Antimikrobni potencijal morskih organizama

Dvorščak, Bruno

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:778213

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-30**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

BRUNO DVORŠČAK

Antimikrobni potencijal morskih organizama

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Zavod za farmakologiju i toksikologiju

Predstojnik: Doc. dr. sc. Jelena Šuran

Mentorice: Doc. dr. sc. Jelena Šuran i dr. sc. Josipa Vlainić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Frane Božić

2. Prof. dr. sc. Andreja Prevendar Crnić

3. Doc. dr. sc. Jelena Šuran

Zahvaljujem se svojim mentoricama, doc. dr. sc. Jeleni Šuran i dr. sc. Josipi Vlainić, na stručnom vodstvu i savjetima kojima su mi pomogli u izradi ovog diplomskog rada.

Hvala svim djelatnicima Veterinarskog fakulteta na strpljenju i pažnji posvećenoj mom obrazovanju, te kolegama i prijateljima koji su mi bili podrška tijekom studija.

I na kraju, najveće hvala mojoj obitelji, koja je moj najveći oslonac.

Popis kratica

DNA- deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

RNA- ribonukleinska kiselina (engl. *ribonucleic acid*)

MIK- minimalna inhibicijska koncentracija

AMP- antimikrobni peptidi

MRSA- meticilin rezistentan soj *Staphylococcus aureus*

VRSA- vankomicin rezistentan soj *Staphylococcus aureus*

USFDA- Agencija za hranu i lijekove Sjedinjenih Američkih Država (The United States Food and Drug Administration)

EPA- eikosapentaenojska kiselina

DHA- dokozaheksaenojska kiselina

NOAA- Nacionalna agencija za istraživanje oceana i atmosfere (engl. National Oceanic and Atmospheric Administration)

HSV- *Herpes simplex virus*

pABA- para – aminobenzojska kiselina

POPIS PRILOGA

Slike

Slika 1. Raznolikost koraljnog grebena

Slika 2. Prirodni nukleozidi spongouridin i spongotimin te njihovi sintetski analozi citarabin, vidarabin i aciklovir

Slika 3. NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) Aquarius Reef Base

Slika 4. Metagenomika

Slika 5. Postotak zastupljenosti prirodnih produkata dobivenih od morskih bakterija roda *Actinomyces*

Slika 6. *Tectitethya crypta*

Slika 7. Lijekovi morskog podrijetla koji su u komercijalnoj upotrebi

Slika 8. Stukture abisomicina

Slika 9. Strukture didemnina

Slika 10. Struktura jasplakinolida

Slika 11. Eribulin mesilat (Halaven)

Slika 12. Kemijska struktura manzamina A

Tablice

Tablica 1. Popis nekih bioaktivnih spojeva po kliničkom statusu

Tablica 2. Faze bioprospektinga

Sadržaj

1. UVOD 1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 4
   2.1. Povijesna otkrića 4
   2.2. Znanstvene metode u istraživanjima antimikrobnog potencijala morskih organizama 7
      2.2.1. Današnje metode i tehnologije otkrivanja antimikrobnog potencijala morskih organizama 7
      2.2.2. Znanstvene metode budućnosti 10
   2.3. Morski organizmi s antimikrobnim potencijalom 13
      2.3.1. Sedimentni mikroorganizmi 14
      2.3.2. Koraljni mikroorganizmi 15
      2.3.3. Alge 16
      2.3.4. Spužve 16
      2.3.5. Ostali morski organizmi 18
   2.4. Antimikrobni lijekovi iz mora 19
      2.4.1. Antibiotici 20
      2.4.2. Antivirusni lijekovi 22
      2.4.3. Antimikotici 24
      2.4.4. Citostatici 26
      2.4.5. Antiparazitici 28
   2.5. Daljnja istraživanja mora – bioprospekting 31
3. RASPRAVA 32
4. LITERATURA 35
5. SAŽETAK 42
6. SUMMARY 43
7. ŽIVOTOPIS 44

1. UVOD

Od početka civilizacije pripravci dobiveni od biljaka i životinja nalazili su svoju primjenu u prehrani, medicini, poljoprivredi, kozmetici, a kasnije i u farmaceutskoj industriji. Naime, evolucija je u prirodi iskušala razne spojeve i njihove koristi, zbog čega upravo tamo tražimo izvor tvari, ali i inspiraciju za istraživanja i sintezu novih spojeva.

Uporaba antimikrobnih lijekova u liječenju zaraznih bolesti na znanstvenoj osnovi započinje otkrićima Paula Ehrlicha (1900.), koji se posvetio pronalaženju pripravaka sa selektivnim toksičnim učinkom na mikrobe. Na temelju Ehrlichovih istraživanja proizvedeno je nekoliko umjetnih boja koje su se rabile u liječenju bolesti uzrokovanih protozoama i spojeva arsena učinkovitih u liječenju sifilisa. Ubrzo nakon otkrića penicilina (1928.) pronađene su mnoge druge tvari antibiotičkog djelovanja, a usavršavanje njihove proizvodnje pridonijelo je pronalasku novih, vrlo učinkovitih antimikrobnih lijekova. Pod pojmom antibiotik podrazumijeva se kemijska tvar koju stvara neki mikroorganizam, a koja u niskoj koncentraciji koči rast ili ubija druge mikroorganizme. Pojam antimikrobni lijek širi je od pojma antibiotik i obuhvaća sve tvari prirodnog, polusintetskog ili sintetskog podrijetla koje koče rast ili ubijaju mikroorganizme druge vrste, a ne djeluju štetno na domaćina (NAGLIĆ i sur., 2017.). Razdoblje između 1950.-ih i 1970.-ih godina prošlog stoljeća bilo je uistinu zlatno doba otkrića novih skupina antibiotika. U posljednje je vrijeme, s opadanjem stope otkrivanja i razvoja novih antibiotika, glavni pristup razvoju novih antimikrobnih lijekova modifikacija postojećih antibiotika (CHOPRA i sur., 2002.).

Otpornost bakterija i gljiva na antimikrobne lijekove postoji oduvijek, no taj urođeni oblik otpornosti ne predstavlja opasnost za zdravlje ljudi i životinja. Stvarna opasnost je stečena rezistencija nastala zbog genskih promjena u samoj bakteriji ili zbog prijenosa genetičkog materijala koji nosi informaciju o rezistenciji na ostale srodne ili nesrodne mikrobe. Širenje antimikrobne rezistencije ne poznaje ekološke granice pa se prijenos rezistentnih bakterijskih vrsta sa životinja na čovjeka odvija različitim putevima, a najčešće hranom i vodom koja je izravno ili neizravno bila u doticaju sa životinjama (ŠEOL i sur., 2010.). Otkad postoje antibiotici, postojala je i bakterijska rezistencija, ali nikada u ovako velikom opsegu. Bakterije su oduvijek činile ono u čemu su dobre, a to je pronalaženje načina za preživljavanje (BUSHAK, 2016.).

Predviđa se da će se potrošnja antimikrobnih lijekova korištenih kod životinja za proizvodnju hrane povećati u nadolazećim desetljećima. Razborita uporaba antimikrobnih lijekova neće biti dostatna da se zaustavi rast antimikrobne rezistencije u ljudi koja potječe od životinja, stoga postoji hitna potreba za razvojem novih antimikrobnih lijekova koji će se koristiti kod životinja za proizvodnju hrane. To je prvenstveno potrebno, ne radi zdravlja životinja, već da se prekine veza između rezistencije koja se javlja kod sojeva u ljudi i životinja (TOUTAIN i sur., 2016.).

Oceani i mora predstavlju prirodno stanište mnogih vrsta organizama zbog raznolikosti okoliša koji nude različite podvodne zone. O velikoj raznolikosti živog svijeta pod morem govori podatak da se na koraljnim grebenima (Slika 1.) nalazi oko 1000 biljnih i životinjskih vrsta po kvadratnom metru, što ne pronalazimo ni u tropskim šumama (POMPONI, 1999.). Veliki ekološki resursi mora iskorištavani su od davnina, a uključivali su upotrebu morskih životinja i njihovih produkta, poput riba i pripravaka od algi kao izvora lijekova. Riblja ulja su klasični primjer morskih proizvoda koji se koriste od davnina. Morska farmakologija je grana farmaceutskih znanosti koja se usredotočuje na tvari s aktivnim farmakološkim svojstvima prisutnim u morskim vrstama biljaka i životinja. S više od 70% pokrivenosti zemljine površine, morski okoliš izniman je izvor bioaktivnih prirodnih proizvoda, sa strukturnim i kemijskim svojstvima koja se uglavnom ne nalaze u kopnenim prirodnim izvorima. Morski organizmi također pružaju bogat izvor nutrijenata i potencijalnih kandidata za liječenje ljudskih i životinjskih bolesti. Suvremeni fokus morske farmakologije usmjeren je na mikrobe (KIJJOA i sur., 2004.). Poznato je oko 30000 spojeva morskog podrijetla, a od 2008., više od 1000 novih otkriva se svake godine. Ovi spojevi često su karakterizirani strukturalnim novinama, kompleksnošću i raznolikošću (KIURU i sur., 2014.), za što su najbolji dokaz bakterije iz roda *Salinispora*. Naime, čak 60% spojeva izoliranih iz ovog roda bakterija su novootkriveni, odnosno dosad nikad nisu zabilježeni na kopnu.



Slika 1. Raznolikost koraljnog grebena

(Izvor: https://www.constantinealexander.net/2016/05/continental-drift-created-biologically-diverse-coral-reefs.html)

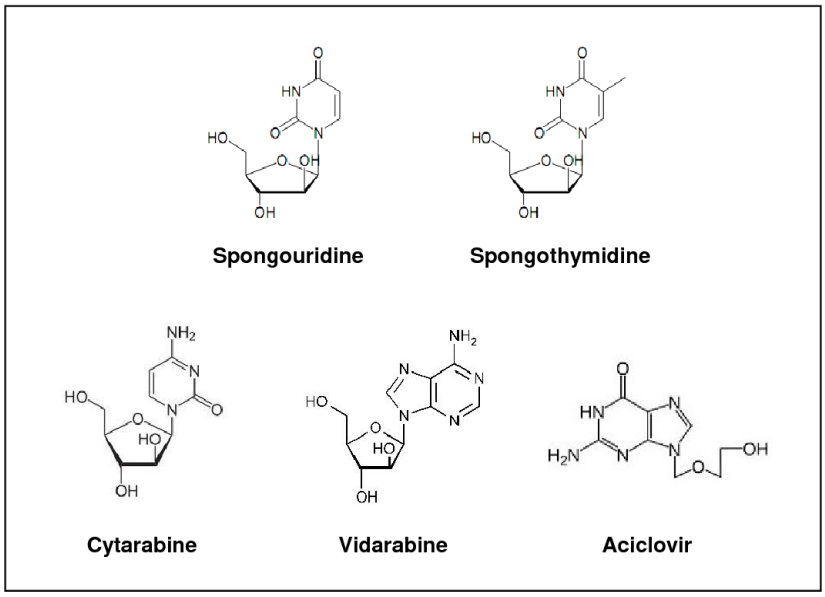
Život pod vodom pojavio se prije 3,5 milijardi godina. Morski organizmi su s vremenom razvili mnoge mehanizme preživljavanja u raznim surovim okruženjima koji uključuju ekstremne temperature, salinitet, pritisak, različite koncentracije kisika i radijacije, natjecanje za hranu, borbu protiv grabežljivaca i raznih bolesti (JIMENO i sur., 2004.). Ove prilagodbe mogu biti fizičke ili kemijske. Organizmi bez odgovarajuće fizikalne obrane, kao što su sjedilački organizmi, razvijaju kemijske obrane za zaštitu. Smatra se da ovi spojevi moraju biti vrlo učinkoviti u niskim dozama zbog dilucijskog učinka okoliša, te se opisuju kao feromonski analozi, ali sa svrhom odbijanja umjesto privlačenja (NEWMAN i sur., 2004.). Također, predatori su razvili kemijska oružja u svrhu paraliziranja ili ubijanja plijena. Osim kod interakcije predator – plijen, funkcija ovih spojeva može biti raznovrsna, a uključuje pribavljanje i biranje hrane, simbiozu s drugim organizmima, parenje, naseljavanje te mnoge druge. Pronalazak baš ovih sekundarnih metabolita glavni je cilj bioprospektinga mora.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Povijesna otkrića

Ljudska fascinacija morskim svijetom nije nepoznanica. Naime, prvi dokazi da su ljudi koristili lijekove iz oceana dolazi iz Kine i to 2953. godine prije nove ere. Za vrijeme vladavine cara Fu Hsija, plaćao se porez na dobit od lijekova dobivenih iz riba. Nadalje, jedan od najstarijih morskih produkata je tirijsko ljubičasta boja, dobivena iz morskih mekušaca, koju su koristili Feničani oko 1600. g. pr. n. e. Dugo vremena, prirodni morski metaboliti tražili su se uglavnom kod riba i morskih algi. Poznati primjeri su morski biopolimeri poput agara i karagenana, vitamini A i D od ribljeg jetrenog ulja ili nezasićene masne kiseline poput eikosapentaenojske (EPA) i dokozaheksaenojske kiseline (DHA).

Pravi razvoj morskih lijekova započeo je 1950-ih godina otkrićem spongotimidina iz karipske spužve *Tethya crypta* (BERGMANN i FEENEY, 1951.), koji su s vremenom doveli do razvoja Ara-C (citarabin, antileukemični agent). Citarabin je sintetički pirimidin nukleozid odobren od strane FDA-e 1969., a uglavnom se koristi kod različitih tipova leukemija, uključujući mijelocitnu leukemiju, limfocitnu leukemiju, meningealnu leukemiju te fazu eksplozijske krize mijelogene leukemije. Osim citarabina, od iste karipske spužve izoliran je spongouridin, po čijem je uzoru sintetiziran Ara-A (vidarabin), purinski nukleozid koji je našao svoju primjenu kao antivirusni lijek, točnije protiv *Herpes simplex* virusa (MAYER i sur., 2010.). Isti je odobren 1978., a kasnije je dokazano da spongouridin proizvodi bakterija *Streptomyces antibioticus*, koja se nalazi na površini spužve. Spojevi karipske spužve i njihovi sintetski analozi prikazani su na Slici 2. Cefalosporin C, koji proizvodi spužva *Acremonium chrysogenum*, pronađena u Mediteranskom moru blizu Sardinije 1940-ih, bio je početna točka za razvoj cijele grupe antibiotika cefalosporina (KONIG, 1992.).



Slika 2. Prirodni nukleozidi spongouridin i spongotimin te njihovi sintetski analozi citarabin, vidarabin i aciklovir

(FISCHER, 2011.)

Nakon odobrenja citarabina i vidarabina, sve do 2004. nije odobren niti jedan prirodni morski produkt, kada se pojavio zikonotid, lijek za tretiranje kronične boli. Zikonotid je sintetički oblik konotoksin-peptida, izoliranog iz stožastog morskog puža *Conus magus*, (KLOTZ, 2006.) s novim mehanizmom analgetičkog djelovanja. Ovaj morski puž predatorske prirode koristi otrov koji sadrži konotoksine u svrhu omamljivanja plijena, a može biti opasan i za čovjeka. Nedugo nakon toga, 2007. odobren je i lijek za tretiranje sarkoma mekih tkiva i karcinoma jajnika, trabektedin (Yondelis®), koji dolazi od plaštenjaka *Ecteinascidia turbinata* otkrivenog još 1969. kada se znalo da ima protutumorsko djelovanje (SCHOFFSKI, 2008.).

Osim navedenih odobrenih lijekova, pronađeni su mnogi spojevi s velikim bioaktivnim potencijalom, a trenutno se nalaze u prvoj, drugoj ili trećoj fazi kliničkog ispitivanja (Tablica 1). Morski mikroorganizmi, bili oni sedimentni, koraljni ili fosilni, pa i makroorganizmi poput algi, spužvi i riba, pokazali su ogromnu mogućnost proizvodnje sekundarnih metabolita. Iako ovi organizmi nemaju značajnu povijest primjene u tradicionalnoj medicini, posljednjih godina postali su važan predmet proučavanja zbog potencijalne korisne bioaktivnosti koja se očituje antibakterijskim, antivirusnim, antimikotičnim, antiparazitskim, imunosupresivnim, protutumorskim ili protuupalnim svojstvima (CARTE, 1993.).

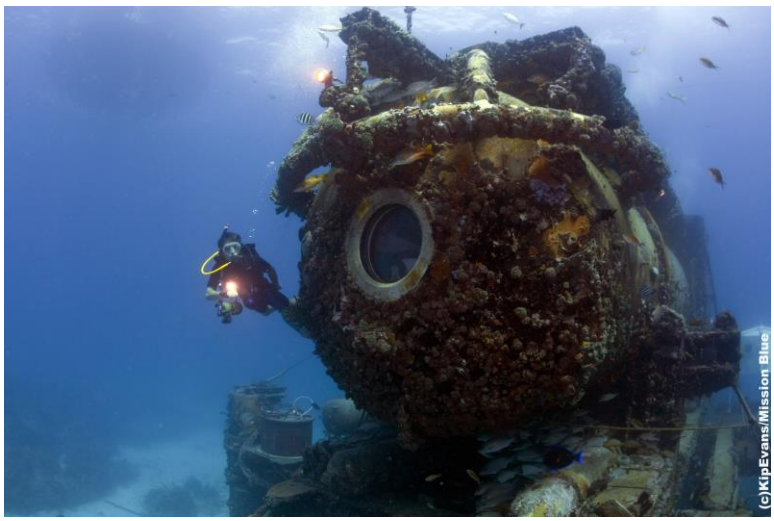
Tablica 1. Popis nekih bioaktivnih spojeva po kliničkom statusu (MALVE, 2016.)

Klinički status	Ime spoja	Morski organizam	Kemijski razred	Terapeutsko polje
Odobreni	Citarabin	Spužva	Nukleozid	Rak, leukemija
	Brentuksimab vedotin	Mekušac/cijanobakterija	Konjugat protutijela	Rak, limfom
	Vidarabin	Spužva	Nukleozid	Protuvirusno
	Zikonotid	Morski puž	Peptid	Analgetik
	Eribulin mestilat	Spužva	Makrolid	Rak dojke
	Trabektedin	Plaštenjak	Alkaloid	Rak
Faza 3	Plitidepsin	Plaštenjak	Depsipeptid	Rak
	Tetrodotoksin	Riba napuhača	Alkaloid	Kronična bol
	Sobilidotin	Bakterija	Peptid	Rak
Faza 2	DMXBA (GTS-21)	Morski crv	Alkaloid	Alzheimerova bolest, shizofrenija
	Plinabulin	Gljiva	Diketopiperazin	Rak
	Glembatumumab vedotin	Mekušac/cijanobakterija	Konjugat protutijela	Rak dojke, melanom
	Pseudopterozini	Meki koralj	Diterpen glikozid	Cijeljenje rana
Faza 1	Briostatin 1	Mahovnjaci	Poliketid	Rak
	Pinatuzumab vedotin	Mekušac/cijanobakterija	Konjugat protutijela	Non-Hodgkinov limfom, leukemija
	Marizomib (Salinosporamid A)	Bakterija	Beta-lakton-gama lactam	Rak
Pretklinički	Krisofenetin A	Alga	Šikimat	Bakterijske infekcije
	Himenidin	Spužva	Alkaloid	Tuberkuloza
	Geodisterol sulfati	Spužva	Peptid	Gljivične infekcije
	Plakortin	Spužva	Poliketid	Malarija
	Floridosidi	Alga	Glikolipid	Upala

2.2. Znanstvene metode u istraživanjima antimikrobnog potencijala morskih organizama

2.2.1. Današnje metode i tehnologije otkrivanja antimikrobnog potencijala morskih organizama

Proces otkrivanja antimikrobnog potencijala morskih organizama započinje sakupljanjem i identifikacijom morskih organizama. Sakupljanje morskih uzoraka može varirati od veoma jednostavnog i ekonomski isplativog, do vrlo kompliciranog i skupog. Dugo se preferiralo sakupljanje organizama na lako dostupnim mjestima, na obalama ili vodenim površinama i to jednostavnim češljanjem ili kopanjem plaže te ronjenjem (MUNRO, 1999.). Pretraživanje ronjenjem ograničeno je vremenom koje ronioci mogu provesti pod vodom. Uzorkovanje koje se ne može postići ronjenjem, moguće je provesti upotrebom podmornica ili izgradnjom podvodnih laboratorija. Nacionalna agencija za istraživanje oceana i atmosfere (NOAA) izgradila je podvodni laboratorij Aquarius (engl. *"The Aquarius Underwater Laboratory: America's Inner Space Station")* (Slika 3) koji je jedan od podvodnih laboratorija posvećenih znanosti podmorja. Akvarij je jedan od tri morska laboratorija izgrađena u Key Largu, Florida, a trenutno je u vlasništvu Međunarodnog sveučilišta Florida.. Međutim, troškovi za izgradnju, brodove, tehničare i ostalo zaposleno osoblje mogu biti znatni pa ovakav način uzorkovanja nije dostupan svima.



Slika 3. Podvodni laboratorij Nacionalne agencije za istraživanje oceana i atmosfere

(Izvor: https://mission-blue.org/2013/01/mission-to-save-aquarius-reef-base-a-success/)

Unaprijeđenje podvodnih sustava za održavanje života pružilo je nove mogućnosti za sakupljanje iz neistraženih regija i dubina. Uzimanje uzoraka iz dubokih voda može se vršiti iskopavanjem, međutim, ovo je vrlo invazivna tehnika koja uništava lokalno stanište, te onemogućuje ponavljano uzimanje uzoraka s istog mjesta i ugrožava integritet uzorka. Oceansko jezgreno uzorkovanje uključuje sakupljanje uzoraka u obliku cilindričnog dijela sedimenta, što nam daje vertikalni pregled kore morskog dna. Slojevi jezgrenog uzorka izvor su informacija za mnoga istraživanja, od geoloških i klimatskih do biokemijskih. Jezgreni sakupljači mogu se koristiti za prikupljanje uzoraka sedimenta s dubokih mjesta na brz, jednostavan i jeftin način.

Identifikacija u mnogim slučajevima zahtijeva genetske analize. Ako je moguće, prikupljene i identificirane organizme treba kultivirati, a ako nije, dovoljan je uzorak pročišćenog i osušenog materijala za daljnu analizu. U načelu, koraci otkrivanja antimikrobnog potencijala morskih organizama je sličan kao i za kopnene, a odvijaju se sljedećim redoslijedom:

1. Biološka i/ili kemijska ekstrakcija i genetski odabir;
2. Prepoznavanje i odabir zanimljivih izvadaka;
3. Izolacija i objašnjenje strukture spojeva s obećavajućom biološkom aktivnošću i novim strukturama;
4. Široka farmakološka i toksikološka ispitivanja kandidata za lijek za farmakodinamički, farmakokinetički i sigurnosni parametar;
5. Identifikacija cilja;
6. Osiguranje opskrbe;
7. Derivatizacija i izrada biblioteka supstanci te odabir najpogodnijeg kandidata;
8. Klinička ispitivanja;
9. Registracija prema važećem zakonodavstvu (MARTINS i sur., 2014.).

Na web stranici naziva "The Global Marine Pharmaceuticals Pipeline" Midwestern Sveučilišta u Illinoisu navode se potencijalni lijekovi dobiveni iz mora uz daje sažete informacije o odobrenim lijekovima i onima u kliničkom razvoju.

Kritična točka u procesu razvoja lijekova iz morskih organizama je trajna dostupnost dovoljnih količina organizama i spojeva bez ugrožavanja morskog okoliša. Preduvjet plasiranja lijekova na tržište su, između ostalog, skalabilnost i održivost ekstrakcije iz morskog okoliša i/ili proizvodnje. Budući da ekstrakcija iz morskih izvora (uglavnom) nije održiva, cilj je razviti

biotehnološke postupke proizvodnje (akvakultura/marikultura/uzgoj fermentora; genetski inženjering; enzimska sinteza ili modifikacija) ili kemijsku sintezu, polusintezu ili modifikaciju spojeva izoliranih iz morskih organizama (LINDEQUIST i SCHWEDER, 2001.).

Akvakultura podrazumjeva uzgoj akvatičnih organizama, poput riba ili nekih školjki za hranu i za makroalge. U bioreaktorima se uzgajaju makro- i mikroalge, neke vrste beskralježnjaka, morske gljivice i razne vrste morskih bakterija. Međutim, većina farmaceutski zanimljivih morskih organizama, posebno mikroorganizama, ne može se uzgajati u umjetnim uvjetima. Bolje razumijevanje životnih uvjeta u prirodnom okruženju potrebno je za razvoj alternativnih metoda uzgoja i za održavanje proizvodnje metabolita na duže vrijeme. Jedan od obećavajućih načina mogao bi biti zajednički uzgoj dvaju ili više različitih organizama, koji se također naziva mješovitom fermentacijom, koji pokušava oponašati složene zajednice u prirodi. Moglo bi se pokazati da zajednički uzgoj proširuje kemijsku raznolikost metabolita koje proizvode uzgajani organizmi (MARMANN, 2014.).

Iako je kompletna sinteza moguća za mnoge poznate morske spojeve, ona ima smisla samo za relativno jednostavne spojeve. Najpoznatiji primjer sintetskog lijeka iz mora je analgetski peptid zikonotid. Drugi način može biti polusintetska produkcija, gdje lako dostupni spojevi bivaju promijenjeni kemijskim ili biokemijskim procesima u željeni proizvod. Primjer ovakve metode je transformacija cijanosafracina B, bakterijskog produkta, u trabektedin, lijek protutumorskog djelovanja. U mnogim slučajevima, originalni spoj je učinkovit sam po sebi, međutim nije potrebno proizvoditi cijelu strukturu, nego samo komponentu koja pokazuje odgovarajuću biološku aktivnost. Što više znamo o strukturalnim elementima koji su potrebni za farmakološki učinak, više se možemo fokusirati na esencijalne komponente spoja. Kemijske i/ili enzimatske modifikacije prirodnog spoja mogu povećati strukturnu varijabilnost i poboljšati svojstva samog proizvoda (RADJASA i sur., 2011.).

Osim klasičnim metodama, akvakulturom i kemijskom/enzimatskom sintezom, problem održive proizvodnje se pokušava riješiti i genetskim inženjeringom koji podrazumijeva transfer genske informacije za željeni spoj u stanice domaćina, koje mogu biti uzgojene lakše, te na održiviji način. Preduvjet je točno poznavanje genetskih informacija, koje bi omogućile izolaciju i ekspresiju gena organizama koji se ne mogu uzgajati. Pravilno taksonomsko određivanje organizama koji proizvode bioaktivne spojeve neophodno je za daljnja proučavanja, jer

hijerarhijska klasifikacija organizama olakšava farmaceutima korištenje biološke informacije, odnosno potragu za novim spojevima sličnih biokemijskih karakteristika. Genetske analize u kombinaciji s morfološkom taksonomijom i kemotaksonomijom omogućit će njihovu ispravniju sistematiku te će se moći primjenjivati i u farmaceutskoj industriji.

2.2.2. Znanstvene metode budućnosti

Napredak u tehnikama uzorkovanja omogućit će dostupnost morskih organizama i njihovih produkata, koji se ne nalaze samo blizu obale nego i u dubokom moru (MARTINS i sur. 2014). Karakteristike dubokog mora koje ga čine ekstremnim okolišem uključuju povećanje pritiska za jednu atmosferu za svakih 10 m povećanja dubine vode, pa tlak varira od 20 atm do 1000 atm u najdubljim dijelovima brazdi; temperatura općenito opada s porastom dubine te postiže vrijednosti oko 2°C na ponornoj ravnici; koncentracija kisika na dnu može biti mnogo manja od one u okolnom području, ili čak neznatna, ovisno o ravnoteži između brzine opskrbe kisikom (razmjena s atmosferom i kao nusprodukt fotosinteze morskih biljaka u eufotičnoj zoni) i brzine kojom se ona troši; i intenzitet svjetlosti eksponencijalno opada s dubinom u vodenom stupcu jer su upadni fotoni apsorbirani i raspršeni, a potpuna tama prevladava duboko ispod 250 m. Dubokomorski mikroorganizmi prilagođavaju se ovakvim ekstremnim uvjetima na razne načine, fizičkom obranom ili tvorbom zanimljivih kemijskih spojeva kakve dosad nismo našli niti na kopnu, niti u plitkim vodama.

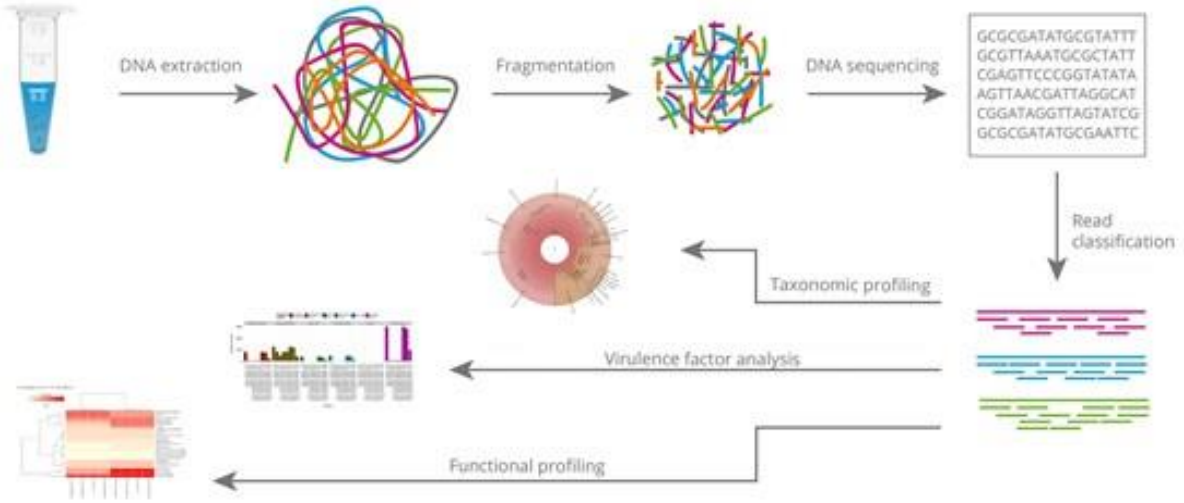
Godinama je najveći problem za čovjeka bio je dospjeti do dna oceana te istražiti dubokomorski život. Zahvaljujući poboljšanoj akustičkoj tehnologiji i izradi vozila na daljinsko upravljanje te podmornicama, podvodni i dubokomorski okoliši postali su pristupačniji, kao i biološki aktivni spojevi iz dubina (DANOVARO i sur., 2016.). Pristup dubokomorskom organskom materijalu u kombinaciji s primjenom adekvatne metode, pokazale su prisutnost neočekivane mikrobiološke raznolikosti. Nedavno razvijene akustičke i laserske tehnologije te automatizirana vozila, u kombinaciji s molekularnim metodama, nude širok spektar prednosti, uključujući veću taksonomsku razlučivost i sposobnost brzog pružanja, često u gotovo stvarnom vremenu, informacija o širokim geografskim područjima (daljinsko očitavanje) ili velikim vremenskim razmjerima (npr. autonomne promatračke platforme ili brodovi). Tehnološki napredak razvija se u dva glavna smjera: molekularni pristup za brzu procjenu biološke

raznolikosti; i autonomni osjetljivi (optički) senzorski sustavi, koji nam omogućuju rad i prikupljanje podataka *in situ* na širokim prostornim i vremenskim ljestvicama (SHE i sur., 2016.).

Mikroorganizmi koji naseljavaju ove surove okoliše razvili su jedinstvene strategije preživljavanja pod visokim pritiskom. Većina mikroorganizama koji žive duboko u moru je piezotolerantna i piezofilna (JEBBAR i sur., 2015.), što ih čini ekstremofilima, a nedostatak odgovarajućih instrumenata ograničavao je uzgoj ovih sojeva. Njihova prilagodba biokemijskim i fiziološkim procesima odražava se u modifikacijama gena te regulaciji primarnih i sekundarnih metaboličkih puteva koji rezultiraju ekspresijom novih gena koji su zaslužni za sintezu jedinstvenih i do sada nepoznatih prirodnih spojeva.

Posebni postupci fermentacije potrebni su za kultivaciju organizama koji žive u ekstremnim uvjetima kao što je visoki pritisak. Naime, izolirani i umjetno uzgojeni organizmi ne moraju u takvim uvjetima proizvoditi sve metabolite, jer u prirodnom okruženju postoji vanjski okidač za produkciju, te mnogi biosintetski geni ostaju neizraženi. Ovakve gene zovemo "tihi geni". Strategije koje bi mogle nadvladati ova ograničenja i povećati kemijsku raznolikost su varijacije uvjeta kultivacije (engl. *one strain many* compounds - OSMAC), epigenetske modifikacije ili ko-kultivacija (MARMANN i sur. 2014.).

Budući da se mnogi morski organizmi ne mogu uzgajati u umjetnim uvjetima, oni nisu dostupni za detaljna taksonomska i fiziološka istraživanja. Ipak, uz primjenu naprednih molekularnih tehnologija možemo identificirati i okarakterizirati organizme i populacije bez uzgoja. Koncept "rudarenja genoma" (Slika 4.) snažno će povećati vjerojatnost pronalaska novih bioaktivnih spojeva. U metagenomskim pristupima funkcionalni genski klasteri iz nekultiviranih organizama i zajednica mogu se pregledati izoliranjem genetskog materijala izravno iz izvornih uzoraka okoliša. Izolirani geni se kloniraju i transformiraju, putem vektora se prenose u stanicu domaćina u kojoj se eksprimiraju u razne metabolite. Daljnje analize proteoma, transkriptoma i metaboloma pomoći će razumjeti biosintezu i fiziološku važnost zanimljivih metabolita (GROSS, 2009.).



Slika 4. Metagenomika

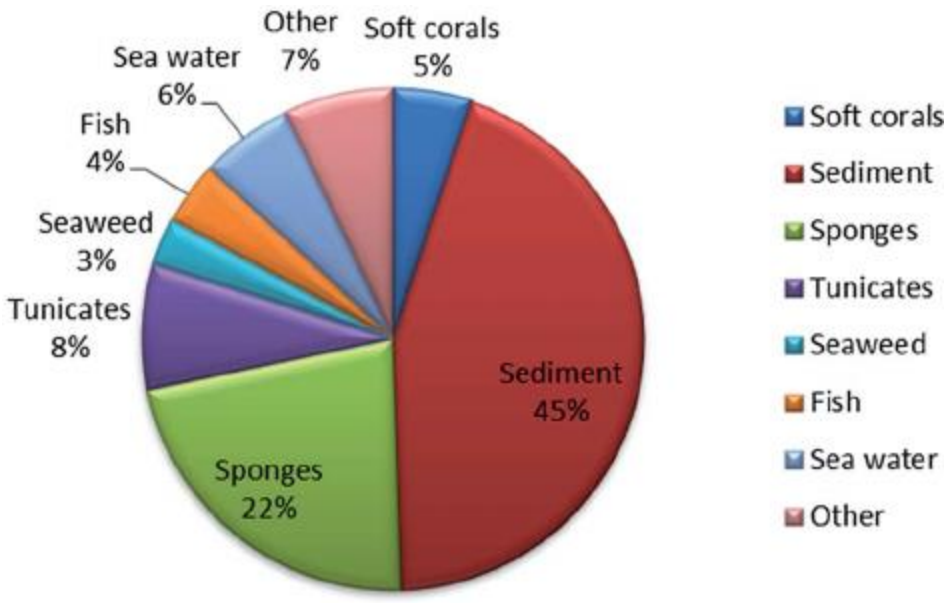
(Izvor: https://www.eurofinsgenomics.eu/en/eurofins-genomics/material-and-methods/metagenome-analysis/)

Kontinuirani razvoj platformi za sekvenciranje i bioinformatičkih alata čini pristup zasnovan na metagenomskom slijedu izravnijim i učinkovitijim. Cijena genoma i metagenomskog sekvenciranja uzoraka stalno se smanjuje, omogućujući sve širu primjenu ovih istraživanja. Pronalaženjem razlika u genomu srodnih vrsta danas možemo dokazati evoluciju pojedinih organizama, odnosno njihovu prilagodbu u produkciji spojeva koji su različite strukture, ali s istom funkcijom. Zahvaljujući studijama biosintetičkih puteva sekundarnih metabolita, danas postoje mnogi bioinformatički alati koji mogu brzo predvidjeti prisutnost specifičnih gena, npr. PRISM (Prediction Informatics for Secondary Metabolomes), antiSMASH (Antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell) i BAGEL (Bacteriocin Genome mining tool) (TORTORELLA i sur., 2018.).

2.3. Morski organizmi s antimikrobnim potencijalom

Iako je raznolikost života u kopnenom okruženju izvanredna, najveću biološku raznolikost nalazimo u svijetu oceana, s 34 od 36 zastupljenih koljena živog svijeta. Oceani pokrivaju više od 300000 opisanih vrsta i biljaka (JIMENO, 2002.). Većina života na planeti razvila se prvotno pod vodom. Volumenom, oceani pružaju 90% prostora za život na Zemlji. Morski okoliš predstavlja skriveno blago korisnih proizvoda koji čekaju otkriće.

Najvažniji izvor bioaktivnih spojeva dosad su bili beskralješnjaci. Među životinjama, spužve (*Porifera*) su dale gotovo polovicu prirodnih proizvoda otkrivenih od 1990., koralji i žarnjaci (*Cnidaria*) 30% produkata, a zvijezde i ostali bodljikaši (*Echinodermata*), kralješnjaci (*Chordata*) te mekušci (*Mollusca*), svaki po 5%. Noviji spojevi pronađeni su u kolutićavcima (*Annelida*), mahovinama (*Bryozoa*), plošnjacima (*Platyhelminthes*), polusvitkovcima (*Hemichordata*), ramenonošcima (*Brachiopoda*) i člankonošcima (*Arthropoda*) (SNELGROVE, 2016.). Nekoliko istraživanja pokazala su da prirodni produkti izolirani iz viših morskih organizama kao što su beskralješnjaci najčešće dolaze odbakterija ili cijanobakterija. Najčešće bakterije s antimikrobnim potencijalom pripadaju rodu *Actinomyces* (Slika 5). Međutim, ovi mikroorganizmi, koji su u simbiotskom odnosu s višim organizmima, obično ne mogu biti uzgojeni kao čista kultura. Njihov rast ovisi direktno o aktivnosti organizma domaćina, stoga je eksploatacija cijelog biokemijskog potencijala ovih organizama izazov (FAULKNER i sur., 2000.), u čijem rješavanju primjenjujemo metagenomske analize. Osim beskralješnjaka i mikroorganizama (uključujući fitoplanktone), makroalge su također bitni proizvođači bioaktivnih spojeva (HU i sur., 2015.).



Slika 5. Postotak zastupljenosti prirodnih produkata dobivenih od morskih bakterija roda *Actinomyces*

(ABDELMOHSEN i sur., 2014.)

2.3.1. Sedimentni mikroorganizmi

Bilo koji čvrsti fragment anorganskog ili organskog materijala može se nazvati sedimentom. Poznati oceanski sedimenti uključuju one koji se nalaze uz obalu, odnosno, kamenje i šljunak na plaži, fragmente školjki ili pijeska i blata na dnu mora. Morski sedimenti potječu iz različitih izvora, uključujući kontinentalnu i oceansku koru, vulkane, mikrobe, biljke i životinje, kemijske procese i svemir. Sedimenti su široko kategorizirani u dvije vrste. Prva vrsta je zrnasti sediment koji je rezultat usitnjavanja anorganskih ili organskih matičnih materijala (blato, mulj i pijesak). Druga vrsta je kemijski sediment koji nastaje izravno iz otopljenih spojeva u morskoj vodi (fragmenti vapnenca i vapnenački kamen poput stijena). Iako su mikroorganizmi izolirani od različitih morskih izvora, sedimenti nastavljaju dobivati najveću pažnju, možda zbog svoje sličnosti s kopnenim tlima i zato što su se pokazali kao dobar izvor terapijski korisnih metabolita (JENSEN i FENICAL, 1995.).

U morskim sedimentima, bilo onim iz obalnih voda ili pronađenim u dubokom moru, najčešće pronalazimo biološki vrijedne organizme poput bakterija i gljivica. Od bakterija, značajne

su *Marinactinospora thermotolerans SCSIO 00652*, izolirana iz sedimenta prikupljenog s mjesta (crno meko blato na 3865 m dubine) u sjevernom dijelu Južnokineskog mora, *Streptomyces scopuliridis SCSIO ZJ46* (3536 m), *Streptomyces drozdowiczii SCSIO 10141* (1396 m) (TORTORELLA i sur., 2018)), *Bacillus sp., Streptomyces sp., Halobacillus lotoralis, Salinispora tropica, Pseudomonas UJ-6, Marinispora, Micromonospora rosaria, Chromobacterium violaceum,* a od gljivica *Aspergillus protuberus SP1, Zopfiella latipes, Halorosellinia oceanica, Keissleriella sp* (HABBU i sur., 2016.). Spojevi izolirani iz ovih mikroorganizama pokazali su raznovrsne biološke aktivnosti, antibakterijske, antivirusne, antimikotične te citostatične.

2.3.2. Koraljni mikroorganizmi

Koraljni greben je struktura u obliku grebena u moru, koju tvore žarnjaci i koja s vremenom postane dovoljno velika da ima značajan ekološki i fizički utjecaj na svoju okolinu . To su najveće strukture izgrađene od živih organizama na svijetu, što ih čini biotopom biocenoze koja se sastoji od biljaka i životinja, npr. crva, školjki, spužvi, bodljikaša i rakova. Koraljni grebeni imaju značajnu ulogu kao odgajališta za potomke riba koje nastanjuju otvorena mora. Gotovo svi koralji su kolonijalni organizmi; oni su sastavljeni od stotina do stotina tisuća pojedinačnih životinja, nazvanih polipi. Koraljni grebeni su najraznolikiji od svih morskih ekosustava, iako većina raznolikosti još nije okarakterizirana (FOREST i sur., 2002.). Koraljni grebeni podržavaju najviše vrsta po jedinici površine, uključujući oko 4000 vrsta riba, 800 vrsta tvrdih koralja te stotine drugih vrsta. Ovakva biološka raznolikost smatra se ključem za pronalaženje novih lijekova u 21. stoljeću. Trenutno se razvijaju mnogi preparati od životinja i biljaka s koraljnih grebena kao mogući lijekovi za karcinom, artritis, bakterijske infekcije, viruse te druge bolesti.

Bioaktivni spojevi koje pronalazimo na koraljima, kao što su oni iz rodova *Sinularia, Lobophytum* (PABHA, 2011.), *Pseudopterogorgia, Litophyton* (DONIA i HAMMAN, 2003.), *Montipora* (HABBU i sur., 2016.), gotovo su uvijek mikrobnog podrijetla od raznih koraljno pridruženih bakterija i gljivica. Bakterija *Pseudoalteromonas flavipulchra* te gljivice *Zygosporium sp.* i *Aspergillus versicolor* poznati su primjeri mikroorganizama koji proizvode ovakve spojeve, no mnogi izvori bioaktivnosti i danas ostaju nepoznati zbog izrazite raznolikosti koraljnih grebena.

2.3.3. Alge

Morske alge su relativno jednostavne, klorofilne biljke koje obično rastu pod vodom ili djelomično pod vodom. One se ne diferenciraju u korijen, stabljiku i list, a razmožavaju se sporama umjesto sjemenkama. Velike morske alge često nazivamo morskim travama, a označavaju se prema svojim pigmentima, kao zelene (npr. *Ulva, Codium*), crvene (npr. *Gelidium, Palmaria, Porphyra*) i smeđe alge (*Laminaria, Fucus, Sargassum*). Makroalge ili morske trave prilagođene su morskom okolišu, posebice u obalnim područjima te se razlikuju od mikroalgi (npr. dijatomeji, fitoplanktona i zooksantela koji žive u koraljnom tkivu), koji zahtijevaju promatranje mikroskopom (DIAZ i McCOOK, 2008.). Morski okoliš potiče proizvodnju jedinstvenih kemikalija za otpor stresu kojem su organizmi podvrgnuti u svom okolišu. Zbog široke rasprostranjenosti u vodenim ekosustavima, alge se mogu rabiti u prehrani ("alge su hrana budućnosti"), medicini, farmaceutskoj, pa i kozmetičkoj industriji, a zbog svoje sposobnosti akumuliranja toksičnih tvari, pronašli su svoju upotrebu u pročišćavanju voda. Također, iz biomase mikroalgi može se proizvesti biodizel, alternativni obnovljivi izvor energije, koji s ekološkog aspekta ima prednost zbog velikih površina za uzgajanje i iskorištavanja ugljikovog dioksida, no sustavi ovakve produkcije energije još uvijek nisu dovoljno razvijeni i komercijalno isplativi.

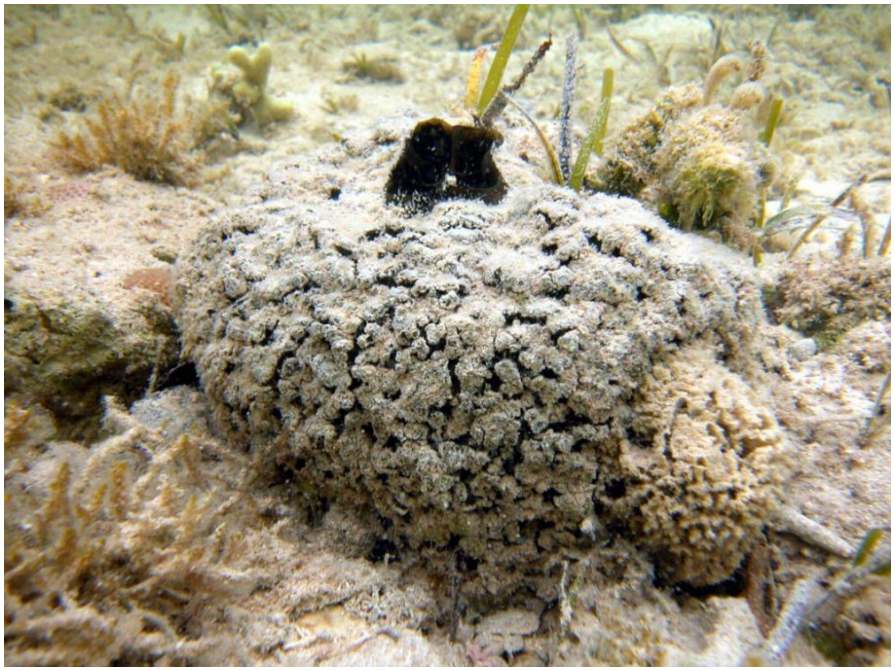
Farmakološki aktivne tvari izolirane iz vrsta algi *Bryopsis plumose, Notheia anomala, Ulva sp., Sphaerococcus coronopifolius, Rosingvea sp.* (DONIA i HAMMAN, 2003.), *Gracilaria sp.* (KUSTIARIYAH i sur., 2012.), *Enteromorpha prolifera* (YE i sur., 2013.), rezultat su simbiotske produkcije u vezi s raznim vrstama bakterija i gljivica, a pokazuju širok spektar djelovanja od antibakterijskog, antivirusnog, citostatičnog, protugljivičnog i antiparazitskog.

2.3.4. Spužve

Spužve (*Porifera*) su evolucijski drevni pravi mnogostanični organizmi koji postoje već 700-800 milijuna godina. Ne samo da obilno naseljavaju tropske oceane, već se pojavljuju i u umjereno slanim vodama, pa čak i u slatkim vodama (HENTSCHEL i sur., 2002.). Morske spužve široko su rasprostranjene u plitkim morima, kao i tisuće metara duboko u oceanu. To su jednostavni višestanični beskralješnjaci pričvršćeni na čvrste podloge u bentoskim staništima, hrane se

filtriranjem, a na površini imaju brojne sitne pore koje omogućuju ulazak i cirkulaciju vode kroz niz kanala u kojima su mikroorganizmi i organske čestice filtrirani i pojedeni (LEE i sur., 2001.).

Brojni prirodni proizvodi od morskih beskralješnjaka pokazuju zapanjujuće strukturne sličnosti s metabolitima mikrobnog podrijetla, što sugerira da su mikroorganizmi pravi izvor ovih metabolita ili su uključeni u njihovu biosintezu. Spužve sadrže bogatu raznolikost mikroorganizama u svojim tkivima koji u nekim slučajevima čine i do 40% biomase (FRIEDRICH i sur., 1999.).. Potraga za farmakološki aktivnim tvarima u moru započela je otkrićem spužve *Tethya crypta*, nakon čega su spužve postale najvažniji izvor korisne bioaktivnosti. Neke od danas zanimljivih spužava kao što su *Psammaplysilla purpurea*, *Ectyobatzella enigmatica*, *Spongia officinalis*, *Ircinia fusca* (PRABHA, 2011.), *Aplysina aerophoba*, *Aplysina cavernicola* (UTE i sur., 2001.), *Petrosia ficiformis* (ELISABETTA i sur., 2004.), *Nyphates olemda*, *Xestispongia exigua* (JADULCO, 2002.), pokazale su da u simbiotskom odnosu s mikroorganizmima mogu proizvesti tvari širokog spektra djelovanja, te se koristiti za sintezu lijekova za svako područje medicine.



Slika 6. *Tectitethya crypta*

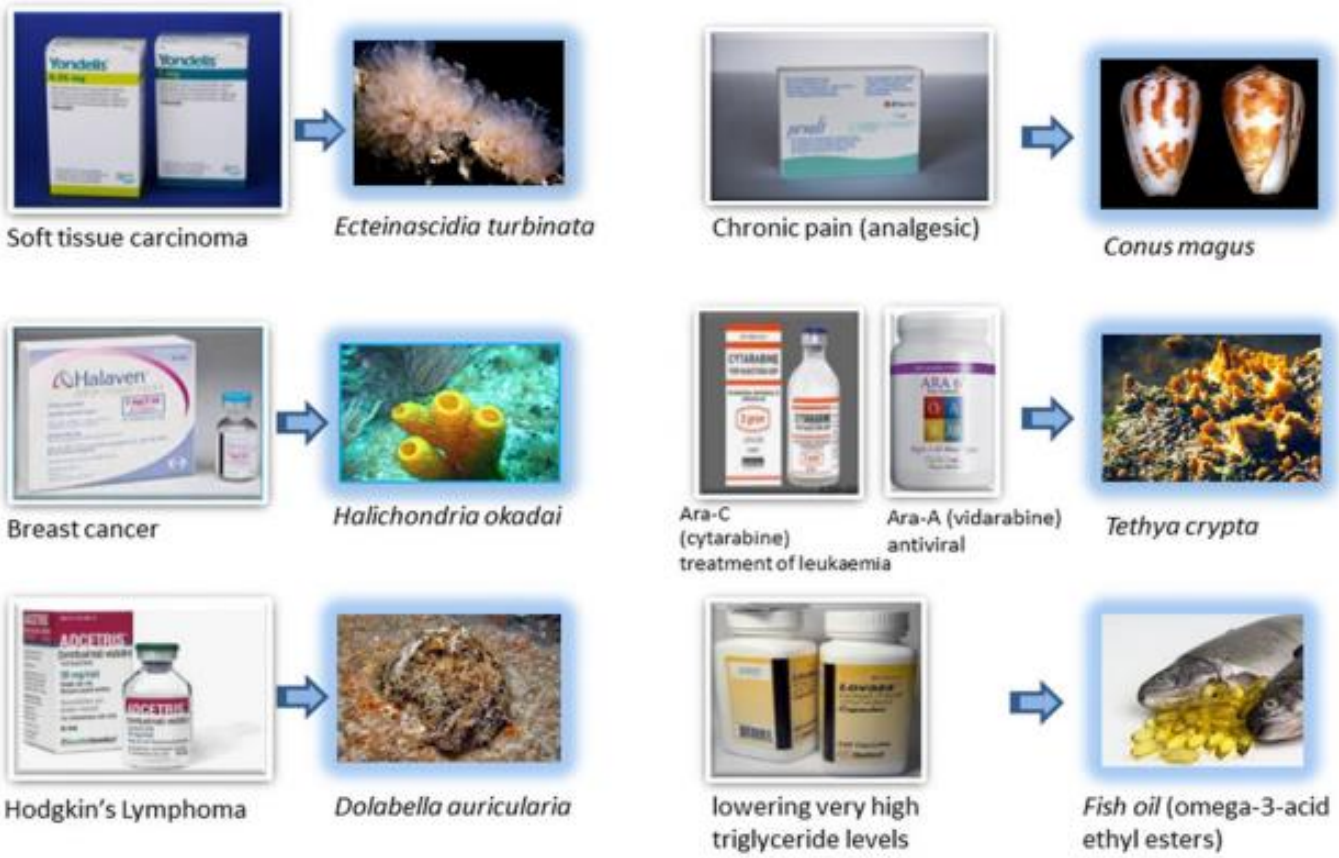
(Izvor: https://spongeguide.uncw.edu/speciesinfo.php?searchtype=0&species=76)

2.3.5. Ostali morski organizmi

Kada govorimo o ostalim morskim organizmima mislimo na razne vrste riba, puževa, plaštenjaka, zvijezda i ostalih bodljikaša, člankonožaca, mahovnjaka i ostalih. Već dugo se zna da su ribe dobar izvor omega-3 masnih kiselina koje se danas koriste u liječenju hipertrigliceridemije. Nadalje, analgetik zikonotid sintetiziran po uzoru na spoj izoliran iz morskog puža *Conus magus* jedan je od prvih prihvaćenih lijekova morskog podrijetla. Također već spomenuti trabektedin poznati je antikancerogeni lijek dobiven iz plaštenjaka *Ecteinascidia turbinata*. Mnoge zvijezde i bodljikaši zbog svog sjedilačkog načina života izlučuju spojeve koji ih brane od predatora te patogenih bakterija i gljivica. Zanimljiva činjenica je da su većina muških rakova kanibali, stoga ženka uz feromone koji ih privlače za oplodnju, mora proizvoditi i spojeve koji suprimiraju instinkt hranjenja. Ovo saznanje otvara velike mogućnosti za istraživanja. Osim viših organizama, u obzir dolaze i fosilne morske životinje kao što su mahovnjaci, koji su uobičajeni stanovnici morske i slatke vode. Dosad smo dokumentirali 200000 morskih vrsta, a pretpostavlja se da postoji još dva milijuna koje tek treba opisati (DROGIN, 2009.), što govori o ogromnoj raznolikosti života pod morem, te potencijalu za otkrivanje korisne bioaktivnosti.

2.4. Antimikrobni lijekovi iz mora

Spojevi dobiveni iz morskih organizama pokazali su zanimljive učinke kao što su citotoksični, protutumorski, antidijabetički, protuupalni, antimikrobni i dr. Spojevi koje pronalazimo u moru nerijetko pokazuju više od samo jednog oblika djelovanja. U nastavku su opisani nedavno otkriveni spojevi koji obećavaju svojom antimikrobnom aktivnošću, te oni iz različitih faza kliničkih ispitivanja.



Slika 7. Lijekovi morskog podrijetla koji su u komercijalnoj upotrebi

(JASPARS i sur., 2016.)

2.4.1. Antibiotici

Izolirani metaboliti antibiotskog djelovanja najčešće se grupiraju u pet klasa na temelju njihove strukture i/ili biosintetskog podrijetla: AMP-i dobiveni iz ribosoma, neribosomski peptidi, poliketidi, alkaloidi i terpeni. Ribosomski se peptidi često svrstavaju u primarne metabolite zbog očitog nedostatka strukturne složenosti, iako ovakvo grupiranje zastarijeva (MCINTOSH i sur, 2009.). Neribosomski peptidi, poliketidi, alkaloidi i terpeni nastaju iz niza enzimskih transformacija koji koriste mnogo raznolikiji skup prekursora i biosintetskih reakcija. Ovakvi spojevi klasificirani su kao sekundarni metaboliti.

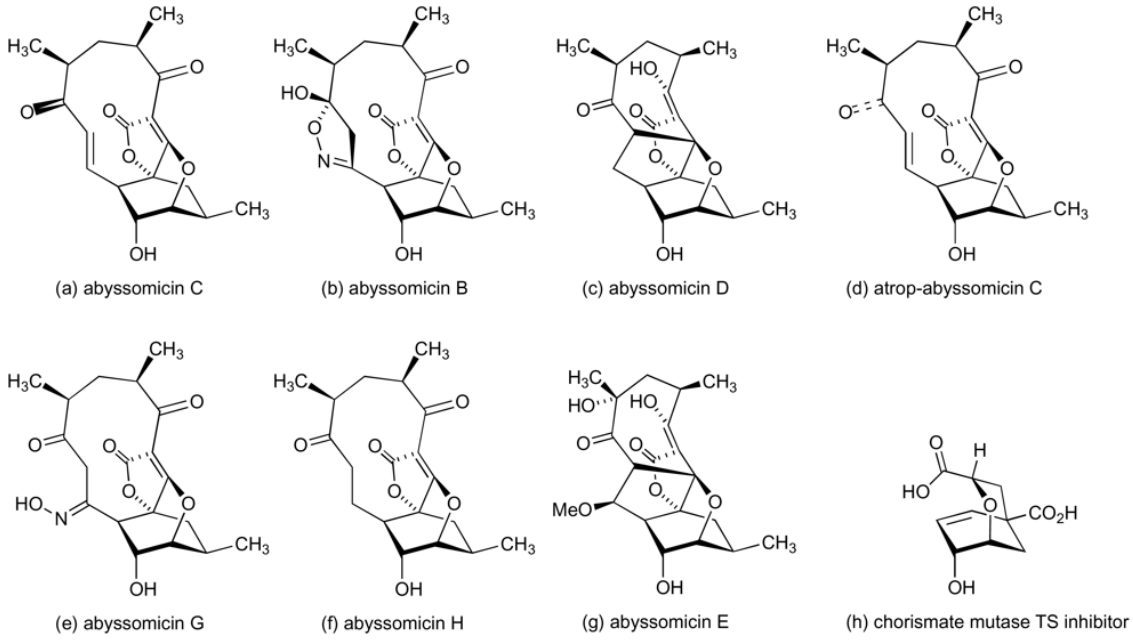
Iz obalne morske vode i sedimenta Meksičkog zaljeva (Campeche, Meksiko) dobiveno je sedam različitih izoliranih bakterija. Oni su bili proizvođači supstanci koji inhibiraju rast patogena poput *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa.* Fenotipski su karakterizirani morfološkim tehnikama, a fiziološki konvencionalnim ispitivanjima. Četiri od njih bile su gram-pozitivne bakterije i analizom elektronskog mikroskopa otkrili su njihovu veličinu između 0,6 i 1,5 μm. Jedan od sedam morskih sojeva, gram negativan, žuto pigmentiran, blago zakrivljeni štapić, identificiran je kao *Pseudoalteromonas sp.* Odabrani i imenovani sojevi (MS-1/48, MS-2/48, MS-3/48, MS-4/48, MS-5-48, MS- 6/48, MS-7/48) pokazali su antimikrobnu aktivnost protiv testnih bakterija, iako nijedan od sedam nije pokazao aktivnost protiv *Escherichia coli.* Odvajanjem bakterijskih stanica od bujona i žutog pigmenta iz stanica uspjelo se istražiti unutarstanično i izvanstanično antimikrobno djelovanje. Sirovi ekstrakti pripremljeni su od biomase, a zatim je provedent test aktivnosti koji pokazuje da je antibiotski kapacitet koncentriran u biomasi, a ne u bujonu bez stanica ili u pigmentu stanica (CETINA i sur., 2010.).

Skvalamin je prvi aminosterol izoliran iz morskog psa *Squalus acanthias.* Ima snažno antimikrobno djelovanje, s MIK-om od 1,0 μg/ml protiv *S. aureus,* a pokazuje i antiangiogena i antitumorska svojstva.

Kribrostatini, alkaloidi izolirani iz plave spužve *Cribrochalina sp.,* imaju snažnu antimikrobnu i antineoplastičnu aktivnost. Kribrostatin 3 djeluje snažno inhibitorno protiv *Neisseria gonorrheae,* s MIK-om 0.09 μg/ml, a aktivan je i protiv penicilin-rezistentne *N. gonorrheae.*

Pestalon, poliketid izoliran iz gljivice s površine smeđe alge *Rosenvingea sp.* na Bahamima, ima snažnu antibiotsku aktivnost protiv meticilin-rezistentnog *S. aureusa,* s MIK-om od 0,037 μg/ml i vankomicin-rezistentnog *Enterococcus faecium,* s MIK-om od 0,078 μg/ml. Pokazalo se da pestalon u umjetnim uvjetima može nastati samo kokultivacijom gljivice iz roda *Pestalotia* i bakterije *Thalassospira sp.* CNJ-328. Ovi rezultati predstavljaju važno postignuće u pokazivanju da miješana fermentacija može potaknuti biosintezu novih antibiotika, sugerirajući da se ova metoda može koristiti za otkrivanje lijekova u budućnosti. Osim toga, snaga ovog sredstva prema patogenima otpornim na poznate lijekove sugerirala je da pestalon treba procijeniti *in vivo* protiv zaraznih bolesti (DONIA i HAMANN, 2003.).

Tri nova policiklična poliketida, abisomicini B, C i D izolirani su iz rijetke aktinomicete *Verrucosispora*, koji potječe iz uzorka sedimenta prikupljenog u Japanskom moru na dubini od 289 m. Pokazali su jaku antibiotičku aktivnost protiv MRSA-a i VRSA-a. Abesomicin C smatra se reprezentativnim predstavnikom prve klase spirotetronata, a skupa sa svojim atropisomerom inhibira biosintezu para-aminobenzojske kiseline (pABA). Ovi spojevi su prve poznate tvari dobivene iz bakterijskog izvora koji inhibiraju biosintezu pABA-e (LACOSKE i THEODORAKIS, 2015.).



Slika 8. Stukture abisomicina

(RAHMAN i sur., 2010.)

Aksisonitril-3 je cijanoseskviterpen izoliran iz spužve *Acanthella klethra* s Velikog koraljnog grebena kod Australije, a pokazuje inhibitornu aktivnost protiv *Mycobacterium tuberculosis,* s MIK-om od 2,0 μg/ml (KONIG i sur., 2000.). Iako je sintetiziran već u prošlom stoljeću, njegova antituberkulozna aktivnost primjećena je tek nedavno.

Većina dosad izoliranih spojeva pronađena je u toplim morima, odnosno plitkoj vodi i priobalnim područjima, što govori o velikom potencijalu dosad neistraženog prostranstva oceana.

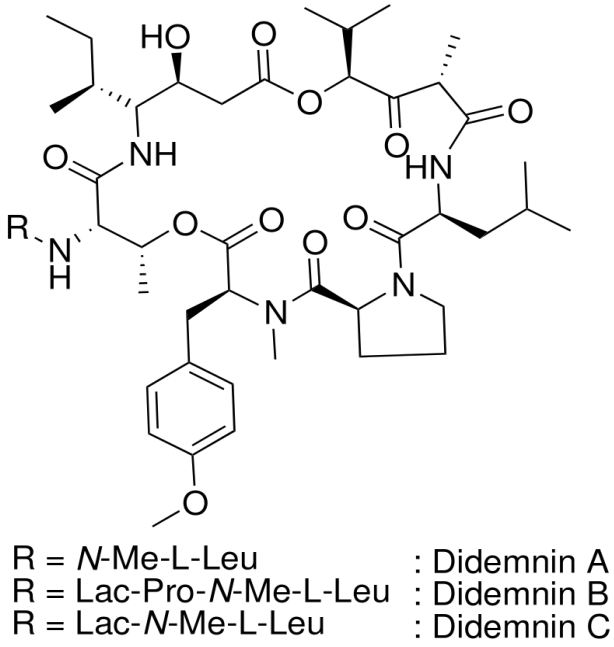
2.4.2. Antivirusni lijekovi

Možda najvažnije antivirusno sredstvo morskog podrijetla izolirano i istraženo do sada je nukleozid Ara-A. Ara-A je polusintetski spoj na bazi arabinozil nukleozida izoliranog iz spužve *Cryptotethia crypta.* Jednom kad se shvatilo da će biološki sustavi prepoznati nukleozidnu bazu nakon modifikacije šećernog dijela, kemičari su počeli zamjenjivati tipične pentoze acikličkim entitetima ili suspstituiranim šećerima što je dovelo do sinteze lijekova azidotimidin (zidovudin), Ara-A (vidarabin), Ara-C (citarabin) i aciklovir koji se danas klinički koriste (DECLERQ, 2002.).

Haloviri A-E, grupa lipofilnih linearnih peptida koji su izolirani od roda gljivica *Sytalidium* procesom slane fermentacije, pokazali su *in vitro* antivirusnu aktivnost protiv *Herpes simplex virusa-1* i *Herpes simplex virusa-2.* Ovakva aktivnost pripisuje se destabilizaciji virusne membrane. Ovi gljivični metaboliti usmjeravaju virocidnu aktivnost prema ekstracelularnim HSV česticama, što ih čini potencijalnim lijekovima za inhibiciju herpesvirusne transmisije (ROWLEY i sur., 2003.).

Didemnini su obitelj cikličkih depsipeptida dobiveni iz *Tridemnum solidum,* karipskog plaštenjaka iz obitelji *Didemnidae.* Pored svoje antitumorske aktivnosti, oni pokazuju značajna antimikrobna svojstva, a njegova aktivnost temelji se na ometanju prenošenja mitogenog signala poput inhibicije kinaza, fosfataze i faktora elongacije (VERA i JOULLIE, 2002.). Još 1982. godine dokazano je da didemnin B ima *in vitro* inhibitorne učinke protiv virusa koji uzrokuju groznicu riftske doline, venezuelanski konjski encefalomijelitis i žutu groznicu. *In vivo* didemnin B u dozi od 0,25 mg/kg dnevno kod miševa zaraženih virusom groznice riftske doline dao je 90% preživljenja. Unatoč svom antivirusnom djelovanju, didemnin B je citotoksičan i inhibira sintezu stanične DNA i RNA te proteina pri koncentracijama koje inhibiraju virusni rast, stoga ima nisku

antivirusnu selektivnost i terapijski indeks. Didemnini bi, međutim, mogli biti promjenjivi ili korisni u kombinaciji s drugim antivirusnim sredstvima za borbu protiv teških zaraznih bolesti (DONIA i HAMANN, 2003.).



Slika 9. Strukture didemnina

(Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Didemnin#/media/File:Didemnins.svg)

Stahiflin je izoliran iz *Stachybotrys sp.* metodom fermentacije u krutom stanju. Ovaj terpenoid pokazao je učinak protiv virusa influence tipa A (H1N1), usporedive s drugim antivirusnim sredstvima poput zanamivira i amantadina (MINAGAWA i sur., 2002.). Sugerira se da stahiflin, s jedinstvenim mehanizmom djelovanja, suzbija prvu fazu virusnih infekcija H1N1 i H2N2 (ulaskom u stanicu domaćina fuzijom između virusne ovojnice i endosomske membrane). Ova antivirusna aktivnost potvrđena je u *in-vivo* studiji nakon peroralne primjene stahiflina i njegovih derivata (YAGI i sur., 1999.).

Nedavno istraživanje prijavilo je dva morska spoja s potencijalnim antivirusnim djelovanjem protiv virusa reprodukcijskog i respiratornog sindroma svinja (RRSS). Tetrahidroalterosolanol C i alterporiol Q izolirani su iz morske gljivice ZJ-2008003, pronađene na mekom koralju *Sarcophyton sp.,* u Južnokineskom moru. Molekularni i morfološkim metodama gljivica je

identificirana *Alternaria sp.,* a spojevi su pokazali antivirusne aktivnosti protiv PRRSV s MIKom od 65 i 39 μM (ZHENG i sur, 2012.).

Izolacijom i istraživanjem strukture mikalamida A iz novozelandske spužve *Mycale sp.,* otkriveno je da je materijal koji se sastoji od 2% mikalamida A bio učinkovit protiv A59 koronavirusa i *in-vivo* kod miševa s 0,2 μg/kg dnevno, sa 100% preživljavanja nakon 14 dana. Kad je dobiven čisti mikalamid A, pokazao je inhibitornu aktivnost protiv HSV-a 1 i poliovirusa tipa 1 pri 0,005 μg/disk. Kada je izoliran mikalamid B, pokazao je veću antivirusnu aktivnost i citotoksičnost od mikalamida A. *In-vitro* antivirusno ispitivanje pokazalo je minimalnu dozu inhibicije od 0,001-0,002 μg/disk za mikalamid B. Mikalamidi A i B su inhibitori sinteze proteina (PERRY i sur., 1990.).

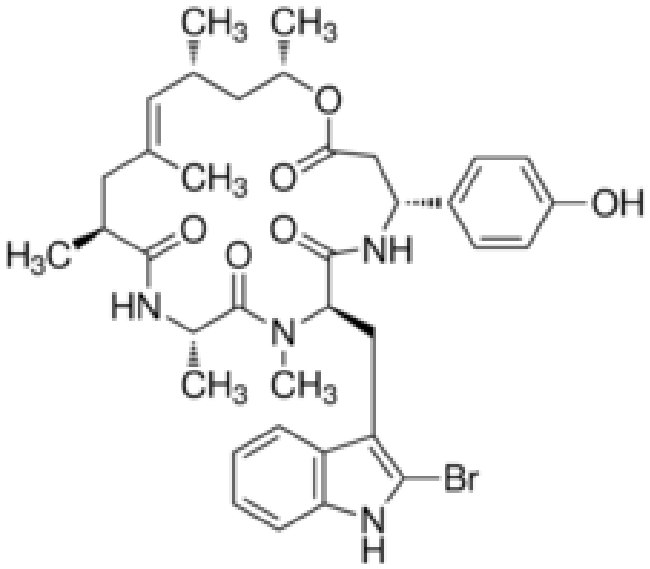
Ovogodišnja pandemija SARS-CoV-2 još uvijek je u rastu, kako po broju zaraženih, tako i po broju umrlih, a još nije pronađen odgovarajući lijek, stoga se provodi sve više podmorskih istraživanja u svrhu pronalaska i razvoja antivirusnog sredstva. Neka istraživanja pokazala su da nekoliko vrsta spojeva, kao što su fluorotanini, flavonoidi i pseudopeptidi, izolirani iz morskih organizama, mogu inhibirati SARS-CoV-2 te da pokazuju bolje rezultate nego lijekovi koji se trenutno koriste (GENTILE i sur., 2020.).

Liječenje virusnih bolesti čak i u današnje vrijeme temelji se na profilaksi, te potpornoj, odnosno simptomatskoj terapiji, zbog čega antivirusni lijekovi nisu pronašli široku primjenu. Možda baš istraživanja morskog okoliša doprinesu razvoju novih spojeva antivirusnog potencijala, te populariziraju liječenje virusnih bolesti specifičnim lijekovima.

2.4.3. Antimikotici

Bioprospekting mora dosad se temeljio na pronalasku lijekova protiv tumora i virusnih bolesti, no u zadnje vrijeme učestalost invazivnih gljivičnih infekcija znatno je porasla sa sve većim brojem imunokompromitiranih pacijenata, poput onih zaraženih HIV-om, kemoterapeutskih pacijenata, onih pod imunosupresivnom terapijom ili liječenih antibioticima širokog spektra. Sve je više dokaza da gljivice pokazuju vrlo specifične prilagodbe okolišu, a samim time razvijaju otpornost na postojeće lijekove (GERONIKAKI i sur., 2013.).

Jasplakinolid je prvi primjer ciklodepsipeptida izoliranih od spužve, a identificiran je iz *Jaspis sp.* prikupljenog na Fidžiju. Jasplakinolid, također nazvan jaspamid, je 19-člani makrociklički depsipeptid sa selektivnom *in vitro* antimikrobnom aktivnosti i MIK-om od 25 µg/ml protiv gljivice *Candida albicans.* Topična *in vivo* aktivnost 2%-tne otopine jasplakinolida protiv vaginalne infekcije kandidom kod miševa slična je onoj kod upotrebe mikonazol nitrata (CREWS i sur., 1986.). Danas se jasplakinolid proučava ne samo kao antimikotik, nego i kao protutumorski lijek, zbog svojih citostatičnih svojstava.



Slika 10: Struktura jasplakinolida

(Izvor: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/j4580?lang=en&region=HR)

Gambierične kiseline izuzetno su snažni antimikotični metaboliti izolirani iz soja epifitskog morskog svijetlećeg bičaša *Gambierdiscus toxicus.* Gambierična kiselina A inhibira rast gljivice *Aspergillus niger* u koncentraciji od 10 ng/disk. Snaga gambieričnih kiselina premašuje potenciju amfotericina B do 2000 puta. Otrovni učinci na miševe ili uzgajane stanice sisavaca su umjerene za dozu od 1 mg/kg apliciranu intraperitonealno (NAGAI i sur., 1992.).

Iz morske spužve *Topsentia sp.* izolirana su dva geodisterol sulfata, koji aplicirani samostalno, nisu pokazali zadovoljavajuću antimikotičnu aktivnost. No, koristeći ove metabolite

u kombinaciji s flukonazolom, postignut je uspjeh u suzbijanju rezistencije gljivice *Candida albicans* na sam flukonazol (DIGIROLAMO i sur., 2009.). Geodisterol-3-O-sulfat i 29-demetilgeodisterol-3-O-sulfat trenutno su u pretkliničkoj fazi farmakološkog ispitivanja.

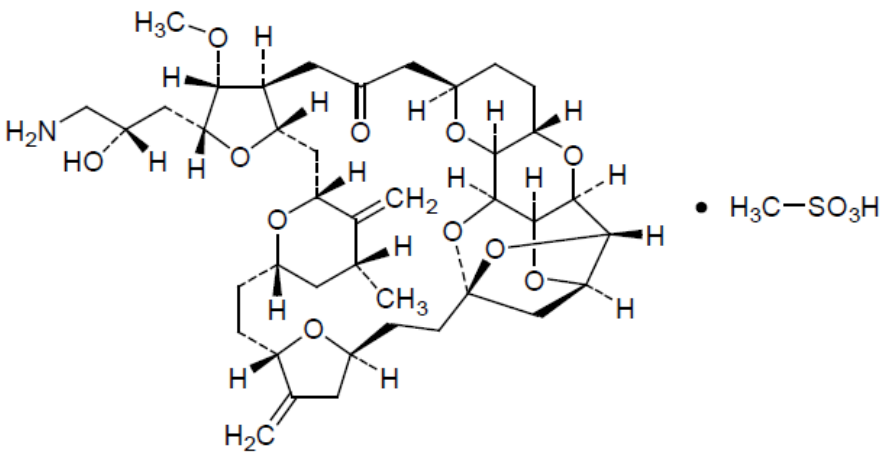
Nekoliko spojeva iz mora djeluje antimikotički, iako još uvijek nije dokazan mehanizam njihovog djelovanja. Neki od takvih su: alkaloid 5-bromo-8-metoksi-1-metil-β-karbolin, spoj koji se također nalazi u pretkliničkoj fazi ispitivanja, a izoliran je iz novozelandske morske mahovnjače *Pterocella vesiculosa*; novi linearni tetrapeptid citronamid A od australske spužve *Citronia astra*; dva holostan-tip triterpenoid glikozida, izolirana morskog krastavca *Bohadschia marmorata* iz Kineskog mora; poliketid saadamicin, od endofitske bakterije *Streptomyces sp.* pronađene na površini egipatske spužve *Aplysina fistularis;* te dva nova depsipeptida, teopapuamidi B i C, izolirana od indonezijske spužve *Siliquariaspongia mirabilis* (MAYER i sur., 2013.).

Većina antimikotičnih spojeva morskog podrijetla su citotoksični. Slijedom toga, s vremenom se svaki spoj prestane smatrati obećavajućim protugljivičnim sredstvom. Procjena nadmašuje li protugljivično djelovanje citotoksične učinke je vrlo bitna, a zatim racionalne modifikacije radi poboljšanja terapijskog indeksa za ove molekule (DONIA i HAMMAN, 2003.).

2.4.4. Citostatici

Statistički tumorske bolesti su treće po redu kao uzrok smrti u svijetu. Novi protutumorski lijekovi s visokom aktivnosti i minimalnim nuspojavama su prijeko potrebni, a razvoj morskih citostatika može pridonijeti ovoj potrebi. Već spomenuti citarabin i trabektedin pronašli su svoju korist u cijelom svijetu. Osim navedenih, još dva citostatička lijeka odobrena su od strane FDA.

Eribulin mesilat (Halaven®, Eisai Europe Ltd., Hatfield, Hertfordshire, UK) je sintetički analog halihondrina B, izoliranog iz morskih spužvi *Halichondria okadai* i *Lyssodendoryx sp.* Halihondrin B je izričit primjer problema opskrbe, koji je riješen kemijskom sintezom istoga. Lijek je odobren od FDA 2010. i od EU 2011. za pacijente s naprednim lokalnim ili metastatskim rakom dojke koji su prošli kemoterapeutska liječenja. Spoj utječe na dinamiku mikrotubula na kompleksan način, što dovodi do prekida mitotičkih vretena te uzrokuje apoptotičku smrt stanice (LINDEQUIST, 2016.).



Slika 11: Eribulin mesilat (Halaven)

(Izvor: https://api.drreddys.com/product/eribulin-mesylate)

Brentuksimab vedotin (Adcetris®, Takeda Pharma A/S, Taastrup, Denmark) je kombinacija lijeka koja se sastoji od vrlo citotoksičnog spoja monometil auristatin i specifičnog tumorskog protutijela usmjerenog protiv CD30 na površini tumorskih stanica kao što su one kod Hodgkinovog limfoma ili velikostaničnih anaplastičnih limfoma (engl. Anaplastic large-cell lymphoma - ALCL) tumora. Auristatin je sintetički analog morskog prirodnog produkta dolastatina 10 koji je originalno izoliran iz mekušca *Dolabella auricularia.* Danas je poznato da je pravi proizvođač dolastatina cijanobakterija *Caldora penicillata* (ENGENE, 2015.). FDA odobrio je lijek 2011. za liječenje pacijenata s relapsom Hodgkinovog limfoma nakon autologne transplantacije matičnih stanica. Trenutno je u tijeku nekoliko kliničkih studija koje dokazuju efektivnost kombinacije brentuksimab vedotina s drugim protutumorskim lijekovima. Također, novi konjugati protutijela, kao što je glembatumumab vedotin, su trenutno u različitim fazama kliničkih ispitivanja (NEWMAN i CRAGG, 2016.).

Salinispora je prva otkrivena obligatno morska aktinomiceta (*tropica, arenicola, pacifica)* koncentrirana oko tropskog pojasa, a produkti koje proizvodi strukturno se razlikuju ovisno o mikrostaništu u kojem se uzorkuje, što znači da ćemo naći različite spojeve od iste bakterije na udaljenim dijelovima svijeta. Najbitniji izdvojeni spoj je Salinosporamid A (Marizomib), potentni inhibitor proteasoma koji može ireverzibilno i selektivno ubijati tumorske stanice te prelaziti krvno

moždanu barijeru, a trenutno se nalazi u trećoj fazi kliničkih ispitivanja (Celgene). Lijek bi se trebao koristiti pretežito za tumore kao što su multipli mijelom i glioblastom (FENICAL, 2009.).

Plitidepsin (Aplidin®, PharmaMar) je ciklički depsipeptid originalno izoliran iz plaštenjaka *Aplidium albicans*, a komercijalno se proizvodi kemijskom sintezom. Pokazuje širok spektar antikancerogenih aktivnosti, uključujući indukciju apoptoze te prekid G1/G2 staničnog ciklusa. Aktivan je protiv raznih tipova malignih tumora, a testira se protiv leukemija i limfoma. Trenutno je u trećoj fazi kliničkih ispitivanja (ALONSO-ALVAREZ i sur., 2017.).

Većina tvari pronađenih u moru imaju jači ili slabiji citostatički učinak, zbog čega vidimo da se najveći broj spojeva morskog podrijetla trenutno ispituje zbog svog antikancerogenog potencijala. Razlog potrage za antikancerogenima je naravno i visoka smrtnost od posljedica tumora, jer čovjek još uvijek nije pronašao odgovarajući lijek za sve oblike tumora. Razvoj morskih antikancerogena zasigurno će pomoći medicini u borbi protiv tumorskih bolesti, a dovest će i do novih saznanja o samim mehanizmima nastanka tumora.

2.4.5. Antiparazitici

Anthelmintici su lijekovi koji se koriste za uklanjanje parazita iz organizma domaćina. Parazitizam nematoda predstavlja glavni problem u komercijalnoj stočnoj industriji i veterini te značajno pridonosi pothranjenosti i bolesti kod ljudi. Potraga za morskim spojevima antiparazitskog djelovanja nije široko zastupljena, o čemu govori da gotovo niti jedna tvar ovakve aktivnosti nije dospjela do kliničkih ispitivanja. Zbog sve većeg razvoja rezistencije na anthelmintike (benzimidazole i makrocikličke laktone) potrebno je otkrivati i razvijati nove antiparazitike (CROMPTON i NESHEIM, 2002.).

Dihidroksitetrahidrofuran izoliran iz južnoaustralske smeđe alge *Nothelia anomala* pokazao je jaku i selektivnu nematocidnu aktivnost protiv *Haemonchus contortus* i *Trichostrongylus colubriformis* i to u niskoj dozi. Ovaj tetrahidrofuran inhibira razvoj jajašaca, odnosno slobodoživuću treću fazu razvoja ove dvije vrste. Ova razina nematocidne aktivnosti slična je kao kod komercijalno dostupnih lijekova levamisol i klozantel. Nažalost, *in-vivo* pokušaji testiranja pokazali su se neuspješnima zbog hidrofobnih svojstava ovog lijeka (CAPON i sur., 1998.), koji

rezultiraju smanjenom biodostupnosti, odnosno slabom distribucijom lijeka, no razumijevanje *in-vitro* djelovanja ovih spojeva može doprinijeti otkriću novih i poboljšanih antihelmintika.

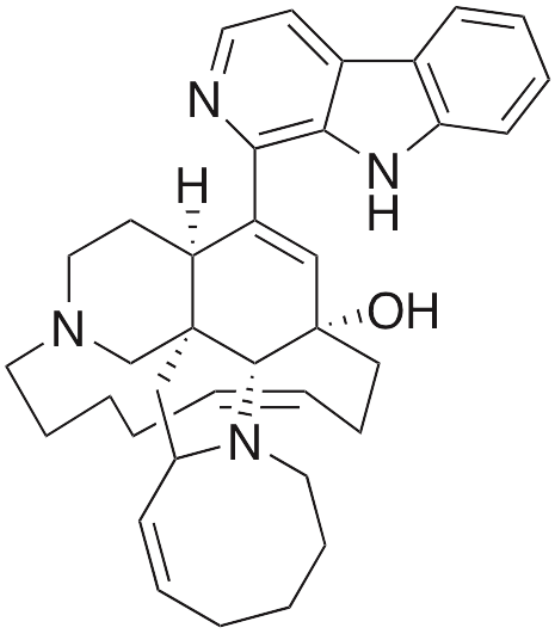
Amfilaktami, izolirani od spužve *Amphimedon sp.,* prikupljene u Velikom australskom zaljevu, sadrže neobičan ugljikov kostur i laktamsku skupinu. Amfilaktam D ima *in-vitro* nematocidnu aktivnost protiv parazitskog nematoda *Haemophilus contortus.* Ova tvar inhibira razvoj ličinki, ali ima malu ili nikakvu aktivnost protiv jajašaca. Ovaj stupanj *in-vitro* aktivnosti sličan je postojećim anthelminticima te zaslužuje *in-vivo* procjenu (OVENDEN i CAPON, 1999.).

Osim pravih parazitskih bolesti, bioprospekting mora okrenuo se traženju spojeva antiprotozooalne aktivnosti. Bolesti uzrokovane protozojskim bolestima dovode do visoke stope smrtnosti i morbiditeta u cijelom svijetu, a najčešći uzročnici protiv kojih se traži lijek su *Leishmania sp., Trypanosoma sp., Toxoplasma sp., Plasmodium sp.*

Spužve iz roda *Plakortis* dobro su poznate po svojoj proizvodnji cikličkih peroksida. Najaktivniji ciklički peroksid uzrokuje lizu stanične membrane kod *Leishmania mexicana,* te upečatljivo smanjuje pokretljivost nakon 30 minuta. Aktivnost ovog peroksida usporediva je s učinkovitosti ketokonazola. Plakortin-tip poliketidi predstavljaju morske prirodne produkte koji pokazuju veliku strukturalnu i biološku raznolikost. Mnoštvo novih policikličnih plakortin poliketida nedavno je identificirano, a provedene su razne studije na području sinteze novih spojeva inspiriranih prirodnim tvarima (QINGONG i sur., 2020.). Danas se plakortin nalazi u predkliničkoj fazi ispitivanja protiv malarije.

Manzamini su jedinstvena klasa morskih β-karbolinskih alkaloida s neobičnim tetra- ili pentacikličkim sistemima. Ovi alkaloidi, izolirani iz više od 16 vrsta spužvi pronađenih od Crvenog mora do Indonezije, pokazali su razne oblike bioaktivnosti protiv uzročnika zaraznih bolesti, kod tumora i upala. Najveći potencijal manzaminskih alkaloida je protiv malarije, s pojačanim sinergističkim djelovanjem s klorokinom i artemisinom. Manzamin A pokazuje 70% inhibicije prema parazitu *Toxoplasma gondii*, pri koncentraciji od 0.054 μg/mL, bez toksičnih učinaka. Dnevna intraperitonealna doza od 8 mg/kg manzamina A tijekom 8 uzastopnih dana, počevši od prvog dana nakon infekcije, produžio je život pokusnih miševa do 20 dana (EL SAYED i sur. 2001.). Također, Manzamin A inhibira rast parazita *Plasmodium falciparum*, uzročnika malarije, a učinkovitost samog spoja i odabranih analoga čini ga jednim od najperspektivnijih antiinfektivnih spojeva koji su otkriveni iz oceana, a razumijevanje odnosa strukture i aktivnosti

ove jedinstvene klase alkaloida sigurno će dovesti do učinkovitijeg i sigurnijeg antimalarijskog lijeka (DONIA i HAMANN, 2003.).



Slika 12. Kemijska struktura manzamina A

(Izvor: https://lktlabs.com/product/manzamine-a/)

2.5. Daljnja istraživanja mora – bioprospekting

Bioprospekting podrazumijeva istraživanje prirodnih izvora u svrhu potrage za malim molekulama ili makromolekulama, odnosno biokemijskim i genskim informacijama koje bi se mogle razviti u komercijalno vrijedne proizvode (BEATTIE i sur. 2010.). Do sada su fokus većine istraživanja novih lijekova bili uglavnom kopnene biljke, životinje i mikroorganizmi, pa raste interes za manje istraženim ekosistemima i pripadajućim mikroorganizmima (ABIDA i sur., 2013.).

Kada se biološki resursi ili autohtona znanja u nekoj regiji neetički iskorištavaju bez davanja poštene naknade, to nazivamo biopiratstvo, što se nekad naziva i znanstveni kolonijalizam. Povećavanjem ekološke i kulturalne svijesti, čovječanstvo se protiv biopiratstva počelo boriti uvođenjem međunarodnih ugovora, kao što su UN-ova Konvencija o biološkoj raznolikosti i Nagojski protokol. Osim biopiratstva, rizici povezani s bioprospektingom su pretjerano iskorištavanje pojedinih vrsta, te uništavanje okoliša, no danas se razvija zakonodavstvo za borbu protiv ovih rizika, npr. Zakon o zaštiti morskih sisavaca i Zakon o ugroženim vrstama, te međunarodni ugovori poput UN-ove Konvencije o morskom pravu i Sporazuma o Antarktiku (BENSON, 2012.). Uspjeh lijekova morskog podrijetla ovisit će o intenzivnoj međudisciplinarnoj suradnji između biologa, kemičara, biotehnologa, farmaceuta, doktora humane medicine, doktora veterinarske medicine, te između sveučilišta, bolnica i velikih tvrtki, pa i država.

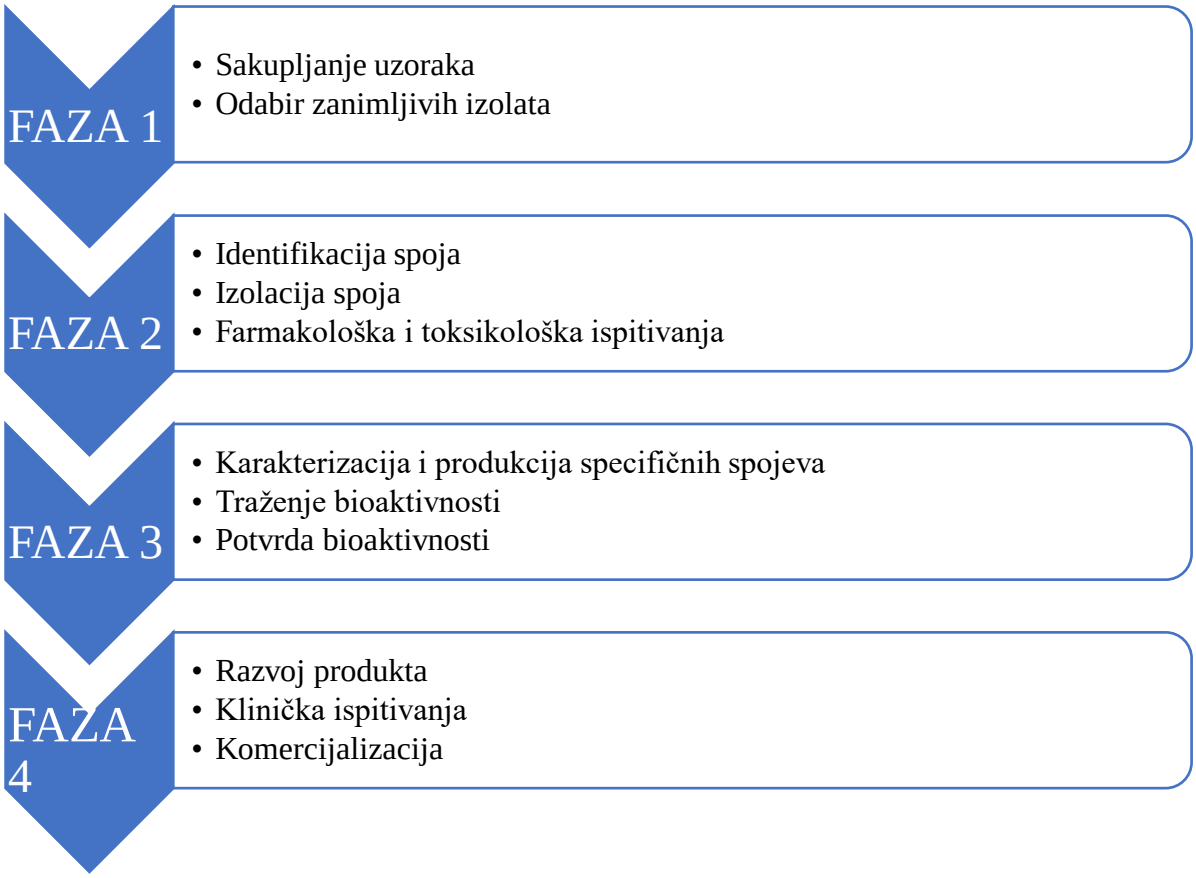
Istraživanja mora ovakve vrste provode se danas i u Republici Hrvatskoj. 01.11.2017. godine započeo je projekt "Bioprospekting Jadranskog mora", izgrađen na čvrstom temelju znanstvene izvrsnosti stručnjaka s Instituta Ruđer Bošković, Sveučilišta u Splitu (Kemijsko-tehnološki fakultet), Zagrebu (Prehrambeno-tehnološki fakultet), Rijeci (Odjel za biotehnologiju) i Osijeku (Prehrambeno-tehnološki fakultet). Glavni cilj ovog projekta je jačanje kapaciteta Centra izvrsnosti za Bioprospekting mora kroz provođenje vrhunskih interdisciplinarnih istraživanja u području biotehnologije mora sa svrhom dobivanja biološki aktivnih molekula poželjnih svojstava za primjenu u farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Neki od usputnih ciljeva su procjena biološke i kemijske raznolikosti, razvoj novih protokola za ekstrakciju, izolaciju, pročišćavanje i obogaćivanje biomolekula, rješavanje pravnih pitanja vezanih za sigurnost pristupa morskim resursima, suradnja između istraživačkih institucija i biotehnoloških tvrtki i stručna razmjena znanja kroz poticanje radionica, skupova, patenata i publikacija.

3. RASPRAVA

U posljednje vrijeme sve se više nameće tema antimikrobne rezistencije koja postaje veliki globalni problem i na taj način smanjuje terapijske mogućnosti za mnoštvo mikroorganizama koji su se oduvijek mijenjali i evoluirali. Rezistencija se pokušava suzbiti na mnoge načine, pretežito uređivanjem načina korištenja lijekova, s naglaskom na odgovornu upotrebu i odlaganje ostataka istih, pogotovo u velikim stočarskim proizvodnjama. Porastom Zemljine populacije, rasti će i broj bolesti uzrokovanih rezistentnim mikroorganizmima, stoga moramo pronaći nove izvore bioaktivnih metabolita, koji će proširiti spektar terapijske moći, kako u medicini, tako i u veterini.

Čovjek je oduvijek iskorištavao sve što mu je priroda dala, no u posljednje vrijeme istraživanja se okreću neistraženim prostranstvima oceana i mora. Prva podmorska istraživanja temeljila su se na ekstrakciji uzoraka iz priobalnih područja, a razvojem tehnologije, odnosno korištenjem podmornica i izgradnjom podvodnih laboratorija, i dubokomorski okoliš postao nam je dostupan. Kao i u drugim okolišima, istraživači se susreću s mnogim problemima u bioprospektingu morskih prirodnih produkata. Prvi od takvih bio je naravno kulturalni, odnosno pitanje na koji način će se omogućiti naknada starim narodima koji pojedine prirodne produkte koriste već stoljećima. Biopiratstvo postoji otkad je bioprospektinga, a danas se suradnjom velikih korporacija i država pokušava riješiti ovaj problem na zakonodavnoj osnovi. Osim kulturnog aspekta, drugi problem je ekološke prirode. Kontinuirana iscrpna eksploatacija morskog okoliša nije pouzdana, dovodi pojedine vrste u opasnost od izumiranja, te narušava ravnotežu bioraznolikosti. Slijedom toga, opsežna proizvodnja metabolita od morskih prirodnih proizvoda za kliničku primjenu je pravi izazov, a zahtijeva alternativne strategije za dobivanje zdravih i ekonomski izvedivih zaliha.

Tablica 2. Faze bioprospektinga



Tradicionalno, prve opcije za racionalnu opskrbu malim molekulama izvedenih iz mora su kemijska sinteza ili modifikacija. Međutim, strukturna složenost morskih molekula, novootkriveni mehanizmi djelovanja i visoka selektivnost rezultiraju malim brojem ekonomsko izvedivih sinteza i modifikacija. Nadalje, veliki se napredak radi u uzgoju i proizvodnji morskih organizama. Mnogi viši organizmi uspješno se uzgajaju u svom prirodnom okolišu i većina antikancerogenih lijekova dostupnih na tržištu su dobiveni na ovaj način, akvakulturom. No ovim načinom uzgoja također dolazimo do problema opksrbe i narušavanja ekološke ravnoteže. Nova istraživanja pokazuju da je većina morskih metabolita podrijetlom iz mikroorganizama koji su pronađeni na višim organizmima kao što su spužve i koralji. Razvoj mikrobiologije ide u smjeru bioorganske sinteze kompletno u laboratoriju ili uzgoja organizama u bioreaktorima uz održivu bioprocesnu produkciju, što omogućuje dobivanje velikih količina korisnih prirodnih produkata bez eksploatacije mora. Međutim, i ovakvi pristupi imaju svoje mane. Naime ekspresija pojedinih gena

nije moguća ako ne postoji odgovarajući okidač iz okoliša, zbog čega neki metaboliti neće biti sintetizirani u umjetnim uvjetima. Najnoviji pristupi podmorskim istraživanjima temelje se na molekularnim metodama. Metagenomika je proučavanje metagenoma, tj. analiza genetskog materijala iz uzoraka iz okoliša bez uzgoja mikroorganizama u laboratoriju. Ponekad zvana i genomika zajednice podrazumijeva sekvencioniranje i analizu DNK-e mikroorganizama, čije se informacije spremaju u takozvane "genomske knjižnice". Razvojem informatike i umjetne inteligencije, enormne količine informacija mogu se analizirati i mapirati novim bioinformatičkim alatima. Ovakav pristup zahtijeva mnogo vremena da bi se postigli adekvatni rezultati, a povezivanjem baza podataka te znanja s različitih krajeva svijeta možemo ubrzati ove procese.

Dosad je US-FDA odobrio sedam lijekova podrijetla iz morskih organizama: zikonotid, sintetiziran iz konotoksina izoliranog iz morskog puža *Conus magus*, koji se koristi kao analgetik; trabektedin, alkaloid iz plaštenjaka *Ecteinascidia turbinata*, s protutumorskim učinkom; jota-karagenan, antivirusno sredstvo dobiveno iz crvenih algi; citarabin, sintetiziran po uzoru na spoj izoliran iz spužve *Cryptotethya crypta*, korišten za tretman leukemije; vidarabin, također iz spomenute spužve, s antivirusnim djelovanjem; omega-3 masne kiseline iz ribljeg ulja, koje se koriste kao lijek za hipertrigliceridemiju; te eribulin mestilat, podrijetla iz spužve *Halichondria okadai*, sredstvo za suzbijanje metastatskog raka dojke. U kliničkim ispitivanjima nalazi se još mnoštvo spojeva s potencijalnim antimikrobnim djelovanjem, a kao što vidimo, većina njih se ispituje zbog svog antikancerogenog ili antivirusnog potencijala. Razvojem znanosti i tehnologije, nadamo se da će se terapijska širina morskih prirodnih spojeva povećati, odnosno da ćemo proizvesti više lijekova antibakterijskog, antimikotičnog i antiparazitnog djelovanja.

Kemijska raznolikost morskog okoliša je abeceda iz koje je izveden "jezik podmorja", odnosno produkti derivirani iz primarnog metabolizma su sredstva podvodne komunikacije. Na čovječanstvu je da nauči ovaj jezik te da na odgovoran način iskoristi sve što mu oceani i mora pružaju, jer evolucija je u prirodi iskušala razne spojeve i njihove koristi, zbog čega u njoj nalazimo svoju najveću inspiraciju.

4. LITERATURA

1. ABDELMOHSEN, U. R., K. BAYER, U. HENTSCHEL (2014): Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. Nat Prod Rep. 31, 381-399.
2. ABIDA, H., S. RUCHAUD, L. RIOS, A. HUMEAU, I. PROBERT, C. DE VARGAS, S. BACH, C. BOWLER (2013): Bioprospecting marine plankton, 4594-4611.
3. ALONSO-ALVAREZ, S., E. PARDAL, D. SANCHEZ-NIETO, M. NAVARRO, M. D. CABALLERO, M. V. MATEOS, A. MARTIN (2017): Plitidepsin: design development, and potential place in therapy. Drug design, Development and Therapy, Dovepress. 11, 253-263.
4. BEATTIE, A. J., M. HAY, B. MAGNUSSON, R. D. NYS, J. SMEATHERS, J. F. V. VINCENT (2011): Ecology and bioprospecting, 341-356.
5. BENSON, E. (2012): Endangered science: the regulation of research by the U.S. Marine Mammal Protection and Endangered Species Acts. Historical studies in natural sciences. 42(1), 30-61.
6. BERGMANN, W., R. J. FEENEY (1951): Contributions to the study of marine products. XXXII. The nucleosides of sponges. J Org Chem, 981-987.
7. BUSHAK, L., (2016): A Brief History Of Antibiotic Resistance: How A Medical Miracle Turned Into The Biggest Public Health Danger Of Our Time. Medical Daily.
8. CAPON, R. J., R. A. BARROW, S. ROCHFORT et al. (1998): Marine nematodes: tetrahydrofurans from a Southern Australian brown alga Notheia anomala. Tetrahedron. 54, 2227-2242.
9. CARTE, B. K., (1993): Marine natural products as a source of novel pharmacological agents. Curr. Opin. Biotechnol. 4, 275-279.
10. CETINA, A., A. MATOS, G. GARMA, H. BARBA, R. VASQUEZ, A. Z. RODRIGUEZ, D. JAY, V. MONTEON, R. LOPEZ (2010): Antimicrobial activity of marine bacteria isolated from Gulf of Mexico. Rev. peru. biol. 17(2), 231- 236.
11. CHOPRA I., L. HESSE, A. O'NEILL (2002): Discovery and development of new anti-bacterial drugs, in Pharmacochemistry Library,. vol 32, Trends in Drug Research III, ed. van der Goot H., e Amsterdam: Elsevier, 213–225

12. CREWS, P., L. V. MANES, M. BOEHLER (1986): Jasplakinolide, a cyclodepsipeptide from the marine sponge Jaspis sp. Tetrahedron Lett. 27, 2797-2800.
13. CROMPTON, D. W. T., NESHEIM, M. C. (2002): Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. Annu Rev Nutr. 22, 35-59.
14. DANOVARO, R., L. CARUGATI, M. BERZANO, A. E. CAHILL, S. CARVALHO, A. CHENUIL (2016): Implementing and Innovating Marine Monitoring Approaches for Assessing Marine Environmental Status. Front. Mar. Sci. 3.
15. DECLERQ, E. (2002): New anti-HIV agents and targets. Med Res Rev. 22, 531-565.
16. DIAZ, P. G., McCOOK, L. (2008): Macroalgae (Seaweeds) in China (ed), The State of the Great Barrier Reef On.line (M). Townsville: Great Barrier Reef Marine Park Authority, 1.
17. DIGIROLAMO, J. A., X. C. LI, M. R. JACOB, A. M. CLARK, D. FERREIRA (2009): Reversal of fluconazole resistance by sulfated sterols from the marine sponge Topsentia sp. J Nat Prod. 72, 1524-1528.
18. DONIA, M., HAMANN, M. T. (2003): Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. Lancet Infect Dis. 3, 338-348.
19. EL SAYED, K. A., M. KELLY, U. A. K. KARA et al. (2001): New manzamine alkaloids with potent activity against infectious diseases. J Am Chem Soc. 123, 1803-1808.
20. ELISABETTA, C., M. MARTINA, M. ANNA et al. (2004): Characterization and antimicrobial activity of epibiotic bacteria from Petrosia ficiformis (Porifera, Demospongiae). J Exptal Marine Biol and Ecolo. 309(1), 21-23.
21. ENGENE, N., A. TRONHOLM, L. A. SALVADOR-REYES, H. LUESCH, V. J. PAUL (2015): Caldora penicillata gen. nov., comb. nov. (Cyanobacteria), a pantropical marine species with biomedical relevance. J Phycol. 51, 670-681.
22. FAULKNER, D. J., M. K. HARPER, M. G. HAYGOOD, C. E. SALOMON, E. W. SCHMIDT (2000): Symbiotic bacteria in sponges: sources of bioactive substances. Drugs from the Sea, Fusetani, N, ed. Basel: Karger, 107-119.
23. FENICAL W. P. R. JENSEN, M. A. PALLADINO, K. S. LAM, G. K. LLOYD, B. C. POTTS (2009): Discovery and development of the anticancer agent salinosporamide A (NPI-0052). Bioorg Med Chem. 17, 2175-2180.
24. FISCHER, H. (2011): Bioassay guided fractionation for the isolation of cytotoxiy compounds from a Caribbean marine sponge. Chemistry. 14

25. FOREST, R., S. VICTOR, A. FAROOQ, et al. (2002): Diversity and distribution of coral-associated bacteria (J). Mar. Ecol. Prog. Ser. 243, 1-10.
26. FRIEDRICH, A. B., H. MERKERT, T. FENDERT et al. (1999): Microbial diversity in the marine sponge Aplysina caverniucola (formerly Verongia cavernicola) analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH), Mar Biol. 134, 461-470.
27. GENTILE, D., V. PATAMIA, A. SCALA, M. T. SCIORTINO, A. PIPERNO, A. RESCIFINA (2020): Putative inhibitors of SARS-CoV-2 main protease from a library of marine natural products: A virtual screening and molecular modeling study. Mar. Drugs. 18(4), 225.
28. GERONIKAKI, A., M. FESATIDOU, V. KARTSEV, F. MACAEV (2013): Synthesis and biological evaluation of potent antifungal agents. Curr Top Med Chem. 13, 2684-2733.
29. GROSS, H. (2009): Genomic mining- a concept for the discovery of new bioactive natural products. Curr Opin Drug Discov Devel. 12, 207-219.
30. HABBU, P., V. VIJAYANAND, R. SHASTRI, S. MADAGUNDI, V. H. KULKARNI (2016): Antimicrobial metabolites from marine microorganisms. Chinese Journal of Natural Medicines. 14(2), 101-116.
31. HENTSCHEL, U., J. HOPKE, M. HORN, A. B. FRIEDRICH, M. WAGNER, J. HACKER, B. S. (2002): Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from diferent oceans. Appl Environ Microbiol. 68, 4431-4440.
32. HU, Y., J. CHEN, G. HU, J. YU, X. ZHU, Y. LIN, S. CHEN, J. YUAN (2015): Statistical research on the bioactivity of new marine natural products discovered during the 28 years from 1985. to 2012. Mar. Drugs. 13, 202-221.
33. JADULCO, R., G. BRAUERS, R. A. EDRADA et al. (2002): New metabolites from sponge-derived fungi Curvularia lunata and Cladosporium herbarum. J Nat Prod. 65(5), 730-733.
34. JASPARS, M., D. DE PASCALE, J. H. ANDERSEN, F. REYES, A. D. CRAWFORD, A. IANORA (2016): The marine biodiscovery pipeline and ocean medicines of tomorrow. J Mar Biol. 96(1), 151-158.
35. JEBBAR, M., B. FRANZETTI, E. GIRARD, P. OGER (2015): Microbial diversity and adaptation to high hydrostatic pressure in deep-sea hydrothermal vents prokaryotes. Extremophiles, 19, 721-740.

36. JENSEN, P. R., W. FENICAL (1995): The relative abundance and seawater requirements of gram-positive bacteria in near-shore tropical marine samples. Microb Ecol. 29(3), 249-257.
37. JIMENO, J. M. (2002): A clinical armamentarium of marine-derived anti-cancer compounds. Anticancer Drugs. (1), 15-19.
38. JIMENO, J., G. FAIRCLOTH, SOUSA-FARO, J. M. FERNANDEZ, P. SCHEUER, K. RINEHART (2004): New marine derived anticancer therapeutics – A journey from the sea to clinical trials. Marine drugs, 2 (1), 14-29.
39. KIJJOA, A., P. SAWANGWONG (2004): Drugs and cosmetics from the sea, 73-82.
40. KIURU, P., M. V. D'AURIA, C. D. MULLER, P. TAMMELA, H. VUORELA, J. YLI-KAUHALUOMA (2014): Exploring marine resources for bioactive compounds. Planta Med., 1234-1246.
41. KLOTZ, U. (2006): Ziconotide – A novel neuron-specific calcium channel blocker for the intrathecal treatment of severe chronic pain – A short review. Int J Clin Pharmacol Ther. 44, 478-483.
42. KONIG G.M. (1992): Meeresorganismen als Quelle pharmazeutisch bedeutsamer Naturstoffe. Dtsch Apoth Ztg. 132, 673-683
43. KONIG, G. M., A. D. WRIGHT, S. G. FRANZBLAU (2000): Assessment of antimycobacterial activity of a series of mainly marine derived natural products. Planta Med. 66, 337-342.
44. KUSTIARIYAH, T., J. P. GOTTFRIED, P. ANDREA et al. (2012): Helicascolide C, a new lactone from an Indonesian marine algicolous strain of Daldinia eschscholzii (Xylariaceae, Ascomycota), Phytochem Lett. 5, 83-86.
45. LACOSKE, M. H., THEODORAKIS, E. A. (2015): Spirotetronate polyketides as leads in drug discovery. J. Nat. Prod. 78, 565-575.
46. LEE, Y. K., J. H. LEE, H. K. LEE (2001): Microbial symbiosis in marine sponges. J Microbiol. 39, 254-264.
47. LI, H.-Y., S. MATSUNAGA, N. FUSETANI (1998): Antifungal metabolites from marine sponges. Curr Org Chem. 2, 649-682.
48. LINDEQUIST U., T. SCHWEDER (2001): Marine Biotechnology. Biotechnology, Vol. 10, Special processes. Wiley-VCH; Weinheim, 441-484.

49. LINDEQUIST, U. (2016): Marine-derived pharmaceuticals – challenges and opportunities. Biomol Ther (Seoul). 24(6), 561-571.
50. MALVE, H. (2016): Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology. J Pharm Bioall Sci. 8, 83-91.
51. MARMANN, A., A. H. ALY, W. LIN, B. WANG, P. PROKSCH (2014): Co-cultivation-a powerful emerging tool for enhancing the chemical diversity of microorganisms. Mar. Drugs. 12, 1043-1065.
52. MARTINS, A., H. VIEIRA, H. GASPAR, S. SANTOS (2014): Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: tips for success. Mar. Drugs. 12, 1066-1101.
53. MAYER, A. M. S. (2016): Marine pharmaceuticals: the clinical pipeline.
54. MAYER, A. M. S., A. D. RODRIGUEZ, O. TAGLIALATELA-SCAFATI, N. FUSETANI (2013): Marine pharmacology in 2009-2011: Marcine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. Mar. Drugs. 11, 2510-2573.
55. MAYER, A. M., K. B. GLASER, C. CUEVAS, R. S. JACOBS, W. KEM, R. D. LITTLE, et al. (2010): The odyssey of marine pharmaceuticals: A current pipeline perspective. Trends Pharmacol Sci. 31, 255-256.
56. MCINTOSH, J. A., M. S. DONIA, E. W. SCHMIDT (2009): Ribosomal peptide natural products: bridging the ribosomal and nonribosomal worlds. Nat Prod Rep. 26, 537-559.
57. MINAGAWA, K., S. KOUZUKI, J. YOSHIMOTO, Y. KAWAMURA, H. TANI, T. IWATA, Y. TERUI, H. NAKAI, S. YAGI, N. HATTORI (2002): Stachyflin and acetylstachyflin, novel anti-influenza a virus substances, produced by Stachybotrys sp RF-7260. I. Isolation, structure elucidation and biological activities. J. Antibiot. 55, 155-164.
58. MUNRO, M. (1999): The Discovery and Development of Marine Compounds with Pharmaceutical Potential. Journal of Biotechnology. 70(1-3), 15-25.
59. NAGAI, H., M. MURATA, K. TORIGOE, M. SATAKE, T. YASUMOTO (1992): Gambieric acids: new potent antifungal substances with unprecedented polyether structures from a marine dinoflagellate Gambierdiscus toxicus. J Org Chem. 57, 5448-5453.

60. NAGLIĆ T., B. ŠEOL MARTINEC, J. MADIĆ (2017): Veterinarska mikrobiologija: Opća bakteriologija i mikologija, 173-186
61. NEWMAN D. J., CRAGG G. M. (2016): Drugs and drug candidates from marine sources: an asessment of the current "state of play". Plant Med. 82, 775-789.
62. NEWMAN, D. J., G. M. CRAGG (2004): Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials – Journal of natural products, 67 (8), 1216-1238.
63. OVENDEN, S. P. B., CAPON, R. J. (1999): Amphilactams A-D: novel nematocides from Southern Australian marine sponges of the genus Amphideon. J Org Chem. 64, 1256-1259.
64. PABHA, D., S. WAHIDULLA, T. KAMAT, L. D' SOUZA (2011): Screening marine organisms for antimicrobial activity against clinical pathogens. Indian Journal of Geo-Marine Sciences. 40(3), 338-346.
65. PERRY, N. B., J. W. BLUNT, M. H. G. MUNRO, A. M. THOMPSON (1990): Antiviral and antitumor agents from a New Zealand sponge Mycale sp. 2: structures and solution conformations of mycalamides A and B. J. Org. Chem. 55, 223-227.
66. POMPONI J. M. (1999): The bioprocess-technological potential of the sea. Journal Biotechnol, 70, 5-13.
67. QINGONG, L., Y. HONGZHI, T. YEFENG (2020): Recent advances in the synthesis of plakortin-type polyketides. Org Biomol Chem.
68. RADJASA, O. K., Y. M. VASKE, G. NAVARRO, H. C. VERVOORT, K. TENNEY, R. G. LININGTON, P. CREWS (2011): Highlights of marine invertebrate-derived biosynthetic products: their biomedical potential and possible production by microbial associants. Bioorg Med Chem. 6658-6674.
69. ROWLEY, D. C., S. KELLY, C. A. KAUFFMAN, P. R. JENSEN, W. FENICAL (2003): Halovirs A-E, new antiviral agents from a marine-derived fungus of the genus Scytalidium. Bioorgan. Med. Chem. 12, 6113-6124.
70. SCHOFFSKI, P., H. DUMEZ, P. WOLTER, C. STEFAN, A. WOZNIAK, J. JIMENO (2008): Clinical impact of trabectedin (ecteinascidin-743) in advanced/metastatic soft tissue sarcoma. Expert Opin Pharmacother, 1609-1618.
71. ŠEOL B., K. MATANOVIĆ, S. TERZIĆ (2010): Antimikrobna terapija u veterinarskoj medicini. Zagreb, Medicinska naklada.

72. SHE, J., I. ALLEN, E. BUCH, A. CRISE, J. A. JOHANNESSEN, P. Y. LE TRAON et al. (2016): Developing European operational oceanography for Blue Growth, climate change adaptation and mitigation and ecosystem-based management. Ocean Sci. Discuss, 1-59.
73. SNELGROVE, P. V. (2016): An ocean of discovery: biodiversity beyond the Census of Marine Life. Planta Med. 82, 790-799.
74. TIAN, X. P., S. K. TANG, J. D. DONG, Y. Q. ZHANG, L. H. ZHU, S. ZHANG, W. J. LI (2009): *Marinactinospora thermotolerans* gen. nov. sp. nov., a marine actinomycete isolated from a sediment in the northern South China Sea. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 59, 948-952.
75. TORTORELLA, E., P. TEDESCO, F. P. ESPOSITO, G. G. JANUARY, R. FANI, M. JASPARS, D. DE PASCALE (2018): Antibiotics from Deep-Sea Microorganisms: Current Discoveries and Perspectives. Marine drugs, 16, 355.
76. TOUTAIN, P.-L., A. A. FERRAN, A. BOUSQUET-MELOU, L. PELLIGAND, P. LEES (2016): Veterinary Medicine Needs New Green Antimicrobial Drugs. Frontiers in Microbiology, 7, 1-16.
77. UTE, H., S. MICHAEL, W. MICHAEL et al. (2001): Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges Aplysina aerophoba and Aplysina cavernicola. FEMS Micro Ecol, 35(3), 305-312.
78. VERA, M. D., M. M. JOULLIE (2002): Natural products as probes of cell biology: 20 years of didemnin research. Med Res Rev. 22, 102-145.
79. YAGI, S., J. ONO, J. YOSHIMOTO, K. I. SUGITA, N. HATTORI, T. FUJIOKA, T. FUJIWARA, H. SUGIMOTO, K. HIRANO, N. HASHIMOTO (1999): Development of anti-influenza virus drugs: Improvement of oral absorption and in vivo anti-influenza activity of stachyflin and its derivates. Pharmaceut. Res. 16, 1041-1046.
80. YE, L., S. KUN-LAI, W. YI, et al. (2013): A cytotoxic pyrrolidinoindoline diketopiperazine dimer from algal fungus Eurotium herbariorum HT-2. Chin Chem Lett. 24(12), 1049-1052.
81. ZHENG, C.-J., C.-L. SHAO, Z.-Y. CHEN, J. F. DENG, D.-S. YANG, Y.-Y. CHEN, X. M. FU, Y. C. LIN (2012): Bioactive hydroanthraquinones and anthraquinone dimers from a soft coral-derived Alternaria sp. fungus. J. Nat. Prod. 75, 189-197.

5. SAŽETAK

Antimikrobni potencijal morskih organizama

Suvremena medicina i javno zdravstvo trenutno su u borbi s velikim problemom antimikrobne rezistencije. Mikrobni patogeni s vremenom postaju sve više rezistentni na konvencionalne lijekove, uzrokujući pojavu zaraznih bolesti, a uz rast ljudske populacije, ovo će postati još veći problem u budućnosti. Kopneni okoliš oduvijek je bio sjajan izvor biokemijski aktivnih spojeva koji su pronašli svoju konačnu primjenu kao antimikrobni lijekovi. Većina antimikrobnih lijekova trenutno dostupnih na tržištu dobiveni su od kopnenih organizama ili su derivirani polusintetski. Porast antimikrobne rezistencije i pojava zaraznih bolesti obvezuju ljudsku vrstu da pronađe nove izvore potencijalno vrijedne biokemijske aktivnosti. Bioprospekting mora nedavno je pokazao da je vodeni okoliš obećavajući izvor kada je u pitanju traženje novih antimikrobnih sredstava, budući da je uglavnom neistražen. Morski organizmi imaju sposobnost proizvodnje različitih, jedinstvenih i biološki moćnih prirodnih proizvoda, zahvaljujući svojoj prilagodbi na ekstremne uvjete morskog staništa. Bioaktivnost otkrivena u oceanima i morima varira od antibakterijske, antivirusne, antimikotične, citostatske do antiparazitske i drugih. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) dosad je odobrila samo nekoliko lijekova, ali kontinuirani razvoj tehnologija za podvodno istraživanje, zajedno s novim mogućnostima kultivacije morskih organizama i molekularnim inženjeringom, zasigurno će povećati naše šanse za pronalazak novih morskih lijekova.

Ključne riječi: antimikrobna rezistencija, bioprospekting, morski organizmi, bioaktivnost, prirodni proizvodi

6. SUMMARY

Marine organisms antimicrobial potential

Contemporary medicine and field of public health are currently battling a great problem of antimicrobial resistance. Microbial pathogens are gradually becoming more resistant to conventional pharmaceuticals, generating an emergence of infectious diseases, and with human population growth, this will be even bigger problem in the future. Terrestrial environment has been a great source of biochemically active compounds that eventually found their usage as antimicrobial drugs. Most of the antimicrobials currently available on the market, were obtained from terrestrial organisms or derived semisynthetically. Rise of the antimicrobial resistance and emerge of infectious diseases oblige human kind to find new sources of potentially valuable biochemical activity. Marine bioprospecting has recently shown that aquatic environment is a promising source when it comes to screening for antimicrobials, since it has been mostly unexplored. Marine organisms possess the capacity to produce a variety of unique and biologically potent natural products, due to their adaptation to extreme conditions of marine habitat. Bioactivity found in oceans and seas varies from antibacterial, antiviral, antimycotic, cytostatic to antiparasitic and other. By far, only a few drugs have been approved by the US-FDA, but continuous development of underwater exploring technologies, together with novel marine organism cultivation possibilities and molecular engineering will surely increase our odds of finding new marine drugs.

Key words: antimicrobial resistance, bioprospecting, marine organisms, bioactivity, natural products

7. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 19. svibnja 1994. u Šibeniku. Primarno obrazovanje sam stekao u osnovnoj školi "Tina Ujevića", a sljedeća stepenica u mom životu bila je srednja škola Gimnazija "Antuna Vrančića" u Šibeniku. 2013. godine upisao sam studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studiranja, od prvih studentskih dana bio sam dio studentske udruge "Sport VEF" te sam sudjelovao u organizaciji projekta "Humanijada 2016" u Makarskoj. Osim sportskih aktivnosti, aktivno sam surađivao s kolegama iz ostalih udruga (Equus, IVSA) u organizaciji raznih projekata, kao što je "Reptilomanija". Uz fakultetske obaveze, radio sam raznovrsne studentske poslove, te stekao brojne vještine i znanja. Aktivno se služim engleskim jezikom u govoru i pismu.