

1
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Pulsatilla patens (L.) Mill.
Прострел раскрытый
Вельмовский П.В.



2022

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© К.С. Инчагова, 2023

УДК 579.262

К.С. Инчагова

КОМБИНИРОВАНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИВОДИТ К УСИЛЕНИЮ QS-ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ СИСТЕМЫ «QUORUM SENSING» CHROMOBACTERIUM SUBSTSUGAE

Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; ЦКП «Персистенция микроорганизмов»), Оренбург, Россия

Получена супераддитивная композиция на основе малых молекул растительного происхождения – гамма-октанолактона и скополетина, в 1,5-2 раза превышающая действие каждого из веществ, применяемого по отдельности, в отношении двухкомпонентной системы QS LuxI/LuxR-типа *Chromobacterium substsugae*.

Ключевые слова: quorum sensing, QS-ингибирующий эффект, малые молекулы растительного происхождения, *Chromobacterium substsugae*.

K.S. Inchagova

COMBINATION OF THE PLANT-DERIVED MOLECULES INCREASE THE QS-INHIBITORY ACTION AGAINST THE «QUORUM SENSING» SYSTEM OF CHROMOBACTERIUM SUBSTSUGAE

Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS; 'Persistence of microorganisms' Center of Shared Scientific Equipment), Orenburg, Russia

A superadditive composition was obtained based on the plant-derived molecules, gamma-octanolactone and scopoletin, which is 1,5-2 times higher than the action of each of the substances used separately in relation to the two-component QS system LuxI/LuxR-type *Chromobacterium substsugae*.

Key words: quorum sensing, QS inhibitory effect, plant-derived molecules, *Chromobacterium substsugae*.

Введение

Известно, что «quorum sensing» (QS) участвует в реализации патогенного потенциала бактерий, контролируя синтез факторов вирулентности и биопленкообразование [1]. Данный феномен представляет собой особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, функционирующий в условиях критически высокой плотности их популяции [2]. Ингибирование QS является одним из путей предотвращения распространения глобальной антибиотикорезистентности бактерий.

На сегодняшний день накоплен значительные объем данных о способности растительных экстрактов и малых молекул, идентифицированных в их

составе, ингибировать QS-зависимые процессы у бактерий [3, 4]. Однако интерес к подобным веществам остается до конца неисчерпанным, поскольку многие из них являются токсичными в отношении животных и человека [5, 6]. На этом фоне, все большую интенсивность набирают исследования по совместному применению растительных молекул с веществами той же или иной природы для усиления действия каждого из них, применяемого по отдельности [7, 8].

В этой связи, целью исследования явилось комбинирование гамма-октанолактона со скополетином и оценка QS-ингибирующего действия полученной комбинации в отношении двухкомпонентной системы QS LuxI/LuxR-типа *Chromobacterium substsugae* ATCC 31532 (ранее – *C. violaceum* ATCC 31532).

Материалы и методы

Объектом исследования явился дикий штамм *C. substsugae* ATCC 31532, у которого под контролем двухкомпонентной системы QS LuxI/LuxR-типа находится синтез сине-фиолетового пигмента виолацеина, визуально либо аппаратно-регистрируемый при длине волны 585-600 нм.

В качестве малых молекул растительного происхождения использовались химически синтезированные аналоги гамма-октанолактона и скополетина.

Формирование парных композиций гамма-октанолактон + скополетин проводилось следующим образом. В ячейки 96-луночного планшета (Jet Biofil, Канада-Китай) в перпендикулярных друг другу направлениях вносили двукратные разведения исследуемых веществ, таким образом, что в каждой из ячеек формировалось индивидуальное соотношение «гамма-октанолактон : скополетин». Пробами сравнения являлись ряды разведений, содержащие только одно из тестируемых соединений, а также положительный и отрицательный контроли. Далее в ячейки инокулировали *C. substsugae* ATCC 31532 и планшета инкубировалась при 27°C в течение 24 часов. Оценка рост- и QS-ингибирующего эффектов фиксировали с использованием многофункционального микропланшетного ридера Infinite 200 PRO («Tecan», Австрия), регистрируя значения оптической плотности выросшей биомассы и экстрагируемого пигмента.

Оценка взаимодействия малых молекул растительного происхождения проводилась с помощью изоболографического анализа, в основе которого лежит построение так называемых «изобол» – прямых, соединяющих отло-

женные на осях абсцисс и ординат значения EC_{50} для исследуемых соединений X и Y, с последующим нанесением на данный график точек, соответствующих совместному эффекту соединений X и Y при их различных концентрационных соотношениях. При этом расположение подобных точек на линии изоболы соответствует аддитивному эффекту (суммация), их размещение выше линии изоболы описывает инфрааддитивный эффект (взаимное ослабление), а ниже изоболы – супераддитивный эффект (взаимное усиление искомой биологической активности) [9].

Результаты и обсуждение

По результатам наших предыдущих исследований обе исследуемые малые молекулы обладали значительной QS-ингибирующей активностью.

Данное исследование включало оценку QS-ингибирующего действия комбинации гамма-октанолактона со скополетином. Результатом проведенного анализа стало выявление супераддитивного характера взаимодействия исследуемых веществ, о чем свидетельствовало расположение большинства экспериментальных точек ниже линии изоболы (рис.).

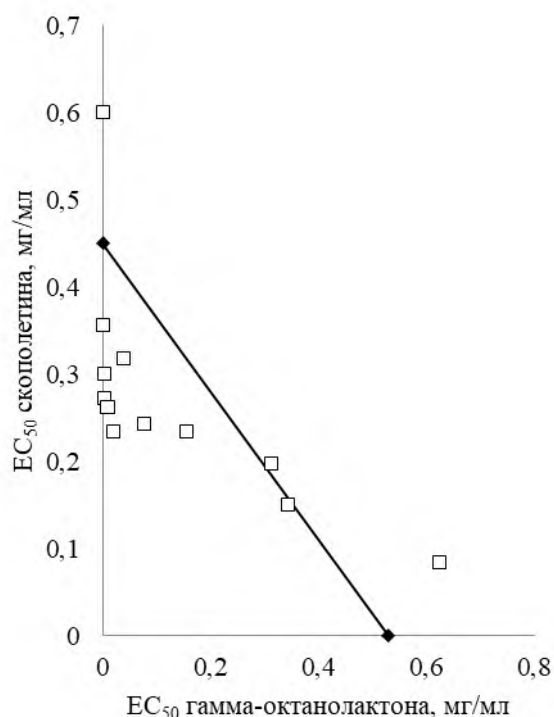


Рис. Изоболографический анализ совместного воздействия комбинации гамма-октанолактона и скополетина на QS-зависимый биосинтез пигмента виолацеина в культуре *C. substugae* ATCC 31532.

QS-ингибирующей эффект исследуемой композиции превосходил контрольные значения EC_{50} в 1,5-2 раза.

Причиной выявленного супераддитивного эффекта может быть разный механизм действия данных малых растительных молекул на QS LuxI/LuxR-типа у бактерий. Так при исследовании гамма-лактонов в наших предыдущих исследованиях [10] было показано, что данный класс соединений выступает как конкурентный ингибитор в силу своего структурного сходства с природным аутоиндуктором *C. substisugae* ATCC 31532 – ацилгомосеринолактоном (C_6 -АГЛ). В свою очередь, скополетин принадлежит к классу кумаринов, которые, по имеющимся данным, способны подавлять QS-зависимые процессы у бактерий через внутриклеточные регуляторные пути, связанные с секрецией III типа и метаболизмом циклического дигуанилата (c-di-GMP) [4]. Вероятно, при комбинированном использовании данных растительных молекул происходит разнонаправленное действие на систему QS, за счет чего наблюдается увеличение ингибирующего эффекта, оказываемого на бактериальную клетку.

Заключение

Таким образом, полученные результаты исследований формируют основу для дальнейшего тестирования выявленной супераддитивной композиции в качестве потенциального антибактериального средства, основным критерием которого должно стать отсутствие токсического эффекта в отношении животных и человека. Создание действующей композиции позволит снизить дозировки используемых компонентов, не снижая при этом общей эффективности препарата, а также может помочь решить проблему антибиотикорезистентности за счет различных механизмов действия каждого из веществ на бактериальную клетку.

(Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации; проект № МК-3114.2022.1.4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Defoirdt T. Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy. Trends in Microbiology. 2018. 26(4): 313-328.
2. Hawver L.A., Jung S.A., Ng W.-L. Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. FEMS Microbiology Reviews. 2016. 40: 738-752.
3. Berde C.V., Salvi S.P., Rawool P.P., Prathyusha A.M.V.N., Berde V.B. Role of medicinal plants and endophytic bacteria of medicinal plants in inhibition of biofilm formation: interference in quorum sensing. Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine,

- Agriculture and Food Industry. 2019. 177-188.
4. Deryabin D., Galadzhieva A., Kosyan D., Duskaev G. Plant-derived inhibitors of AHL-mediated quorum sensing in bacteria: Modes of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. 20(22): 5588.
 5. Thooptianrat T., Chaveerach A., Sudmoon R., Tanee T., Liehr T., Babayan N. Screening of phytochemicals and toxicity of medicinal plants, *Dillenia* species, reveals potential natural product resources. *Journal of Food Biochemistry*. 2017. 41(3): e12363.
 6. Devillers J., Devillers H. Toxicity profiling and prioritization of plant-derived antimalarial agents. *SAR and QSAR in Environmental Research*. 2019. 30(11): 801-824.
 7. Jakobsen T.H., Van Gennip M., Phipps R.K., Shanmugham M.S., Christensen L.D., Alhede M., Skindersoe M.E., Friedrich K., Uthe F., Jensen P.O., Moser C., Nielsen K.F., Eberl L., Larsen T.O., Tanner D., Hoiby N., Bjarsholt T., Rasmussen T.B., Givskov M. Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012. 56(5): 2314-2325.
 8. Инчагова К.С., Дускаев Г.К., Дерябин Д.Г. Подавление «кворум сенсинга» *Chromobacterium violaceum* при воздействии комбинаций амикацина с активированным углем или малыми молекулами растительного происхождения (пирогаллолом и кумарином). *Микробиология*. 2019. 88(1): 72-82.
 9. Tallarida R.J. An overview of drug combination analysis with isobolograms: perspectives in pharmacology. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006. 3(19): 1-7.
 10. Инчагова К.С., Дускаев Г.К., Дерябин Д.Г. Влияние гамма-лактонов на рост и химическую коммуникацию у *Chromobacterium subtsugae*. 2022. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 25(10): 38-43.

Получена 23 марта 2023 г.

(Контактная информация: **Инчагова Ксения Сергеевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ЦКП «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел +7 (922) 860-00-47; e-mail: ksenia.inchagova@mail.ru)

LITERATURE

1. Defoirdt T. Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy. *Trends in Microbiology*. 2018. 26(4): 313-328.
2. Hawver L.A., Jung S.A., Ng W.-L. Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. *FEMS Microbiology Reviews*. 2016. 40: 738-752.
3. Berde C.V., Salvi S.P., Rawool P.P., Prathyusha A.M.V.N., Berde V.B. Role of medicinal plants and endophytic bacteria of medicinal plants in inhibition of biofilm formation: interference in quorum sensing. *Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry*. 2019. 177-188.
4. Deryabin D., Galadzhieva A., Kosyan D., Duskaev G. Plant-derived inhibitors of AHL-mediated quorum sensing in bacteria: Modes of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. 20(22): 5588.
5. Thooptianrat T., Chaveerach A., Sudmoon R., Tanee T., Liehr T., Babayan N. Screening of phytochemicals and toxicity of medicinal plants, *Dillenia* species, reveals potential natural product resources. *Journal of Food Biochemistry*. 2017. 41(3): e12363.
6. Devillers J., Devillers H. Toxicity profiling and prioritization of plant-derived antimalarial agents. *SAR and QSAR in Environmental Research*. 2019. 30(11): 801-824.
7. Jakobsen T.H., Van Gennip M., Phipps R.K., Shanmugham M.S., Christensen L.D., Alhede M., Skindersoe M.E., Friedrich K., Uthe F., Jensen P.O., Moser C., Nielsen K.F., Eberl L., Larsen T.O., Tanner D., Hoiby N., Bjarsholt T., Rasmussen T.B., Givskov M. Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing. *Antimicrobial*

- Agents and Chemotherapy. 2012. 56(5): 2314-2325.
8. Inchagova K.S., Duskaev G.K., Deryabin D.G. Quorum sensing inhibition in *Chromobacterium violaceum* by amikacin combination with activated charcoal or small plant-derived molecules (pyrogallol and coumarin). Microbiology. 2019. 88(1): 63-71.
 9. Tallarida R.J. An overview of drug combination analysis with isobolograms: perspectives in pharmacology. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2006. 3(19): 1-7.
 10. Inchagova K.S., Duskaev G.K., Deryabin D.G. Gamma-lactones effects on growth and chemical communication in *Chromobacterium subtsugae*. 2022. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. 25(10): 38-43.

Образец ссылки на статью:

Инчагова К.С. Комбинирование малых молекул растительного происхождения приводит к усилению QS-ингибирующего действия в отношении системы «quorum sensing» *Chromobacterium subtsugae*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН 2023. 1: 6с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2022-1/Articles/IKS-2022-1.pdf>) DOI: 10.24411/2304-9081-2022-11003.