

ВЛИЯНИЕ ХАЛКОНОВ И ФЛАВАНОНОВ НА ЗИМАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*

С. Е. Синютина, А. Г. Шубина, Л. В. Розенблюм

Кафедра биохимии и фармакологии, *sinjutina_s_e@mail.ru*;
ФБГОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина»

Ключевые слова: биологическая активность; дрожжевая клетка; семейство *Saccharomycetaceae*; флаваноиды; халконы.

Аннотация: Исследована биологическая активность семи халконов и шести флаванонов в отношении дрожжей семейства *Saccharomycetaceae*. Показано, что 2',4'-дигидроксиалкон, 2',4'-дигидрокси-5'-этилалкон, 7-гидрокси-6-этилфлаванон, 7-гидрокси-6-*n*-гексилфлаванон, 7-метокси-6-*трет*-бутилфлаванон в концентрации 50...100 мкмоль/л подавляют метаболизм дрожжевой клетки и снижают зимазную активность *Saccharomyces cerevisiae*. Установлено, что исследованные флаваноиды не обладают биологической активностью по отношению к *Candida albicans*.

Введение

Флаваноиды – группа соединений, представляющих собой производные бензо- γ -пирона. К ним относятся халконы и изомерные им флаваноны (рис. 1). Они отличаются большим структурным многообразием, в частности, за счет наличия различных заместителей. Флаваноидные соединения обладают биологической активностью, в основе которой лежат их участие в окислительно-восстановительных процессах, взаимодействие с мембранами клеток, ферментами и рецепторами. Флаваноиды проявляют антиоксидантное действие, блокируя неконтролируемые свободнорадикальные процессы, оказывают противовоспалительное действие, обладают антидиабетической активностью, благотворно влияют на липидный обмен [1, 2]. Вместе с тем флаваноиды способны повреждать биологические структуры клеток и снижать их жизнеспособность [3, 4]. Для многих соединений флаваноидного ряда характерны антимикробная, противогрибковая, противопаразитарная, противоопухолевая активность [5 – 7].

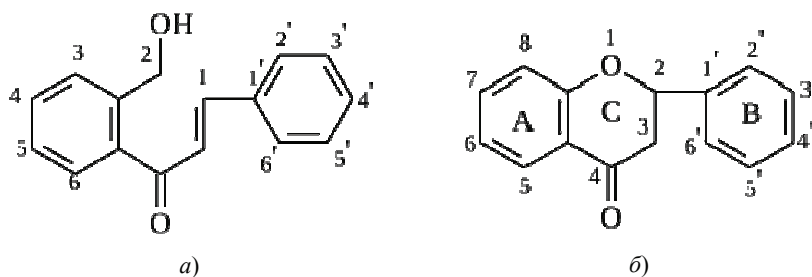


Рис. 1. Общая структура молекул халкона (а) и флаванона (б)

Биологическая активность флаваноидных соединений сильно варьирует в зависимости от вида соединения, природы и расположения заместителей. Закономерности влияния структуры флаваноидов на проявляемую активность исследованы недостаточно, поэтому изучение биологической активности флаваноидных соединений продолжает оставаться актуальным.

Методика эксперимента

Исследована биологическая активность семи халконов: 1 – 2',4'-дигидрокси-халкон; 2 – 2',4'-дигидрокси-5'-этилхалкон; 3 – 2',4'-дигидрокси-5'-*n*-гексилхалкон; 4 – 2',4'-дигидрокси-5'-циклогексилхалкон; 5 – 2',4'-дигидрокси-5'-(2-метилбензил)халкон; 6 – 4'-гидрокси-2'-метоксихалкон; 7 – 2'-гидрокси-4'-метокси-5'-*трет*-бутилхалкон и шести флаванонов: 8 – 7-гидроксифлаванон; 9 – 7-гидрокси-6-этилфлаванон; 10 – 7-гидрокси-6-*n*-гексилфлаванон; 11 – 7-гидрокси-6-*трет*-бутилфлаванон; 12 – 7-гидрокси-6-(2-метилбензил)флаванон; 13 – 7-метокси-6-*трет*-бутилфлаванон. Халконы и флаваноны синтезированы по [8, 9].

В качестве биологического объекта исследований выбраны представители класса сахаромыцетов (*Saccharomycetes*) семейства сахаромыцетовых (*Saccharomycetaceae*) – *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans*. Зимазную активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* определяли газометрическим методом при 35 °С по [10] при помощи газометра Елецкого. В качестве субстрата спиртового брожения использовали глюкозу. Готовили этанольные растворы флаваноидов в концентрации 2 и 4 ммоль/л. В реакционную смесь вводили 0,5 мл спиртового раствора соответствующего соединения. Концентрация флаваноидов в реакционной смеси составляла 50 и 100 мкмоль/л. Контрольная проба содержала 0,5 мл этанола. Влияние исследуемых соединений на жизнедеятельность *Candida albicans* определяли диско-диффузионным методом по [11]. Использовали пористые диски диаметром 5 мм (целлюлоза), содержащие 50 мкг исследуемого соединения.

Экспериментальные результаты и обсуждение

Жизнеспособность дрожжевой клетки определяется скоростью метаболизма глюкозы и сахарозы (зимазная активность) и мальтозы (мальтазная активность) под действием комплекса ферментов спиртового брожения, которые участвуют в превращении моно- и дисахаридов в диоксид углерода и этанол. Зимазная активность соответствует времени (в минутах), за которое происходит выделение 10 мл диоксида углерода в условиях эксперимента.

Введение 0,5 мл этанола в реакционную смесь приводит к незначительному снижению зимазной активности дрожжей. Подобный эффект ожидаем, так как этанол нарушает проницаемость клеточной мембраны, процессы транспорта питательных веществ («этанольный стресс») [12]. Для учета влияния этанола пробы, содержащие 0,5 мл C_2H_5OH , использовали как контроль.

Введение халконов в концентрации $C_{\text{халкона}} = 100$ мкмоль/л приводит к снижению зимазной активности дрожжей и замедлению выделения CO_2 в процессе спиртового брожения (рис. 2, а).

В наибольшей степени подавляет процесс катаболизма глюкозы 2',4'-дигидрокси-5'-циклогексилхалкон. Практически такой же ингибиторный эффект проявляют 2',4'-дигидрокси-халкон и 2',4'-дигидрокси-5'-этилхалкон.

Влияние флаванонов в концентрации $C_{\text{флаванона}} = 100$ мкмоль/л на процесс спиртового брожения в дрожжевой клетке неоднозначно (рис. 2, б). Флавоны 7-гидрокси-6-этилфлаванон, 7-гидрокси-6-*n*-гексилфлаванон и 7-метокси-6-*трет*-бутилфлаванон замедляют расщепление глюкозы, в то время как 7-гидрокси-6-*трет*-бутилфлаванон и 7-гидроксифлаванон выступают в качестве активаторов процесса.

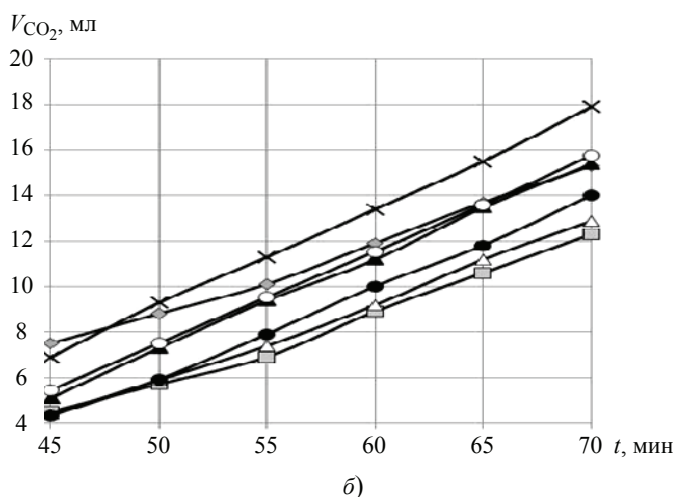
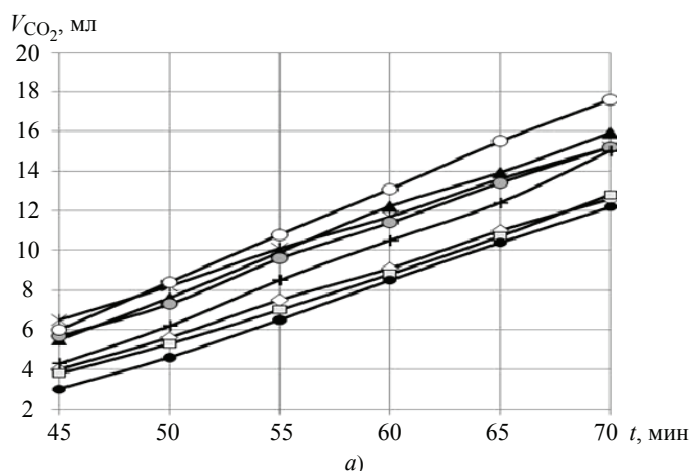


Рис. 2. Влияние халконов (а) и флаванонов (б) на объем выделившегося диоксида углерода:

а – \diamond – 1; \square – 2; \blacktriangle – 3; \bullet – 4; ж – 5; \circ – 6; + – 7; \ominus – К

б – \diamond – 8; \square – 9; \triangle – 10; — – 11; \blacktriangle – 12; \bullet – 13; \circ – К;

Номер соединения соответствует вышепредставленной нумерации; К – контроль

Флаваноны образуются в результате циклизации халконов и являются их изомерами. Проведено сравнение влияния халконов и соответствующих им флаванонов на зимазную активность *Saccharomyces cerevisiae* (рис. 3). В паре 2',4'-диоксихалкон и 7-гидроксифлаванон в большей степени замедляет метаболизм дрожжевой клетки халкон. Для остальных пар соединений, содержащих алкильные радикалы в положении 5' (халконы) и в положении 7 (флаваноны), более выраженный эффект демонстрируют флаваноны.

Уменьшение концентрации флаваноида в реакционной смеси до 50 мкмоль/л приводит к снижению ингибиторного эффекта соединения 1 и 3; практически не влияет на биологический эффект соединений 5, 2 и 4 (табл. 1).

Снижение зимазной активности дрожжей в присутствии ряда флаваноидов может быть связано как с ингибированием ферментов зимазного комплекса, так и влиянием на клеточную мембрану и мембранный потенциал, а также с ингибированием матричных синтезов [6, 13]. Установление механизмов действия флаваноидов требует проведения дополнительных исследований.

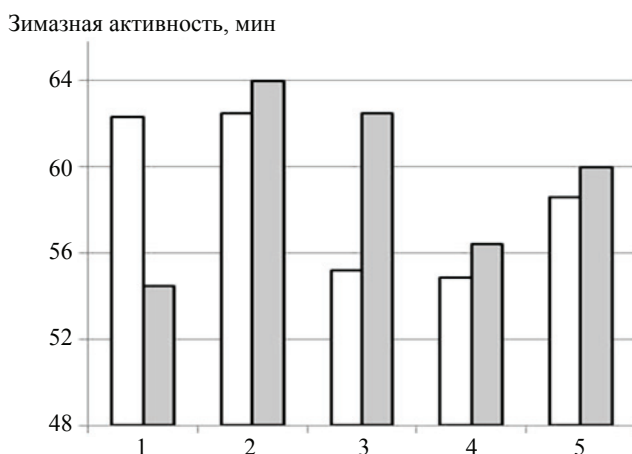


Рис. 3. Влияние халконов и соответствующих им флаванолов на зимазную активность *Saccharomyces cerevisiae*:
 1 – 1 и 8; 2 – 2 и 9; 3 – 3 и 10; 4 – 4 и 12; 5 – 7 и 13;
 □ – халкон; ■ – флаванол

Таблица 1

Влияние халконов и флаванолов на зимазную активность *Saccharomyces cerevisiae*

Номер по порядку	Соединение	Зимазная активность, мин, при концентрации, мкмоль/л	
		50	100
1	2',4'-дигидроксиалкон	58'19"	62'20"
2	2',4'-дигидрокси-5'-этилалкон	60'24"	62'31"
3	7-гидрокси-6-этилфлаванол	55'44"	63'59"
4	7-гидрокси-6-н-гексилфлаванол	60'32"	62'27"
5	7-метокси-6- <i>трет</i> -бутил-флаванол	60'38"	60'

Candida albicans, так же как и *Saccharomyces cerevisiae*, относится к семейству *Saccharomycetaceae*. *Candida albicans* метаболизирует глюкозу по пути гликолиза либо по гексозо-монофосфатному пути. Данный вид является возбудителем оппортунистических инфекций человека. При использовании диско-диффузионного метода при заданном содержании флаванолов (50 мкг) не обнаружено подавления зон роста, то есть исследованные халконы и флаванолы не проявляют фунгицидной активности по отношению к *Candida albicans* в данной концентрации.

Выводы

Алкилгидроксиалконы и изомерные им флаванолы проявляют биологическую активность по отношению к *Saccharomyces cerevisiae*, снижая зимазную активность. Действие флаванолов на живые объекты характеризуется высокой избирательностью. Исследование биологической активности не только природных, но и синтезированных флаванолов является перспективным направлением.

Список литературы

1. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases / M. Sharifi-Rad, N. V. Anil Kumar, P. Zucca [et al.] // *Front Physiol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. 694. – 21 p. doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
2. Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence / B. Salehi, C. Quispe, I. Chamkhi [et al.] // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 11. – Art. 592654. – 21 p. doi: 10.3389/fphar.2020.592654.
3. Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics / A. Simić, D. Manojlović, D. Segan, M. Todorović // *Molecules.* – 2007. – Vol. 12 (10). – P. 2327 – 2340. doi: 10.3390/12102327.
4. Walle, T. Evidence of Covalent Binding of the Dietary Flavonoid Quercetin to DNA and Protein in Human Intestinal and Hepatic Cells / T. Walle, T. S. Vincent, U. K. Walle // *Biochemical Pharmacology.* – 2003. – Vol. 65, Issue 10. – P. 1603 – 1610. doi: 10.1016/s0006-2952(03)00151-5.
5. Stompor, M. Antimicrobial Activity of Xanthohumol and Its Selected Structural Analogues / M. Stompor, B. Żarowska // *Molecules.* – 2016. – Vol. 21 (5). – Art. 608. – 10 p. doi: 10.3390/molecules21050608.
6. Antifungal Activity of Phenolic-Rich *Lavandula Multifida* L. Essential Oil / M. Zuzarte, L. Vale-Silva, M. Gonçalves [et al.] // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* – 2012. – Vol. 31. – P. 1359 – 1366. doi: 10.1007/s10096-011-1450-4.
7. Synthesis of Chalcones with Anticancer Activities / S. Syam, S. I. Abdelwahab, M. A. Al-Mamary, S. Mohan // *Molecules.* – 2012. – Vol. 17. – P. 6179 – 6195. doi: 10.3390/molecules17066179.
8. Старков, С. П. Синтез 5'-алкил-2',4'-диоксихалконов / С. П. Старков, А. И. Панасенко // *Журнал органической химии.* – 1971. – Т. 7, № 7. – С. 1463 – 1466.
9. Панасенко, А. И. Кинетика и механизм образования 7-оксифлаванона из 2',4'-диоксихалкона в щелочной среде / А. И. Панасенко, О. И. Качурин, С. П. Старков // *Изв. высш. учеб. заведений. Химия и хим. технология.* – 1975. – Т. 18, № 8. – С. 1203 – 1207.
10. Справочник по производству хлебопекарных дрожжей / Под ред. С. С. Новиковской, Ю. И. Шишацкого. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М. : Пищевая промышленность, 1980. – 375 с.
11. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – Текст электронный // Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – URL : https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4957 (дата обращения: 01.06.2021).
12. Влияние окислительного, теплового и этанольного стрессов на выживаемость дрожжей *Yarrowia Lipolytica* / Г. П. Ежова, А. Ю. Аринбасарова, В. Ф. Смирнов, Е. В. Гусева // *Вестн. Нижегородского ун-та им. Н. И. Лобачевского.* – 2010. – № 6. – С. 113 – 118.
13. Antimicrobial Action Mechanism of flavonoids from *Dorstenia* Species / Dzoeyem J. P., Hamamoto H., Ngameni B. [et al.] // *Drug Discoveries & Therapeutics.* – 2013. – Vol. 7 (2). – P. 66 – 72. doi: 10.5582/ddt.2013.v7.2.66.

The Effect of Chalcones and Flavanones on Zymase Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*

S. E. Sinyutina, A. G. Shubina, L. V. Rosenblum

Department of Biochemistry and Pharmacology, *sinjutina_s_e@mail.ru*;
Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russia

Keywords: biological activity; yeast cell; family *Saccharomycetaceae*; flavanoids; chalcones.

Abstract: The biological activity of seven chalcones and six flavanones in yeasts of the *Saccharomycetaceae* family has been investigated. It has been shown that 2',4'-dihydroxychalcone, 2',4'-dihydroxy-5'-ethylchalcone, 7-hydroxy-6-ethylflavanone, 7-hydroxy-6-*n*-hexylflavanone, 7-methoxy-6-*tert*-butylflavanone at a concentration of 50...100 $\mu\text{mol/l}$ suppresses the metabolism of the yeast cell and reduces the zymase fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. It was found that the investigated flavanones have no biological activity in relation to *Candida albicans*.

References

1. Sharifi-Rad M., Anil Kumar N.V., Zucca P. [et al.] Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases, *Front Physiol*, 2020, vol. 11, art. 694, 21 p., doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
2. Salehi B., Quispe C., Chamkhi I. [et al.] Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence, *Front Pharmacol*, 2021, vol. 11, art. 592654, 21 p., doi: 10.3389/fphar.2020.592654.
3. Simić A., Manojlović D., Segan D., Todorović M. Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics, *Molecules*, 2007, vol. 12 (10), pp. 2327-2340, doi: 10.3390/12102327.
4. Walle T., Vincent T.S., Walle U.K. Evidence of Covalent Binding of the Dietary Flavonoid Quercetin to DNA and Protein in Human Intestinal and Hepatic Cells, *Biochemical Pharmacology*, 2003, vol. 65, issue 10, pp. 1603-1610, doi: 10.1016/s0006-2952(03)00151-5.
5. Stompor M., Żarowska B. Antimicrobial Activity of Xanthohumol and its Selected Structural Analogues, *Molecules*, 2016, vol. 21 (5), art. 608, 10 p., doi: 10.3390/molecules21050608.
6. Zuzarte M., Vale-Silva L., Gonçalves M. [et al.] Antifungal Activity of Phenolic-Rich Lavandula Multifida L. Essential Oil, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2012, vol. 31, pp. 1359-1366, doi: 10.1007/s10096-011-1450-4.
7. Syam S., Abdelwahab S.I., Al-Mamary M.A., Mohan S. Synthesis of Chalcones with Anticancer Activities, *Molecules*, 2012, vol. 17, pp. 6179-6195, doi: 10.3390/molecules17066179.
8. Starkov S.P., Panasenko A.I. [Synthesis of 5'-alkyl-2',4'-dioxychalcones], *Zhurnal organicheskoy khimii* [Journal of organic chemistry], 1971, vol. 7, no. 7, pp. 1463-1466. (In Russ.)
9. Panasenko A.I., Kachurin O.I., Starkov S.P. [Kinetics and mechanism of formation of 7-hydroxyflavanone from 2',4'-dioxychalcone in an alkaline medium], *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya* [Proceedings of higher educational institutions. Chemistry and chemical technology], 1975, vol. 18, no. 8, pp. 1203-1207. (In Russ.)

10. Novakovskaya S.S., Shishatskiy Yu.I. [Eds.] *Spravochnik po proizvodstvu khlebopekarnykh drozhzhey* [Handbook on the production of baker's yeast], Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1980, 375 p. (In Russ.)

11. https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4957 (accessed 01 June 2021).

12. Yezhova G.P., Arinbasarova A.Yu., Smirnov V.F., Guseva Ye.V. [The influence of oxidative, heat and ethanol stresses on the survival of the yeast *Yarrowia Lipolytica*], *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N. I. Lobachevskogo* [Bulletin of Nizhny Novgorod University. N.I. Lobachevsky], 2010, no. 6, pp. 113-118. (In Russ., abstract in Eng.)

13. Dzoyem J.P., Hamamoto H., Ngameni B., Ngadjui B.T., Sekimizu K. Antimicrobial Action Mechanism of flavonoids from *Dorstenia* Species, *Drug Discoveries & Therapeutics*, 2013, Vol. 7 (2), pp. 66-72, doi: 10.5582/ddt.2013.v7.2.66.

Wirkung von Chalconen und Flavanonen auf Zymase-Aktivität der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*

Zusammenfassung: Es ist die biologische Aktivität von sieben Chalconen und sechs Flavanonen gegen Hefen der Familie der *Saccharomycetaceae* untersucht. Es ist gezeigt, dass 2',4'-Dihydroxychalcon, 2',4'-Dihydroxy-5'-Ethylchalcon, 7-Hydroxy-6-Ethylflavanon, 7-Hydroxy-6-*n*-Hexylflavanon, 7-Methoxy-6-*tert*-Butylflavanon bei einer Konzentration von 50...100 µmol/l den Stoffwechsel der Hefezelle unterdrücken und die Zymaseaktivität von *Saccharomyces cerevisiae* reduzieren. Es ist festgestellt, dass die untersuchten Flavanonen gegenüber *Candida albicans* keine biologische Aktivität aufweisen.

Effet des chalcones et des flavanones sur l'activité zymase de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Résumé: Est étudiée l'activité biologique de sept chalcones et de sept flavanones contre des levures de la famille des *Saccharomycetaceae* *Spectacle*. Est montré que 2',4'-dihydroxychalcone, 2',4'-dihydroxy-5'-ethylchalcone, 7-hydroxy-6-ethylflavanone, 7-hydroxy-6-*n*-hexylflavanone, 7-méthoxy-6-*tert*-butylflavanone à une concentration de 50...100 µmol/l inhibent le métabolisme des cellules de levure et réduisent l'activité hivernale de *Saccharomyces cerevisiae*. Est établi que les flavanoïdes étudiés n'ont pas d'activité biologique par rapport à *Candida albicans*.

Авторы: *Синютина Светлана Евгеньевна* – кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии и фармакологии; *Шубина Анна Геннадиевна* – кандидат химических наук, доцент кафедры биохимии и фармакологии; *Розенблюм Людмила Васильевна* – старший преподаватель кафедры биохимии и фармакологии, ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина», г. Тамбов, Россия.

Рецензент: *Дворецкий Дмитрий Станиславович* – доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств», ФГБОУ ВО «ТГТУ», г. Тамбов, Россия.