

УДК 573.6\*595.796\*57.017.642

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФОРМ  
МУРАВЬЕВ**

*А.А. Власова, О.Е. Липатова, М.М. Моргунова, В.Н. Шелковникова М.Е. Дмитриева,  
Т.Ю. Тельнова, Е.И. Мартынова, Е.В. Малыгина, Н.А. Имидоева, А.Ю. Бельшенко,  
С.С. Шашкина, Т.Н. Вавилина, А.А. Баталова, А.С. Листопад, Д.В. Аксёнов-Грибанов*  
*Иркутский государственный университет, Россия*

**BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF ANT EMBRYONIC FORMS**

*A.A. Vlasova, O.E. Lipatova, M.M. Morgunova, V.N. Shelkovnikova, M.E. Dmitrieva,  
T.Y. Telnova, E.I. Martynova, E.V. Malygina, N.A. Imidoeva, A.Y. Belyshenko,  
S.S. Shashkina, T.N. Vavilina, A.A. Batalova, A.S. Listopad, D.V. Axenov-Gribanov*  
*Irkutsk State University*

В ходе проведенного исследования выявлено, что экстракты яиц муравьев содержат циклические дипептиды, которые обладают антимикробной активностью в отношении некоторых штаммов микроорганизмов. Предполагается, что яйца муравьев представляют большой интерес с точки зрения содержания биологически активных веществ.

**Ключевые слова:** экстракты, яйца, муравьи, природные соединения, биотехнология

Муравьи (Formicidae) являются социальными насекомыми, которые живут большими колониями. На всех стадиях жизненного цикла насекомым угрожает множество хищников, паразитов и патогенов [4,14]. Чтобы противостоять этим угрозам, насекомые выработали механическую, химическую и поведенческую защиту, а также сложную иммунную систему. Физиологические и биохимические механизмы защиты включают фагоцитоз, коагуляцию, выработку антимикробных пептидов и пр. [2,11]. Известно, что у муравьев большое число экзокринных желез, которые используются для защиты от патогенов. В научной литературе чаще всего упоминаются метаплевральные, мандибулярные, ядовитые железы и железы Дюфура [5]. В настоящее время проводятся исследования, направленные на изучение химического состава и антибиотической активности железистых выделений муравьев [1,9]. При этом предполагается, что биотехнологическим потенциалом могут обладать не только муравьи, но и их яйца, поскольку яйца, так же, как и взрослые особи, могут содержать биологически активные природные соединения. Яйца, личинки и куколки насекомых развиваются в почве и являются богатыми источниками питательных веществ и подвержены заражению различными природными патогенами. Для муравьев известно, что их яйца обладают конститутивной защитой от микробной инфекции, которая включает иммуноревалентные белки и антимикробные пептиды [7]. Принимая во внимание низкую степень изученности объекта исследования и такую медицинскую проблему как антибиотикорезистентность, целью настоящей работы являлась оценка состава природных соединений и изучение антимикробной активности экстрактов яиц муравьев.

Экстракцию яиц муравьев проводили трехкратно с использованием метанола и 10% трихлоруксусной кислоты. Полученные экстракты переносили в хроматографические вials. Анализ проводили на газовом хромато-масс-спектрометре GCMS-QP2010 Ultra («Shimadzu», Япония) с электронной ионизацией. Энергия ионизации составляла 70эВ. Для разделения природных соединений экстрактов использовали колонку GsBP-5MS с геометрическими размерами 0,25 мкм × 0,25 мм × 30 м. Условия хроматографической системы представлены градиентом температур от 45 до 270°C. Скорость подъема температуры составляла 13,0°C/мин. Длительность изотермы составляла 30 мин. Полученные хроматограммы обрабатывали с

помощью программного обеспечения AMDIS. Идентификацию природных соединений выполняли с использованием библиотек масс-спектров Wiley, NIST14.

Оценку антимикробной активности проводили с применением диско-диффузионного метода в отношении 18 модельных тест-культур [11]. Для этого метанольный экстракт яиц муравьев наносили на бумажные диски и высушивали. Далее диски переносили на твердые питательные среды с бактериальными и грибными тест-культурами, чашки Петри помещали в термостат (СПУ ТС-1/20, СКТБ СПУ, Россия) и инкубировали в течение суток

С использованием газовой хроматографии и масс-спектрометрии была проведена оценка состава природных соединений, содержащихся в яйцах муравьев. В экстрактах яиц муравьев были идентифицированы циклические дипептиды и жирные кислоты. Из циклических дипептидов были обнаружены следующие: Цикло(-Про-Ала) со временем удерживания 19,1657, Цикло(-Про-Вал) - 20,3743, Цикло(-Про-Лей) - 21,6557, Цикло(-Иле-Про) - 21,456 и Цикло(-Фен-Про) - 25,8167. Среди жирных кислот были обнаружены пальмитиновая и стеариновая жирные кислоты со временами удерживания 21,9613 и 24,1627, соответственно.

Известно, что циклические дипептиды применяются как противоопухолевые, противовирусные, антибактериальные, противовоспалительные, антигипергликемические средства [11]. Ранее показано, что бактерии рода *Streptomyces* sp. способны продуцировать соединения, которые подавляют активность микотоксигенных грибов, а в составе бактериальных экстрактов присутствуют циклические дипептиды, такие как цикло(-Про-Тир) и цикло(-Про-Вал) [3,10]. В исследовании Yang et al 2020 показано, что *Talaromyces wortmannii* синтезирует множество биологически активных вторичных метаболитов, включая алкалоиды, лактоны и дипептиды цикло(-Про-Лей) [12].

При оценке антимикробной активности экстрактов выявлено, что полученные экстракты обладают антибактериальной активностью в отношении бактерий *Pseudomonas putida* B-4589, *Kocuria rhizophila* B-5389, *Escherichia coli* B-6645, *Escherichia coli* tolC KanR. Поскольку идентифицированные циклические дипептиды обладают антимикробной активностью, предположено, что именно данные молекулы ответственны за антимикробную активность экстрактов яиц муравьев.

Устойчивость к антибиотикам является одной из самых больших угроз для здоровья человека, тогда как антимикробные пептиды обладают большими перспективами для практического внедрения, поскольку их использование не приводит к развитию устойчивости [8]. Известно, что защита яиц от микробных инфекций может обеспечиваться самими яйцами. Например, известно, что свежееотложенные яйца *Manduca sexta* экспрессируют гены, связанные с иммунным ответом и синтезом антимикробных пептидов [6]. В нашем исследовании показано, что экстракты яиц муравьев обладают антимикробной активностью в отношении некоторых модельных штаммов микроорганизмов, и предположено, что антимикробная активность может быть связана с наличием циклических дипептидов. Принимая во внимание значимость и перспективу изучения антимикробных пептидов, предположено, что яйца муравьев могут стать новым источником для скрининговых исследований в области физиологически активных веществ.

**Благодарности.** Исследование проведено при поддержке проектов Минобрнауки России (Проекты FZZE 2024-0011 и FZZE 2024-0003).

#### Библиографический список

1. Assessment of nutrients of escamoles ant eggs *Limotepum apiculatum* M. by spectroscopy methods / V. Melo-Ruiz [et al.] // Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2013. V. 7. №. 12. P. 1181.
2. De Roode J.C., Lefèvre T. Behavioral Immunity in Insects // Insects. 2012. V.3 №3. P. 789-820.
3. Efficacy of metabolites of a *Streptomyces* strain (AS1) to control growth and mycotoxin production by *Penicillium verrucosum*, *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus fumigatus* in culture / A.M. Danial [et al.] // Mycotoxin Research. 2020. V. 36. № 2. С. 225-234.
4. External immunity in ant societies: sociality and colony size do not predict investment in antimicrobials / C. Penick [et al.] // Royal Society Open Science. 2018. V. 5. P. 1-8.

5. Guarda C., Lutinski J.A. Glandular secretions of ants (Hymenoptera: Formicidae): A review on extraction, chemical characterization and antibiotic potential // *Sociobiology*. 2020. V. 67. № 1. P.13–25.
6. Hilker M., Salem H., Fatouros N. E. Adaptive plasticity of insect eggs in response to environmental challenges // *Annual Review of Entomology*. 2023. V. 68. №. 1. P. 451-469.
7. Kaltenpoth M., Engl T. Defensive microbial symbionts in Hymenoptera // *Functional Ecology*. 2014. V. 28. №. 2. P. 315-327.
8. Kumar P., Kizhakkedathu J.N., Straus S.K. Antimicrobial peptides: diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo // *Biomolecules*. 2018.V. 8. №. 1. P. 4.
9. Melo G.M., Fortich M.R.O. Actividad antibacterial de extractos de hormigas de los géneros *Crematogaster* *Solenopsis* // *Revista Colombiana de Ciencias Químico- Farmacéuticas*. 2013. V. 42. P. 42-55.
10. Profiling of gene expression in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in response to cyclo-(L-Val-L-Pro) and chloramphenicol isolated from *Streptomyces* sp., SUK 25 reveals gene downregulation in multiple biological targets / N.M. Zin [*et al.*] // *Archives of Microbiology*. 2020. V. 202. №8. P. 2083-2092.
11. Ruangpan L. Minimal inhibitory concentration (MIC) test and determination of antimicrobial resistant bacteria. Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment.: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 2004. 31-55pp.
12. Secondary metabolites of the endophytic fungi *Talaromyces wortmannii* cultivated in maize medium and their bioactivity / B. Yang [*et al.*] // *Chemistry of Natural Compounds*. 2020. V. 56. C. 1143-1145.
13. Starr A.M., Zabet-Moghaddam M., San Francisco M. Identification of a novel secreted metabolite cyclo (phenylalanyl-prolyl) from *Batrachochytrium dendrobatidis* and its effect on *Galleria mellonella* // *BMC microbiology*. 2022. V. 22. №. 1. P. 293.
14. Tranter C., Fernandez-Marin A., Hughes W.O. Quality and quantity: transitions in antimicrobial gland use for parasite defense // *Ecology and Evolution*. 2015. V. 5. P. 5857-5868.