і ДНК-гірази А. Цей антибіотик широкого спектру дії проявляє активність щодо MRSA (МІК = 0,5 мкг/мл), а також проти *S. pneumoniae* (МІК = 1 мкг/мл), *E. faecalis* (МІК = 2 мкг/мл) і грамнегативний патоген *Haemophilus influenzae* (МІК = 2 мкг/мл) [Phillips et al., 2011]. Недавні дослідження, проведені з клінічними штамми, виявили потужну активність кібделоміцину проти *Acinetobacter baumannii* (МІК = 0,125 мкг/мл). Не спостерігалось перехресної резистентності з іншими інгібіторами гірази в дослідженнях із резистентними до новобіоцину та ципрофлоксацину штамми *S. aureus* [Singh et al., 2015].

1.4. Оптимізація умов культивування для виробництва протимікробних засобів

Біосинтез вторинних метаболітів мікроорганізмами залежить від умов їх зростання. Таким чином, зміни харчових і фізичних факторів під час процесу інкубації можуть оптимізувати виробництво біологічно активних сполук мікробними ізолятамиб. Методології статистичної оптимізації, такі як методологія поверхні та експериментальний план Плакетта-Бермана, використовуються для розробки умов харчування та виключення визначення практичності однофакторної оптимізації шляхом оптимізації всіх впливових параметрів разом. Статистичні експериментальні схеми є найсильнішими методами для швидкого відбору важливих змінних із багатфакторної схеми та для зменшення помилок у визначенні впливу окремих параметрів.

Дизайн Плакета-Бермана (Plackett-Burman) був використаний для оцінки значного впливу різних компонентів середовища нітрату крохмалю на продукцію протимікробних агентів *Streptomyces* sp. МК388207 (М12) проти *C. albicans* ATCC 10231. [Moaz et al., 2019] Компоненти середовища нітрату крохмалю, відібраного для виробництва експериментальних протимікробних засобів, на додаток до інших факторів культури, включаючи рН та інкубаційний період, досліджували на двох рівнях. Схема Плакета-Бермана, була застосований для вивчення важливості цих факторів щодо виробництва протимікробного(их) агента(ів). Статистичний аналіз даних (t-значення) показав, що серед компонентів середовища крохмаль був найбільш значущою незалежною змінною, яка вплинула на придушення *C. albicans* ATCC 10231. Крім того, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ та $FeSO_4$ також виявили значний вплив на *C. albicans* щодо виробництва антимікробних агентів.

У іншому дослідженні дві грампозитивні бактерії (*Staphylococcus aureus* і *Listeria monocytogenes*), одну грамнегативну бактерію (*Salmonella enterica*) і одну дріжджову бактерію (*Candida albicans*) використовували для визначення антимікробної здатності 163 ізолятів *Actinobacteria*. [Ouchari et al., 2019] Первинний скринінг антимікробної активності проводили на TSA методом агарової плями. Серед 163 виділених актинобактерій 96 (59%) ізолятів виявили антибактеріальну активність щодо принаймні одного з досліджуваних мікроорганізмів. Вторинний скринінг ізолятів досліджували методом агарової плями на агарі Беннета. Результати показали, що 92 (56%) ізолятів були активними проти принаймні одного з досліджуваних мікроорганізмів. Тридцять чотири активні ізоляти на TSA стали неактивними на агарі Беннета; з іншого боку, 30 неактивних ізолятів на одному культуральному середовищі, TSA, стали активними на агарі Беннета.

Повне знання оптимальних умов, необхідних для максимальної ферментаційної активності, що призводить до вироблення протимікробних метаболітів актиноміцетами; для стандартизації різних фізичних і фізіологічних факторів, що впливають на вироблення метаболітів з антибіотичними властивостями, з особливим посиленням на використовуваний штам.

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Роботу було виконано у Біотехнологічному науково-навчальному центрі при ОНУ імені І.І. Мечникова в рамках теми № 598 «Біологічна різноманітність актинобактерій Чорного моря, їх біотехнологічний потенціал та пошук продуцентів нових антимікробних сполук».

Об'єктом дослідження були 6 штамів актинобактерій, ізольованих із біологічних обростань бетону, зануреного у воду Чорного моря. Зразки з бетону відбирали в червні–липні 2020 р. в Одеській затоці Чорного моря біля Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова (Одеса, Україна, 46°27'01''N 30°46'14''E). За результатами попередньої ідентифікації за морфологічними ознаками штами були віднесені до роду *Streptomyces* [Страшнова та ін., 2021]. Опис морфології штамів наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

**Морфологія колоній актинобактерій, ізольованих із бетону
(середовище Гаузе 2)**

Штам	Тип міцелію	
	субстратний	повітряний
Сопс 19	кремово-рожевий з ореолом навколо колонії	білий
Сопс 20	гірчичний з ореолом навколо колонії	білий
Сопс 24	бордовий	білий
Сопс 32	болотний	білий
Сопс 42	темно бежевий	Темно сірий
Сопс 43	чорний	сірий

2.1. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів методом дисків

2.1.1. Культивування штамів індикаторів та штамів актиноміцетів

В роботі були використані 7 індикаторних штамів, представлених грампозитивними, грамнегативними бактеріями. Штами грампозитивних

бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Штами грамнегативних бактерій: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 та дріждеподібним грибом *Micrococcus luteus* ATCC 4698 з колекції культур кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І.І. Мечникова. Штами культивували на МПА при 37 °С, зберігали при 4 °С. Штам *M. luteus* культивували на МПА при 28 °С та зберігали при 4 °С.

Усі експерименти із індикаторними штамами проводили на середовищі LB з таким складом (г/л): пептон – 15,0, дріжджовий екстракт – 10,0, хлорид натрію – 5,0, агар -11,0 г/л.

Для отримання нічної культури бактерій, добові культури індикаторних штамів, інкубованих при 37°C та 28 °С, пересіювали мікробіологічною петлею зі скошеного агару у колбочки з рідким LB по 5 мл.

Через 24 години нічну культуру, що виросла, додавали по 0,3 мл у 5 мл рідкого LB у флакони на підروщування (3-5 годин) на качалці при 30 °С.

Культивування штамів актинобактерій здійснювали на середовищах вівсяний агар з додаванням 20 г/л солі (NaCl), середовищах Гаузе 1, Гаузе 2 та ISP-3 (вівсяний агар).

Склад середовища Гаузе 2 (г/л): бульон Хоттінгера – 30 мл, пептон – 5,0, хлорид натрію (NaCl) – 5,0, глюкоза – 10,0, агар-агар – 20, водогінна вода – 1,0 л. рН середовища довести до 7,2 – 7,4. Автоклавувати (15-20 хвилин при 121 °С).

Склад середовища Гаузе 1 (г/л): крохмаль розчинний - 20,0, гідроортофосфат калію (K_2HPO_4) – 0,5, сульфат магнію ($MgSO_4 \times 7H_2O$) – 0,5, нітрат калію (KNO_3) – 1,0, хлорид натрію (NaCl) – 0,5, сульфат заліза ($FeSO_4 \times 7H_2O$) – 0,01, агар-агар – 20, водогінна вода – 1,0 л. рН середовища довести до 7,2 – 7,4.

Склад середовища вівсяний агар (ISP-3) (г/л): вівсяні пластівці – 20, розчин мікроелементів ($FeSO_4$) x $7H_2O$ – 0,1; $MnCl_2$ x $4H_2O$ – 0,1; – 0,1; $ZnSO_4$

х $7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 в 100 см^3 дистильованої води) – 1 мл; агар-агар – 18; морська сіль – 20, дистильована вода - 1 л. Вівсяні пластівці залити гарячою водою на 10 год., довести до кипіння, відфільтрувати через кілька шарів марлі, з'єднати з розплавленим у воді агаром і довести до 1 л.

Склад середовища М1(г/л): крохмаль розчинний – 10, дріжджовий екстракт – 4, пептон – 2, агар-агар – 18, природна морська вода – 1; Автоклавувати (15-20 хвилин при $121\text{ }^\circ\text{C}$) [Lee et al., 2014].

Склад середовища агар 79 (г/л): глюкоза – 10, пептон – 10, казеїн – 2, дріжджовий екстракт – 2, хлорид натрію (NaCl) – 6, агар-агар – 18, природна морська вода – 1; Автоклавувати (15-20 хвилин при $121\text{ }^\circ\text{C}$) [Lee et al., 2014].

Склад середовища ККА (г/л): крохмаль розчинний – 10, казеїн -0,3, гідроортофосфат калію (K_2HPO_4) – 2, сульфат магнію ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) – 0,5, нітрат калію (KNO_3) – 2, карбонат кальцію (CaCO_3) – 0,2, сульфат заліза (FeSO_4) х $7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01, агар-агар – 18, , водогінна вода – 1,0 л. рН середовища довести до 7,2 – 7,4.

Склад середовища ISP-2 (г/л): дріжджовий екстракт – 4, МПБ – 10, глюкоза – 4, агар-агар – 18, водогінна вода – 1,0 л. рН середовища довести до 7,2 – 7,4.

2.1.2. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів методом дисків

Визначення антагоністичної активності здійснювали на середовищі LB (0,7 %) методом блоків, поміщаючи на кожну чашку по 5 блоків штамів актинобактерій. Облік результатів здійснювали через 24 годин після інкубації при оптимальних для кожної групи мікроорганізмів температурах, вимірюючи діаметр зон відсутності росту індикаторних штамів навколо блоків з актиноміцетами. Усі дослідження були здійснені у 2-х повторях. Розмір зони пригнічення росту розраховували за формулою: $d = \frac{\bar{x} - d_{\text{пробійника}}}{2}$

2.2 Статистичний аналіз результатів

Для проведення статистичного аналізу використовували програму R 3.6.0 та відповідні пакети «corrplot», «RColorBrewer», «cluster» та «fastcluster». В статистичний аналіз включали кластерний та кореляційний аналізи.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Дослідження антагоністичної активності актиноміцетів ізольованих із поверхонь біологічних обростань бетону методом дисків

При дослідженні антагоністичної активності штамів актиноміцетів, ізольованих з поверні обростання бетону, було визначено, що прояв біологічної активності залежить від багатьох чинників і, перш за все, визначається штамом-антагоністом та складом використаного середовища. Окрім нейтралізму у більшості випадків, також реєстрували антагоністичну активність актинобактерій та бакетріостатичну активність (про що свідчили зони просвітлення через 48 годин). Отримані дані наведено у таблицях 4 – 10.

За отриманими результати антагоністичної активності було показано, що більшість досліджених штамів проявляє антагоністичну активність різного ступеню в залежності від складу живильного середовища.

Таблиця 4

Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на середовищі Гаузе 1 (г, мм)

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	3	2	4	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	2	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	4	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	-	-	-

Таблиця 5

**Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на
середовищі Гаузе 2 (г, мм)**

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	3	2	2	3
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	2	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	1	2	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	4	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	-	-	-

Таблиця 6

**Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на
середовищі вівсяний агар (г, мм)**

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	5	2	1	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	2	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	1	1	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	4	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	-	-	-

Таблиця 7

**Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на
середовищі М1 (г, мм)**

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	5	2	1	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	6	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	4	-	-	4	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	4	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	4	-	-	5	-	-

Таблиця 8

**Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на
середовищі ККА (г, мм)**

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	4	2	-	2
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	4
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	4
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	-	-	-	6	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	6	5	-

Таблиця 9

Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на середовищі ISP-2 (r, мм)

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	-	5	2	1	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	5	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	5	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	4	-	-	4	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	5	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	5	-	-	4	-	4

Таблиця 10

Біологічна активність штамів актинобактерій, що вирощували на середовищі агар 79 (r, мм)

Тест-штам	Штами актинобактерій					
	Conc 19	Conc 20	Conc 24	Conc 32	Conc 42	Conc 43
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	-	1	-	1,5	-	1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	4	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6	4	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	4	-	-	-
<i>S. enterica</i> NCTC 6017	-	-	5	5	-	4
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	-	-	-

За результатами дослідження було показано, що штам Conc 19 демонстрував різну за проявом і рівнем антагоністичну активність в залежності від використаного середовища. Так, при використанні найбільш популярних для такого дослідження середовищ – Гаузе 1, Гаузе 2 та ISP-3

(вівсяний агар) реєстрували інгібуючу дію метаболітів цього штаму по відношенню до індикаторного штаму *E. faecalis* ATCC 29212. Розмір зони інгібування досягав 4 мм.

При використанні середовища агар 79 реєстрували антагоністичну активність цього штаму по відношенню до індикаторного штаму *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Розмір зони інгібування досягав 6 мм.

При використанні середовищ ISP-2, агар М1 та ККА реєстрували антимікробну активність штаму Сопс 19 проти грам-негативних індикаторних штамів *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 (рис. 4).

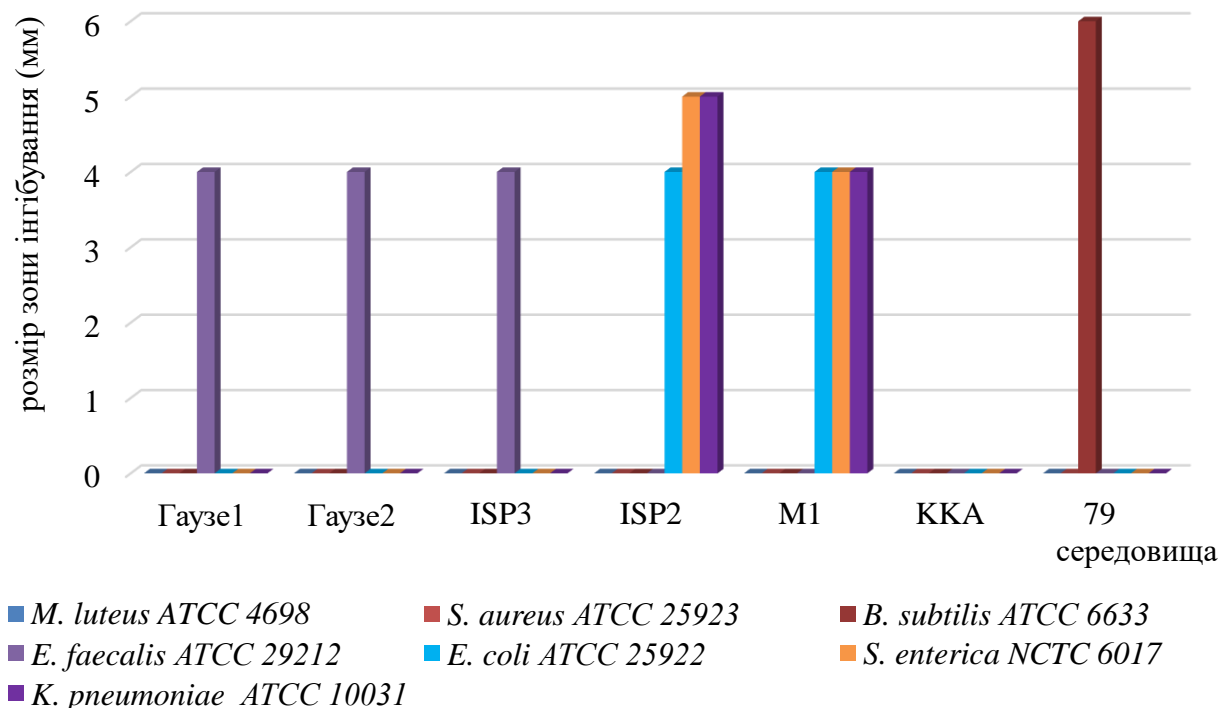


Рис. 4. Показники антагоністичної активності штаму Сопс 19 на середовищах різного складу

При дослідженні впливу складу живильних середовищ на антимікробну активність штаму Сопс 20 було показано, що він володіє набагато меншою антимікробною активністю в порівнянні зі штамом Сопс 19. Інгібуючу активність реєстрували лише по відношенню до грам-позитивних штамів

індикаторів. Здебільшого штамом Conc 20 пригнічував ріст *Bacillus subtilis* ATCC 6633 при використанні середовищ Гаузе 1, Гаузе 2 та агар 79. Слід відмітити, що при використанні середовища агар 79 зона інгібування була максимальною – 4 мм.

Також, при використанні середовища агар 79 реєстрували незначне інгібування росту штаму *M. luteus* ATCC 4698 (рис. 5).

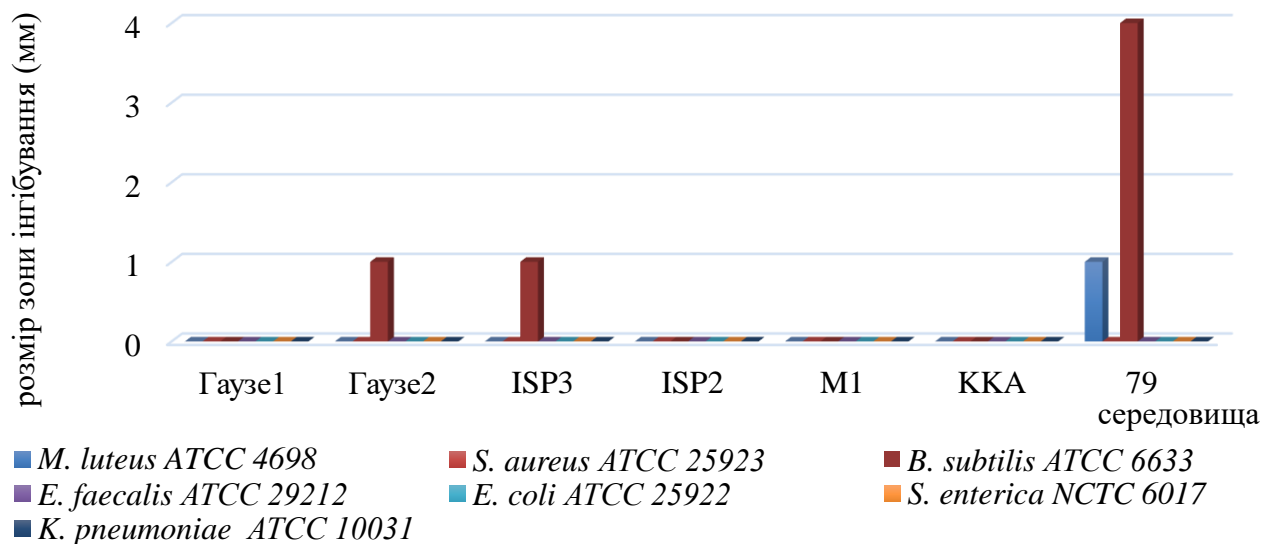


Рис. 5. Показники антагоністичної активності штаму Conc 20 на середовищах різного складу

Дослідження антимікробної активності штаму Conc 24 показало, що він здебільшого пригнічує ріст індикаторного штаму *M. luteus* ATCC 4698. Інгібуючу активність відмічали практично на усіх середовищах, однак розмір зони інгібування залежав від складу середовища. Так, після попереднього культивування на середовищах Гаузе 1, Гаузе 2 розмір зони інгібування був мінімальним – 3 мм; після попереднього культивування на середовищах ISP-2, ISP-3 та M1 розмір зони інгібування склав 5 мм; після попереднього культивування на середовище ККА розмір зони інгібування склав 4 мм. При використанні середовища агар 79 прояву антимікробної активності не реєстрували.

Також, штам Сопс 24 проявив антимікробну активність проти індикаторного штаму *Bacillus subtilis* ATCC 6633 на більшості середовищ. Максимальний прояв антимікробної активності реєстрували при використанні середовищ ISP-2 та M1 (рис. 6).

При використанні середовища ISP-2 додатково проявилась антимікробна активність цього штаму проти індикаторного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Розмір зони інгібування досягав 5 мм.

Попереднє культивування штаму Сопс 24 на середовища агар 79, викликало антимікробну активність проти грам-негативних штамів індикаторів *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Salmonella enterica* NCTC 6017 (рис. 6).

Як і штам Сопс 24 штам Сопс 32 здебільшого пригнічував ріст індикаторного штаму *M. luteus* ATCC 4698. Однак для цього штаму показники розміну зони інгібування були меншими – 1,5 мм – 2 мм. Прояву антимікробної активності проти цього індикаторного штаму не реєстрували лише в разі його попереднього культивування на середовищі Гаузе1.

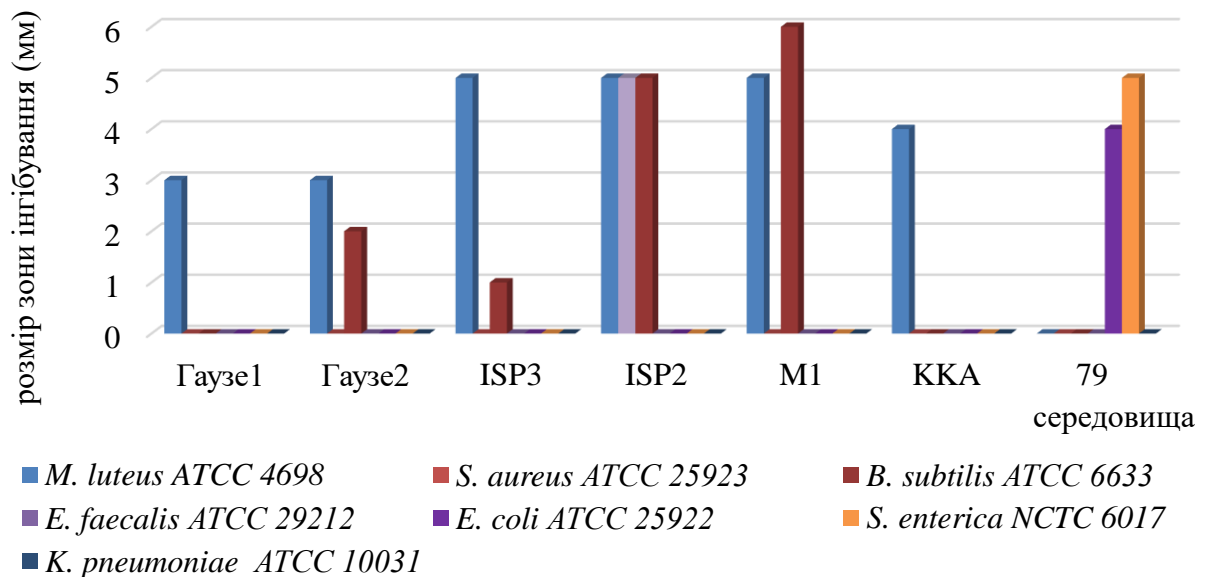


Рис. 6. Показники антагоністичної активності штаму Сопс 24 на середовищах різного складу

При використанні середовища ISP-2 та агар М1 реєстрували антимікробну активність проти грам-негативних штамів індикаторів *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Salmonella enterica* NCTC 6017 (рис. 7).

Попереднє культивування на середовищі ККА сприяло прояву антимікробної активності проти тест-штамів *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Розмір зони інгібування досягав 6 мм.

Попереднє культивування на середовищі агар М1 сприяло прояву антимікробної активності проти тест-штаму *Salmonella enterica* NCTC 6017. Розмір зони інгібування досягав 5 мм.

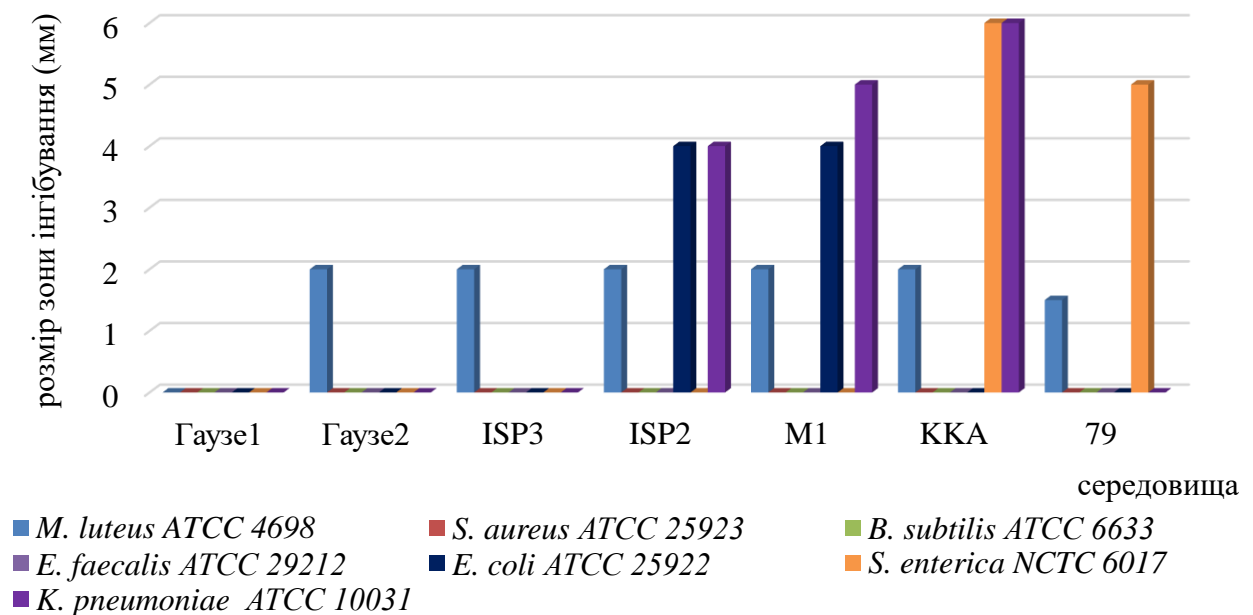


Рис. 7. Показники антагоністичної активності штаму Сопс 32 на середовищах різного складу

Антимікробна активність штаму Сопс 42 в цілому було спрямована проти грам-позитивних штамів індикаторів. На більшості середовищ штам Сопс 42 викликав незначне пригнічення росту індикаторного штаму *M. luteus* ATCC 4698. Розмір зони інгібування лише при попередньому культивуванні на середовище Гаузе1 сягав 4 мм.

Антимікробну активність проти індикаторного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на середовищах Гаузе1, Гаузе2 та ISP-2 (вівсяний агар), тобто на середовищах, які найчастіше використовують для перевірки антимікробної активності штамів актиноміцетів. Розмір зони інгібування для цих середовищ склав 2 мм.

При використанні середовища агар 79 для попереднього культивування штаму Сопс 42 зона пригнічення росту штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 склала 4 мм.

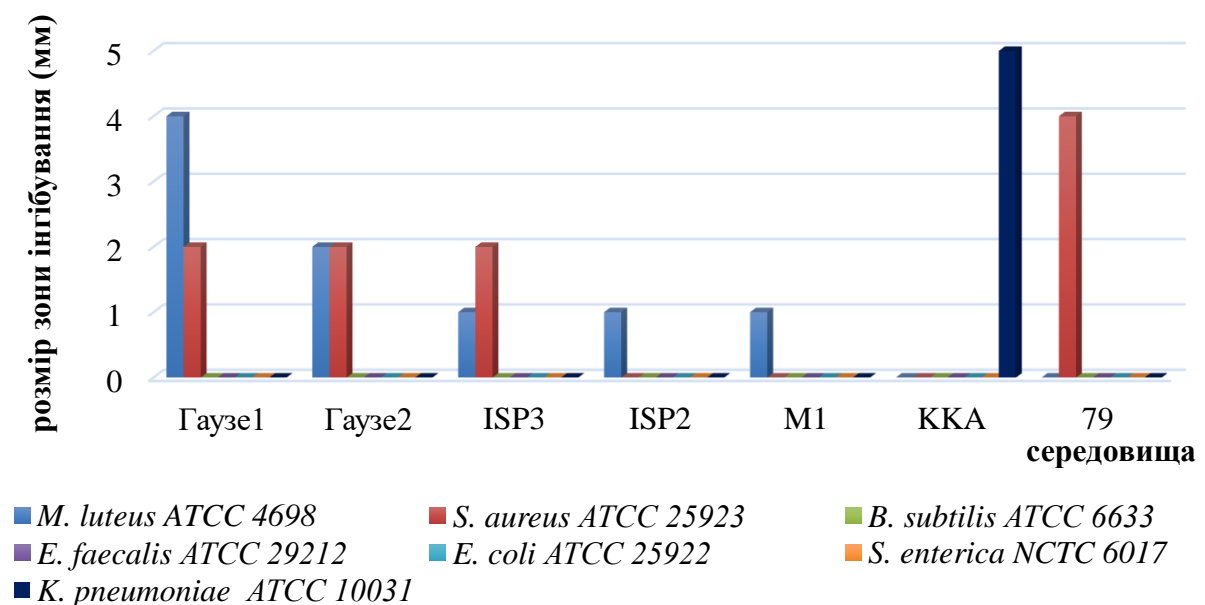


Рис. 8. Показники антагоністичної активності штаму Сопс 42 на середовищах різного складу

Антимікробну активність проти грам-негативного штаму індикатору *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 реєстрували лише при попередньому культивуванні штаму Сопс 42 на середовище ККА. Розмір зони інгібування склав 5 мм.

Антимікробна активність штаму Сопс 43 не була виразною або значною незалежно від типу використаного середовища.

Так, проти *M. luteus* ATCC 4698 незначну антимікробну активність реєстрували при попередньому культивуванні на середовищах Гаузе 1, ККА та агар 79.

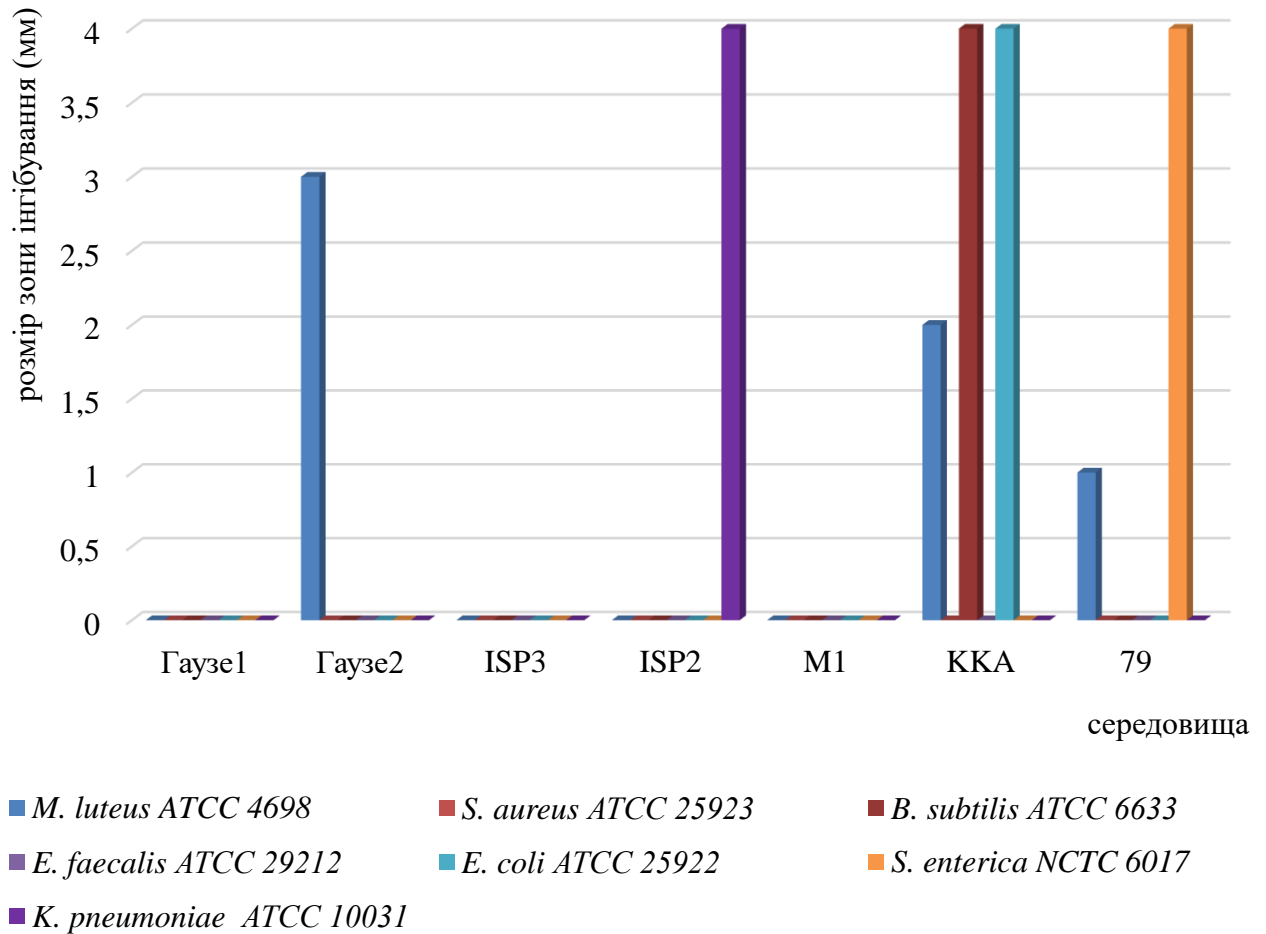


Рис.9. Показники антагоністичної активності штаму Сопс 43 на середовищах різного складу

Попереднє культивування на середовищі ККА сприяло прояву антагоністичної активності проти штаму *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та *Escherichia coli* ATCC 25922 (рис. 9).

Попереднє культивування на середовищі агар 79 сприяло прояву антимікробної активності штаму Сопс 43 проти тест-штаму *Salmonella enterica* NCTC 6017. Розмір зони інгібування досягав 4 мм.

3.2. Статистичний аналіз результатів антагоністичної активності штамів актиноміцетів, ізольованих із поверхонь біологічних обростань бетону

За отриманими результатами першого етапу дослідження було показано, що найбільшу антагоністичну продемонстрували штами Conc 19, Conc 24 та Conc 32. Саме ці штами використали для проведення статистичного аналізу з використанням програми R 3.6.0.

З початку використали кластерний аналіз, який наочно продемонстрував, що за результатами антагоністичної активності формуються дві окремі клади в дендрограмі (рис. 10). До першої клади відносились усі грам-позитивні мікроорганізми, а до другої усі грам-негативні індикаторні штами.



Рис.10 Дендрограма загальної антагоністичної активності штамів Conc 19, Conc24 та Conc 32 по відношенню до штамів індикаторів

Проведення кластерного аналізу за показниками антагоністичної активності обраних штамів в залежності від використаного середовища чіткої кластеризації не надало (рис. 11).

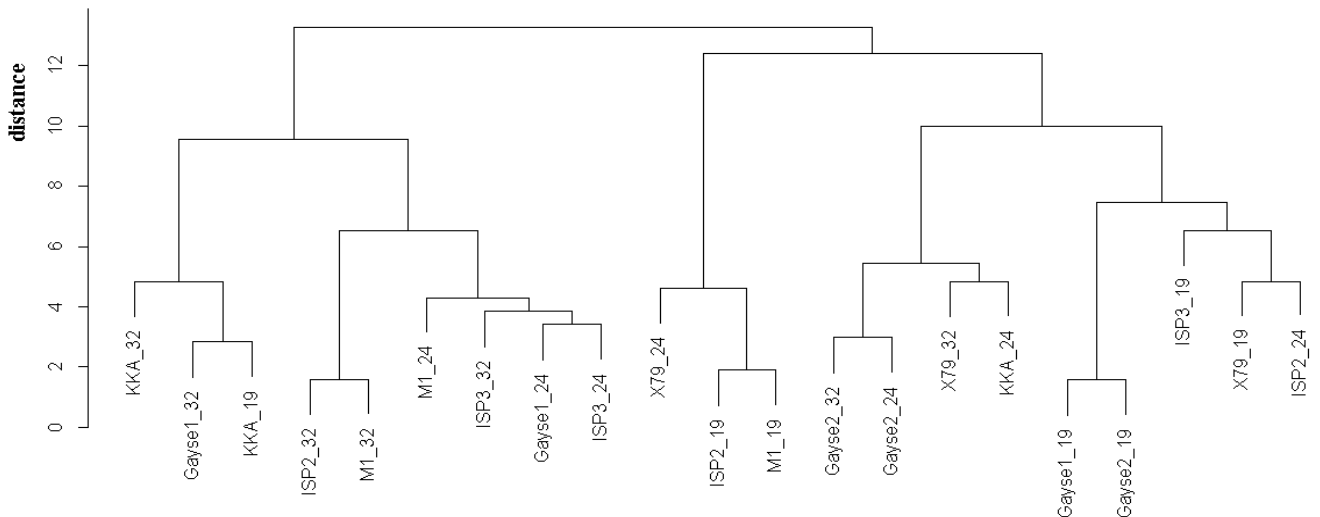


Рис.11 Дендрограма показників антагоністичної індивідуальної активності штамів *Conc 19*, *Conc 24* та *Conc 32* по відношенню до штамів індикаторів

За результатами кластерного аналізу було показано, що антагоністична активність штаму *Conc 19* в значній мірі залежить від присутності пептону, глюкози та дріжджового екстракту. Для цих компонентів живильних середовищ показники кореляції Пірсона склали $r=0,55$, $r=0,52$ та $r=0,41$. Між показником антагоністичної активності штаму *Conc 19* та неорганічними складовими живильних середовищ, таких як, гідроортофосфат калію (K_2HPO_4) та нітрат калію (KNO_3) показники кореляції Пірсона вказували не негативну лінійну кореляційну активність – $r=-0,91$, $r=-0,86$, відповідно. Присутність казеїну також негативно впливала на рівень антагоністичної активності цього штаму (рис. 12).

Проведений кластерний аналіз між показниками антагоністичної активності штаму *Conc 24* та складом живильних середовищ показав принципово іншу картину. Так, найбільш сприятливим складовим живильних середовищ для прояву антагоністичної активності цього штаму виявився лише дріжджовий екстракт ($r=0,90$). Між показником, що перевіряли та іншими

складовими живильних середовищ кореляційної залежності не було виявлено (рис. 14).

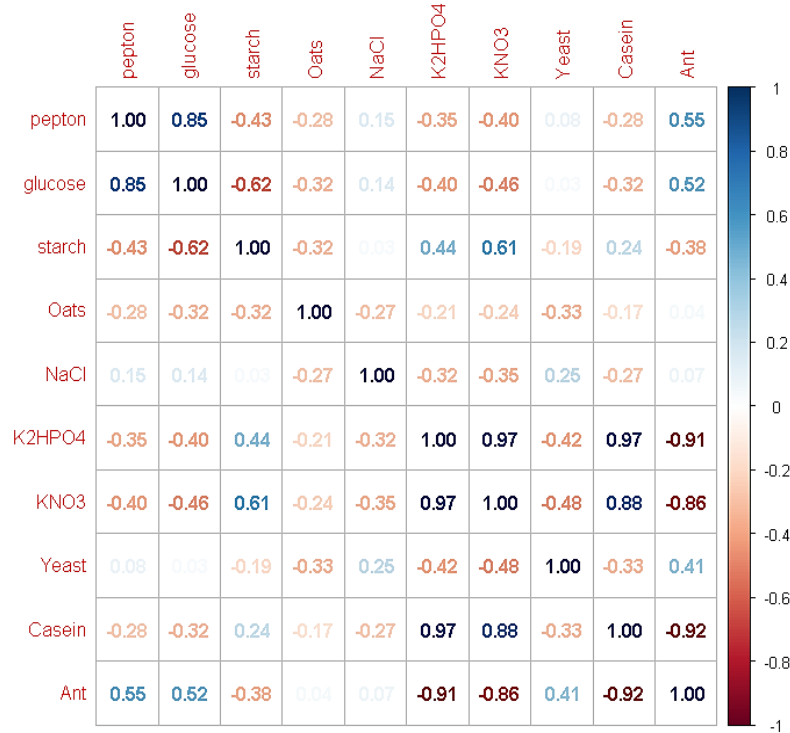


Рис. 12. Кореляційний аналіз між показниками антагоністичної активності штаму Sops 19 та складовими живильних середовищ



Рис. 13. Кореляційний аналіз між показниками антагоністичної активності штаму Sops 24 та складовими живильних середовищ

За результатами кореляційного аналізу між показниками антагоністичної активності штаму *Conc 32* та складом живильних середовищ показано, що присутність гідроортофосфату калію (K_2HPO_4), нітрату калію (KNO_3), дріжджового екстракту та казеїну сприяє прояву антимікробних властивостей цього штаму.

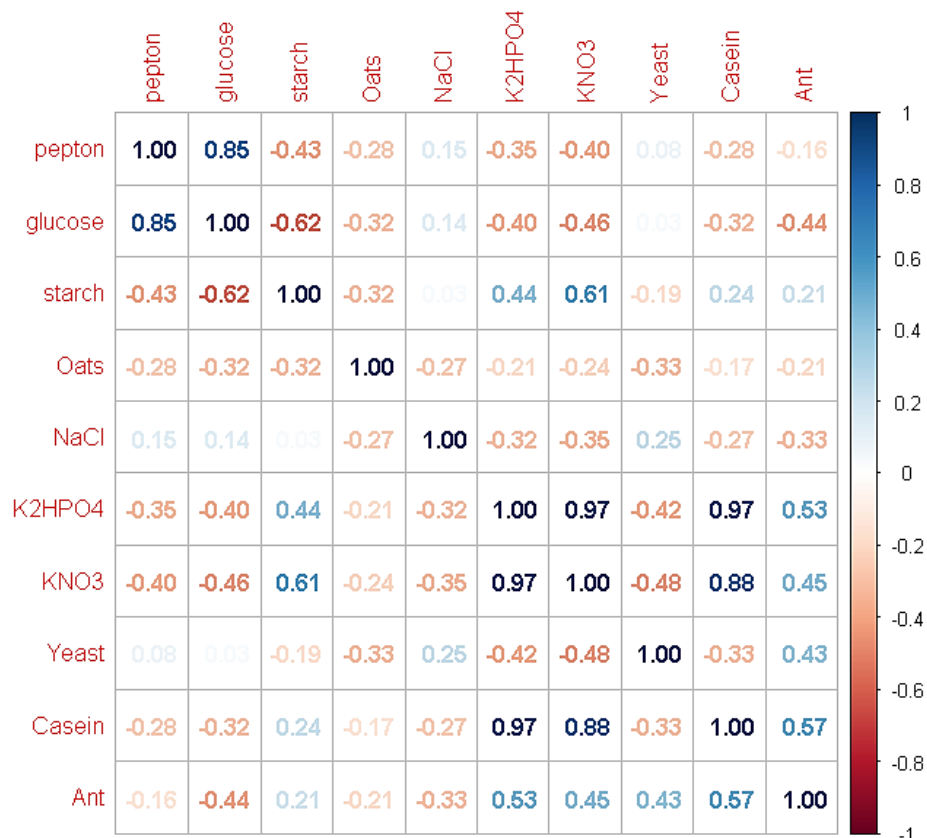


Рис 14. Кореляційний аналіз між показниками антагоністичної активності штаму *Conc 32* та складовими живильних середовищ

Взагалі, за результатами дослідження було показано, що антагоністичні властивості штамів актиноміцетів строго індивідуальні і залежать від потреб самого штаму. Загальних залежностей для оптимізації живильних середовищ для культивування представників актиноміцетів з метою підвищення їх антимікробних властивостей виявлено не було.

Більш того статистичний метод аналізу ще раз підкреслив, що біологічні властивості представників цієї групи мікроорганізмів видоспецифічні.

3.3. Біотехнологічна схема оцінки біотехнологічного потенціалу

За результатами була укладена біотехнологічна схема аналізу та відбору штамів та складових живильних середовищ для подальшого аналізу.



Рис. 15. Біотехнологічна схема для проведенного дослідження (оригінал)

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Біосинтез нових хемотипів біоактивних сполук морськими актиноміцетами може бути одним з проявів хімічної адаптації мікроорганізму до умов проживання в морі. Останнім часом з'являється багато повідомлень про природні продукти культивованих актиноміцетів, які виявляють антибактеріальну, протигрибкову або противірусну дію. Деякі з цих сполук, крім антимікробних властивостей, виявляють також цитотоксичність щодо різних ліній пухлинних клітин.

Більшість представлених у літературному огляді агентів є новими молекулами, описаними в період з 2011 по 2018 року [Jakubiec-Krzesniak K., Et al. 2018]. Лише деякі з них мали відому структуру або були синтезовані раніше, більшість описаних сполук було відкрито за допомогою традиційного підходу до скринінгу метаболітів у актинобактеріальному ферментаційному бульйоні. Більшість з них пригнічують ріст грампозитивних бактерій. [Butler et al., 2017] Понад 70% зареєстрованих метаболітів були вироблені різними *Streptomyces* sp. штами; Близько 40% описаних метаболітів було біосинтезовано видами, що походять з морських екосистем, близько 43% отримано з наземних актиноміцетів, тоді як 2% метаболітів були вироблені ендоефітними штамами. Інші мають невідоме походження.

Антагоністичні властивості штамів актиноміцетів строго індивідуальні і залежать від потреб самого штаму. Отже для максимальної ферментаційної активності, стандартизації різних фізичних і фізіологічних факторів, що призводять до вироблення протимікробних метаболітів актиноміцетами необхідне повне знання оптимальних умов конкретного штаму. Загальних залежностей для оптимізації живильних середовищ для культивування представників актиноміцетів з метою підвищення їх антимікробних властивостей виявлено не було, оскільки біологічні властивості представників цієї групи мікроорганізмів видоспецифічні.

Відкриття, розробка та впровадження нового антибіотика у фармацевтичну промисловість – це дуже трудомісткий і складний процес. З економічної точки зору фармацевтичні компанії віддають перевагу розробці ліків для хронічних захворювань, а не для короткочасного лікування. З іншого боку, стрімко зростаюча резистентність мікроорганізмів робить сучасні біоактивні речовини менш ефективними в боротьбі з різними захворюваннями або взагалі непотрібними. Це також пов'язано з надмірним і неправильним використанням антибіотиків у медицині, ветеринарній практиці та сільському господарстві. У цьому контексті, щоб не залишатися безпорадними з точки зору бактеріальних інфекцій, відкриття нових біологічно активних сполук є абсолютно необхідним. Обидва підходи, традиційний спосіб, що спирається на окремі мікроорганізми, виділені з різних середовищ, а також інноваційна стратегія з використанням нових технологій разом з біоінформатикою, досі є дійсними підходами у пошуку нових біоактивних речовин. [Ziemska et al., 2013].

ВИСНОВКИ

1. Максимальну кількість індикаторних штамів пригнічували штамми Conc 19, Conc 24 та Conc 32.
2. При використанні розширених середовищ Гаузе 1, Гаузе 2 та вівсяний агар штам Conc 19 проявив антагоністичну активність проти *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, при використанні середовищ ISP-2 та агар М1 штам Conc 19 проявив антагоністичну активність проти *E. coli* ATCC 25922, *S. enterica* NCTC 6017 та *K. pneumoniae* ATCC 10031. Штам Conc 24 проявив антагоністичну активність проти *B. subtilis* ATCC 6633 при використанні середовищ Гаузе 2, вівсяний агар, ISP-2 та агар М1. Штам Conc 32 проявляв антагоністичну активність проти *M. luteus* ATCC 4698 майже на усіх середовищах; проти *E. coli* ATCC 25922 був активним при використанні середовищ ISP-2 та агар М1; проти *K. pneumoniae* ATCC 10031 був активним при використанні середовищ ISP-2, ККА та агар М1; проти *S. enterica* NCTC 6017 був активним при використанні середовищ ККА та агар 79.
3. Прояву антагоністичної активності штаму Conc 19 сприяє присутність у складі середовищ органічних компонентів – пептону, глюкози та дріжджового екстракту; прояву антагоністичної активності штаму Conc 24 сприяє присутність у складі середовищ дріжджового екстракту; прояву антагоністичної активності штаму Conc 32 сприяє присутність у складі середовищ гідроортофосфату калію (K_2HPO_4), нітрату калію (KNO_3), дріжджового екстракту та казеїну.
4. Прояв антагоністичної активності досліджених актиноміцетів є строго штамспецифічним.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Головач Т.Н. Особенности совместной ферментации белков молока молочнокислыми бактериями различных групп./ Головач Т.Н., Жабанос Н.К., Фурик Н.Н. [и др.] // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 76–84.
2. Страшнова І.В. Мікробіологічні дослідження Чорного моря : монографія / Страшнова І.В., Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Васильєва Н.Ю., Штеніков М.Д., Коротаєва Н.В. [та ін.]; ред. Іваниця В.О.// Одес. нац. ун-т імені І. І. Мечникова. – 2021.
3. Раскошная Т.А. Антагонистическая активность молочнокислых бактерий по отношению к *Klebsiella* spp / Раскошная Т.А., Семенихина В.Ф., Рожкова И.В., Габриэлян Н.И., Романова Н.И.// Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – С. 58.
4. Abdelkader M.S.A. Asenjonamides A-C, antibacterial metabolites isolated from *Streptomyces asenjonii* strain KNN 42.f from an extreme-hyper arid Atacama Desert soil./ Abdelkader M.S.A., Philippon T., Asenjo J.A., Bull A.T., Goodfellow M., Ebel R., Jaspars M., Rateb M.E.// J Antibiot (Tokyo). – 2018. – Vol. 71 – P. 425–431.
5. Adegboye M.F. Actinomycetes: a yet inexhaustive source of bioactive secondary metabolites./ Adegboye M.F., Babalola O.O.// In: Méndez-Vilas A (ed) Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. – 2013. – P. 786–795.
6. Baltz R.H. Daptomycin: mechanisms of action and resistance, and biosynthetic engineering.// Curr Opin Chem Biol. – 2009. – Vol. 13(2) – P. 144–151.
7. Barka E.A. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria/ Barka E.A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau–Vaillant N., Jacquard C., Klenk H.P., Clément C., Ouhdouch Y., van Wezel G.P.// Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2016. – Vol. 80 – P. 1–43.

8. Butler M.S. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015./ Butler M.S., Blaskovich M.A., Cooper M.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2017. – Vol. 70 – P. 3–24.
9. Dastager S.G. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces*/ Dastager S.G., Li W.J., Dayanand A., Tang S.K., Tian X.P., Zhi X.Y., Xu L.H., Jiang C.L.// *African Journal of Biotechnology*. – 2006. – Vol. 5 – P. 1131–1134.
10. Dalisay D.S. Marine sediment-derived *Streptomyces* bacteria from British Columbia, Canada are a promising microbiota resource for the discovery of antimicrobial natural products./ Dalisay D.S., Williams D.E., Wang X.L., Centko R., Chen J., Raymond J.// *PlosOne*. – 2013. – Vol. 8 – P. 1–14.
11. Chen C. Three antimycobacterial metabolites identified from a marine-derived *Streptomyces* sp. MS100061./ Chen C., Wang J., Guo H., Hou W., Yang N., Ren B., Liu M., Dai H., Liu X., Song F., Zhang L.// *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2013. – Vol. 97 – P. 3885–3892.
12. Cruz J.C.S. Allocyclinones, hyperchlorinated angucyclinones from *Actinoallomurus*./ Cruz J.C.S., Maffioli S.I., Bernasconi A., Brunati C., Gaspari E., Sosio M., Wellington E., Donadio S.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2017. – Vol. 70 – P. 73–78.
13. Girard G. A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes./ Girard G., Traag B.A., Sangal V., Mascini N., Hoskisson P.A., Goodfellow M., van Wezel G.P.// *Open biology*. – 2013. – Vol. 3 – P. 130073.
14. Hasani A. Streptomyces: characteristics and their antimicrobial activities./ Hasani A., Kariminik A., Issazadeh K.// *Int J Adv Biol Biomed Res*. – 2014. – Vol. 2 – P. 63–75
15. Hashizume H. Structure and antibacterial activities of new cyclic peptide antibiotics, pargamicins B, C and D, from *Amycolatopsis* sp. ML1-hF4./ Hashizume H., Sawa R., Yamashita K., Nishimura Y., Igarashi M.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2017. – Vol. 70 – P. 699–704.

16. Hensler M.E. Anthracimycin activity against contemporary methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*./ Hensler M.E., Jang K.H., Thienphrapa W., Vuong L., Tran D.N., Soubih E., Lin L., Haste N.M., Cunningham M.L., Kwan B.P.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2014. – Vol. 67 – P. 549–553.
17. Hong H. Sulfation and amidinohydrolysis in the biosynthesis of giant linear polyenes./ Hong H., Samborsky M., Usachova K., Schnatz K., Leadlay P.F., Dickschat J.S.// *Beilstein J Org Chem*. – 2017. – Vol. 13:2408–2415.
18. Hou J. Gilvocarcin HE: a new polyketide glycoside from *Streptomyces* sp./ Hou J., Liu P., Qu H., Fu P., Wang Y., Wang Z., Li Y., Teng X., Zhu W.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2012. – Vol. 65 – P. 523–526.
19. Igarashi Y. Maklamicin, an antibacterial polyketide from an endophytic *Micromonospora* sp./ Igarashi Y., Ogura H., Furihata K., Oku N., Indananda C., Thamchaipenet A.// *J Nat Prod*. – 2011. – Vol. 74(4) – P. 670–674.
20. Jang K.H. Anthracimycin, a potent anthrax antibiotic from a marine-derived Actinomycete./ Jang K.H., Nam S-J., Locke J.B., Kauffman C.A., Beatty D.S., Paul L.A., Fenical W.// *Angew Chemie Int Ed*. – 2013. – Vol. 52 – P. 7822–7824.
21. Jakubiec-Krzesniak K. Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties./ Jakubiec-Krzesniak K., Rajnisz-Mateusiak A., Guspiel A., Ziemska J., Solecka J.// *Polish journal of microbiology*. – 2018. – Vol. 67(3) – P. 259–272.
22. Jiang Z. Xiakemycin A, a novel pyranonaphthoquinone antibiotic, produced by the *Streptomyces* sp. CC8-201 from the soil of a karst cave./ Jiang Z., Guo L., Chen C., Liu S., Zhang L., Dai S., He Q., You X., Hu X., Tuo L.// *J Antibiot (Tokyo)*. – 2015. – Vol. 68 – P. 771–774.
23. Kang H. Mining soil metagenomes to better understand the evolution of natural product structural diversity: pentangular polyphenols as a case study./ Kang H., Brady S.F.// *J Am Chem Soc*. – 2014. – Vol. 136(52) – P. 18111–18119.
24. Khalil Z.G. Amycolatopsins A-C: antimycobacterial glycosylated polyketide macrolides from the Australian soil *Amycolatopsis* sp. MST-108494./ Khalil

- Z.G., Salim A.A., Vuong D., Crombie A., Lacey E., Blumenthal A., Capon R.J.// *J Antibiot* (Tokyo). – 2017. – Vol. 70 – P. 1097–1103.
- 25.Lacret R. New ikarugamycin derivatives with antifungal and antibacterial properties from *Streptomyces zhaozhouensis*./ Lacret R., Oves-Costales D., Gómez C., Díaz C., de la Cruz M., Pérez-Victoria I., Vicente F., Genilloud O., Reyes F.// *Mar Drugs*. – 2014. – Vol. 13 – P. 128–140.
- 26.Latha S. Response surface methodology : A non-conventional statistical tool to maximize the throughput of *Streptomyces* species biomass and their bioactive metabolites./ Latha S., Sivaranjani G., Dhanasekaran D.// *Crit Rev Microbiol*. – 2017. – Vol. 43(5) – P. 567–582.
- 27.Li S. Pseudonocardins A-C, new diazaanthraquinone derivatives from a deep-sea actinomycete *Pseudonocardia* sp. SCSIO 01299./ Li S., Tian X., Niu S., Zhang W., Chen Y., Zhang H., Yang X., Zhang W., Li W., Zhang S., et al.// *Mar Drugs*. – 2011. – Vol. 9 – P. 1428–1439.
- 28.Lin Z. Structure and activity of lobophorins from a turrid mollusk-associated *Streptomyces* sp./ Lin Z., Koch M., Pond C.D., Mabeza G., Seronay R.A., Concepcion G.P., Barrows L.R., Olivera B.M., Schmidt E.W.// *J Antibiot* (Tokyo). – 2014. – Vol. 67 – P. 121–126.
- 29.Liu L-L. Four new antibacterial xanthenes from the marine-derived actinomycetes *Streptomyces caelestis*./ Liu L-L., Xu Y., Han Z., Li Y-X., Lu L., Lai P-Y., Zhong J-L., Guo X-R., Zhang X-X., Qian P-Y.// *Mar Drugs*. – 2012. – Vol. 10 – P. 2571–2583.
- 30.Lu C. Identification of novel tylosin analogues generated by a *wblA* disruption mutant of *Streptomyces anschromogenes*./ Lu C., Liao G., Zhang J., Tan H.// *Microb Cell Fact*. – 2015. – Vol. 14 – P. 173.
- 31.Ludwig W. Road map of the phylum Actinobacteria/ Ludwig W., Euzéby J., Schumann P., Busse H., Trujillo M.E., Kämpfer P., Whitman W.B.// *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. – 2012. – Vol. 5. – P. 1–28.

32. Mahajan G. In vitro and in vivo activities of antibiotic PM181104./ Mahajan G., Thomas B., Parab R., Patel Z.E., Kuldharan S., Yemparala V., Mishra P.D., Ranadive P., D'Souza L., Pari K., Sivaram krishnan H.// *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – Vol. 57 – P. 5315–5319.
33. Maxwell A. The ATP-binding site of type II topoisomerases as a target for antibacterial drugs./ Maxwell A., Lawson D.// *Curr Top Med Chem.* – 2003. – Vol. 3 – P. 283–303.
34. Moaz M.H. Antimicrobial Activity of Marine Actinomycetes and the Optimization of Culture Conditions for the Production of Antimicrobial Agent(s)./ Moaz M.H., Lamis Sh. A., Nayer M.F.// *J Pure Appl Microbiol.* – 2019. – Vol. 13(4) – P. 2177-2188.
35. Moon K. Pentacyclic antibiotics from a tidal mud flat-derived actinomycete./ Moon K., Chung B., Shin Y., Rheingold A.L., Moore C.E., Park S.J., Park S., Lee S.K., Oh K., Shin J.// *J Nat Prod.* – 2014. – Vol. 78(3) – P. 524–529.
36. Mondol M. Antibacterial and antiyeast compounds from marine-derived bacteria./ Mondol M., Shin H.// *Mar Drugs.* – 2014. – Vol. 12 – P. 2913–2921.
37. Niu S. Lobophorins E and F, new spirotetronate antibiotics from a South China Sea-derived *Streptomyces* sp. SCSIO 01127./ Niu S., Li S., Chen Y., Tian X., Zhang H., Zhang G., Zhang W., Yang X., Zhang S., Ju J., Zhang C.// *J Antibiot (Tokyo).* – 2011. – Vol. 64 – P. 711–716.
38. Ouchari L. Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity./ Ouchari L., Boukeskase A., Bouizgarne B., Ouhdouch Y.// *Biol Open.* – 2019. – Vol. 8 – P. 2
39. Pan H-Q. New spirotetronate antibiotics, Lobophorins H and I, from a South China sea-derived *Streptomyces* sp. 12A35./ Pan H-Q., Zhang S-Y., Wang N., Li Z-L., Hua H-M., Hu J-C., Wang S-J.// *Mar Drugs.* – 2013. – Vol. 11 – P. 3891–3901.
40. Phillips J.W. Discovery of kibelomycin, a potent new class of bacterial type II topoisomerase inhibitor by chemical-genetic profiling in *Staphylococcus aureus*./

- Phillips J.W., Goetz M.A., Smith S.K., Zink D.L., Polishook J., Onishi R., Salowe S., Wiltsie J., Allocco J., Sigmund J., et al.// *Chem Biol.* – 2011. – Vol. 18 – P. 955–965.
41. Qin Z. Formicamycins, antibacterial polyketides produced by *Streptomyces formicae* isolated from African *Tetraponera* plant-ants./ Qin Z., Munnoch J.T., Devine R., Holmes N.A., Seipke R.F., Wilkinson K.A., Wilkinson B., Hutchings M.I.// *Chem Sci.* – 2017. – Vol. 8 – P. 3218–3227.
42. Rao M. A new antibacterial lipopeptide found by UPLC-MS from an actinomycete *Streptomyces* sp. HCCB10043./ Rao M., Wei W., Ge M., Chen D., Sheng X.// *Nat Prod Res.* – 2013. – Vol. 27 – P. 2190–2195.
43. Rateb M.E. Chaxamycins A-D, bioactive ansamycins from a hyper-arid desert *Streptomyces* sp./ Rateb M.E., Houssen W.E., Arnold M., Abdelrahman M.H., Deng H., Harrison W.T.A., Okoro C.K., Asenjo J.A., Andrews B.A., Ferguson G., et al.// *J Nat Prod.* – 2011a. – Vol. 74(6) – P. 1491–1499.
44. Rathod B.B. Novel actinomycin group compound from newly isolated *Streptomyces* sp. RAB12: isolation, characterization, and evaluation of antimicrobial potential./ Rathod B.B., Korasapati R., Sripadi P., Reddy Shetty P.// *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2018. – Vol. 102 – P. 1241–1250.
45. Sawa R. Quadoctomycin, a 48-membered macrolide antibiotic from *Streptomyces* sp. MM168-141F8./ Sawa R., Kubota Y., Umekita M., Hatano M., Hayashi C., Igarashi M.// *J Antibiot (Tokyo).* – 2018. – Vol. 71 – P. 91–96.
46. Sharma M. Actinomycetes: source, identification, and their applications./ Sharma M., Dangi P., Choudhary M.// *Int J Curr Microbiol App Sci.* – 2014. – Vol. 3(2) – P. 801–832
47. Shin B. Actinomadurol, an antibacterial norditerpenoid from a rare actinomycete, *Actinomadura* sp. KC 191./ Shin B., Kim B., Cho E., Oh K., Shin J., Goodfellow M.// *J Nat Prod.* – 2016. – Vol. 79(7) – P. 1886–1890.
48. Singh S.B. Kibdelomycin is a bactericidal broad-spectrum aerobic antibacterial agent./ Singh S.B., Dayananth P., Balibar C.J., Garlisi C.G., Lu J., Kishii R., Takei

- M., Fukuda Y., Ha S., Young K.// *Antimicrob Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59 – P. 3474–3481.
- 49.Song Y. Cytotoxic and Antibacterial marfuraquinocins from the deep South China Sea-derived *Streptomyces niveus* SCSIO 3406./Song Y., Huang H., Chen Y., Ding J., Zhang Y., Sun A., Zhang W., Ju J.// *J Nat Prod.* – 2013. – Vol. 76(12) – P. 2263–2268.
- 50.Sun P. Fijimycins A-C, three antibacterial etamycin-class depsipeptides from a marine-derived *Streptomyces* sp./ Sun P., Maloney K.N., Nam S-J., Haste N.M., Raju R., Aalbersberg W., Jensen P.R., Nizet V., Hensler M.E., Fenical W.// *Bioorg Med Chem.* – 2011. – Vol. 19 – P. 6557–6562
- 51.Tindall B.J. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: Past history and current practice/ Tindall B.J., Kämpfer P., Euzéby J.P., Oren A.// *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* – 2006. – Vol. 56 – P. 2715–2720.
- 52.Um S. Ohmyungamycins A and B: cytotoxic and antimicrobial cyclic peptides produced by *Streptomyces* sp. from a Volcanic Island./ Um S., Choi T.J., Kim H., Kim B.Y., Kim S., Lee S.K., Oh K., Shin J., Oh D.// *J Org Chem.* – 2013. – Vol. 78(24) – P. 12321–12329.
- 53.Wu Z. Antibacterial and cytotoxic new napyradiomycins from the marine-derived *Streptomyces* sp. SCSIO 10428./ Wu Z., Li S., Li J., Chen Y., Saurav K., Zhang Q., Zhang H., Zhang W., Zhang W., Zhang S., Zhang C.// *Mar Drugs.* – 2013. – Vol. 11 – P. 2113–2125.
- 54.Xin W. New capoamycin-type antibiotics and polyene acids from marine *Streptomyces fradiae* PTZ0025./ Xin W., Ye X., Yu S., Lian X-Y., Zhang Z.// *Mar Drugs.* – 2012. – Vol. 10 – P. 2388–2402.
- 55.Zhi X.Y. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing

- higher taxa./ Zhi X.Y., Li W.J., Stackebrandt E.// International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2009. – Vol. 59 – P. 589–608.
- 56.Ziemska J. New perspectives on antibacterial drug research. / Ziemska J., Rajnisz A., Solecka J. // Cent Eur J Biol. – 2013. – Vol. 8– P. 943–957.

