

Головоногие моллюски — источники новых антимикробных субстанций

Н. Н. БЕСЕДНОВА¹, Н. Н. КОВАЛЕВ², Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ¹, Т. А. КУЗНЕЦОВА¹, А. К. ГАЖА¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

² Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук, Владивосток

Cephalopods as a Source of New Antimicrobial Substances

N. N. BESEDNOVA¹, N. N. KOVALEV², T. S. ZAPOROZHETS¹, T. A. KUZNETSOVA¹, A. K. GAZHA¹

¹ G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

² Far Eastern Federal University, School of Natural Sciences, Vladivostok

В условиях появления в популяции людей и животных штаммов микроорганизмов с новыми свойствами, в том числе антибиотикорезистентных, продолжается поиск новых антимикробных субстанций с улучшенными фармакологическими свойствами и новыми механизмами действия из природных объектов, в частности из гидробионтов. В настоящем обзоре представлены обширные данные, посвящённые антибактериальным, противовирусным и антифунгальным свойствам биологически активных веществ (БАВ) различной химической природы, полученных из представителей класса головоногих моллюсков (кальмаров, осьминогов, каракатиц, наutilus). Анализ данных литературы свидетельствует, что антибактериальная активность некоторых БАВ не уступает, а в отдельных случаях даже превосходит эффективность существующих антибиотиков. Авторы отмечают, что в обзоре представлены результаты исследований, большая часть которых проведена в условиях *in vitro*. Требуется адекватная экстраполяция этих данных в область применения *in vivo*, что в дальнейшем может заложить основу для разработки лекарственных соединений нового поколения, продуктов функционального питания и биологически активных добавок к пище.

Ключевые слова: головоногие моллюски, биологически активные вещества (БАВ), антибиотики, антимикробные субстанции.

Under the conditions of emergence of microbial strains with new properties, including antibiotic resistance, in human and animal populations the search for new antimicrobial substances with improved pharmacological properties and new mechanisms of action from natural objects, in particular from aquatic organisms, is continued. This review presents extensive data on antibacterial, antiviral and antifungal properties of biologically active substances (BAS) of different chemical nature, recovered from representatives of the class of cephalopods (squid, octopus, cuttlefish, nautilus). Analysis of the literature shows that antibacterial activity of some BAS is not inferior, but in some cases is even superior to that of the available antibiotics. The authors note that the review includes the results, mainly of the *in vitro* studies. Adequate extrapolation of these data to the *in vivo* conditions is required, that could serve as foundation for development of new generations of medicinal compounds, functional foods and biologically active food supplements.

Key words: cephalopods, biologically active substances (BAS), antibiotics, antimicrobial substances.

Природные соединения играют большую роль в создании новых лекарств и развитии фармацевтической промышленности во всём мире.

Уже несколько десятилетий пристальное внимание учёных в качестве богатого источника биологически активных веществ (БАВ) привлекают головоногие моллюски — класс наиболее высокоорганизованных морских моллюсков, включающий около 700 видов, и представленный в основном отрядами кальмаров, каракатиц, наutilusов и осьминогов. В России в северных и дальневосточных морях обитают около 60 видов этих гидробионтов, многие из которых являются объектами промысла.

Одна из самых многочисленных групп головоногих моллюсков (ГМ), являющихся важнейшим резервом высокоценных питательных веществ и биологически активных веществ для медицины, представлена кальмарами. Широкое распространение и способность образовывать плотные скопления дают возможность вести эффективный промысел этих беспозвоночных животных, короткий жизненный цикл и быстрый рост которых определяют ресурсный потенциал. Отходы от переработки кальмаров, которые могут служить источником полезных для медицины БАВ, составляют около 7% [1].

К сожалению, в России в последние годы этому источнику БАВ уделяется значительно меньше внимания, чем в зарубежных странах, хотя в 1990—2000 гг. на Дальнем Востоке перспективные для медицины и фармации соедине-

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова

ния, полученные из кальмаров, изучались достаточно интенсивно в ТИНРО-центре, НИИЭМ им. Г. П. Сомова, ВТМУ [2—5]. Результаты исследований дальневосточных учёных опубликованы в многочисленных статьях, авторами получены патенты на изобретения, широкую известность в России получила биологически активная добавка к пище (БАД) из нервной ткани кальмара «Тинростим». Были также разработаны продукты функционального питания, в состав которых входил тинростим [3]. Жир из печени кальмара предложен в качестве источника ненасыщенных жирных кислот [6, 7]. Хрящевая ткань кальмаров использована в технологии получения БАД хондропротекторного действия [8].

Однако в последнее десятилетие работ, связанных с изучением медицинских аспектов получения и использования БАВ из кальмаров в России стало намного меньше. Прежде всего, это касается антибактериальных, противовирусных и антифунгальных свойств соединений. Антимикробный потенциал каракатиц и осьминогов в отечественной научной литературе практически не представлен, хотя за рубежом такие работы интенсивно проводятся в связи с перспективами получения из этих гидробионтов лекарственных препаратов для лечения пациентов с инфекционными заболеваниями, этиологическим фактором которых являются возбудители с множественной резистентностью к существующим антимикробным препаратам.

В связи с этим настоящий обзор имеет своей целью восполнить данный пробел и представить в сжатой форме состояние вопроса об антимикробном потенциале головоногих моллюсков — кальмаров, каракатиц и осьминогов, а также обратить внимание учёных разных специальностей на возможность получения из этих гидробионтов новых лекарств, продуктов функционального питания и БАД.

Антимикробное действие БАВ из головоногих моллюсков. Рост антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний, вследствие чего медицина может оказаться безоружной перед лицом самых обычных инфекций, диктует необходимость поиска новых малотоксичных или нетоксичных соединений с улучшенными фармакологическими свойствами и новыми механизмами действия, к которым у патогенных микроорганизмов не формировалась бы устойчивость [9, 10].

В литературе в течение нескольких десятилетий появилось большое число работ, освещающих антибактериальную, противовирусную и антифунгальную активность биологически активных веществ из органов, тканей и чернил головоногих моллюсков. Антимикробная активность характерна для экстрактов органов и тканей, гемо-

лимфы, чернил этих гидробионтов и фракций меланина [11—17]. При этом экстракты и полученные из них ткани имеют индивидуальный спектр антибактериальной активности.

Проведённые в различных странах исследования дают основание считать, что практически все ГМ являются богатейшим источником новых антимикробных соединений, к которым могут быть чувствительны штаммы патогенных микроорганизмов, резистентные к препаратам, применяемым в настоящее время в клинической практике.

Наиболее часто авторы в качестве тест-микрообов используют в своих исследованиях микроорганизмы, вызывающие тяжёлые или длительно текущие инфекционные процессы в организме человека: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. и др.

Экстракты из органов и тканей ГМ обладают антибактериальной активностью даже к микроорганизмам с множественной лекарственной резистентностью, которая является большой проблемой для здравоохранения, всё более усугубляющейся с каждым днём, поскольку новые эффективные антибиотики на фармацевтическом рынке появляются нечасто. Антибиотикостойчивые микроорганизмы являются частой причиной внутри- и внебольничных инфекций. В значительной степени это касается возбудителей туберкулёза, болезней мочевых путей, а также воспалительных заболеваний кишечника. В практике врачей часто встречаются метициллинорезистентные *S. aureus*, ванкомицинорезистентные *E. faecalis*, антибиотикостойчивые *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*.

Антимикробная активность продуктов из головоногих моллюсков зависит от вида животного, от концентрации действующего начала (чем выше концентрация, тем более выражен эффект) [18—21].

В проявлении антибактериальной активности экстрактов из моллюсков определённую роль играет pH среды. Так, в одной из работ [22] авторы суспензию ткани чернильной железы кальмара *Loligo duvauceli* центрифугировали при 100 об/мин в течение 5 мин, после чего супернатант делили на две части. Одну часть доводили до pH 4,0 (0,1 Н HCl), другую — до pH 11,5 (1Н NaOH). Более чувствительными к этим растворам были грамотрицательные микроорганизмы. При этом зоны ингибирования были значительно больше в случае использования раствора с pH 11,5. Так, диаметр зоны ингибирования роста *E. coli* раствором с pH 4,0 составил $22 \pm 0,01$ мм, раствором с pH 11,5 — $32 \pm 0,1$ мм; в отношении *Vibrio cholerae* эти показатели составили соответственно $19 \pm 0,02$ и $25 \pm 0,2$ мм.

Отмечена зависимость между типом экстрагента и антимикробной активностью [12]. При

этом нет единого мнения о наиболее эффективных экстрагентах и способах экстракции как по выходу антибактериальных продуктов, так и по спектру антимикробного действия.

В проявлении антимикробной активности играет роль величина молекулярной массы действующего начала. Например, установлено, что антимикробная активность хитозана, который у головоногих можно получить только из гладиуса (тонкая пластинка-остаток внутреннего скелета), зависит от его молекулярной массы. С уменьшением последней повышается антибактериальная активность полисахарида [23]. Отмечена зависимость антимикробной активности от степени ацетилирования соединения [23]. Так, хитозан со степенью ацетилирования 98,01% был активен только в отношении *Listeria monocytogenes* и *Bacillus cereus*, при этом антибактериальная активность по отношению к *B. cereus* повышалась с увеличением степени ацилирования.

Чувствительность грамотрицательных микроорганизмов к БАВ из головоногих моллюсков может быть связана с их антиоксидантными свойствами [24, 25]. Стабильность структуры этих микроорганизмов обеспечивается двухвалентными катионами металлов, которые находятся в комплексе с липополисахаридом, поэтому удаление ионов металлов за счёт связывания их какими-либо хелатирующими агентами приводит к уменьшению стабильности внешней мембраны. Биологически активные вещества из головоногих моллюсков, как свидетельствует ряд сообщений [26–29], обладают антиоксидантными свойствами и способны хелатировать катионы металлов. В результате такого воздействия снижается барьерная функция внешней мембраны грамотрицательных микроорганизмов, что делает их более чувствительными к действию других антибактериальных веществ, которые не способны проникать через неповреждённую мембрану.

Антиоксидантная активность описана для пептидов, полученных из желатина кожи кальмара *Dosidicus gigas* путём триптического гидролиза [30]. При этом способность к ингибированию перекисного окисления липидов у данного гидролизата выражена намного сильнее, чем у известного природного антиоксиданта токоферола. Авторы очистили соединение и охарактеризовали аминокислотную последовательность двух пептидов с наиболее высоким антиоксидантным потенциалом. Молекулярная масса первого пептида составляла 880,18 Да, второго — 1241,59 Да. Авторы полагают, что ведущую роль в проявлении антиоксидантной активности этих соединений играют гидрофобные аминокислоты.

Высокую антиоксидантную, в том числе металлохелатирующую, активность пептидов, полученных из α -хемотрипсинового гидролизата

пищевой части кальмара *L. duvauceli*, обнаружили S. Sudhakar, R. A. Nazeer [31]. Пептиды были нетоксичными и ингибировали перекисное окисление липидов.

О значительной антиоксидантной активности чернил кальмара *Loligo formosana*, освобождённых от меланина, сообщают N. K. Vate, S. Benjakul [28]. Такие чернила обладают железохелатирующей способностью, ингибируют радикалы DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил), задерживают скорость окисления катион-радикала 2,2-азинобис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоната) (ABTS), а также тормозят окисление липидов в рыбном фарше. Авторы полагают, что чернила кальмара могут стать альтернативой синтетическим антиоксидантам, которые в ряде случаев оказывают токсическое действие на организм.

Возникновение и широта распространения многих болезней в значительной степени определяется нарушением гомеостаза организма человека, одной из причин которого является дисбаланс в его нормальной микрофлоре, заселение отдельных частей организма бактериями, продуцирующими вредные для хозяина вещества. К их числу относится гистамин, который принимает участие в патогенезе аллергических заболеваний, язвенной болезни и пр. Гистамин контролируется в пищевых продуктах, поскольку это вещество не должно присутствовать в них из-за своей токсичности. В связи с этим представляет интерес работа P. Sadayan et al., показавших, что экстракты из чернил и тканей осьминога *Octopus dollfusi* ингибируют рост бактерий, продуцирующих гистамин [32]. Такие антибактериальные продукты, по мнению авторов, могут быть перспективными для создания средств, предохраняющих пищевые (в частности, рыбные) продукты от порчи. Кроме того, их можно добавлять в различные продукты функционального питания, как это уже делается в ряде стран. Об антисептическом действии чернил каракатицы *Sepiothuthis lessoniana* на производящийся в Японии мясной продукт ika-shiokara, что увеличивало срок его хранения, сообщает A. Mochizuki [33].

В настоящее время бета-лактамы антибиотиков являются наиболее часто применяемыми препаратами для лечения бактериальных инфекций. Однако их эффективность может снижаться вследствие возникновения к ним устойчивости, причиной чаще всего является продукция бета-лактамаз, способных гидролизовать бета-лактамное кольцо, а также изменение типа строения пенициллинсвязывающих белков [34]. В последние годы большую озабоченность учёных вызывает появление в патогенных для человека микроорганизмах бета-лактамаз с расширенным спектром действия и карбапенемаз, способных разрушать цефалоспорины широкого спектра действия и/или карбапенемы. Продукция бета-

лактамаз находится под контролем хромосомных или плазмидных генов. Гены, кодирующие резистентность к антибиотикам, возникают в результате мутаций либо попадают в микроорганизм извне, например, с помощью плазмид. Известно, что инфекции, обусловленные продуцентами таких бета-лактамаз, ассоциируются с более высокой заболеваемостью и смертностью пациентов [35]. Бета-лактамазы, передаваемые плазмидами, способны гидролизовать пенициллины и обеспечивать общий механизм резистентности микроорганизмов к бета-лактамам антибиотикам [12]. Авторы показали, что продуцентами бета-лактамаз были 71,4% исследованных штаммов *E.coli* и 66,7% — *K.pneumoniae*. Высокую активность в отношении таких штаммов *E.coli* и *K.pneumoniae* проявил неочищенный гексановый экстракт чернил кальмара *L.duvauceli*. Размер зоны ингибирования колебался от 18 мм для *E.coli* и до 23 мм для возбудителя пневмонии. Минимальная ингибирующая концентрация экстракта в среднем для обоих видов микроорганизмов составляла 2,5 мг/мл, бактериостатическая доза — 1,25 мг/мл. Такие экстракты являются ценной биофармацевтической продукцией, которая в дальнейшем может служить основой для создания антимикробных средств против штаммов бактерий, имеющих β -лактамазы с расширенным спектром активности. Другие экстракты (ацетоновый, эфирный, бутаноловый, этаноловый, метаноловый, хлороформный, этилацетатный) показали значительно более низкую активность в отношении штаммов *E.coli* и *K.pneumoniae*, содержащих бета-лактамазы.

В настоящее время около одной трети населения мира инфицировано микобактериями туберкулеза [36]. Эта проблема, актуальная практически для всех стран, чрезвычайно осложнена тем, что *Mycobacterium tuberculosis* приобрела множественную устойчивость к препаратам первой и второй линии, применяемым для лечения пациентов. В связи с этим большой интерес представляет первая работа по исследованию антитуберкулезного действия метанольного и хлороформного экстрактов из чернил *Sepiella inermis* [37]. *M.tuberculosis* была более чувствительной к метанольному экстракту, который обнаруживал ингибирующий эффект в дозе 64 мкг/мл. В составе экстракта обнаружены омега жирные кислоты (гексаеновая, 9,12-октодекодиеновая, 9-октодеценная, октодеканонидная), обладающие способностью нарушать клеточную мембрану микроорганизмов [38]. На наш взгляд, следует обратить особое внимание на это сообщение, поскольку оно открывает перспективы получения лекарственных препаратов для борьбы с таким серьезным и трудно поддающимся лечению заболеванием.

Важной для здравоохранения проблемой являются внутрибольничные инфекции, этиологическим агентом которых являются микроорганизмы с множественной устойчивостью к антибиотикам. В связи с этим представляет интерес работа А.-М. К. Haydar [39], в которой представлены результаты сравнительного исследования *in vivo* на белых мышах действия цефотаксима (250 мг) и экстракта, полученного из каракатицы *Sepia* sp. (эффективная доза — 720 мкг), при заражении животных госпитальными штаммами *S.aureus* и *E.coli*. Экстракт из каракатицы был более эффективен, чем цефотаксим: у инфицированных мышей, получивших экстракт, не увеличивалась масса тела, не повышалась температура и не изменялась формула крови, как это имело место у мышей контрольной группы, получивших вместо экстракта каракатицы 0,85% раствор NaCl. У мышей, получивших экстракт, на 3 день после инфицирования не удалось выделить из печени и селезенки ни *E.coli*, ни *S.aureus*, в то время как у животных, леченных цефотаксимом, *E.coli* изолирована у двух из 6, а *S.aureus* — у 3 из 6 мышей. Авторы обращают внимание на высокую чувствительность госпитальных штаммов стафилококка и кишечной палочки к экстракту, полученному из каракатицы.

Всё более устойчивыми к антибиотикам становятся микроорганизмы, которые ассоциируются с угревой болезнью — *Propionibacterium acnes* и *S.aureus*. J. Champer et al. [40] использовали хитозан для определения противомикробного действия в отношении этих возбудителей, который проявил дозозависимое действие. Хитозан с более высокой молекулярной массой обладал более выраженным антибактериальным действием: в концентрации 5 мкг/мл подавлял рост *P.acnes* на 2 log, в дозе 10 мкг/мл — на 3 log. В отношении стафилококка хитозан был эффективен в более высокой концентрации — 20 мкг/мл.

Электронномикроскопическое исследование показало, что под действием хитозана нарушается целостность клеточной мембраны *P.acnes*, что, по-видимому, и объясняет его антимикробную активность. Флуоресцентное исследование взаимодействия хитозана с бактериями в конфокальном микроскопе позволило установить, что без добавления хитозана бактерии равномерно распределялись в растворе, в то время как в присутствии хитозана микроорганизмы были сгруппированы возле его частиц, что и определяло его антибактериальное действие. Частицы хитозана имели размеры от 5—200 мкм и содержали 0—50 отдельных бактерий.

В литературе появились сообщения о том, что антибактериальная активность БАВ из головоногих моллюсков не уступает, а в отдельных случаях даже превосходит эффективность существующих антибиотиков. Так, Z. D. Degiam,

А. Т. Abas [41] использовали в своей работе для сравнения *in vitro* с помощью метода диффузии в агар официальные препараты — амикацин, карбенициллин, тобрамицин, ципрофлоксацин, эритромицин и гентамицин. У тест-микроба *P.aeruginosa* отсутствовала чувствительность ко всем вышеперечисленным антибиотикам, взятым в эксперимент, в то время как экстракты из *Sepia* sp. и *Loligo* sp. образовывали зону ингибирования роста синегнойной палочки диаметром 23,6 мм и 18 мм соответственно.

С антимикробным действием экстрактов моллюсков ассоциируют различные выделяемые из них соединения. К настоящему времени в моллюсках обнаружены депсипептиды, стерины, полисахариды, в том числе сульфатированные, сексквиптерпены, терпены, полипропионаты, азотистые соединения, макролиды, простагландины, производные жирных кислот [42, 43]. Остановимся на работах последнего десятилетия, в которых представлены материалы, характеризующие механизмы действия соединений с различной химической структурой, полученных из экстрактов тканей головоногих моллюсков.

Из экстракта чернил кальмара *L.duvauceli* (экстракцию проводили гексаном) хроматографическим методом на колонке с силикагелем были получены 8 фракций, одна из которых оказалась очень активной в отношении *E.coli*, *K.pneumoniae* (зона ингибирования роста — 18 мм), *S.aureus* (зона ингибирования роста — 16 мм) и *Candida albicans* (зона ингибирования роста — 23 мм) [44]. В качестве положительного контроля использовали эритромицин и амфотерицин. При помощи газовой хроматографии было установлено, что предположительно действующим началом является фталат (91,43%). На хроматограмме были также отмечены мелкие соединения — октодекан (0,29%), нафталин (0,13%), тетрадекан (0,41%), пентадекан (0,58%), гексадекан (1,02%), гептадекан (0,53%) и холестерин (5,07%), которые обладали антимикробной активностью. Авторы отмечают, что фталат (phthalic acid) по свидетельству других учёных обладает сильным антибактериальным и антифунгальным действием [45, 46]. Значительной бактерицидной активностью обладают и другие минорные летучие соединения, обнаруженные в экстракте — например, октадекан и тетрадекан из *Spirullina* sp. [47], пентадекан и гептадекан из морского ежа [48] и др.

В последнее время в рамках гликомики — науке об углеводах — активное развитие получают исследования, связанные с возможностью использования сложных гликанов (полисахаридов), в том числе гетерополисахаридов, в качестве терапевтических средств [49].

Миметики гликозаминогликанов, в том числе и гепарин/гепарансульфаты, связываясь с

другими макромолекулами, обеспечивают широкий спектр биологических функций (структурную организацию внеклеточного матрикса в соединительных тканях, контроль гомеостаза, специфическое связывание белков плазмы крови с сосудистой стенкой, регуляцию клеточного метаболизма, дифференцировки и агрегации), и дают возможность модулировать влияние многих сигнальных молекул на клетку.

В связи с этим представляют интерес исследования А. Shanmugam et al. [19], в которых из каракатицы *Euprimna berryi* были получены очищенные и неочищенные образцы гепарина и гепариноподобных гликозаминогликанов. В качестве тест-микробов были исследованы *Bacillus subtilis*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Schigella flexneri*, а также грибы — *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium* sp., *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium* sp. и *Candida albicans*. При помощи метода диффузии было установлено, что как очищенные, так и неочищенные образцы были активны против всех использованных в опытах микроорганизмов. При этом антимикробная активность зависела от концентрации образца и была наиболее высокой у образцов 100% концентрации, наиболее низкой при 25% концентрации. Авторы обращают внимание на тот факт, что полисахаридные экстракты из каракатицы являются дешёвым и эффективным источником высокоактивных антибактериальных и антигрибковых субстанций. К сожалению, в работе отсутствует анализ механизма действия выделенных соединений на микробные клетки на молекулярном уровне, а также их химическая характеристика. Однако ценность работы заключается в том, что в ней отражены новые данные по определению связи химической природы действующего начала экстрактов из каракатицы с их антибактериальным действием.

Достаточно много работ посвящено антибактериальному действию хитозана, полученного из головоногих моллюсков [20, 50]. Хитозан представляет собой полисахарид, состоящий из β -(1→4) связанного D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина. Хитозан обычно получают из хитина, который найден в разных биологических источниках, в том числе в моллюсках. При этом выход хитозана из головоногих моллюсков значительно выше, чем из традиционного источника хитозана — краба [51]. Хитин имеет три кристаллические формы — α , β и γ . Ранее уже сообщалось об антибактериальной и антифунгальной активности α -хитозана [52, 53], а также β -хитозана и β -хитозановых плёнок, обладающих антибактериальными свойствами [54, 55]. Однако в течение долгого времени разработки в этом плане ограничивала цитотоксичность этого соединения и отсутствие растворимости в воде. Однако недавно появилась работа S. C. Park et al.

[50], получивших растворимый хитозан из головоногих моллюсков, у которого отсутствовала цитотоксичность. Это так называемый низкомолекулярный водорастворимый β -хитозан, антимикробные свойства которого в этой работе авторы сравнивали с α -хитозаном в условиях различного pH (pH 5,4; pH 7,4) в отношении 10 штаммов патогенных бактерий с лекарственной устойчивостью, полученных от пациентов.

Образцы α - и β -хитозана с м.м. 10 кДа подавляли рост всех тест-микробов (грамотрицательных — *P.aeruginosa*, *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *E.coli* O157; грамположительных — *B.cereus*, *B.megaterium*, *S.aureus*, *S.epidermidis*) в дозах 0,005–0,018 мг/мл. При этом β -хитозан был более эффективен, чем α -хитозан против лекарственно-устойчивых штаммов (например, против *S.aureus*, *P.aeruginosa*).

Антибактериальную активность хитозана объясняют взаимодействием между положительно заряженным хитозаном (протонированная аминогруппа) и отрицательно заряженной бактериальной мембраной (ЛПС в грамотрицательных и липотейхоевая кислота в грамположительных бактериях). Это электростатическое взаимодействие приводит к изменению проницаемости стенки микроба, что вызывает осмотический дисбаланс в бактерии и тем самым ингибируется рост микроорганизма. Кроме того, происходит гидролиз пептидогликана в стенке микроорганизмов, что влечёт за собой утечку внутриклеточных электролитов, например ионов калия, нуклеиновых кислот и низкомолекулярных белковых компонентов (белки, лактадегидрогеназа).

Другой механизм взаимодействия микроорганизмов и хитозана заключается в том, что гидрофобность пиранозидного кольца хитозана способствует транслокации его внутрь гидрофобной хвостовой части липида [50]. В результате ингибируется синтез мРНК и белка бактерий. Вполне вероятно, что все описанные события происходят одновременно, но с разной интенсивностью.

Отмечены различия в антибактериальной активности в зависимости от олигомерности или полимерности хитозана из кальмара [56]. К полимерному хитозану были чувствительны *S.aureus*, *B.cereus* и *B.subtilis*, в то время как к олигомерному образцу полисахарида был чувствителен только *Vibrio parahaemolyticus*.

Эти же авторы исследовали антимикробную активность β -хитозана с м.м. 5 и 10 кДа *in vivo* в отношении лекарственно-устойчивой *P.aeruginosa*. Мышей ICR инфицировали интраперитонеально, через час вводили образцы хитозана. Наблюдение проводили в течение 14 дней. Результаты показали хорошую выживаемость животных, а также была почти нулевой микробная нагрузка в лёгких, почках и печени. Лучшие ре-

зультаты получены с β -хитозаном с м.м. 5 и 10 кДа в дозе 20 мг/кг.

При микроскопическом исследовании под люминесцентным микроскопом культуры *E.coli*, обработанной β -хитозаном с м.м. 5 и 10 кДа, было обнаружено, что у бактерий наблюдается разрушение поверхностной мембраны и образование небольших пузырей, что свидетельствовало о мембранолитическом действии полисахарида. Не обработанные хитозаном бактерии имели гладкую поверхность. Мембранолитическое действие β -хитозана авторы доказали также при использовании искусственных липосом, миметиков бактериальных мембран.

В другой работе [57] было установлено, что бактерицидные концентрации низкомолекулярного хитозана вызывают филаментацию *B.megaterium* и *E.coli*.

В работе [20] авторы приводят гипотезы механизма антибактериального действия хитозана, полученного из кальмара *Sepioteuthis lessoniana* и предполагают, что водорастворимый хитозан увеличивает проницаемость клеточной мембраны, тем самым нарушая целостность бактериальных клеточных мембран. Что же касается водонерастворимого хитозана, то его молекулы могут покрывать поверхность бактериальных клеток, формируя непроницаемый слой вокруг бактерии и блокируя её жизненно важные каналы. Такой слой, по-видимому, может предотвращать поступление в бактерию основных растворённых веществ, что также может дестабилизировать клеточную стенку, приводить к выходу содержимого и в конечном итоге привести к гибели бактерии. Наконец, N. Subhapradha et al. [20] сообщают, что антибактериальный механизм действия хитозана, кроме всего прочего, может быть обусловлен наличием в глюкозамине аминогруппы в положении C2. Авторы высоко оценивают антимикробное действие хитозана и считают его перспективным источником потенциальных фармакологических антимикробных агентов.

Антимикробные пептиды являются важным компонентом врождённого иммунитета, поскольку они не только уничтожают микроорганизмы, но и способны модулировать воспалительный ответ организма. Механизм действия антимикробных пептидов связан с наличием в их структуре положительно заряженных аминокислотных остатков, которые вступают в соединение с отрицательно заряженной мембраной микроорганизмов и проникают внутрь клетки. Антимикробные пептиды действуют на бактерии, грибы и вирусы, имеющие оболочку.

В связи с этим интерес представляет работа M. C. Gomez-Guillen et al. [24], в которой представлены результаты исследования антибактериальных свойств пептидных фракций желати-

на, полученного из гидролизата кожи кальмара *Dosidicus gigas*. Молекулярная масса фракций была различной: PF1 (м.м. 1 мДа) и PF10 (м.м. 10 мДа). Фракции содержали гидрофобные аминокислоты, которые могли способствовать взаимодействию пептида с поверхностью бактерии. Обе фракции обладали антиоксидантными свойствами. При этом более выраженная антиоксидантная активность была присуща фракции с низкой молекулярной массой.

Совсем недавно [58] появилось сообщение об антибактериальной активности пептидов, полученных из этанольного экстракта тканей кальмара *Loligo duvauceli*. Особую ценность результатам исследования придают антибиотикорезистентные штаммы бактерий, использованных в экспериментах, полученные из клинических образцов гноя (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *S.aureus*). Антибактериальная активность этанольного экстракта была высокой (например, для *E.coli* зона ингибирования роста составила $17 \pm 0,29$ мм, для *P.aeruginosa* — $11,45 \pm 0,68$). Из 6 фракций, полученных из этанольного экстракта, две оказались наиболее активными в отношении штаммов пиогенных бактерий. Эти фракции были обработаны протеиназой К. В результате к ним оказались нечувствительными все тест-микроорганизмы, что явилось доказательством их пептидной природы. Антибактериальная активность пептидных фракций была несколько ниже, но всё равно можно считать её достаточно высокой (например, для *E.coli* она составила $9,5 \pm 0,3$ мм, для *P.aeruginosa* — $9,55 \pm 0,6$ мм, для *K.pneumoniae* — $8,2 \pm 0,33$ мм и для *S.aureus* — $11,0 \pm 0,5$ мм). Минимальная ингибирующая концентрация фракции 4 составила для *E.coli* — 31,25 мкг/мл, для *P.aeruginosa* — 62,5 мкг/мл, для *K.pneumoniae* — 125 мкг/мл, для *S.aureus* — 62,5 мкг/мл.

Ферментативный гидролиз белков лежит в основе регуляции важных физиологических процессов (переваривание белковых компонентов пищи, образование кровеносных сосудов, иммунный ответ и пр.) на разных уровнях организации. Процесс протеолиза обеспечивается большим числом протеолитических ферментов (протеаз). Регулируется протеолиз белками-ингибиторами, которые встречаются в организме животных, в бактериях и растениях.

Особую группу белков-ингибиторов животного происхождения составляют серпины, ингибирующие сериновые протеазы — ключевые ферменты, отвечающие за функционирование и взаимосвязь физиологических систем организма. Сериновые протеазы обладают способностью гидролизовать белки расщеплением пептидных связей.

Гомолог серпина был получен из всех исследованных тканей осьминога *Octopus ocellatus* [59] и обозначен как OoSerpin. Соединение имело

молекулярную массу 46,5 кДа и изоэлектрическую точку — 8,52. Полипептид ингибировал пепсин и трипсин. Важным моментом была его способность подавлять рост кишечной палочки. По-видимому, этот белок играет роль в иммунном ответе моллюска, осуществляя антимикробные функции.

О пептидной природе соединения из экстракта чернил каракатицы *Sepia pharaonis* с антибактериальной активностью сообщил V. P. Senan [60]. Среди 5 разных видов микроорганизмов к этому экстракту были чувствительны в большей степени микроорганизмы рода *Bacillus* sp. (зона ингибирования $11 \pm 0,34$ мм), в меньшей — *E.coli* (зона ингибирования — $6 \pm 0,25$ мм). Эффект был дозозависимым, а действующее начало — термостабильным. Автор обращает внимание на тот факт, что поскольку экстракт является перспективным для дальнейших исследований, необходимо сосредоточить внимание на определении структуры молекулы, ответственной за антимикробную активность.

Большой интерес представляет новый белок, лолдувин-S, полученный из чернил кальмара *L.duvauceli* с м.м. 60 кДа и обладающий L-аминооксидазной активностью [61]. К лолдувину-S оказались чувствительными штаммы патогенных для человека бактерий (как грам+, так и грам-), продуцирующих β -лактамазы с расширенным спектром действия (*E.coli*, *K.pneumoniae*), а также метициллино- и амфотерицинорезистентных *S.aureus*. Зона ингибирования роста *E.coli* и *K.pneumoniae* составила 20 мм и 21 мм соответственно, МИК лолдувина-S в отношении этих микроорганизмов была равна 25 мкг/мл. Зона ингибирования роста *S.aureus* составляла 24 мм, МИК лолдувина-S — 3,125 мкг/мл. Авторы обращают внимание на тот факт, что ценность лолдувина определяется его бактерицидной активностью в отношении антибиотикоустойчивых штаммов бактерий и микроорганизмов с расширенным спектром β -лактамаз.

Антифунгальное действие БАВ из головоногих моллюсков. Возбудителями заболеваний человека признаны около 400 видов грибковых инфектантов, из которых около 100 встречаются наиболее часто. Существует много противогрибковых средств с разными механизмами действия. Однако большинство из них имеет побочные эффекты, в связи с чем не прекращается поиск новых эффективных и безвредных антифунгальных препаратов. Работы многочисленных исследователей показывают, что головоногие моллюски являются неисчерпаемым ресурсом БАВ с антифунгальным действием. Вот несколько примеров.

Известно, что у 50–60% здоровых людей и у 90–95% больных СПИДом имеет место носительство *Candida albicans* и так называемые оппортуни-

стическое микозы [62]. В последние годы увеличивается число штаммов этого гриба, устойчивых к существующим лекарственным средствам. Поэтому интерес представляют исследования, касающиеся альтернативных способов лечения с привлечением новых природных БАВ, в частности из морских гидробионтов. В работе P. Bhargava et al. [62] представлены результаты исследования антиканцерогенного действия водного, этанольного, метанольного, ацетонового, гексанового и бутанольного экстрактов чернил каракатицы *Sepia aculeate*. Наилучшие результаты получены при использовании для экстракции комбинации этанола с метанолом (2:18). В этом случае зона ингибирования роста составила 9 мм (референс препарат нистатин показал зону ингибирования роста 14 мм), а минимальная фунгицидная концентрация составила 9,65 мг/мл.

Высокой антифунгальной активностью в отношении *C. albicans* обладает белок из чернил кальмара *L. duvauceli*, лолдувин-S с м.м. 60 кДа, обладающий L-аминоксидазной активностью. Зона ингибирования роста *C. albicans* лолдувином-S составляла 20 мм, МИК — 12,5 мкг/мл [61]. Такой же активностью обладает метанольный экстракт чернил каракатицы *Sepiella inermis* [17]. УФ спектральный анализ позволил установить, что максимальная абсорбция составляет от 274 до 286 нм. Это свидетельствует о бензеноидной природе компонентов экстракта.

Значительной антигрибковой активностью обладают чернила осьминога [63]. Так, зона ингибирования роста *Fusarium* spp. и *A. fumigatus* составляла 18 и 15 мм соответственно. Антифунгальные свойства экстракта чернил каракатицы в отношении *Aspergillus fumigatus*, исследованные *in vivo* и *in vitro*, получили высокую оценку в работе S. R. Fahmy et al. [25]. Авторы связывают антифунгальный эффект с антиоксидантными свойствами экстракта.

Обращает на себя внимание тот факт, что антифунгальное действие определяется как видом моллюска, так и антифунгальным соединением или экстрактом. Кроме того, отмечается индивидуальный спектр активности биологически активных веществ.

A. B. Vito et al. [21] сравнили антифунгальную активность полисахаридных экстрактов из гладысов двух видов кальмаров: *L. duvauceli* и *D. sibogae* в отношении *Aspergillus flavus*, *Candida* sp., *A. fumigatus* и *Rhizopus* sp. Наиболее активным оказался экстракт *L. duvauceli*. Неразведённый экстракт обладал выраженной активностью (≥ 10 мм) в отношении *A. flavus* и *Rhizopus* sp., в то время как к экстракту из *D. sibogae* были слабо чувствительны *A. fumigatus* и *Rhizopus* sp.

Антивирусные свойства БАВ из головоногих моллюсков. Следует отметить, что работ, освещающих антивирусные свойства БАВ и экстрак-

тов из головоногих моллюсков в литературе немного по сравнению с другими гидробионтами (водорослями, иглокожими). Однако и те, что имеются, свидетельствуют о том, что это направление исследований необходимо развивать.

Сообщается об антивирусных свойствах биопродуктов из головоногих моллюсков. Так, водные экстракты чернил из ГМ *Sepiella intermis* и *L. duvauceli* ингибировали обратную транскриптазу вируса мышиной лейкемии [64].

В работе G. Hu et al. [65] описан ингибирующий эффект меланина из чернил каракатицы в дозах 20—125 мкг/мл на процесс апоптоза клеток MDCK, инфицированных вирусом гриппа (штаммы A1/Jingfang 931 и B/Jinfang 931), что авторы объясняют ингибированием адсорбции вирусных частиц к поверхности клеток.

Выше мы указывали на то, что в одной из работ [44] описано антимикробное действие фталата, полученного из чернил кальмара. Позже [66] эти авторы представили убедительные данные о противовирусном (в отношении вируса гепатита С) действии фталат-производного — бис (2-этилгексил) фталата (ВЕНП). Если надежды учёных оправдаются, в будущем может быть разработан препарат нового поколения для лечения больных гепатитом С. К настоящему времени известно много различных средств, которые применяют при этой болезни (интерфероны, иммуномодуляторы, нуклеозиды, аналоги нуклеозидов). Однако высокая способность вируса к мутациям и резистентность к лекарственным средствам ограничивают их эффективность.

Одним из возможных подходов к эффективному патогенетически обоснованному лечению пациентов с клещевым энцефалитом (КЭ) является включение в комплексную терапию биологически активных соединений, выделенных из природных объектов и обладающих в ряду прочих свойств иммуномодулирующим действием [67]. Источником уникальных биологически активных веществ широкого спектра действия являются морские гидробионты, которые в большинстве случаев не токсичны и характеризуются широко и успешно воспроизводимой сырьевой базой [3].

Перспективное для медицинской науки и практики исследование было проведено Н. В. Крыловой [67], которая определяла противовирусную активность в отношении вируса КЭ тинростима — пептида из нервной ткани кальмара с целью выяснения возможности его применения в комплексной терапии этой болезни. Исследование противовирусной активности тинростима проводили на моделях *in vitro* и *in vivo*. При исследовании цитотоксичности тинростима на интактной культуре клеток СПЭВ с использованием различных концентраций пептида (1, 10, 100 и 1000 мкг/мл) было установлено, что МПК (максимально переносимая концентрация,

составляющая 1/2 максимальной концентрации препарата, не оказывающей на клетки токсичного действия), составляла ≥ 1000 мкг/мл, т.е. тинростим был практически не токсичен для используемой культуры клеток. Исследование противовирусной активности тинростима *in vitro* показало, что коэффициент подавления цитопатической активности вируса КЭ составил 58,3 (50,0—66,7)%. Этот уровень подавления репликации вируса зарегистрирован при использовании тинростима в дозе 10 мкг/мл. Минимально эффективная вирусингибирующая концентрация пептида, снижающая титр вируса не менее чем на 2 lg ТЦД₅₀, для тинростима составляла 0,1 мкг/мл.

Н. В. Крылова [67] исследовала также *in vitro* сочетанное действие противовирусного препарата рибавирина и тинростима, в результате чего было установлено, что комбинированное использование рибавирина и тинростима (в соотношении 1:1) снижает титр вируса КЭ на 4,1 (3,7—4,5) lg ТЦД₅₀/мл, подавляя репродукцию вируса на 68,3 (61,7—75,0)%. Эффект комбинации препаратов в данном случае имеет аддитивный характер.

При моделировании *in vivo* вирусной инфекции выживаемость мышей, получавших тинростим, значительно отличалась от таковой у нелеченых животных ($z > 1,960$, $\alpha \leq 0,05$). Пептид защищал от гибели в среднем 25—35% животных, увеличивая СПЖ на 2,7—4,7 дней.

Биологически активные вещества головоногих моллюсков могут оказывать на микроорганизмы не только прямое действие. Большое число работ, в том числе дальневосточных учёных, свидетельствует об иммуномодулирующем действии экстрактов из органов и тканей моллюсков и различных выделенных из них соединений [2—5, 68]. При этом соединения, выделенные из головоногих моллюсков, оказывают влияние как на врождённый, так и на адаптивный иммунитет, а при инфекционных процессах влияют на очищение организма от возбудителя [2, 3].

Пептид из нервной ткани кальмара усиливал фагоцитарную активность мышинных нейтрофилов и макрофагов по отношению к различным патогенным микроорганизмам, а также функциональную активность НК клеток [2—4]. Пептид из нервной ткани кальмара проявлял свойства мультицитокинового индуктора, усиливал гуморальный и клеточный ответ на тимусзависимый антиген — эритроциты барана [4], оказывал стимулирующее действие на факторы врождённого и адаптивного иммунитета у иммунокомпрометированных животных и больных различными инфекционными заболеваниями (псевдотуберкулёз, гонорея, вирусный гепатит, герпесвирусная инфекция). Это свидетельствует о том, что БАВ из головоногих моллюсков могут действо-

вать на возбудитель (бактерии, вирусы) и через иммунную систему. При этом показано, что, например, пептид из нервной ткани кальмара обладает кроме всего прочего антиэндотоксическими свойствами.

Таким образом, БАВ из головоногих моллюсков могут оказывать прямое бактерицидное или бактериостатическое действие на бактерии, а также противовирусное действие. В процесс, кроме того, включаются клеточные и гуморальные факторы врождённого и адаптивного иммунитета, а также антитоксический компонент.

При комплексном применении антибиотика (в случае чувствительности возбудителя к данному антибиотику) и БАВ происходит следующее. Как антибиотик, так и БАВ существенно подавляют функциональную активность возбудителя и делают его более чувствительным к киллерному эффекту фагоцита. БАВ из моллюска существенно стимулирует функциональную активность фагоцитов (нейтрофилов и макрофагов), повышая их способность захватывать и уничтожать патогенные микроорганизмы. То же происходит и при вирусных инфекциях. Так, пептид из нервной ткани кальмара, повышая токсические свойства макрофагов и НК клеток, значительно усиливает их способность убивать вирусинфицированные клетки — главный путь диссеминации возбудителя в организме [3, 67].

Заключение

Таким образом, головоногие моллюски являются богатейшим потенциальным источником многочисленных антибактериальных, антивирусных и антигрибковых соединений различной химической природы, обладающих иммуномодулирующим и антитоксическим потенциалом, который может в дальнейшем служить основой для создания лекарственных соединений нового поколения. Положительным моментом является широкий спектр условно-патогенных и патогенных для человека и животных микроорганизмов, в отношении которых БАВ из головоногих моллюсков оказывают бактерицидный или бактериостатический эффект. Однако пока ещё большая часть исследований проводится *in vitro* и требуется адекватная экстраполяция этих данных в область применения *in vivo*.

Это тем более важно в условиях появления штаммов микроорганизмов с новыми свойствами и возвращения уже когда-то циркулировавших в популяции людей и животных микроорганизмов. Как мы уже упоминали выше, из экстрактов тканей и органов моллюсков выделены соединения различной химической природы, с которыми связывают антимикробную активность. Существующая ситуация, при которой всё больше мик-

роорганизмов становится нечувствительными к применяемым антибиотикам, требует интенсификации исследований, связанных с получением новых антимикробных лекарственных средств. Необходимо междисциплинарное объединение усилий микробиологов, химиков, физиологов, иммунологов, чтобы комплексно решать эту важную проблему, особенно это актуально в настоящее время в связи с необходимостью импортозамещения. Пока ещё нет единого мнения о том, какие субстанции, получаемые из головоногих моллюсков, обладают антимикробными свойствами, хотя для многих соединений явные эффекты уже описаны. В большинстве случаев не ясен механизм действия высокоактивных по отношению к патогенным микробам антими-

кробных соединений, полученных из ГМ, хотя современный методический уровень позволяет проводить высокоточные исследования ультраструктурной организации микроорганизмов, подвергнутых действию БАВ из гидробионтов. Требуют развития исследования, касающиеся мишеней активных антимикробных соединений в бактериях и грибах. Кроме того, необходимо установить, развивается ли устойчивость микроорганизмов к исследуемым антимикробным соединениям, выделяемым из ГМ.

Проведение этих исследований представляет значительные трудности. Однако в условиях всё возрастающей резистентности патогенных микроорганизмов к существующим антибиотикам это становится необходимым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стрижова О.А., Нгуен Тхи Чук Лоан, Слободяник В.С. Кальмары как функциональные ингредиенты пищевых продуктов из гидробионтов. Успехи совр естествознания 2011; 7: 212–213. / Strizhova O.A., Nguen Thi Chuk Loan, Slobodjanik V.S. Kal'mary kak funktsional'nye ingredyenty pishhevyykh produktov iz gidrobiontov. Uspehi sovr estestvoznaniya 2011; 7: 212–213. [in Russian]
2. Газза А.К. Иммуноактивный пептид из оптических ганглиев кальмара: Дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 1994; 124. / Gazza A.K. Immuoaktivnyy peptid iz opticheskikh ganglijev kal'mara: Dis. ... kand. med. nauk. Vladivostok, 1994; 124. [in Russian]
3. Беседнова Н.Н., Эпитейн Л.М. Иммуноактивные пептиды из гидробионтов и наземных животных. Владивосток: ТИНРО-центр, 2004; 248. / Besednova N.N., Jepshtejn L.M. Immuoaktivnye peptidy iz gidrobiontov i nazemnykh zhivotnyh. Vladivostok: TINRO-centr, 2004; 248. [in Russian]
4. Запорожец Т.С. Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов: Дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2006; 350. / Zaporozhec T.S. Kletochnye i molekulyarnye mehanizmy immunomodulirujushhego dejstvija biopolimerov morskikh gidrobiontov: Dis. ... d-ra med. nauk. Vladivostok, 2006; 350. [in Russian]
5. Кузнецова Т.А. Коррекция нарушений иммунитета и гемостаза биополимерами из морских гидробионтов (экспериментальные и клинические аспекты): Дис. ... д-ра мед. наук. М.: 2009; 316. / Kuznesova T.A. Korrekciya narushenij immuniteta i gemostaza biopolimerami iz morskikh gidrobiontov (jeksperimental'nye i klinicheskie aspekty): Dis. ... d-ra med. nauk. M.: 2009; 316. [in Russian]
6. Ермоленко Е.В., Султанов Р.М., Касьянов С.П., Блинов Ю.Г. Комплексная переработка липидов печени командорского кальмара *Berryteuthis magister*. Известия ТИНРО 2014; 176: 288–294. / Ermolenko E.V., Sultanov R.M., Kas'janov S.P., Blinov Ju.G. Kompleksnaja pererabotka lipidov pečeni komandorskogo kal'mara *Berryteuthis magister*. Izvestija TINRO 2014; 176: 288–294. [in Russian]
7. Новгородцева Т.П., Караман Ю.К., Виткина Т.И., Касьянов С.П. Сравнительная характеристика биологической активности жиров из гепатопанкреаса камчатского краба и печени командорского кальмара. Вест ДВО РАН 2007; 6: 105–110. / Novgorodceva T.P., Karaman Ju.K., Vitkina T.I., Kas'janov S.P. Sravnitel'naja harakteristika biologicheskoy aktivnosti zhиров iz gepatopankreasa kamchatskogo kraba i pečeni komandorskogo kal'mara. Vest DVO RAN 2007; 6: 105–110. [in Russian]
8. Пивненко Т.Н., Ковалев Н.Н., Запорожец Т.С. и др. Ферментативные гидролизаты из гидробионтов Тихого океана как основа для создания биологически активных добавок к пище и продуктов функционального питания. Владивосток: Дальнаука, 2015; 160. / Pivnenko T.N., Kovalev N.N., Zaporozhec T.S. i dr. Fermentativnye gidrolizaty iz gidrobiontov Tihogo okeana kak osnova dlja sozdaniya biologicheski aktivnykh dobavok k pishhe i produktov funktsional'nogo pitaniya. Vladivostok: Dal'nauka, 2015; 160. [in Russian]
9. Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev 2010; 74: 3: 417–433.
10. So A., Gupta N., Brahmachari S.K. et al. Towards new business models for R&D for novel antibiotics. Drug Resist Updat 2011; 14: 2: 88–94.
11. Lin L.C., Chen W.T. Antimicrobial and photoactive properties of melanin extracted from various sources of animal. Taiwan. J Agric Chem Food Sci 2004; 42: 315–320.
12. Girija S., Priyadharshini J.V., Pandi S.K. et al. Antibacterial effect of squid ink on ESBL producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Indian J Geo- Marine Sci 2012; 41: 4: 338–343.
13. Mohanraju R., Marri D.B., Karthick P. et al. Antibacterial activity of certain cephalopods from Andamans, India. Int J Pharm Biol Sci 2013; 3: 2: 450–455.
14. Monolisha S., Aswathi E.M., Patterson J., Patterson J.K.E. Molecular characterization and antimicrobial activity of *Octopus aegina* and *Octopus dofusii* in gulf of Mannar coast. Int J Pharm Sci Res 2013; 4: 9: 3582–3587.
15. Troncone L., De Lisa E., Bertapelle C. et al. Morphofunctional characterization and antibacterial activity of haemocytes from *Octopus vulgaris*. J Natur History 2015; 49: 21–24: 1457–1475.
16. Derby C.D. Cephalopod ink: production, chemistry, functions and applications. Mar Drugs 2014; 12: 5: 2700–2730.
17. Vasantharaja D., Ravitchandirane V., Anandan V. Antimicrobial activity and spectro-chemical investigation of ink extracts of *Sepiella inermis* (Van Hasselt 1835). Notulae Sci Biol 2014; 6: 3: 273–275.
18. Liu N., Chen X.G., Park H.J. et al. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. Carbohydr Polym 2006; 64: 60–65.
19. Shanmugam A., Amalraj T., Palpandi C. et al. Antimicrobial activity of sulfated mucopolysaccharides (heparin and heparin-like glycosaminoglycans) from cuttlefish *Euprymna berryi* Sasaki, 1929. Trends Applied Sci Res 2008; 3: 1: 97–102.
20. Subhapradha N., Ramasamy P., Srinivasan A. et al. Preparation of chitosan derivatives from gladius of squid *Sepioteuthis lessoniana* (Lesson, 1830) and antimicrobial potential against human pathogens. J Biol Sci 2013; 13: 257–263.
21. Vito A.B., Shanmugam V., Shanmugam A. Antimicrobial activity of methanolic extract and fractionated polysaccharide from *Loligo duvauceli* Orbingy 1848 and *Doryteuthis sibogae* Adam 1954 on human pathogenic microorganisms. Afr J Microbiol Res 2014; 8: 3: 230–236.
22. Nirmale V., Nayak B.B., Kannapan S. et al. Antibacterial effect of the Indian squid *Loligo duvauceli* (d'Orbigny) ink. J Indian Fisheries Association 2002; 29: 65–69.
23. Andres Y., Giraud L., Gerente C. et al. Antibacterial effects of chitosan powder: mechanisms of action. Environ Technol 2007; 28: 12: 1357–1363.
24. Gomez-Guillen M.C., Lopez-Caballero M.E., Aleman A. et al. Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. Sea By-Products as Real Material: New Ways of Application 2010: 89–115.
25. Fahmy S.R., Soliman A.M., Enas M.A. Antifungal and antihepatotoxic effects of sepia ink extract against oxidative stress as a risk factor of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic mice. Afr. J. Tradit. Complement. Altern Med 2014; 11: 3: 148–159.
26. Chen S.G., Xue C.H., Xue Y. et al. Studies on the free radical scavenging activities of melanin from squid ink. Mar Drugs 2007; 1: 50–55.
27. Gimenez B., Gomez-Estaca J., Aleman A. et al. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. Food Hydrocolloids 2009; 23: 5: 1322–1327.
28. Vate N.K., Benjakul S. Antioxidative activity of melanin-free ink from splendid squid (*Loligo formosana*). Int Aquatic Res 2013; 5: 9–14.
29. Kim R.H., Asaduzzaman A.K.M., Chun B.S. Stability of antioxidant properties and essential amino acids in squid viscera hydrolysate produced using subcritical water. Fisheries Aquatic Sci 2013; 16: 2: 71–78.
30. Mendis E., Rajapakse N., Byun H.G., Kim S.K. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their *in vitro* antioxidant effects. Life Sci 2005; 77: 17: 2166–2178.

31. Sudhakar S., Nazeer R.A. Structural characterization of an Indian squid antioxidant peptide and its protective effect against cellular reactive oxygen species. *J Functional Foods* 2015; 14: 502–512.
32. Sadayan P., Thiagarajan S.P., Balakrishnan B. Inhibitory activity of ink and body tissue extracts of *Euprymna Stenodactyla* and *Octopus Dollfusii* against histamine producing bacteria. *Middle-East J Sci Res* 2013; 16: 4: 514–518.
33. Mochizuki A. An antiseptic effect of cuttlefish ink. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1979; 45: 11: 1401–1403.
34. Samaha-Kfoury J.N., Araj G.F. Recent developments in beta-lactamases and extended spectrum beta-lactamases. *BMJ* 2003; 327: 7425: 1209–1213.
35. Schwaber M.J., Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 5: 913–920.
36. WHO. WHO report: global tuberculosis control. Geneva: WHO Press; 2010.
37. Ravichandiran M., Thiripurasalini S., Ravichandiran V. et al. Chemical constituents and anti-tuberculosis activity of ink extracts of cuttlefish, *Sepiella inermis*. *J Coas Life Med* 2013; 1: 4: 253–257.
38. Desbois A.P., Smith V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl Microbiol Biotech* 2010; 85: 6: 1629–1642.
39. Haydar A-M.K. Evaluation of Cephalopoda extract against some nosocomial bacterial isolates. *J University Thi-Qar* 2013; 2: 1: 30–43.
40. Champer J., Patel J., Fernando N. et al. Chitosan against cutaneous pathogens. *AMB Express* 2013; 3: 1: 37–44.
41. Degiam Z.D., Abas A.T. Antimicrobial activity of some crude marine mollusca extracts against some human pathogenic bacteria. *Thi-Qar Medical J* 2010; 4: 3: 142–147.
42. Blunt J.W., Coop B.R., Munro M.H.G. et al. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 2006; 23: 26–78.
43. Kang H.K., Seo C.H., Park Y. Marine peptides and their anti-infective activities. *Mar Drugs* 2015; 13: 1: 618–654.
44. Girija S., Duraipandyan V., Kuppusamy P.S. et al. Chromatographic characterization and GC-MS evaluation of the bioactive constituents with antimicrobial potential from the pigmented ink of *Loligo duvauceli*. *Int Scholarly Res Not* 2014; Article ID 820745: 7.
45. Parekh J., Jadeja D., Chanda S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish J Biol* 2005; 29: 203–210.
46. Al-Bari M.A.A., Sayeed M.A., Rahman M.S., Mossadik M.A. Characterization and antimicrobial activities of a phenolic acid derivative produced by *Streptomyces bangladeshiensis*, a novel species collected in Bangladesh. *Res J Med Medical Sci* 2006; 1: 77–81.
47. Nazemi M., Khoshkhoo Z., Motalebi A., Karim H. Identification of non polar component and antibacterial activities of *Iophonla evistylus* from Persian Gulf. *Int J Envir Sci Develop* 2010; 6: 2: 92–197.
48. Uma B., Parvathavarthini R. Antibacterial effect of hexan extract of sea urchin *Temnopleurus alexandri*. *Int J Pharm Tech Res* 2010; 2: 3: 1667–1680.
49. Raman R., Raguram S., Venkataraman G. et al. Glycomics: an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans. *Nat Methods* 2005; 2: 11: 817–824.
50. Park S.C., Nam J.P., Kim J.H. et al. Antimicrobial action of water-soluble β -chitosan against clinical multi-drug resistant bacteria. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 4: 7995–8007.
51. Jothi N., Kunthavai N.R. Isolation and identification of chitin and chitosan from cuttle bone of *Sepia prashadi* Winckworth. *Int J Curr Sci* 2014; 11: 18–25.
52. Kong M., Chen X.G., Xing K., Park H.J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol* 2010; 144: 51–63.
53. Jung J., Zhao Y. Impact of the structural differences between α - and β -chitosan on their depolymerizing reaction and antibacterial activity. *J Agric. Food Chem* 2013; 61: 37: 8783–8789.
54. Chen J.L., Zhao Y. Effect of molecular weight, acid and plasticizer on the physicochemical and antibacterial properties of β -chitosan based films. *J Food Sci* 2012; 77: 127–136.
55. Zhong Y., Li Y., Zhao Y. Physicochemical, microstructural, and antibacterial properties of β -chitosan and kudzu starch composite films. *J Food Sci* 2012; 77: 10: E280–286.
56. Sukmark T., Rachtanapun P., Rachtanapun C. Antimicrobial activity of oligomer and polymer chitosan from different sources against foodborne pathogenic bacteria. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2011; 45: 636–643.
57. Park S.C., Nah J.W., Park Y. Ph-dependet mode of antibacterial actions of low molecular weight water-soluble chitosan (LMWSC) against various pathogens. *Macromol Res* 2011; 19: 853–860.
58. Musthafa M., Sankaranarayanan A., Ponnurugan K., Raja S.S.S. Bioactive peptides from *Loligo duvauceli* (Indian marine squid) orbigny against multidrug resistant pyogenic clinical pathogens. *South Indian J Biol Sci* 2015; 1: 24–29.
59. Wei X., Xu J., Yang J. et al. Involvement of a Serpin serine protease inhibitor (OoSerpin) from mollusc *Octopus ocellatus* in antibacterial response. *Fish Shellfish Immunol* 2015; 42: 1: 79–87.
60. Senan V.P. Antibacterial activity of methanolic extract of the ink of cuttlefish, *sepia pharaonis* against pathogenic bacterial strains. *Int J Pharm Sci Res* 2015; 6: 4: 1705–1710.
61. Girija S., Priyadarshini J.V., Pandi S.K. et al. Isolation and characterization of lolduvin-S: a novel antimicrobial protein from the ink of Indian squid *Loligo duvauceli*. *Int J Current Res Rev* 2011; 3: 7: 4–14.
62. Bharthi P., Mani P., Ramasamy M. Anti-candidal activities of *Sepia aculeate* ink extract against multiple resistant *Candida albicans* causing oral candidiasis. *Am J Biol Pharm Res* 2014; 1: 1: 20–25.
63. Venilla R., Rajeshkumar P.K., Kanchana S. et al. Investigation of antimicrobial and plasma coagulation property of some molluscan ink extracts: gastropods and cephalopods. *Afr J Biochem Res* 2011; 5: 1: 14–21.
64. Rajaganapathi J., Thiagarajan S.P., Edward J.K.P. Study on *Cephalopod* ink for antiviral activity. *J Exp Biol* 2000; 38: 519–520.
65. Hu G., Zheng C., Qu S. et al. Studies on inhibitory effect of melanin on the apoptosis induced by influenza virus in host cells. *Virologica sinica* 1999; 2: 88–92.
66. Girija S., Pandi S.K. BEHP — A phthalate derivative characterized from the south indian squid and its anti-HCV like property: an *in vitro* and *in-silico* analysis. *Int J Pharma Bio Sci* 2015; 6: 1: 401–410.
67. Крылова Н.В. Клеточные и молекулярные механизмы противовирусной защиты при клещевом энцефалите: Дис. ... д-ра биол. наук. М.: 2014; 271. / Krylova N.V. Kletochnye i molekulyarnye mehanizmy protivovirusnoj zashhity pri kleshhevom jencefalite: Dis. ... d-ra biol. nauk. M.: 2014; 271. [in Russian]
68. Кузнецова Т.А., Беседнова Н.Н., Запорожец Т.С. и др. Сравнительное исследование иммуномодулирующей активности пептидов — тинростима и тималина. Антибиотики и химиотер 2013; 58: 11–12: 8–12. / Kuznecova T.A., Besednova N.N., Zaporozhec T.S. i dr. Sravnitel'noe issledovanie immunomodulirujushhej aktivnosti peptidov — tinrostima i timalina. Antibiotiki i himioter 2013; 58: 11–12: 8–12. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Беседнова Наталья Николаевна — Академик РАН, д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток

Ковалев Николай Николаевич — д.м.н., профессор кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии Школы естественных наук ДВФУ, Владивосток

Запорожец Татьяна Станиславовна — д.м.н., ВРИО директора НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д.м.н., руководитель лаборатории иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток

Гажва Анна Константиновна — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток