

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТЕРОЛЕНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ – ПРОДУКТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА РАСТЕНИЙ

Е.О. Смирнова, Я.Ю. Топоркова, С.С. Горина, О. Е. Петрова, Л.Ш. Мухтарова, А.Н. Гречкин

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, kibmail@kibb.knc.ru

Аннотация. Представлены данные о влиянии геометрии двойных связей на антибактериальные свойства разных изомеров этероленовой кислоты в отношении фитопатогенных бактерий. ($\omega 5Z$)-этероленовая кислота обладает бактерицидными свойствами против *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043; этероленовая и (11Z)-этероленовая кислоты проявляют бактериостатический эффект.

Ключевые слова: оксипирины, липоксигеназный каскад, цис-транс-изомерия, дивинилэфирсинтазы, дивиниловые эфиры

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-716-719

Растительные оксипирины – группа вторичных метаболитов, играющие важную роль при формировании ответа растениями на стрессовые факторы, к которым, в том числе, относится воздействие фитопатогенных организмов.

Оксипирины являются продуктами липоксигеназного каскада, ключевыми ферментами которого являются липоксигеназы и цитохромы P450 семейства CYP74, которое включает алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС). Дивинилэфирсинтазы, продуктами каталитического действия которых являются дивиниловые эфиры (ДЭ), менее распространены в растительном мире, чем АОС и ГПЛ. К настоящему времени ДЭ выявлены у растений семейства *Solanaceae*, а также чеснока (*Allium sativum*), льна-долгунца (*Linum usitatissimum*), лютика едкого (*Ranunculus acris*) и плаунка *Selaginella moellendorffii* [Gorina et al., 2016]. При этом только у последнего вида обнаружено два фермента, обладающих активностью ДЭС – CYP74M1 (SmDES1) и CYP74M3 (SmDES2).

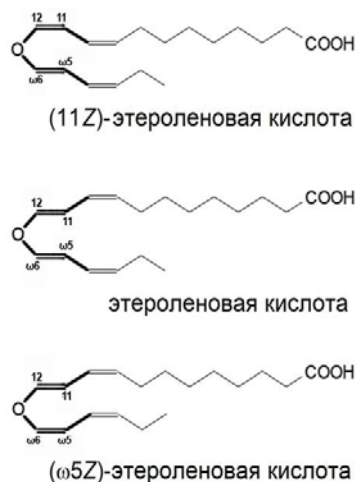


Рис. 1. Структурные формулы ДЭ, исследуемых в данной работе. Полужирным шрифтом и цифрами отмечены положения углерода, по которым целевые ДЭ различаются в геометрии двойных связей.

Одним из субстратов для SmDES1 и SmDES2 является (9Z,11E,13S,15Z)-13-гидроперокси-9,11,15-октадекатриеновая кислота (13-ГПОТ). 13-ГПОТ при участии SmDES1 превращается, в основном, в (11Z)-этеролоновую кислоту, тогда как при участии SmDES2 – в основном в этеролоновую кислоту. В обоих случаях минорным продуктом является (ω 5Z)-этеролоновая кислота. Эти изомеры различаются геометрией единственной двойной связи (*цис*- и *транс*-) (рис. 1). Значение такого разнообразия изомеров этеролоновой кислоты для *S. moellendorffii* до сих пор не имеет объяснения.

В настоящей работе мы исследовали антибактериальную активность ДЭ плаунка *S. moellendorffii* – этеролоновой, (11Z)-этеролоновой и (ω 5Z)-этеролоновой кислот – против грамотрицательных фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043.

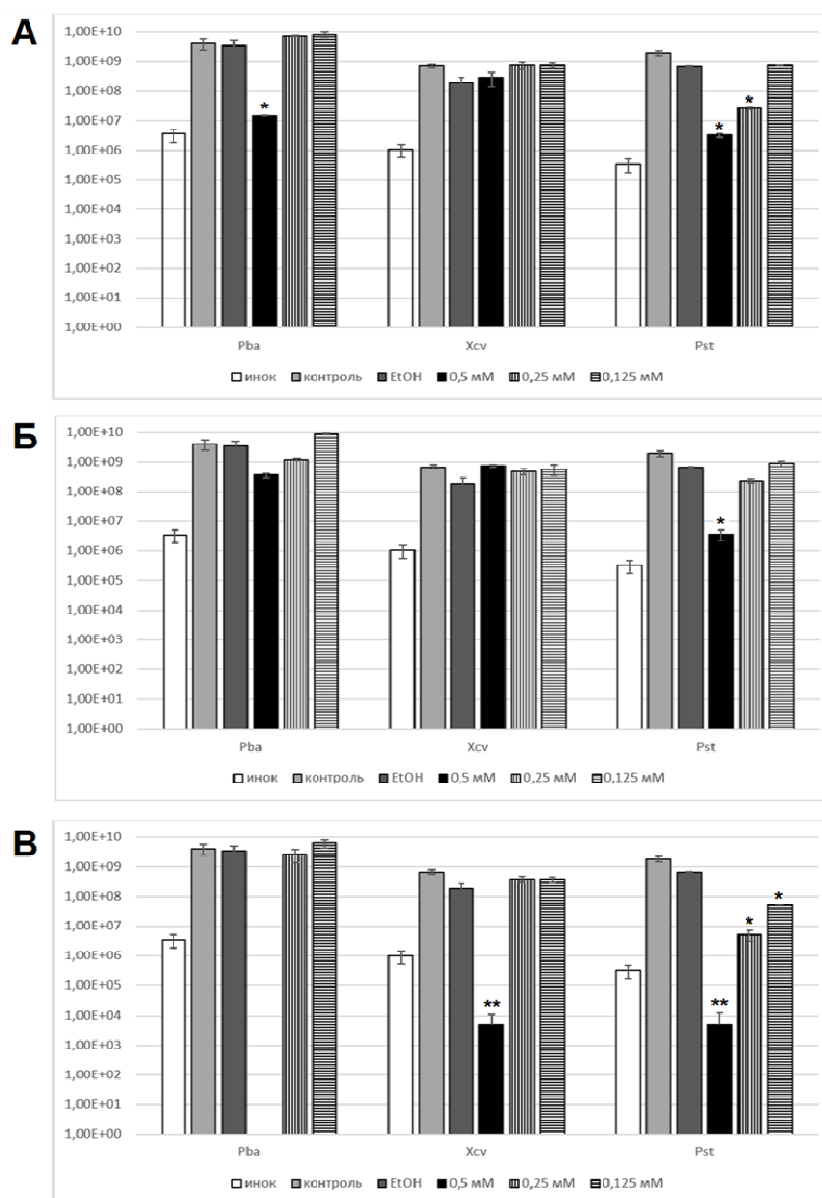


Рис. 2. Титр КОЕ/мл в культурах *P. atrosepticum* (Pba), *X. campestris* (Xcv), *Ps. syringae* (Pst), культивируемых в течение 24 ч в отсутствие (контроль) и в присутствии 0,5% этанола (EtOH), а также 0,5, 0,25 и 0,125 мМ этеролоновой (а), (11Z)-этеролоновой (б) и (ω 5Z)-этеролоновой (в) кислот. (Инок) – титр инокуляции бактерий. М±SD, n (число опытов)=5; *p<0,05, **p<0,01 при сравнении с группой “EtOH”.

В концентрации 0,5 мМ исследуемые оксипилены оказывали дифференцированное антимикробное действие на патогенные бактерии. Этероленовая кислота ингибировала рост *Ps. syringae* и *P. atrosepticum*, но не влияла на *X. campestris* (рис. 2А). (11Z)-этероленовая кислота оказывала бактериостатическое действие на *Ps. syringae*, но не влияла на *P. atrosepticum* и *X. campestris* (рис. 2Б). (ω5Z)-этероленовая кислота оказывала выраженный бактерицидный эффект на все микроорганизмы: число жизнеспособных клеток *P. atrosepticum* необратимо снизилось до неопределяемых значений через 24 ч культивирования; количество жизнеспособных клеток *X. campestris* и *Ps. syringae* снизилось на 2 порядка в первые сутки (рис. 2В), через 48 ч культивирования эти бактерии полностью теряли способность к образованию колоний. При концентрациях 0,25 мМ и ниже этот изомер не оказывал никакого влияния на *P. atrosepticum* и *X. campestris*, однако при концентрациях 0,25 и 0,125 мМ проявлял бактериостатические свойства в отношении *Ps. syringae* (рис. 2В). Этероленовая и (11Z)-этероленовая кислоты при использовании концентрации 0,25 мМ обладали бактериостатическим действием на *Ps. syringae*, хотя и меньшим, чем при концентрации 0,5 мМ (рис. 2А, Б). Таким образом, полученные нами результаты согласуются с представлением [Fammartino et al., 2010] об участии ветви ДЭС в защитном ответе растений и формировании их устойчивости к патогенам.

В литературе имеются данные, что жирные кислоты с *цис*-двойными связями обладают более выраженными антибактериальными свойствами, чем жирные кислоты с *транс*-двойными связями [Desbois et al., 2010]. *Цис*-двойные связи термодинамически неустойчивы по сравнению с *транс*-связями. Энергия активации у *цис*-связей существенно ниже [Galbraith et al., 1971], а реакционная способность – выше, чем у *транс*-двойных связей. Конъюгированные *цис*-связи имеют ещё более низкую энергию активации и, по-видимому, более активны в отношении патогенов, чем единичные, как это было продемонстрировано в наших исследованиях. Вероятно, две сопряженные *цис*-двойные связи важны для проявления бактерицидных свойств. Так, минорный продукт каталитической активности ферментов SmDES1 и SmDES2 – (ω5Z)-этероленовая кислота – проявляет наибольшую биологическую активность в отношении изученных бактерий, вероятно, в силу наличия сопряженных *цис*-двойных связей. Наличие комплекса ферментов синтеза биологически активных ДЭ у древнейших сосудистых растений отдела плауновидные, возможно, является одним из факторов, которые обусловили их повсеместное распространение и сохранение до настоящего времени.

Работа проведена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект № 16-14-10286).

Литература

Топоркова Я.Ю., Бессолицына Е.К., Смирнова Е.О., Горина С.С., Петрова О.Е., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н. Антимикробная активность геометрических изомеров этероленовой кислоты – продуктов липоксигеназного каскада растений // Доклады академии наук. – 2018. – № 1. – С.117–120.

Desbois A.P., Smith V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V. 85. – P. 1629–1642.

Fammartino A., Verdaguer B., Fournier J., Tamietti G., Carbonne F., Esquerre-Tugaye M.-T., Cardinale F. Coordinated transcriptional regulation of the divinyl ether biosynthetic genes in tobacco by signal molecules related to defense // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – V. 48. – P. 225–231.

Galbraith H., Miller T.B., Paton A.M., Thompson J.K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol // J. Appl. Bacteriol. – 1971. – V. 34. – P. 803–813.

Gorina S.S., Toporkova Y.Y., Mukhtarova L.S., Smirnova E.O., Chechetkin I.R., Khairutdinov B.I., Gogolev Y.V., Grechkin A.N. Oxylipin biosynthesis in spikemoss *Selaginella moellendorffii*: molecular cloning and identification of divinyl ether synthases CYP74M1 and CYP74M3 // Biochim. Biophys. Acta – 2016. – V. 1861, No. 4. – P. 301–309.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHEROLENIC ACID AND ITS GEOMETRIC ISOMERS – THE LIPOXYGENASE PATHWAY PRODUCTS OF PLANTS

E.O. Smirnova, Y.Y. Toporkova, S.S. Gorina, O.E. Petrova, L.S. Mukhtarova, A.N. Grechkin

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, *kibmail@kibb.knc.ru*

Abstract. The results of the presented work show how geometry of double bonds effect on the antibacterial properties of different isomers of etherolenic acid against phytopathogenic bacteria. (ω 5Z) - etherolenic acid has bactericidal properties against *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043; etherolenic acid and (11Z)-etherolenic acid have a bacteriostatic effect.

Keywords: oxylipins, lipoxygenase pathway, cis-trans isomers, divinyl ether synthase, divinyl ethers