

ANTI-TUMOR ACTIVITY AND SOME ASPECTS OF BIOTECHNOLOGY OF MICROBIAL ANTI-CANCER METABOLITES

S. Vyskirko, O. Skrotska

National University of Food Technologies

Key words:

Cancer
Antitumor metabolites
Fungi
Bacteria
Yeast

Article history:

Received 13.04.2020
Received in revised form
24.04.2020
Accepted 14.05.2020

Corresponding author:

S. Vyskirko
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

Chemotherapy is the most effective treatment for different types of tumors. However, the cancer cells resistance to various compounds, as well as adverse drug reactions create a number of obstacles to the successful use of chemotherapy. In addition, due to more in-depth studies of the antitumor action mechanism and increasing demand for antitumor medicines, the search for new and effective anticancer compounds is relevant. Among the chemotherapeutic agents, a large part are compounds that are obtained with the help of microorganisms — filamentous fungi and bacteria. The researches of the isolation and identification of new strains of microorganisms that are able to synthesize antitumor compounds of various natures, continue nowadays. The review provides information for the last five years' studies of the anticancer properties of new and well-known compounds of microbial origin.

From such sources as soil, plants, algae, seas and oceans, strains of microorganisms have been isolated, in which the ability to synthesize new compounds with antitumor properties has been revealed. In particular, the filamentous fungi produce derivatives of *butenolide*, *penochalasin I*, *chaetocochins G*, *asperpyrone A*, *phomaketide A*, *trichomicin*, *peniquinone A*, *brocazine G*, *cladosporol H*, *phenochalasin B*, *stachybochartin G* and others. Their antitumor properties are shown *in vitro* on different models of tumors — cancer of the pancreatic, ovaries, lungs, breast, liver, cervix, monocytic leukemia, osteosarcoma. Among the bacteria there were isolated and identified strains that synthesize derivatives of *olivomycin A*, *cyclo (S-Pro-S-Val)*, *zincophorin B*, *laterosporulin 10*. These compounds have been shown to be effective anticancer substances. There are few reports in the literature sources for the last five years about the possibility of using yeast for the synthesis of antitumor compounds.

In most of the investigated articles, the authors isolate, purify and identify new compounds that have antitumor properties. However, researchers do not determine at what concentration the biologically active metabolite is synthesized during cultivation and do not optimize the biosynthesis process.

ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ І ДЕЯКІ АСПЕКТИ БІОТЕХНОЛОГІЇ МІКРОБНИХ ПРОТИРАКОВИХ МЕТАБОЛІТІВ

С. І. Вискірко, О. І. Скроцька

Національний університет харчових технологій

Хіміотерапія є найбільш ефективним методом лікування різних типів пухлин. Проте стійкість ракових клітин до різних сполук, а також побічні ефекти ліків створюють ряд перешкод для успішного застосування хіміотерапії. Крім того, завдяки більш поглибленим дослідженням механізму протипухлинної дії та збільшенням попиту на протипухлинні препарати, пошук нових і ефективних антиракових сполук є актуальним. Серед хіміотерапевтичних засобів велику частку складають сполуки, які отримують за допомогою мікроорганізмів — міцеліальних грибів і бактерій. На сьогодні продовжуються дослідження з виділення та ідентифікації нових штамів мікроорганізмів, які здатні синтезувати протипухлинні сполуки різної природи. В огляді наведено інформацію за останні п'ять років щодо досліджень протиракових властивостей нових і відомих сполук мікробного походження.

З таких джерел, як ґрунт, рослини, водорості, моря та океани виділені штами мікроорганізмів, в яких виявлено здатність до синтезу нових сполук з протипухлинними властивостями. Зокрема, міцеліальні гриби продукують похідні бутеноліду, пенохалазин І, хетокохін G, асперпірон А, фомакетид А, трихоміцин, пеніхінон А, броказин G, кладоспорол Н, фенохалазин В, стахібохартин G тощо. Показано їхні протипухлинні властивості in vitro на різних моделях пухлин — раку підшлункової залози, яєчників, легень, молочної залози, печінки, шийки матки, моноцитарного лейкозу, лейкемії, остеосаркоми. Серед бактерій виділено та ідентифіковано штами, які синтезують похідні олівоміцину А, цикло(S-пролін-S-валін), цинкофорин В, латероспорулін ІО. Ці сполуки виявились ефективними протираковими субстанціями. В літературі останніх п'яти років мало повідомлень про можливість використання дріжджів для синтезу протипухлинних сполук.

У більшості проаналізованих статей автори виділяють, очищають та ідентифікують нові сполуки, які володіють протипухлинними властивостями. Проте дослідники не визначають, у якій концентрації синтезується біологічно активний метаболіт під час культивування та не проводять оптимізацію процесу біосинтезу.

Ключові слова: *рак, протипухлинні метаболіти, гриби, бактерії, дріжджі.*

Постановка проблеми. У 2018 р. у світі діагностовано близько 18,1 млн нових випадків захворювання на рак. У тому ж році від онкологічних хвороб померло 9,6 млн осіб. Встановлено, що рак легенів, печінки і шлунка — найбільш поширені види пухлин, які призвели до летальних наслідків у 3,3 млн осіб. На другому місці за причинами смертності від різних типів пухлин рак молочної залози і колоректальний рак [1].

На сьогодні хіміотерапія залишається одним із основних методів лікування різних типів пухлин. Однак ефективність хіміотерапії знижується через стійкість до лікарських препаратів. Стійкість до протипухлинних сполук може бути первинною і вторинною. Первинна (внутрішня) резистентність виникає, коли генетичні зміни в злоякісних клітинах забезпечують їм стійкість до різних сполук ще до моменту введення відповідних ліків. Вторинна (набута) резистентність виникає під час хіміотерапії. Також слід наголосити, що в осіб з одним і тим же типом раку ефективність одного й того самого лікування може бути різною [2]. Тому на сьогодні існує гостра необхідність в нових і більш ефективних протипухлинних препаратах.

Велику частку серед хіміотерапевтичних засобів складають сполуки, отримані з використанням мікроорганізмів — міцеліальних грибів і бактерій. Серед бактеріальних продуцентів велику групу складають актиноміцети, які продукують протипухлинні антибіотики [3]. Тож дослідження з виділення та ідентифікації нових штамів мікроорганізмів, які здатні синтезувати протипухлинні сполуки різної природи, продовжуються.

Мета статті: аналіз сучасної літератури щодо протипухлинної активності речовин, які продукуються дріжджами [4—6], а також новими штамми грибів і бактерій, що були виділені з різних джерел — морів та океанів [7—9], рослин [10—14], водоростей [15—18], ґрунту [19—24], ризосферного ґрунту рослин [25; 26] тощо.

Викладення основних результатів дослідження. Метаболіти міцеліальних грибів з протипухлинною активністю. За останні п'ять років досліджені нові сполуки, які синтезуються різними родами міцеліальних грибів — похідні бутеноліду [7], пеноксалазин I [12], хетоксін G [14], асперпірон A [16], фомакетид A [18], трихоміцин [20], пеніхінон A [25], броказин G [27], кладоспорол H [28], фенохалазин B [29], стахібохартин G [30] тощо. Крім виділення, очистки та ідентифікації цих сполук, показані їх протипухлинні властивості *in vitro* на різних моделях пухлин — раку підшлункової залози [7; 16], яєчників [10], легень [11; 12; 17; 28], молочної залози [12; 14; 20; 25], печінки [13; 32], шийки матки [28; 31], моноцитарного лейкозу [15], лейкемії [19], остеосаркоми [30].

Під Aspergillus. Продуцентами великої кількості сполук з різноманітними біологічними властивостями є морські ендоефітні гриби. Так, пренільовані дифенілефіри, які є вторинними метаболітами *Aspergillus tennesseensis* OUCMBI140430, проявляють антимікробну та цитотоксичну активність. Зокрема, показано протипухлинну активність 3-(2-(1-гідрокси-1-метил-етил)-6-метил-2,3-дигідробензофуран-4-ілокси)-5-метилфенолу (похідне дигідробензофурану) на культурі клітин TNP-1 (моноцитарний лейкоз) та здатність пригнічувати ріст *Bacillus subtilis* у концентрації 2 мкг/мл [15].

Серед метаболітів *Aspergillus* sp. XNM-4 були ідентифіковані сполуки, які належать до димерних нафтопіронів. Серед них найбільшу протипухлинну активність стосовно клітинної лінії PANC-1 (аденокарцинома протоків підшлункової залози) проявив асперпірон A. Встановлено, що ця речовина запускає синтез активних форм кисню (АФК) у раковій клітині, індукуючи таким чином апоптоз пухлинних клітин [16].

Досліджуючи асперазин A та асперазин, які синтезуються ендоефітними грибами *Aspergillus niger* (GenBank: HM590646), Li зі співавт. спостерігали

лише слабку протипухлинну активність стосовно лінії клітин A2780 (рак яєчників). Автори також дослідили інші вторинні метаболіти *Aspergillus niger*, але не виявили їхньої протипухлинної активності [10].

Серед метаболітів морських грибів *Aspergillus terreus* (GenBank: MF993118) виявлено дванадцять похідних бутеноліду. Найбільшу протипухлинну активність встановлено у 3,3-ди-(диметилаліл)-бутиролактону II щодо клітинної лінії PANC-1. Досліджувана сполука індукуює апоптоз і пригнічує проліферацію пухлинних клітин [7].

Досліджено протипухлинну активність метаболітів *Aspergillus terreus* JAS-2, що був виділений із *Achyranthus aspera* (соломоцвіт шорсткуватий). Серед метаболітів була ідентифікована сполука 4,5-дигідрокси-3-(1-пропеніл)-2-циклопентен-1-он. Проте вона показала меншу протиракову активність на культурі клітин A549 (карцинома легеневого епітелію), ніж неочищений супернатант штаму JAS-2. Автори пояснюють цей факт наявністю у супернатанті додаткових неідентифікованих протипухлинних сполук [11].

Під *Penicillium*. Meng зі співавт. описали чотири нових дикетопіперазина (спіроброказини A, B, C та броказин G), продуцентом яких є *Penicillium brocae* MA-231. Сполуки досліджували на моделі раку яєчників людини з використанням чутливої (A2780) та резистентної (A2780 CisR) лінії клітин до цисплатину (офіційальний протипухлинний засіб, комплексна сполука платини). Висока активність була виявлена у спіроброказину C, який проявив дію на клітинах A2780, а також у броказину G, що інгібував ріст обох клітинних ліній [27].

Серед метаболітів *Penicillium chrysogenum* V11 виділено та ідентифіковано новий хетоглобозин — пенохалазин I. Для дослідження його протипухлинної активності використовували клітинні лінії MDA-MB-435 (рак молочної залози), SGC-7901 (рак шлунка) та A549. Пенохалазин I проявив виражену цитотоксичну активність щодо досліджуваних клітинних ліній, що дає змогу використовувати цю сполуку при розробці нових або ж модифікації існуючих протипухлинних засобів [12].

Penicillium janthinellum HDN13-309 — ендоефітний гриб, виділений з кореня *Sonneratia caseolaris*. Серед метаболітів штаму HDN13-309 виділили шість нових алкалоїдів — пенісульфураноли A-F. Це похідні епіполітіодикетопіперазинів (токсини грибів), у структурі яких є дисульфідний або полісульфідний місток, що сполучений із дикетопіперазиновим кільцем. Встановлено, що пенісульфураноли A-C мають дисульфідний міст, а пенісульфураноли D-F — полісульфідний. Саме пенісульфураноли A, B і C виявили протипухлинну дію *in vitro* на моделях раку шийки матки (клітини HeLa) та лейкемії людини (клітини HL-60). Автори припустили, що саме наявність дисульфідного містка може відігравати ключову роль у виявленій протипухлинній активності досліджених пенісульфуранолів [31].

Gao зі співавт. виділили з *Penicillium brefeldianum* XMK-2 один новий індолітерпен (6,7-дегідропаксилін), індол-дикетопіперазин (спиротрипростатин F) та 13-членний макролід (N-диметилмелерорид A), а також 8 відомих алкалоїдів. Серед цих сполук лише спиротрипростатин F та N-диметилмелерорид A виявили помірну цитотоксичну активність щодо ліній ракових клітин MDA-MB-435 і HepG2 (гепатоцелюлярна карцинома) [13].

Серед метаболітів *Penicillium* sp. L129 виявлені нові сполуки: пеніхінон А та В, пенізофуран А, хінадолін D. Встановлено, що пеніхінон А володіє високою протипухлинною активністю *in vitro* на моделях аденокарциноми молочної залози (клітини MCF-7), гліобластоми (клітини U87) та раку передміхурової залози (клітини PC3). Пеніхінон В проявив відносно слабку протипухлинну дію, а пенізофуран А та хінадолін D практично не інгібували ріст пухлинних клітин [25].

Представники інших родів. Виявлено протипухлинну дію кладоспоролів (F, G, H, I, C, J, B), що синтезуються *Cladosporium cladosporioides* EN-399 на моделі *in vitro* з використанням перещеплюваних клітин A549, HeLa, MCF-7, H446 (рак легень), Huh7 (гепатокарцинома), LM3 (рак печінки). Найбільш активними виявились кладоспори G, H та C, які мали цитотоксичну активність до більшості ракових клітин. Проте найбільш ефективним був кладоспорол H, що може бути пов'язано з наявністю в його складі дигідро-1,4-нафтохінонового фрагменту [28].

З червоних водоростей *Grateloupia turuturu* був виділений штам ендоефітних грибів *Paecilomyces variotii* EN-291. Встановлено його здатність синтезувати пренільовані індольні алкалоїди: дигідрокарнеамід А та ізо-нотамід В. Ці сполуки мали слабку протипухлинну дію на моделі раку легень з використанням лінії клітин NCI-H460 [17]. У подальшому серед метаболітів штаму EN-291 було виявлено та ідентифіковано нові речовини — варіолоїди А та В. Вони проявили сильну протипухлинну дію *in vitro* на моделі раку товстого кишечника (клітини HCT-116), а також при використанні перещеплюваних клітин HepG2 і A549 [32].

Ангіогенез — це процес формування кровоносних судин з існуючої судинної мережі до пухлини, саме він є однією з причин швидкого росту злоякісних пухлин та їх метастазування. Lee зі співавтор. дослідили антиангіогенні властивості фомакетиду А, що синтезується ендоефітними грибами *Phoma* sp. NTOU4195. У досліджах *in vitro* автори використовували ендотеліальні клітини-попередники (EPCs), які утворюються в кістковому мозку і опосередковують ранній ріст пухлини і пізню метастатичну прогресію через індукцію ангіогенезу [18].

Гриби *Eutypella scoparia* PSU-H267 були виділені з листя *Hevea brasiliensis*. Серед метаболітів цього штаму ідентифіковано фенохалазин В, який показав протипухлинну активність на моделі раку порожнини рота людини (перещеплювана лінія клітин KB) [29].

Л-аспарагіназа використовується при лікуванні різних пухлин — лімфоми Ходжкіна, гострого лімфоцитарного та мієлоцитарного лейкозу, лімфосаркоми, меланосаркоми тощо. Цей фермент отримують за допомогою бактерій, проте бактеріальна Л-аспарагіназа має ряд побічних ефектів: викликає панкреатит, дисфункцію печінки, а також призводить до розладів нервової системи. Тому нині розпочали досліджувати можливість використання грибної Л-аспарагінази як протипухлинного засобу. Так, на моделі лейкемії (клітинна лінія Jurkat) показано протипухлинну активність Л-аспарагінази, що синтезується *Fusarium culmorum* ASP-87 [19].

Серед вторинних метаболітів *Chaetomium* sp. 88194 були виділені та ідентифіковані індольні дикетопіперазини: хетокохін G, оїдіоперазин E і хетосемінудин E. Протипухлинні властивості були виявлені у хетокохіну G при ви-

користанні перещеплюваної лінії клітин MCF-7. Сполука викликала апоптоз ракових клітин, збільшуючи експресію генів, які кодують проапоптичні білки і понижуючи активність гену *Bcl-2*, що пригнічує розвиток апоптозу [14].

Нещодавно ідентифіковано нову низькомолекулярну сполуку, яку синтезують клітини *Trichoderma hanzanum* Rifai — трихоміцин. Показано широкий спектр протипухлинної активності трихоміцину на різних моделях пухлин *in vitro*: рак товстого кишечника (HCT-116, HT-29), рак шлунку (BGC823), рак легень (A549), рак молочної залози (MCF-7), рак нирок (ACHN), рак шийки матки (SMMC-7721), рак підшлункової залози (SW1990) тощо. Встановлено, що досліджувана сполука індукуює апоптоз ракових клітин за допомогою інгібування передачі сигналів IL-6/JAK/STAT3 [20].

Виявлено, що клітини *Stachybotrys chartarum* PT2-12 синтезують сім нових похідних фенілспіродріману — стахібохартини А-Г. Серед них, при використанні перещеплюваних ракових клітин MDA-MB-231 (потрійний негативний рак молочної залози) і U-2OS (остеосаркома), найбільшу активність виявили стахібохартини А-Д і Г. Саме стахібохартин Г мав найвищий показник протипухлинної дії, а механізм його протиракової активності полягає в активації каспазозалежного апоптозу в пухлинних клітинах [30].

У табл. 1. наведена узагальнена інформація про різні протипухлинні сполуки, які синтезуються міцеліальними грибами.

Таблиця 1. Особливості біотехнології та протипухлинна активність *in vitro* метаболітів міцеліальних грибів

Продукт	Умови культивування (джерело вуглецю та азоту (г/л))	Ідентифікована сполука	Проти- пухлинна активність* (лінія клі- тин)	Джере- ло
1	2	3	4	5
<i>A. tennesseensis</i> OUCMBP140430	28°C, статичні умови, 30 діб (манітол — 20, глюкоза — 10, пептон — 3, дріжджовий екстракт — 5)	Похідне дигідробензо- фурану	7 мкг/мл (THP-1)	[15]
<i>Aspergillus</i> sp. XNM-4	25°C, pH 5,6, поверхневе культивування 10 діб (солодовий екстракт — 130)	Асперпірон А	8,25 мкг/мл (PANC-1)	[16]
<i>A. niger</i>	25°C, 110 об/хв, 8 діб (картопляно-декстрозний бульйон)	Асперазин	56,3 мМ (A2780)	[10]
<i>A. terreus</i>	28°C, 35 діб, статичні умови (рис:вода — 1:1)	Похідне бутенолду	5,3 мкМ (PANC-1)	[7]
<i>P. brocae</i> MA-231	28°C, 150 об/хв, 4 доби (глюкоза — 14, манітол — 9,6, глутамат натрію — 1,2)	Броказин Г	664 нМ (A2780), 661 нМ (A2780 CisR)	[27]
<i>P. chrysogenum</i> V11	28°C, 30 діб, статичні умови (рис:вода — 1:1)	Пенохалазин І	7,3 мкМ (SGC-7901), 7,5 мкМ (MDA-MB- 435)	[12]

1	2	3	4	5
<i>P. janthinellum</i> HDN13-309	28°C, 28 діб (мальтоза — 20, маніт — 20, глюкоза — 10, глутамат натрію — 10, дріжджовий екстракт — 3, кукурудзяний сироп — 0,5)	Пенісульфуранол А	0,1 мкМ (HL-60), 0,5 мкМ (HeLa)	[31]
<i>P. brefeldianum</i> XMK-2	28°C, 35 діб, статичні умови (рис:вода — 0,8:1,2)	Спіротрипростатин F	14,1 мкМ/л (HepG2)	[13]
<i>Penicillium</i> sp. L129	28°C, 40 діб, статичні умови (рис:вода — 0,8:1,2)	Пеніхінон А	9,01 мкМ (U87), 12,39 мкМ (MCF-7), 14,59 мкМ (PC3)	[25]
<i>C. cladosporioides</i> EN-399	24°C, 30 діб, статичні умови (рис — 70, пептон — 0,3; кукурудзяний екстракт — 0,1)	Кладоспорол Н	1,0 мкг/мл (Huh7), 4,1 мкг/мл (LM3), 5,0 мкг/мл (A549)	[28]
<i>P. variotii</i> EN-291	24°C, pH 7, 30 діб, статичні умови (манітол — 20, глюкоза — 10, пептон — 3, дріжджовий екстракт — 5)	Варіолоїд А	2,5 мкг/мл (HepG2)	[32]
		Варіолоїд В	4,6 мкг/мл (A549)	
<i>Phoma</i> sp. NTOU4195	25—30°C, 10 діб (декстроза — 30, пептон — 6, дріжджовий екстракт — 3)	Фомакетид А	8,1 мкМ (EPCs)	[18]
<i>E. scoparia</i> PSU-H267	24°C, 28 діб (картопляно-декстрозний відвар)	Фенохалазин В	2,46 мкМ (KB)	[29]
<i>F. culmorum</i> ASP-87	30°C, 120 об/хв, 96 год (L-аспарагін — 10, глюкоза — 2)	L-аспарагіназа	90 мкг/мл (Jurkat)	[19]
<i>Chaetomium</i> sp. 88194	25°C, 28 діб, статичні умови (рис:вода — 1:1)	Хетокохін G	8,3 мкг/мл (MCF-7)	[14]
<i>T. hazianum</i> Rifai	25°C, pH 6, 210 об/хв, 120 год (глюкоза — 20, гліцерин — 10, соєвий екстракт — 20, пептон — 10)	Трихоміцин	1,96 мкМ (HCT-116), 5,39 мкМ (BGC823)	[20]
<i>S. chartarum</i> PT2-12	28°C, 45 діб, статичні умови (рис:вода — 3,2:4)	Стахібохартин G	4,5 мкМ (U-2OS)	[30]

Примітка: * — наведена концентрація досліджуваної сполуки, що викликає 50% лізису моношару ракових клітин (індекс цитотоксичності, IC₅₀).

Бактеріальні метаболіти. Серед бактерій, у яких виявлено здатність до синтезу протипухлинних сполук, велику групу складають стрептоміцети [8; 21—23; 33—35]. Крім цієї групи бактерій, за останні п'ять років досліджено представників інших родів, при культивуванні яких синтезуються протиракові метаболіти [9; 24; 26; 36—39].

Рід *Streptomyces*. Бактерії цього роду є продуцентами багатьох біологічно активних сполук, які мають антибактеріальні, протигрибкові, противірусні, антитромботичні й протипухлинні властивості. На сьогодні продовжуються дослідження з виділення нових штамів бактерій роду *Streptomyces*, їх моди-

фікації та вивчення біологічних властивостей нових метаболітів стрептоміцетів [40].

Із зразків ґрунту виділений штам *Streptomyces* sp. AGM12-1. Штам синтезує сполуку, яка є похідною дикетопіперазину і була ідентифікована як цикло(S-пролін-S-валін). Речовина проявила протипухлинну активність на перещеплюваних клітинах HepG2 і HCT-116. З метою отримання цикло(S-проліну-S-валіну) з високою протипухлинною активністю автори провели дослідження з оптимізації складу поживного середовища (підбір різних джерел вуглецю та азоту, а також їх концентрацій), вибору оптимального рН й тривалості культивування. При цьому автори не наводять концентрацію вказаної сполуки у культуральній рідині [21].

На моделі гепатоцелюлярної карциноми людини *in vitro* показано протипухлинну дію епсилон-полі-L-лізину (ϵ -PL), який синтезується *Streptomyces albulus* NK660 [33]. Досліджено вплив рН на синтез ϵ -PL в процесі біосинтезу. На початку культивування штаму NK660 значення рН було на рівні 7, а через 48 год почало знижуватись і на 54 год культивування рівень рН становив 4 і не змінювався до кінця процесу біосинтезу. Встановлено, що саме при досягненні рН 4 розпочинається синтез ϵ -PL бактеріями *S. albulus* NK660 [22].

Streptomyces peucetius є продуцентом доксорубіцину — антрациклінового антибіотику, який використовується при хіміотерапії злоякісних пухлин. Wang зі співор., використовуючи метод УФ-опромінення та дію потоку гелієвої плазми, отримали мутантний штам *S. peucetius* 33-24, який синтезував доксорубіцин у концентрації 570 мг/л. При цьому вихідний штам *S. peucetius* SIPI-11 продукував майже у 5 разів менше антибіотику. Здійснивши оптимізацію складу поживного середовища та параметрів культивування, автори визначили оптимальні дані для підвищеного синтезу доксорубіцину. В результаті його концентрація у культуральній рідині збільшилась майже вдвічі і становила 1100 мг/л [34]. На моделі раку язика з використанням клітинної лінії H357 було встановлено, що доксорубіцин знижує рівень експресії та активність РНК-хелікази DDX3 у ракових клітинах. Отже, цей антибіотик можна буде також використовувати при лікуванні пухлин, асоційованих з DDX3 [41].

На експериментальній моделі раку шийки матки *in vitro* показано протипухлинну активність аналогу аклаціноміцину (акларубіцину), який продукується *Streptomyces lavendofoliae* (Y8). Вказана сполука виявила антиметастатичну активність на клітинній лінії HeLa, навіть при її використанні у кількості 1 мкМ, що є майже втричі нижчим за встановлений індекс цитотоксичності [23].

З морської губки *Dysidea avara* був виділений штам *Streptomyces* sp. SP 85, який синтезував сполуку, що за будовою була похідною олівоміцину А. Сполука на моделі колоректальної аденокарциноми з використанням лінії клітин SW480 проявила протипухлинну дію, що була у кілька разів сильнішою порівняно з доксорубіцином [8].

Із супернатанту *Streptomyces nigra* sp. nov. 452^T були виділені та ідентифіковані різні сполуки, що є похідними дикетопіперазину. Серед них найбільшу протипухлинну активність *in vitro* виявили цикло(пролін-аланін) на моделі раку легень і цикло(пролін-фенілаланін) на моделі раку товстого кишечника [35].

Бактерії інших родів. У 2018 р. із роду *Streptomyces* був виокремлений рід *Embleya*. На сьогодні цей рід включає два види: *E. scabrispora* і *E. hyaline*. Нещодавно із ризосферного ґрунту пшениці було виділено штам *Embleya* NEAU-wh-3-1, який продукував ряд протипухлинних речовин. Найбільш активною виявилась сполука, яку було ідентифіковано як аналог цинкофोरину, тож її названо цинкофорином В [26].

Протипухлинну дію в експериментах *in vitro* та *in vivo* проявив сконцентрований у 10 разів депротейнізований супернатант *Rhodococcus* sp. lut0910. Він показав антипроліферативну дію на клітинах HepG2 та HeLa. У досліджах з використанням лабораторних мишей BALB/c з трансплантованими клітинами гепатокарциноми H22 при пероральному введенні досліджуваного розчину метаболітів спостерігали зменшення розмірів пухлини [24].

Молочнокислі бактерії *Enterococcus faecium* GR7 синтезують фермент аргінін-деїміназу, який проявляє активність проти меланоми, гепатокарциноми та інших пухлин. Кауг зі співавтор. оптимізували склад поживного середовища з метою отримання ферменту з високою активністю при культивуванні штаму GR7. У результаті активність ферменту зросла у 23,5 раза, а кількість біомаси клітин — у 2,3 раза. Також автори перевірили різні способи виділення й очистки аргінін-деїмінази з метою отримання максимально очищеного ферменту з високою активністю. Ефективним виявився триступеневий спосіб з використанням амоній сульфату з подальшою ультрафільтрацією із застосуванням діалізних касет і гель-фільтрації за допомогою сефадексу G-100 [36].

Із зразків поверхневих вод Антарктики виділено бактерії *Bacillus* sp. N11-8. Їхні внутрішньо- та позаклітинні метаболіти проявили протипухлинну дію *in vitro* з використанням перещеплюваних ракових клітин A549, MCF-7, U251 (клітини гліоми), RKO (карцинома товстого кишечника). В той же час метаболіти штаму N11-8 мали низьку цитотоксичність до неракової клітинної лінії HFL1 (фібробласти легень людини) [37].

Нещодавно були дослідженні внутрішньоклітинні метаболіти морських бактерій *Bacillus velezensis* RP137, які показали протипухлинну активність на перещеплюваних клітинах HepG2, HeLa, A449 та MCF-7. З метою збільшення синтезу концентрації біомаси та протипухлинних метаболітів оптимізовані джерела вуглецю (пшеничне борошно, рисовий крохмаль, рисова патока) та азоту (сульфат амонію, нітрат калію, пептон), які входили до складу поживного середовища при культивуванні штаму RP137. Найбільшу протипухлинну активність проявили метаболіти при вирощуванні цих бактерій на середовищі з рисовим крохмалем і нітратом калію [9].

Латероспорулін 10 (LS10) — дефенсиноподібний бактеріоцин білкової природи, продуцентом якого є *Brevibacillus* sp. SKDU10. На сьогодні є дослідження, які підтвердили антимікробні властивості даної сполуки [38]. Baindara зі співавт. встановили протипухлинну дію LS10 *in vitro*, працюючи з раковими клітинами MCF-7, HeLa, H1299 (карцинома легені) та HT1080 (фібросаркома). Білок LS10 викликав апоптоз пухлинних клітин при його використанні у концентрації 2,5 мкМ, а при збільшенні його концентрації до 15 мкМ спостерігали некротичний ефект пухлинних клітин. Слід наголосити, що LS10 не проявляв цитотоксичної дії при використанні неракових клітин епітелію простати RWPE-1 [39].

Узагальнені дані щодо бактеріальних протиракових метаболітів, які були розглянуті вище, а також умови культивування продуцентів наведено у табл. 2.

Таблиця 2. Бактерії як продуценти протипухлинних сполук

Продуцент	Умови культивування (джерело вуглецю та азоту (г/л))	Сполука	Проти- пухлинна активність* (лінія клітин)	Джерело
<i>Streptomyces</i> sp. AGM12-1	30°C, pH 7, 11 діб (манітол — 25, сульфат амонію — 2)	Цикло(S- пролін-S- валін)	3,3 мкг/мл (HCl-116), 1,1 мкг/мл (HepG-2)	[21]
<i>S. albulus</i> NK660	30°C, 180 об/хв, pH 7, 9 діб (гліцерин — 210, пептон — 7, сульфат амонію — 19)	ε-PL	13,49 мкг/мл (HepG2)	[22, 33]
<i>S. peucetius</i> 33-24	28°C, pH 6,2, 6 діб (мальтодекстрин — 150, сухі дріжджі — 35)	Доксорубіцин	50 мкМ (H357)	[34, 41]
<i>S. lavendofoliae</i> (Y8)	30°C, 130 об/хв, pH 7, 10 діб (крохмаль — 10, пептон — 10)	Аналог акларубіцину	2,9 мкМ (HeLa)	[23]
<i>Streptomyces</i> sp. SP 85	28°C, pH 7,3, 5 діб (крохмаль — 8, солодовий екстракт — 10, гліцерин — 2, триптон — 1, дріжджовий екстракт — 3)	Похідне олівоміцину А	16 нМ (SW480), 78 нМ (MCF7), 93 нМ (HepG2)	[8]
<i>S. nigra</i> sp. nov. 452 [†]	30°C, 180 об/хв, 10 діб (пептон — 5, дріжджовий екстракт — 1)	цикло(про- ала)	18,5 мкг/мл (A549)	[35]
		цикло(про- фен)	32,3 мкг/мл (HCT-116)	
<i>Embleva</i> NEAU- wh-3-1	28°C, 250 об/хв, pH 7,2—7,4, 7 діб (мальтодекстрин — 40, лактоза — 40, дріжджовий екстракт — 5)	Цинкофорин В	9,6 мкг/мл (HepG2)	[26]
<i>Rhodococcus</i> sp. Lut0910	30°C, 180 об/хв, 48 год (глюкоза — 10, пептон — 5)	Депротейні- зований супернатант	73,39 мкг/мл (HepG2), 33,09 мкг/мл (Hela)	[24]
<i>E. faecium</i> GR7	30°C, pH 6, 24 год (лактоза — 10, триптон — 15, аргінін — 20 мМ)	Аргінін- деїміназа	1,95 мкг/мл (HepG2)	[36]
<i>Bacillus</i> sp. N11-8	25°C, 200 об/хв, pH 6,5—7, 48 год (триптон — 10, екстракт яловичини — 3)	Внутрішньо- та позаклітинні метаболіти	30,15 мкг/мл (MCF-7), 45,1 мкг/мл (RKO), 55 мкг/мл (U251)	[37]
<i>B. velezensis</i> RP137	30°C, 180 об/хв, 7 діб (рисовий крохмаль — 15, нітрат калію — 15, дріжджовий екстракт — 1)	Внутрішньо- клітинні метаболіти	8,7 мкг/мл (HepG2), 7,3 мкг/мл (HeLa)	[9]
<i>Brevibacillus</i> sp. SKDU10	37°C, 30 год (пептон — 10, екстракт яловичини — 10)	Латеро- спорулін 10	10 мкМ** (MCF-7, HEK293T, HT1080, HeLa, H1299)	[38, 39]

Примітка: * — наведена концентрація досліджуваної речовини, що викликає 50% лізису моношару ракових клітин (індекс цитотоксичності, IC₅₀); ** — наведено значення IC₇₀.

Метаболіти дріжджів. На сьогодні є невелика кількість повідомлень про можливість використання дріжджів для синтезу протипухлинних сполук. Зокрема, для отримання носкапіну [4] та ганодерної кислоти [5] ведуться дослідження з конструювання рекомбінантних продуцентів. Також виявлено протипухлинні властивості софороліпідів природного штаму дріжджів [6].

Носкапін — це алкалоїд фталідизохіноліна, що має протипухлинні властивості. На моделях аденокарциноми молочної залози (клітинні лінії MCF-7 та MDA-MB-231) показано, що носкапін індукуює апоптоз у ракових клітинах [42]. Природним джерелом носкапіну є мак *Papaver somniferum*. Тому на сьогодні ведуться роботи з конструювання рекомбінантних мікроорганізмів, які були б здатні синтезувати цю сполуку, а також з оптимізації параметрів їх культивування. Так, Лі зі співавтор. було здійснено оптимізацію складу джерел вуглецю (декстроза, галактоза, сахароза, трегалоза, гліцерин) у поживному середовищі з метою отримання максимальної концентрації носкапіну в процесі культивування генетично модифікованого штаму *Saccharomyces cerevisiae* CSY1153. У результаті концентрація носкапіну при культивуванні штаму CSY1153 зросла з 15 мкг/л до 2,2 мг/л [4].

Ганодерна кислота має протипухлинні та антиметастатичні властивості [5]. Також було показано її здатність *in vitro* індукувати апоптоз та зупиняти ріст мультиформної гліобластоми (лінія клітин U251), яка є найбільш агресивною формою пухлини мозку [43]. Lan зі співавторами сконструювали штам дріжджів *S. cerevisiae* CYP5150L8-г-iGLCPR-г, здатний синтезувати ганодерну кислоту (GA-HLDOA). Для цього в клітини дріжджів були введені гени, що відповідають за біосинтез GA-HLDOA із трутовика *Ganoderma lucidum*. Автори оптимізували склад поживного середовища для культивування дріжджів, в результаті чого концентрація GA-HLDOA збільшилась в 10,5 разів і становила 154,45 мг/л [5].

На моделі раку шийки матки (лінії клітин HeLa і CaSki) показано протипухлинну дію софороліпідів *Starmarella bombicola* CGMCC 1576. Штам синтезує шість різних софороліпідів. Найбільша протипухлинна активність виявлена у диацетильованого лактонного (C18:1) софороліпиду, який викликав апоптоз ракових клітин і при цьому не був токсичним при використанні нормальних (неракових) клітин [6].

Сполуки, які можна отримати з використанням дріжджів, і дані про їхню протипухлинну дію *in vitro* наведені у табл. 3.

Таблиця 3. Протипухлинна активність сполук, що синтезуються дріжджами

Продуцент	Особливості культивування (джерело вуглецю та азоту (г/л))	Сполука	Протипухлинна активність* (лінія клітин)	Джерело
1	2	3	4	5
<i>S. cerevisiae</i> CSY1153	25°C, 96 год (декстроза — 20, гліцерин — 100, пептон — 20, дріжджовий екстракт — 10)	Носкапін	54 мкМ (MCF-7), 29 мкМ (MDA-MB-231)	[4; 42]
<i>S. cerevisiae</i> CYP5150L8-г-iGLCPR-г	30°C, 220 об/хв, 144 год (гліцерин — 40 г/л, глюкоза — 20, пептон — 20, дріжджовий екстракт — 10)	Ганодерна кислота	20 мг/мл викликає 26% апоптозу (U251)	[5; 43]

1	2	3	4	5
<i>S. bombicola</i> CGMCC 1576	30°C, 200 об/хв, 168 год (глюкоза — 80, дріжджовий екстракт — 3, рапсове або ляльне масло — 60)	Диацетильований лактонний (C18:1) софороліпід	12,23 мкг/мл (HeLa), 25,45 мкг/мл (CaSki)	[6]

Примітка: * — наведена концентрація досліджуваної сполуки, що викликає 50% лізису моношару ракових клітин (індекс цитотоксичності, IC₅₀).

Висновки

За останні п'ять років з різних джерел були виділені та ідентифіковані мікроорганізми, які синтезують протипухлинні сполуки. При цьому вони по-різному виявляють свої властивості з огляду на експериментальну модель. У більшості проаналізованих статей автори виділяють, очищають та ідентифікують нові сполуки, які володіють протипухлинними властивостями. Проте дослідники не визначають, у якій концентрації синтезується біологічно активний метаболіт під час культивування та не проводять оптимізацію процесу біосинтезу. Тому наступним етапом досліджень має стати оптимізація параметрів культивування продуцента з метою отримання високих концентрацій нових протипухлинних сполук.

Література

1. Ashu E. E., Xu J., Yuan Z. C. Bacteria in cancer therapeutics: a framework for effective therapeutic bacterial screening and identification. *J. Cancer*. 2019, 10 (8): 1781-1793. doi: 10.7150/jca.31699.
2. Senthebane D. A., Rowe A., Thomford N. E., Shipanga H., Munro D., Mazeedi M. A., Almazyadi H. A. M., Kallmeyer K., Dandara C., Pepper M. S., Parker M. I., Dzobo K. The role of tumor microenvironment in chemoresistance: to survive, keep your enemies closer. *Int. J. Mol. Sci*. 2017, 18 (7): E1586. doi: 10.3390/ijms18071586.
3. Giddings L. A., Newman D. J. Microbial natural products: molecular blueprints for antitumor drugs. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. 2013, 40 (11): 1181—1210. doi: 10.1007/s10295-013-1331-1.
4. Li Y., Li S., Thodey K., Trenchard I., Cravens A., Smolke C. D. Complete biosynthesis of noscapine and halogenated alkaloids in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018, 115 (17): E3922-E3931. doi: 10.1073/pnas.1721469115.
5. Lan X., Yuan W., Wang M., Xiao H. Efficient biosynthesis of antitumor ganoderic acid HLDOA using a dual tunable system for optimizing the expression of CYP5150L8 and a *Ganoderma* P450 reductase. *Biotechnol. Bioeng*. 2019, 116 (12): 3301—3311. doi: 10.1002/bit.27154.
6. Li H., Guo W., Ma X. J., Li J. S., Song X. *In vitro* and *in vivo* anticancer activity of sophorolipids to human cervical cancer. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 2017, 181 (4): 1372—1387. doi: 10.1007/s12010-016-2290-6.
7. Qi C., Gao W., Guan D., Wang J., Liu M., Chen C., Zhu H., Zhou Y., Lai Y., Hu Z., Zhou Q., Zhang Y. Butenolides from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus* with antitumor activities against pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Bioorg. Med. Chem*. 2018, 26 (22): 5903—5910. doi: 10.1016/j.bmc.2018.10.040.
8. Gozari M., Bahador N., Mortazavi M. S., Eftekhari E., Jassbi A. R. An “olivomycin A” derivative from a sponge-associated *Streptomyces* sp. strain SP 85. *3 Biotech*. 2019, 9 (12): 439. doi: 10.1007/s13205-019-1964-5.
9. Pournejati R., Karbalaee-Heidari H. R. Optimization of fermentation conditions to enhance cytotoxic metabolites production by *Bacillus velezensis* strain RP137 from the persian gulf. *Avicenna J. Med. Biotech*. 2020, 12 (2): 116—123.
10. Li X. B., Li Y. L., Zhou J. C., Yuan H. Q., Wang X. N., Lou H. X. A new diketopiperazine heterodimer from an endophytic fungus *Aspergillus niger*. *J. Asian Nat. Prod. Res*. 2015, 17 (2): 182—187. doi: 10.1080/10286020.2014.959939.

11. Goutam J., Sharma G., Tiwari V. K., Mishra A., Kharwar R. N., Ramaraj V., Koch B. Isolation and characterization of "Terrein" an antimicrobial and antitumor compound from endophytic fungus *Aspergillus terreus* (JAS-2) associated from *Achyranthus aspera* Varanasi, India. *Front. Microbiol.* 2017, 8: 1334. doi: 10.3389/fmicb.2017.01334.
12. Huang S., Chen H., Li W., Zhu X., Ding W., Li C. Bioactive chaetoglobosins from the mangrove endophytic fungus *Penicillium chrysogenum*. *Mar. Drugs.* 2016, 14 (10): E172. doi: 10.3390/md14100172.
13. Gao N., Shang Z.-C., Yu P., Luo J., Jian K.-L., Kong L.-Y., Yang M.-H. Alkaloids from the endophytic fungus *Penicillium brefeldianum* and their cytotoxic activities. *Chinese Chemical Letters.* 2017, 28 (6): 1194—1199. doi: 10.1016/j.cclet.2017.02.022.
14. Wang F. Q., Tong Q. Y., Ma H. R., Xu H. F., Hu S., Ma W., Xue Y. B., Liu J. J., Wang J. P., Song H. P., Zhang J. W., Zhang G., Zhang Y. H. Indole diketopiperazines from endophytic *Chaetomium* sp 88194 induce breast cancer cell apoptotic death. *Sci. Rep.* 2015, 5: 9294. doi: 10.1038/srep09294.
15. Li Z. X., Wang X. F., Ren G. W., Yuan X. L., Deng N., Ji G. X., Li W., Zhang P. Prenylated diphenyl ethers from the marine algal-derived endophytic fungus *Aspergillus tennesseensis*. *Molecules.* 2018, 23 (9): 1-7. doi: 10.3390/molecules23092368.
16. Xu K., Guo C., Shi D., Meng J., Tian H., Guo S. Discovery of natural dimeric naphthopyrones as potential cytotoxic agents through ROS-mediated apoptotic pathway. *Mar. Drugs.* 2019, 17 (4): E207. doi: 10.3390/md17040207.
17. Zhang P., Li X. M., Wang J. N., Li X., Wang B. G. Prenylated indole alkaloids from the marine-derived fungus *Paecilomyces variotii*. *Chinese Chem. Lett.* 2015, 26 (3): 313—316. doi: 10.1016/j.cclet.2014.11.020.
18. Lee M. S., Wang S. W., Wang G. J., Pang K. L., Lee C. K., Kuo Y. H., Cha H. J., Lin R. K., Lee T. H. Angiogenesis inhibitors and anti-inflammatory agents from *Phoma* sp. NTOU4195. *J. Nat. Prod.* 2016, 79 (12): 2983—2990. doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00407.
19. Meghavarnam A. K., Salah M., Sreepriya M., Janakiraman S. Growth inhibitory and proapoptotic effects of l-asparaginase from *Fusarium culmorum* ASP-87 on human leukemia cells (Jurkat). *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2017, 31 (3): 292—300. doi: 10.1111/fcp.12257.
20. Zhu F., Zhao X., Li J., Guo L., Bai L., Qi X. A new compound Trichomicin exerts antitumor activity through STAT3 signaling inhibition. *Biomed. Pharmacother.* 2020, 121: 109608. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109608.
21. Ahmad M. S., El-Gendy A. O., Ahmed R. R., Hassan H. M., El-Kabbany H. M., Merdash A. G. Exploring the antimicrobial and antitumor potentials of *Streptomyces* sp. AGM12-1 isolated from egyptian soil. *Front. Microbiol.* 2017, 8: 438. doi: 10.3389/fmicb.2017.00438.
22. Geng W., Yang C., Gu Y., Liu R., Guo W., Wang X., Song C., Wang S. Cloning of ϵ -poly-L-lysine (ϵ -PL) synthetase gene from a newly isolated ϵ -PL-producing *Streptomyces albulus* NK660 and its heterologous expression in *Streptomyces lividans*. *Microb. Biotechnol.* 2014, 7 (2): 155—64. doi: 10.1111/1751-7915.12108.
23. Bundale S., Begde D., Pillai D., Gangwani K., Nashikkar N., Kadam T., Upadhyay A. Novel aromatic polyketides from soil *Streptomyces* spp.: purification, characterization and bioactivity studies. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2018, 34 (5): 67. doi: 10.1007/s11274-018-2448-1.
24. Zhang X. G., Liu Z. Y., Liu J. W., Zeng Y. L., Guo G. J., Sun Q. Y. Antitumor activity of a *Rhodococcus* sp. Lut0910 isolated from polluted soil. *Tumour Biol.* 2017, 39 (6): 1010428317711661. doi: 10.1177/1010428317711661.
25. Zhang H. M., Ju C. X., Li G., Sun Y., Peng Y., Li Y. X., Peng X. P., Lou H. X. Dimeric 1,4-benzoquinone derivatives with cytotoxic activities from the marine-derived fungus *Penicillium* sp. L129. *Mar. Drugs.* 2019, 17 (7): E383. doi: 10.3390/md17070383.
26. Wang H., Sun T., Song W., Guo X., Cao P., Xu X., Shen Y., Zhao J. Taxonomic characterization and secondary metabolite analysis of NEAU-wh3-1: an embleya strain with antitumor and antibacterial activity. *Microorganisms.* 2020, 8 (3): E441. doi: 10.3390/microorganisms8030441.
27. Meng L. H., Wang C. Y., Mándi A., Li X. M., Hu X. Y., Kassack M. U., Wang B. G. Three diketopiperazine alkaloids with spirocyclic skeletons and one bis-thiodiketopiperazine derivative from the mangrove-derived endophytic fungus *Penicillium brocae* MA-231. *Organic. Letters.* 2016, 18 (20): 5304—5307. doi: 10.1021/acs.orglett.6b02620.

28. Li H. L., Li X. M., Mandi A., Antus S., Li X., Zhang P., Liu Y., Kurtán T., Wang B. G. Characterization of cladosporels from the marine algal derived endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* EN-399 and configurational revision of the previously reported cladosporel derivatives. *J. Org. Chem.* 2017, 82 (19): 9946—9954. doi: 10.1021/acs.joc.7b01277.
29. Kongprapan T., Rukachaisirikul V., Saithong S., Phongpaichit S., Poonswan W., Sakaya-roj J. Cytotoxic cytochalasins from the endophytic fungus *Eutypella scoparia* PSU-H267. *Phytochemistry Letters*. 2015, 13: 171—176. doi:10.1016/j.phytol.2015.06.010.
30. Zhang H., Yang M. H., Zhuo F. F., Gao N., Cheng X. B., Wang X. B., Pei Y. H., Kong L. Y. Seven new cytotoxic phenylspirodrimane derivatives from the endophytic fungus *Stachybotrys chartarum*. *RSC Adv.* 2019, 9: 3520—3531. doi: 10.1039/c8ra10195g.
31. Zhu M., Zhang X., Feng H., Dai J., Li J., Che Q., Gu Q., Zhu T., Li D. Penicisulfuranols A-F, alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Penicillium janthinellum* HDN13-309. *J. Nat. Prod.* 2017, 80(1): 71—75. doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00483.
32. Zhang P., Li X. M., Mao X. X., Mandi A., Kurtan T., Wang B.-G. Varioloid A, a new indolyl-6,10b-dihydro-5aH-[1]benzofuro[2,3-b]indole derivative from the marine alga-derived endophytic fungus *Paecilomyces variotii* EN-291. *Beilstein J. Org. Chem.* 2016, 12: 2012—2018. doi: 10.3762/bjoc.12.188.
33. Shi C., Zhao X., Liu Z., Meng R., Chen X., Guo N. Antimicrobial, antioxidant, and antitumor activity of epsilon-poly-L-lysine and citral, alone or in combination. *Food Nutr. Res.* 2016, 60: 31891. doi: 10.3402/fnr.v60.31891.
34. Wang X., Tian X., Wu Y., Shen X., Yang S., Chen S. Enhanced doxorubicin production by *Streptomyces peucetius* using a combination of classical strain mutation and medium optimization. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2018, 48 (6): 514—521. doi: 10.1080/10826068.2018.1466156.
35. Chen C., Ye Y., Wang R., Zhang Y., Wu C., Debnath S. C., Wu M. *Streptomyces nigra* sp. nov. is a novel actinobacterium isolated from mangrove soil and exerts a potent antitumor activity *in vitro*. *Frontiers in Microbiology*. 2018, 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.01587.
36. Kaur B., Kaur R. Purification of a dimeric arginine deiminase from *Enterococcus faecium* GR7 and study of its anti-cancerous activity. *Protein Expr. Purif.* 2016, 125: 53—60. doi: 10.1016/j.pep.2015.09.011.
37. Lanhong Z., Kangli Y., Jia Liu, Mi S., Jiancheng Z., Mei L., Daole K., Wei W., Mengxin X., Zhao L. Screening of microorganisms from Antarctic surface water and cytotoxicity metabolites from Antarctic microorganisms. *Food Sci. Nutr.* 2016, 4(2): 198—206. doi: 10.1002/fsn3.273.
38. Baindara P., Singh N., Ranjan M., Nallabelli N., Chaudhry V., Pathania G.L., Sharma N., Kumar A., Patil P.B., Korpole S. Laterosporulin10: a novel defensin like class IId bacteriocin from *Brevibacillus* sp. strain SKDU10 with inhibitory activity against microbial pathogens. *Microbiology*. 2016, 162 (8): 1286—1299. doi: 10.1099/mic.0.000316.
39. Baindara P., Gautam A., Raghava P. S., Korpole S. Anticancer properties of a defensin like class IId bacteriocin Laterosporulin10. *Sci. Rep.* 2017, 7: 46541. doi: 10.1038/srep46541.
40. Palazzotto E., Tong Y., Lee S. Y., Weber T. Synthetic biology and metabolic engineering of actinomycetes for natural product discovery. *Biotechnol. Adv.* 2019, 37 (6): 107366. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.03.005.
41. Botlagunta M., Kollapalli B., Kakarla L., Gajarla S. P., Gade S. P., Dadi C. L., Penumadu A., Javeed S. *In vitro* anti-cancer activity of doxorubicin against human RNA helicase, DDX3. *Bioinformation*. 2016, 12 (7): 347—353. doi: 10.6026/9732063001234.
42. Quisbert-Valenzuela E. O., Calaf G. M. Apoptotic effect of noscapine in breast cancer cell lines. *Int. J. Oncol.* 2016, 48 (6): 2666—2674. doi: 10.3892/ijo.2016.3476.
43. Cheng Y., Xie P. Ganoderic acid A holds promising cytotoxicity on human glioblastoma mediated by inducing apoptosis and autophagy and inactivating PI3K/AKT signaling pathway. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2019, 33 (11): e22392. doi: 10.1002/jbt.22392.