



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Seskviterpenoidilaktonien ja niiden johdannaisten MRSA-aktiivisuus

Netta Lehtonen

Luonnonyhdisteiden kemia

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

9.4.2026

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Kemia

Tekijä: Netta Lehtonen

Otsikko: Seskviterpenoidilaktonien ja niiden johdannaisten MRSA-aktiivisuus

Ohjaajat: Juha-Pekka Salminen, Maarit Karonen

Sivumäärä: 22 sivua

Päivämäärä: 9.4.2026

Antibioottiresistenssin maailmanlaajuinen kasvu luo kiireellisen tarpeen uusille mikrobilääkkeille. Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* eli MRSA on yksi sairaalainfektioiden aiheuttajista, jonka hoito on haasteellista sekä resistenssistä β -laktaamiantibiooteille, että lisääntyvässä määrin hoidossa käytettäville ei- β -laktaamiantibiooteille, kuten vankomysiinille. Tämä lisää erityistä tarvetta kehittää uusia MRSA-lääkkeitä. Lisäksi MRSA on kehittänyt resistenssiä lisääviä mekanismeja, kuten biofilmin muodostumista ja effluksipumppujen aktivointia. Luonnonyhdisteet ovatkin osoittautuneet tehokkaiksi uusien lääkkeiden kehityksessä, joten ne ovat potentiaalinen vaihtoehto antibioottiresistenssiongelman ratkaisemiseksi. Tutkielmassa käsitellään seskviterpenoidilaktonien potentiaalia ja mahdollisia vaikutusmekanismeja MRSA:n inhiboimiseksi.

Seskviterpenoidilaktoneita esiintyy useissa kasvisuvuissa, mutta erityisesti *Asteraceae*-heimossa. Perusrakenne muodostuu C15-seskviterpeenirungosta ja laktoniosasta, ja ne voidaan jakaa neljään pääryhmään: germakranolidit, eudesmanolidit, guaianolidit ja pseudoguaianolidit. Laktonirengas, esimerkiksi α -metyyleeni- γ -laktoni on merkittävässä osassa niiden bioaktiivisuuksien, kuten antibakteerillisten ominaisuuksien kanssa. Seskviterpenoidilaktonien vaikutusmekanismit MRSA:han ovat vielä tuntemattomia, mutta rakenteiden monimuotoisuus mahdollistaa niiden toimimisen antibakteerisina aineina.

Avainsanat: MRSA, seskviterpenoidilaktonit, terpenoidit, α -metyyleeni- γ -laktoni

Sisällysluettelo

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Johdanto | 1 |
| 2 | Seskviterpenoidilaktonien rakenne | 2 |
| 2.1 | Syklisen laktonin muodostuminen rakenteeseen | 4 |
| 3 | Rakenteen vaikutus aktiivisuuteen | 6 |
| 3.1 | α -metyleeni- γ -laktonin vaikutus | 7 |
| 3.2 | β -substituimattoman syklopentenonirenkaan merkitys | 10 |
| 4 | Vaikutukset biofilmin muodostumiseen | 10 |
| 5 | MurA-entsyymin inhibointi | 12 |
| 6 | Effluksipumpun toiminnan häirintä | 13 |
| 7 | NF-κB:n inhibointi | 14 |
| 8 | Synergistiset vuorovaikutukset | 16 |
| 9 | Johtopäätökset | 18 |
| | Viitteet | 19 |

Lyhenneluettelo

| | |
|-------|--|
| COS | kostunolidisyntaasi (engl. costunolide synthase) |
| CYP | sytokromi P450 (engl. cytochrome P450) |
| EPS | solunulkoisia polymeerisia aineita (engl. extracellular polymeric substances) |
| FDP | farnesyylidifosfaatti (engl. farnesyl diphosphate) |
| FIC | osittainen estävä pitoisuus (engl. fractional inhibitory concentration) |
| GAO | germakreeni A -oksidaasi (engl. germacrene A oxidase) |
| GAS | germakreeni A -syntaasi (engl. germacrene A synthase) |
| HaES | <i>Helianthus annuus</i> eupatolidisyntaasi (engl. <i>Helianthus annuus</i> eupatolide synthase) |
| HaG8H | <i>Helianthus annuus</i> germakreeni A -happo 8-hydroksylaasi (engl. <i>Helianthus annuus</i> germacrene A acid synthase 8-hydroxylase) |
| IC | inhibointipitoisuus (engl. inhibition concentration) |
| Ih8H | <i>Inula hupehensis</i> germakreeni A -happo 8-hydroksylaasi (engl. <i>Inula hupehensis</i> germacrene A acid 8-hydroxylase) |
| MIC | pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus (engl. minimum inhibitory concentration) |
| MRSA | metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> |
| MSSA | metisilliinille herkkä <i>Staphylococcus aureus</i> |
| MurA | UDP- <i>N</i> -asetyyliglukosamiini-enolipyruvaattitransferaasi (engl. UDP- <i>N</i> -acetylglucosamine enolpyruvyl transferase) |
| NF-κB | transkriptiotekijä (engl. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) |
| QS | quorum sensing; ilmiö, jossa populaation bakteerien erittämän säätelymolekyylin pitoisuus ylittää minimiraja-arvon aiheuttaen muutoksen geeniekspressiossa |

1 Johdanto

Metisilliini on modifioitu penisilliini, joka on suunniteltu vastustamaan stafylokokkien penisillinaasin haitallista vaikutusta. Tämä otettiin terapeuttiseen käyttöön vuonna 1959, mutta jo kahden vuoden kuluttua raportoitiin ensimmäinen MRSA-tapaus (Pantosti and Venditti, 2009).

Metillisiiniresistentti *Staphylococcus aureus* eli MRSA on yksi yleisimmistä sairaalainfektioiden aiheuttajista. MRSA-infektioiden hoidosta tekee haasteelliseksi sen resistenssi koko β -laktaamiantibioottien luokalle, kuten metisilliinille ja penisilliinille. Hoitovaihtoehtoina käytetään tehottomampia lääkkeitä, kuten vankomysiiniä, mikä johtuu sairaalainfektioihin liittyvien MRSA-kantojen monilääkeresistenttiydestä (Otto, 2012). Sekä grampositiiviset että -negatiiviset bakteerit ovat kehittäneet useita resistenssiä lisääviä mekanismeja, kuten kohdeproteiinien sekä solujen läpäisevyyden muutoksia ja effluksipumppujen aktivoimista, biofilmin muodostumisen ja lääkkeiden inaktivoimista. Resistenttiys β -laktaamiantibiootteihin liittyy hydrolyyttisten entsyymien, kuten β -laktamaasien, tuotantoon, mikä aiheuttaa niiden tehon merkittävää heikkenemistä (Cruz-Martínez et al., 2024).

MRSA:n muodostama biofilmi on kliinisesti merkittävänä haasteena, koska se aiheuttaa pitkäaikaisia infektioita sekä lisää antibioottiresistenssiä. Lisäksi biofilmin solunulkoinen polymeerimatriisi estää antibioottien tunkeutumista, jolloin perinteiset antibiootit ovat pääosin tehottomia vakiintuneiden biofilmien rakenteiden hajottamisessa (Bhushan et al., 2025).

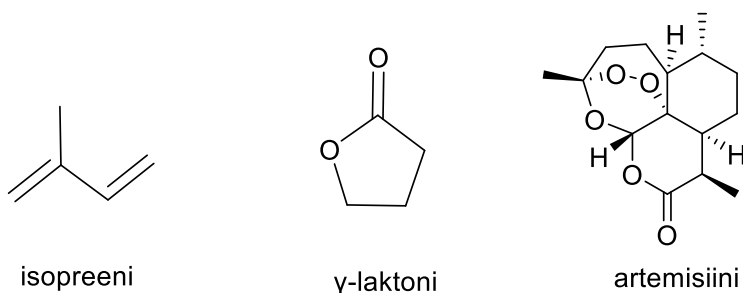
Vaikka MRSA-infektioiden hoidossa on suositeltu käytettävän useita ei- β -laktaami-antibiootteja, kuten edellä esitettyä vankomysiiniä, ovat niiden käyttöä rajoittaneet merkittävästi niiden hidas bakteereja tappava vaikutus sekä lisääntyvät resistenssiraportit. On siis erityisen tärkeää löytää vaihtoehtoisia MRSA-läkkeitä, jotka omaavat uuden rakenteen sekä vaikutusmekanismin MRSA-infektioiden hoitoon. Uusien MRSA-läkkeiden kehittämiseksi on esitetty strategia, jossa etsitään MRSA:han vaikuttavia aineita tai johtavia yhdisteitä luonnonyhdisteistä. Luonnonyhdisteet ovat osoittautuneet tehokkaiksi uusien lääkkeiden kehityksessä (Dong et al., 2018).

Tutkielmassani käsittelen seskviterpenoidilaktonien mahdollisia MRSA:ta heikentäviä vaikutuksia ja niiden potentiaalia toimia lääkeaineina MRSA-kantoja vastaan. Seskviterpenoidilaktonit ovat erikoistuneiden metaboliittien suuri sekä rakenteellisesti monimuotoinen ryhmä. Näitä yhdisteitä pystytään eristämään useista kasvisuvuista, mutta erityisesti *Asteraceae*-heimosta (Abood et al., 2017).

2 Seskviterpenoidilaktonien rakenne

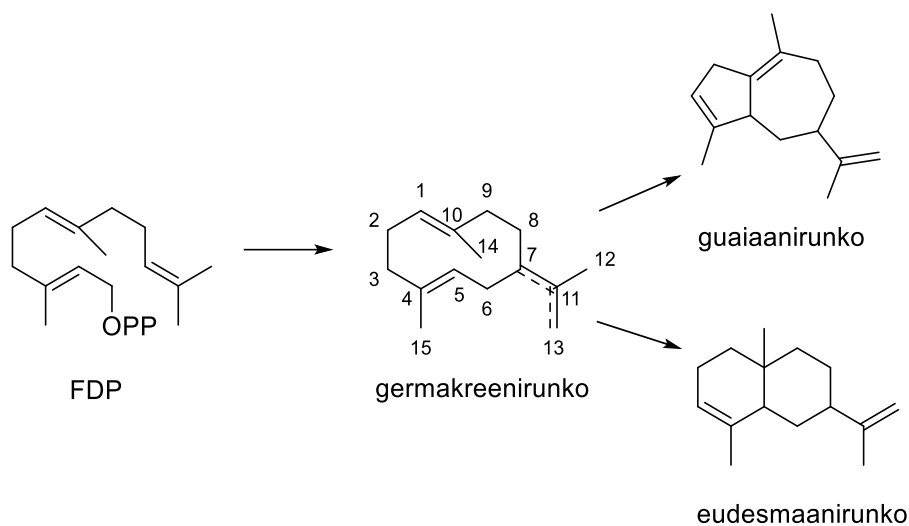
Terpeenit ovat biologista alkuperää olevia hiilivetyjä, joiden hiilirunko on johdettu isopreenistä $[\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CH}_2]$ (kuva 1). Terpenoidit ovat puolestaan luonnollisia tuotteita ja niihin liittyviä yhdisteitä, jotka ovat virallisesti johdettuja isopreeniyksiköistä ja sisältävät happea useissa funktionaalisissa ryhmissä. Terpeenit ja terpenoidit ovat jaoteltu luokkiin hiilien lukumäärän mukaan: hemi-, mono-, seskvi-, di-, sester-, tri-, tetra- ja polyterpeenit. Terpenoidien rakenne ei aina noudata täydellisesti isopreenisääntöä, vaan niiden rakenne voi muuttua kemiallisten uudelleenjärjestäytymisten vuoksi; tällaisia biosynteesireitin aikana tapahtuvia muutoksia ovat tavallisimmin metyyliryhmän siirtyminen tai katoaminen (Moss et al., 1995).

Seskviterpeenit, C_{15} , rakentuvat kolmesta isopreeniyksiköstä, C_5 (Wink, 1999). Laktonit ovat hydroksikarboksyylihappojen syklisiä estereitä, joissa alkoksiryhmä on korvattu vähintään yhdellä hydroksyyli ryhmällä (Abood et al., 2017). Seskviterpenoidilaktoneihin on muodostunut laktonirengas, joka voi olla 5-jäseninen γ -laktonirengas tai 6-jäseninen δ -laktonirengas, kuten artemisiinissä (kuva 1) (Frey et al., 2024).



Kuva 1. Isopreeniyksikön ja γ -laktonin rakenteet sekä artemisiinin rakenne, joka sisältää δ -laktonirengkaan.

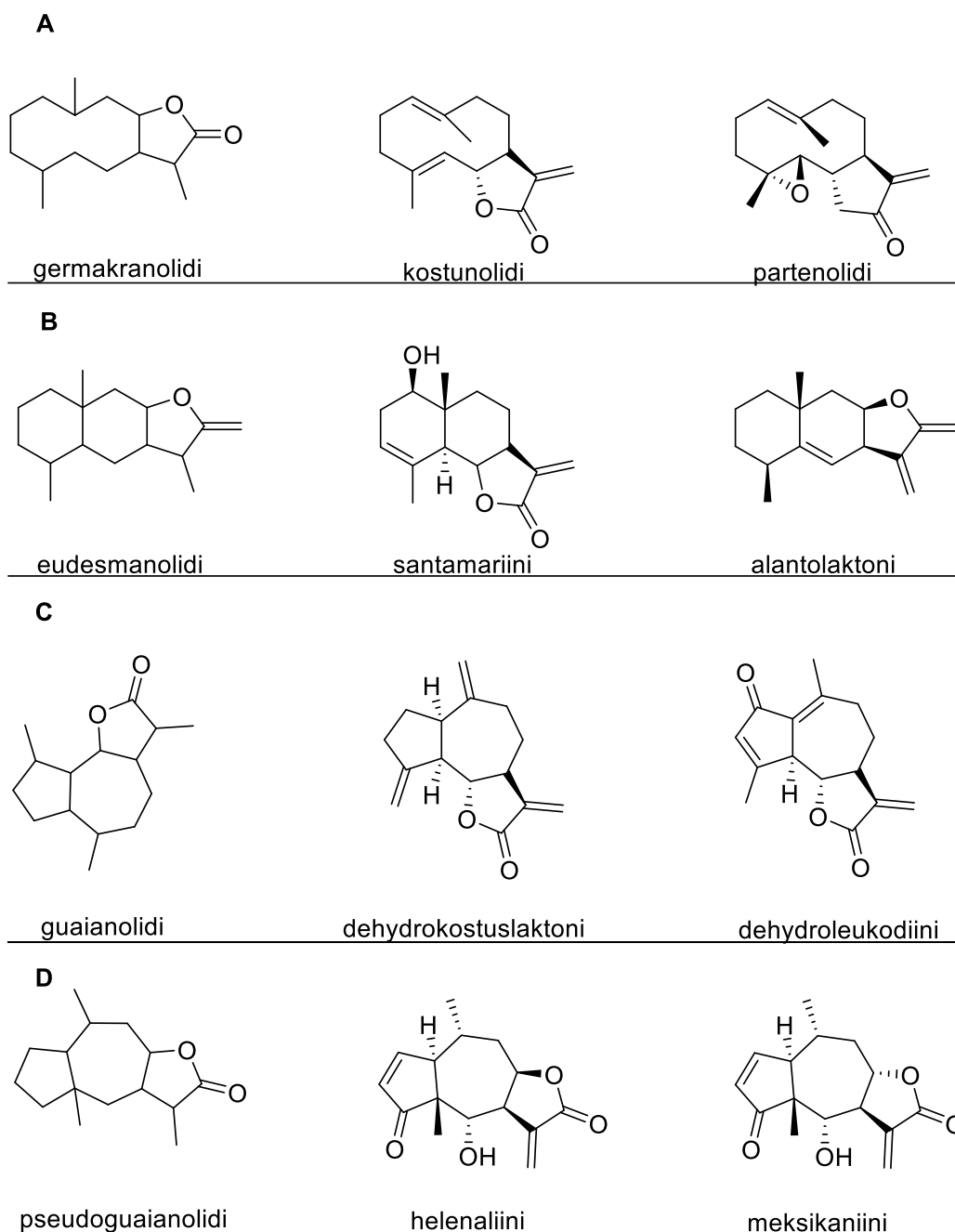
On oletettu, että guaiaani- ja eudesmaanirunkoiset laktonit ovat muodostuneet germakreeni-esiasteesta, joka muodostuu aseaatti-mevalonaatti-farnesyylidifosfaatti (FDP, engl. farnesyl diphosphate) -reitin kautta germakreenisyntaasin (GAS, engl. germacrene A synthase) avulla (de Kraker et al., 1998). Germakreeniasteen muodostuminen joko guaiaani- tai eudesmaanirakenteeksi riippuu entsyymivälitteisten epoksidointien sijainnista. Germakreeni-C4-C5-epoksidi johtaa guaiaani-rakenteeseen, kun germakreeni-C1-C10-epoksidi puolestaan johtaa eudesmaanirakenteeseen (de Kraker et al., 1998). Lisäksi suurin osa tunnetuista seskviterpenoidilaktoneista on peräisin germakreeni A:n germakreenirungosta (Frey et al., 2024; Ramirez et al., 2013).



Kuva 2. Germakreeni-, guaiaani- ja eudesmaanirungon muodostuminen farnesyylidifosfaatista (FDP, engl. farnesyl diphosphate) (de Kraker et al., 1998).

Edellä esitetyn perusteella seskviterpenoidilaktonit voidaan jakaa neljään pääryhmään. Eudesmanolidit, guaianolidit ja pseudoguaianolidit ovat trisyklisiä ja sisältävät viisijäsenisen γ -butyrolaktonirenkaan. Germakranolidien (kuva 3A) rakenteessa on kymmenjäseninen hiilirengas, joka aiheuttaa monimutkaisen ja monipuolisen stereokonfiguraation, johon viisijäseninen γ -laktonirengas voi liittyä. Eudesmanolidit (kuva 3B) voidaan jakaa rakenneluokkiin 6,12- tai 8,12-eudesmanolidit laktonirenkaan syklisaation mukaan (Zhang et al., 2015). Guaianolideissa (kuva 3C) viisijäseninen γ -laktonirengas on liittynyt seitsemänjäseniseen hiilirengaaseen muodostaen toisen viisijäsenisen hiilirengaan, jossa metyyliryhmä sijaitsee C-4-asemassa. Pseudoguaianolideissa (kuva 3D) metyyliryhmä esiintyy puolestaan C-5-asemassa ja sillä on metyloituja *trans*-perhydroatsuleenirunkoja (Castelli and López, 2018; Shimoma et al., 1998; Zhang et al., 2015)

Germakranolidit voidaan jakaa alaluokkiin konfiguraatioiden perusteella, jotka eroavat toisistaan kaksoissidosten konfiguraation perusteella. Pseudoguaianolidit jaetaan ambrosanolideihin ja helenanolideihin C-10-metyyliryhmän stereokemian perusteella. Ambrosanolideissa metyyliryhmä on β -asemassa ja heleanolideissa metyyliryhmä esiintyy α -asemassa. Guaianolideilla on kaksi alaluokkaa: 6,12- ja 8,12-guaianolidit. Lisäksi guaianolidit pystyvät derivoitumaan ksantanolideiksi (Sülsen et al., 2018; Zhang et al., 2015).



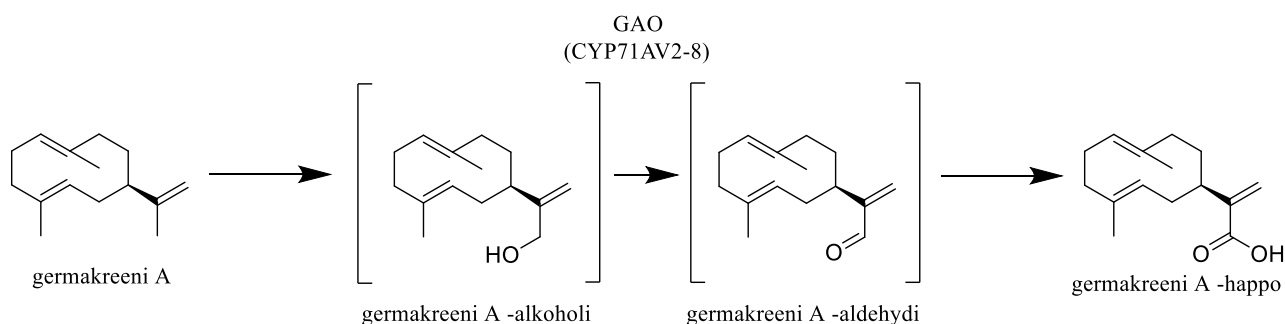
Kuva 3. Seskviterpenoidilaktonien esimerkkirakenteita: (A) germakranolidit, (B) eudesmanolidit, (C) guaianolidit ja (D) pseudoguaianolidit.

2.1 Syklisen laktonin muodostuminen rakenteeseen

Seskviterpenoidilaktonien kemiallinen monimuotoisuus perustuu erilaisiin runkorakenteisiin, erilaisiin laktonirenkaan muodostumisiin sekä useisiin seskviterpenoidilaktonirunkoihin liittyneisiin funktionaalisiin ryhmiin. Useimmat seskviterpenoidilaktonit ovat γ -laktoneita eli ne ovat karboksyyliiryhmän ja γ -asemassa olevan hydroksyyliiryhmän molekyyllinsisäisen esteröinnin eli

laktonisaation tulos. γ -laktonit voivat esiintyä rakenteessa neljällä eri tavalla. Rakenteessa γ -laktoni voi esiintyä 6,7-cis-, 6,7-trans-, 7,8-cis- tai 7,8-trans- asemassa ja se sisältää yleensä α -metyleeniryhmän (Frey et al., 2024).

Rakenteet esiintyvät tyypillisesti kahdessa eri laktonisaatiomuodossa. Isopropyylisivuketju sisältää C-7 ja C-6 tai C-8 muodostaen γ -laktonin, jossa esiintyy usein riippuva hiili rakenneelementtinä. Molempiin suuntiin etenevä laktonisaatio tuottaa kiraalisen keskuksen C-6 tai C-8 (Schmidt, 2006). Seskviterpenoidilaktonien γ -laktonirengas voi muodostua neljän eri biosynteettisen reitin kautta. Ensin germakreeni A- syntaasi (GAS, engl. germacrene A synthase) muodostaa FDP:n germakreeni A:ksi, joka muuttuu kolmivaiheisessa hapetusprosessissa germakreeni A -hapoksi germakreeni A -alkoholin ja germakreeni A -aldehydin kautta germakreeni A -oksideasin (GAO, engl. germacrene A oxidase) avulla (kuva 4) (Frey et al., 2024).



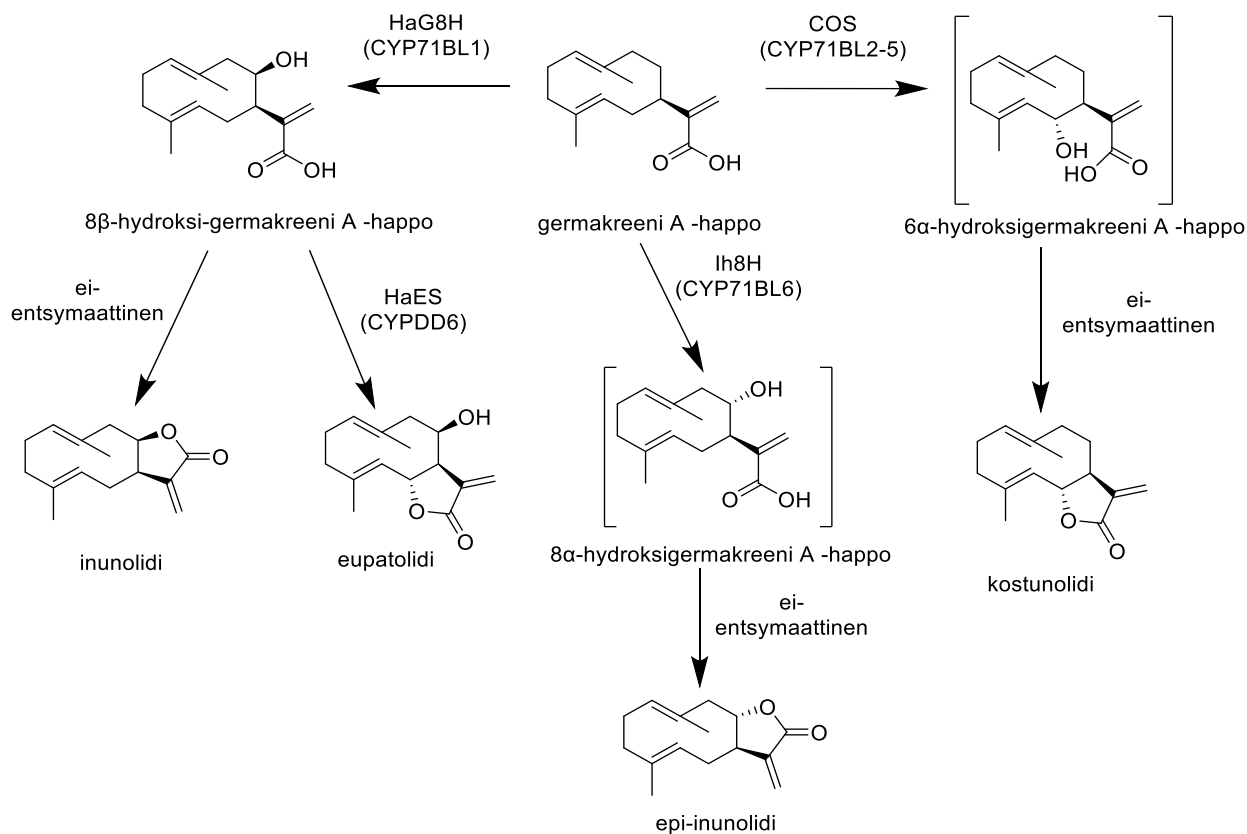
Kuva 4. Germakreeni A:n kolmivaiheinen hapetusprosessi germakreeni A -hapoksi germakreeni A -oksideasin (GAO, engl. germacrene A oxidase) CYP71AV2-8 avulla.

Helianthus-heimossa germakreeni A -happo voi hapettua *Helianthus annuus* germakreeni A -hapon 8-hydroksylaasin (HaG8H, CYP71BL1, engl. *Helianthus annuus* germacrene A acid synthase 8-hydroxylase) vaikutuksesta 8β -hydroksi-germakreeni A -hapoksi, joka voi laktonisoitua spontaanisti 7,8-cis-laktoniksi eli inunolidiksi. *Helianthus annuus* eupatolidisyntaasi (HaES, CYP71DD6, engl. *Helianthus annuus* eupatolide synthase) muuntaa 8β -hydroksi-germakreeni A -hapon 6,7-translaktoniksi eli eupatolidiksi (kuva 5) (Frey et al., 2024).

Inulassa germakreeni A -happo hapettuu *Inula hupehensis* germakreeni A -hapon 8-hydroksylaasin (Ih8H, CYP71BL6, engl. *Inula hupehensis* germacrene A acid 8-hydroxylase) vaikutuksesta joko hydroksigermakreeni A -hapoksi tai 8α -hydroksigermakreeni A -hapoksi. 8α -hydroksigermakreeni A -happo laktonoituu spontaanisti 7,8-translaktoniksi eli epi-inunolidiksi (kuva 5) (Frey et al., 2024).

CYP71BL-alaryhmän sytokromi P450 (CYP, engl. cytochrome P450) -entsyymit voivat hapettaa germakreeni A -hapon, ja kostunolidisyntaasi (COS, CYP71BL2–5, 7–11, engl. costunolide

synthase) muuntaa germakreeni A -hapon 6 α -hydroksigermakreeni A -hapoksi. 6 α -hydroksigermakreeni A -happo laktonoituu spontaanisti 6,7-translaktoniksi eli kostunolidiksi (kuva 5). Tämä reaktio on säilynyt useimmissa *Asteraceae*-heimon haaroissa (Frey et al., 2024).

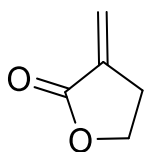


Kuva 5. Germakreeni A -hapon laktonisaatioreaktio inunolidiksi, eupatolidiksi, epi-inulodiksi ja kostunolidiksi (Frey et al., 2024). Reaktioita katalysoivat *Inula hupehensis* germakreeni A -hapon 8-hydroksylaasi (Ih8H, CYP71BL6, engl. *Inula hupehensis* germacrene A acid 8-hydroxylase), kostunolidisyntaasi (COS, CYP71BL2-5, engl. costunolide synthase), *Helianthus annuus* germakreeni A-hapon 8-hydroksylaasi (HaG8H, CYP71BL1, engl. *Helianthus annuus* germacrene A acid synthase 8-hydroxylase), *Helianthus annuus* eupatolidisyntaasi (HaES, CYP71DD6, engl. *Helianthus annuus* eupatolide synthase).

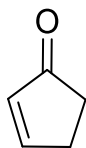
3 Rakenteen vaikutus aktiivisuuteen

Elektrofiiliset α,β -tyydyttymättömät karbonyyliryhmät, kuten α -metyleeni- γ -laktonin ja α,β -tyydyttymättömien syklopentenonin (kuva 6) biologinen aktiivisuus johtuu niiden kyvystä reagoida Michaelin addition tapaisesti biologisten nukleofiilien, kanssa (Abood et al., 2017; Matos et al., 2021). Tämä mahdollisesti selittäisi seskviterpenoidilaktoneilla esiintyvän biologisten aktiivisuuksien laajuuden. Esimerkiksi biomolekyyleissä esiintyvät sulfhydryyliryhmät, kuten

glutationi, tai proteiinit, jotka sisältävät vapaita kysteiniiryhmiä, ovat seskviterpenoidilaktonien alkyloinnin kohteena (Matos et al., 2021).



α -metyleeni- γ -laktoni



α,β -tyydyttymätön syklopentenoni

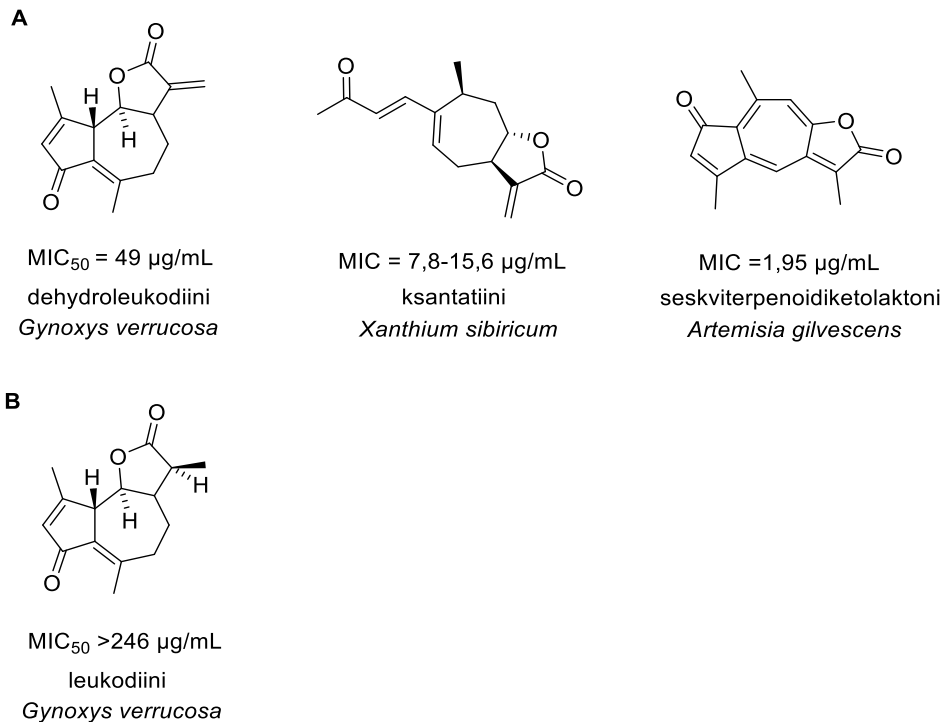
Kuva 6. α -metyleeni- γ -laktonin ja α,β -tyydyttymättömän syklopentenonin rakenne

Alkyloinnin seurauksena biomolekyylien toiminta voi heikentyä huomattavasti, mikä johtaa entsyymien aktiivisuuksien laskuun tai esimerkiksi solujen redox-tasapainon häiriöihin. Kovalenttisia modifikaatioita pidetään usein seskviterpenoidilaktonien tärkeimpänä vaikutusmekanismina (Matos et al., 2021). Lisäksi tiettyjen molekyylien kanssa muodostuvat ei-kovalenttiset vuorovaikutukset voivat vaikuttaa yhdisteiden biologiseen aktiivisuuteen (Matos et al., 2021).

3.1 α -metyleeni- γ -laktonin vaikutus

Seskviterpenoidilaktoneissa esiintyvä α -metyleeni- γ -laktoniryhmä on tärkeä rakenteellinen yksikkö, jolla on erilaisia biologisia aktiivisuuksia, kuten antibakteerisia ominaisuuksia sekä anti-inflammatorisia ja syöpää estäviä vaikutuksia (Barrios, 2018; Bhushan et al., 2025; Frey et al., 2024; Hoffmann and Rabe, 1985). Laktoniryhmällä voi kuitenkin olla biomolekyylien kanssa ei-selektiivisiä kovalenttisiä vuorovaikutuksia. Tämä saattaa johtaa huonoon vesiliukoisuuteen, jolloin yhdiste ei imeydy hyvin elimistössä; ulkopuoliseen sytotoksisuuteen eli solymyrkyllisyyteen terveissä soluissa sekä metaboliseen epävakauteen, jolloin yhdiste hajoaa elimistössä liian nopeasti, mikä rajoittaa esimerkiksi *Aucklandia costus*- ja *Saussurea lappa* -kasveista eristettävän dehydrokostuslaktonin (kuva 3C) kliinistä soveltamista. Kuitenkin dehydrokostuslaktoni ja muut samantapaiset α -metyleeni- γ -laktonirakenteen omaavat luonnonyhdisteet ovat osoittaneet aktiivisuutta grampositiivisia bakteereja vastaan (Bhushan et al., 2025). Rakenneaktiivisuusvuorovaikutusmittauksissa on havaittu, että γ -laktonissa esiintyvä C11–C13-eksosyklinen kaksoissidos on välttämätön sytotoksisuudelle. Lisäksi seskviterpenoidilaktonit, jotka sisältävät syklopentenonin tai α -metyleenilaktonin α,β -metyleeni- γ -laktonin lisäksi, tuottavat parempaa sytotoksisuutta. Kuitenkin monofunktionaaliset seskviterpenoidit, joilla on rakenteessaan vain α,β -saturioimaton esteri tai syklopentenoni, eivät tuota merkittävää aktiivisuutta (Rodriguez et al., 1976). Dehydroleukodiinilla (kuva 7A) on antimikrobista vaikutusta MRSA:ta vastaan verrattuna

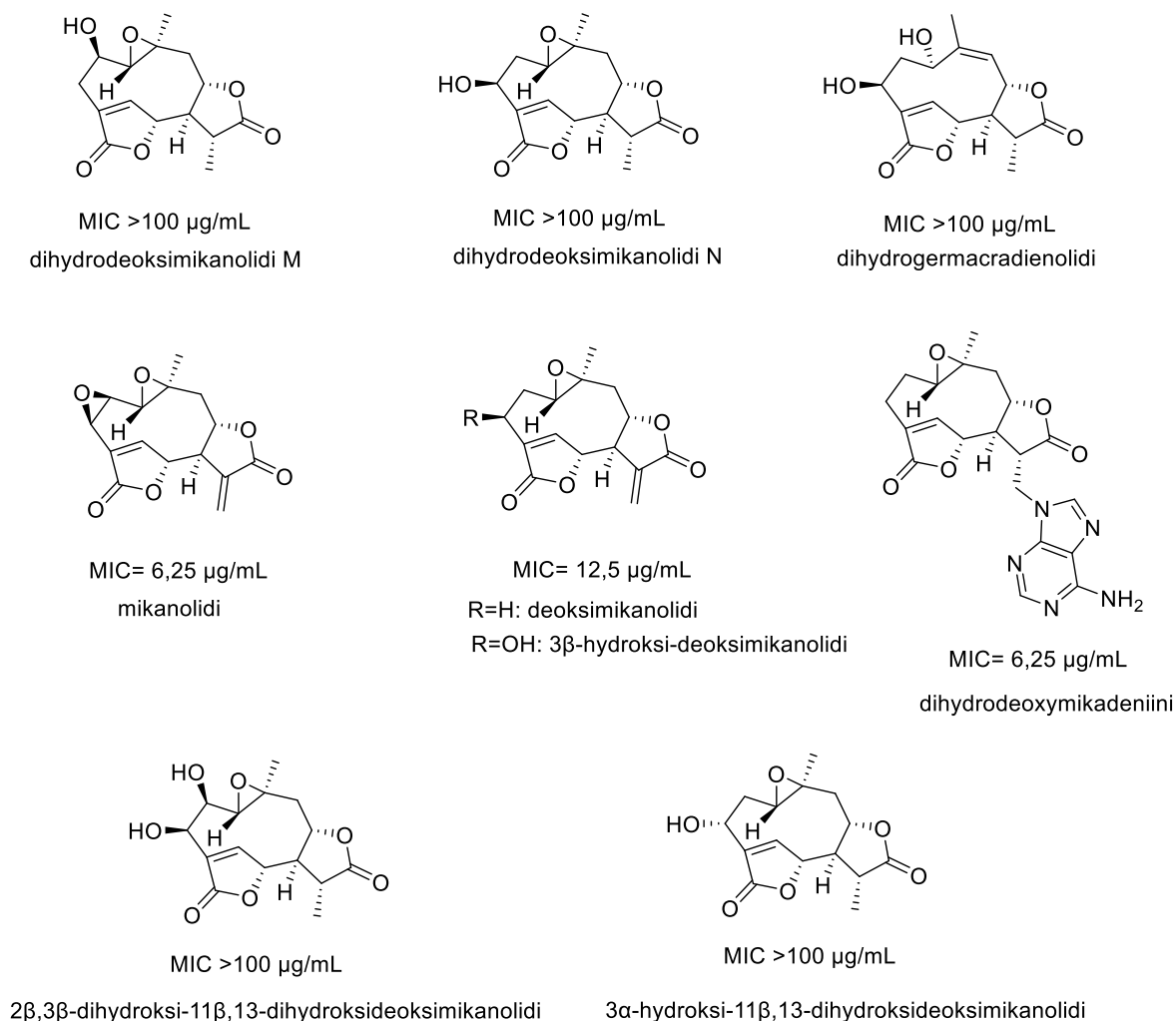
leukodiiniin (kuva 7B). Tämä osoittaa, että laktonirenkaan eksosyklinen konjugoitu metyleeni on välttämätön kyseisten seskviterpenoidilaktonien antimikrobisen vaikutuksen kannalta (Ordóñez et al., 2011). Ksantatiinilla ja seskviterpenoidiketolaktonilla (kuva 7A) esiintyy antimikrobista vaikutusta MRSA:ta vastaan. Seskviterpenoidiketolaktonin rakenteessa ei esiinny eksosyklistä konjugoitua metyleeniä, kuten ksantatiinilla ja dehydroleukodiinilla.



Kuva 7. Seskviterpenoidilaktoneiden MIC-arvoja MRSA:ta vastaan: (A) rakenteet, joilla esiintyy antimikrobista vaikutusta, (B) ei antimikrobista vaikutusta (Kawazoe et al., 2003; Ordóñez et al., 2011; Sato et al., 1997) MIC = pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus, MIC₅₀ = pitoisuus, joka estää 50 % tutkittujen bakteerikantojen kasvua, MRSA = metisilliinille resistentti *Staphylococcus aureus*

Dong ym. (2023) testasi *Mikania micrantha* -kasvista eristettyjen germakreeni-seskviterpenoidilaktonien (kuva 8) vaikutuksia MRSA:ta vastaan käyttäen mikrodiluutiotitrausmenetelmää. Potentiaalisimpina yhdisteinä voidaan pitää mikanolidia, deoksimikanolidia, 3β-hydroksimikanolidia sekä dehydroksimikadania. Niiden pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuuksien arvot (MIC, engl. minimum inhibitory concentration) vaihtelevat 6,25–12,5 µg/mL:n välillä. Kyseiset arvot ovat suhteellisen lähellä vertailuyhdisteitä: vankomysiiniä (3,13 µg/mL) ja kanamysiinisulfaattia (50 µg/mL). Muilla esitetyillä yhdisteillä ei havaittu antibakteerisia ominaisuuksia. Tutkimuksessa tarkasteltiin yhdisteiden kemiallisia rakenteita ja niiden antibakteerisia vaikutuksia, joiden perusteella, lukuun ottamatta dehydroksimikadaniinia, todettiin,

että α -metyyleeni- γ -laktoni-osan läsnäolo rakenteessa on välttämätön, jotta tämän tyyppiset yhdisteet voivat osoittaa antibakteerista potentiaalia (Dong et al.,2023).



Kuva 8. *Mikania micrantha* -kasvista eristetyt seskviterpenoidilaktonien rakenteet ja MIC-arvot ($\mu\text{g}/\text{mL}$) MRSA:ta vastaan (Dong et al., 2023). MIC = pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus

(eDNA). Lisäksi EPS suojaa bakteereita antibioottien antimikrobiselta vaikutukselta. Biofilmi heikentää antibioottien vaikutuksia sekä lisää bakteerien patogeenisyyttä aktivoimalla virulenssia sääteleviä geenejä (Guzzo et al., 2020). Biofilmit suojaavat bakteereita sekä antibiooteilta että isännän puolustusmekanismeilta sekä mahdollistavat bakteerien kiinnittymisen bioottiin ja abioottiin pintoihin. Tämän seurauksena biofilmit edistävät infektioiden ja kolonisaation pitkittymistä ja mahdollistavat MRSA:n leviämisen sairaalaympäristöissä (Otto, 2012).

MRSA-bakteerin leviämisen ja antibioottiresistenssin ensisijainen syy on sen kyky muodostaa biofilmiä bioottisille sekä abioottisille pinnoille. MRSA-biofilmin resistenssiin vaikuttavat useammat tekijät, kuten antibiootin rajoittunut pääsy biofilmin pinnalla olevan polymeroitavan mukopolysakkaridin vuoksi ja luontaisesti antibioottiresistentit metabolisesti inaktiiviset solut, jotka esiintyvät syvimmissä kerroksissa (Cascioferro et al., 2021). Lisäksi bakteerisolujen kertyminen biofilmiin helpottaa resistenssistä vastuussa olevien geenien horisontaalista siirtoa. Biofilmissä olevat bakteerisolut ovat huomattavasti resistentimpiä antibiooteille ja isännän immuunivasteelle verrattuna yksittäisiin, irrallaan eläviin bakteereihin. Yksi suurimmista haasteista hoitomuodon löytämisessä MRSA-biofilmiin liittyvien infektioiden hoitoon on eri stafylokokkien biofilmin fenotyyppien olemassaolo (Cascioferro et al., 2021).

Biofilmien muodostumiseen voidaan vaikuttaa estämällä bakteerien välistä kemiallista viestintää ns. quorum sensing (QS) -järjestelmää. Quorum sensing on bakteerien käyttämä järjestelmä viestimään signaalia solulta toiselle, mikä mahdollistaa niiden toimimisen populaationa säätelemällä geenien ilmentymistä (Majik et al., 2020). QS:aa säätelevät eri geenit grampositiivisissa sekä gramnegatiivisissa bakteereissa sekä on riippuvainen populaation tiheydestä (Guzzo et al., 2020). Lisäksi QS säätelee patogeenisyyden osa-alueita, kuten biofilmin muodostumista ja antibioottiherkkyyttä (Majik et al., 2020). QS voi biofilmien lisäksi tehostaa effluksipumppujärjestelmiä, joten QS:n säätely estämällä QS-signaalointiproteiineja, on uusi lupaava lähestymistapa bakteeri-infektioiden torjunnassa (Chaieb et al., 2022).

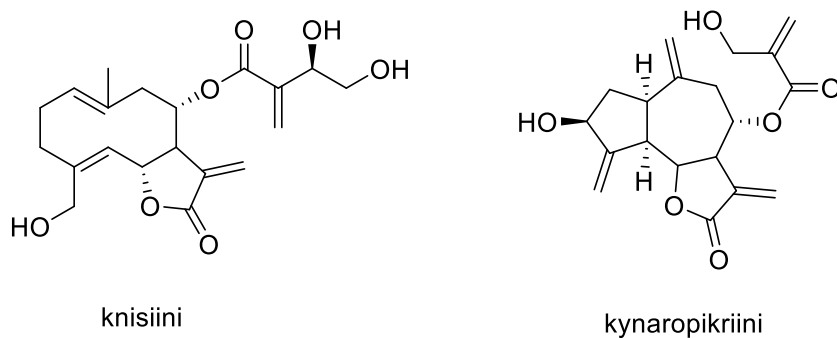
On havaittu, että QS-järjestelmän virtuaalista seulontaa hyödyntämällä, kuten tutkimalla reseptorien ja ligandien sitoutumisaffiniteetteja ja 3D rakenteiden visualisoinnin sekä niiden välisten vuorovaikutusten avulla, pystytään kehittämään QS-inhibiittoreita eli antibakteerisia inhibiittoreita (Chaieb et al., 2022; M. Zhang et al., 2022). Yleisesti antimikrobisten peptidien ja antibioottien lisäksi monet kasveista uutetut luonnolliset vaikuttavat aineet ovat QS-inhibiittoreita, joilla on mahdollisesti tärkeä rooli bakteerien biofilmin muodostumisen säätelyssä. QS-inhibiittoreiden mekanismit QS-reitin estämisessä voidaan jakaa kolmeen ryhmään: signaalimolekyylien biosynteesin estäminen, signaalimolekyylien hajoamisen edistäminen ja kilpailu signaalimolekyylien kanssa reseptoriproteiinien sitoutumisesta (M. Zhang et al., 2022).

Terpenoidit ovat osoittaneet merkittävää antibakteerista aktiivisuutta useiden eri reittien kautta, mukaan lukien QS-inhibiitori. Esimerkiksi monoterpenoideilla on inhiboivia vaikutuksia useiden QS-välittäjäaineiden kautta. Lisäksi seskviterpenoidilaktoneilla on osoitettu olevan bakteerien välisen viestinnän estävää anti-QS-vaikutusta, ja ne ovat inhiboineet QS-välittäjäaineiden toimintaa *C. violaceumissa* ja *P. aeruginosa* ATCC 27853:ssa. Goyazensolidi ja isogoyazensolidin kemiallisiin perheisiin kuuluvat seskviterpenoidilaktonit vahvistavat QS-inhibiitori ja estävät asyylihomoseriinilaktonin tuotantoa (Naga and Shaaban, 2023).

5 MurA-entsyymin inhibiitori

Peptidoglykaani on bakteerin soluseinän rakenneosana, joka ympäröi bakteereita ja on vastuussa sen mekaanisesta lujuudesta ja ympäristöstressin kestävydestä (Chang et al., 2015; F. Zhang et al., 2022). Lisäksi peptidoglykaanisoluseinä suojaa solua osmoottisen paineen aiheuttamalta tuhoutumiselta (Chang et al., 2015). UDP-*N*-asetyyli-glukosamiini-enolipyruvaattitransferaasi (MurA, engl. UDP-*N*-acetylglucos-amine enolpyruvyl transferase) katalysoi peptidoglykaanin biosynteesin ensimmäistä vaihetta siirtämällä enolipyruvaattia fosfoenolipyruvaatista UDP-*N*-asetyyli-glukosamiiniin, jolloin muodostuu enolipyruvyyli-UDP-*N*-asetyyli-glukosamiinia. Peptidoglykaanin biosynteesi on välttämätön bakteerin kasvulle ja se on hyvin yhdenmukainen sekä grampositiivisissa että -negatiivisissa bakteereissa (Bensen et al., 2012; F. Zhang et al., 2022). Kaikki peptidoglykaanin biosynteesiin osallistuvat entsyymit ovat välttämättömiä bakteerisolujen selviytymiselle. Sen vuoksi peptidoglykaanin biosynteesin häiritseminen on vakiintunut menetelmä mikrobilääkkeiden kehityksessä. Tämän vuoksi MurA on mielenkiintoinen kohde antibioottien kehityksessä (Chang et al., 2015). Lisäksi MurA:lla ei ole ihmisen homologia, joten MurA-entsyymiä estävät inhibiittorit voivat toimia laajakirjoisina antibiootteina vaikuttamatta vastaavaan ihmisen entsyymiin (Fathalla et al., 2022). MurA-geenin deleetiolla tai inaktivoinnilla on usein tappava vaikutus monissa bakteereissa, koska sen toiminnan menettäminen estää soluseinän muodostumisen, mikä lisää alttiutta osmoottiselle lyysille sekä aiheuttaa solujen rakenteellisen eheyden menetystä (Chang et al., 2015). Fosfomysiini on ainoa kliinisesti käytetty kohdentava antibiootti MurA-entsyymiä vastaan, mutta se on tehoton bakteereille, joissa on katalyyttisesti tärkeä Cys-Asp-mutaatio (Chang et al., 2015). Lisäksi fosfomysiiniin käytössä on nykyään ongelmia, jotka liittyvät antibioottiresistenssiin, vaikeuksiin MurA-entsyymin moniproteiinisen rakenteen läpäisemisessä sekä spesifisyyden puutteeseen (F. Zhang et al., 2022). Edellä mainituista syistä, MurA on ihanteellinen ja mielenkiintoinen kohde antibioottien ja uusien antibakteeristen inhibiittoreiden kehityksessä (Bensen et al., 2012; Chang et al., 2015; Fathalla et al., 2022; F. Zhang et al., 2022)

Bachelier ym. (2006) raportoivat knisiini ja kynaropikriini potentiaalisina yhdisteinä *P. aeruginosa*- sekä *E. coli* -bakteerin MurA-entsyymin inhibointiin. Knisiini IC50-arvo *P. aeruginosalle* oli 10,3 $\mu\text{m}/\text{mL}$ ja *E. colille* 16,7 $\mu\text{m}/\text{mL}$ (kuva 9). Kynaropikriini IC50-arvot olivat vastaavasti *P. aeruginosalle* 12,1 $\mu\text{m}/\text{mL}$ ja *E. colille* 19,5 $\mu\text{m}/\text{mL}$ (kuva 9). Esimerkiksi partenolidi (kuva 3A) ja dehydrokostuslaktoni (kuva 3C), joilla ei ole rakenteessa esterifunktiota, osoittivat heikkoa inhibitiota IC50 > 50 $\mu\text{m}/\text{mL}$. Inhibitiotulosten perusteella voidaan päätellä, että C8- asemassa oleva reaktiivinen esterisivuketju on tärkeämpi rakenneosana MurA:n inhibitiossa kuin molekyylien makrosyklisessä osassa sijaitsevat α -metyleenibutyrolaktonit ja eksosykliset metyleeniryhmät (Bachelier et al., 2006). Chang ym. (2015) käyttivät MurA:ta alkuperäisenä kandidaattina lääkekohteen validointiin MRSA:ta vastaan perustuen muun muassa Bachelier ym. (2006) tuloksiin. Knisiini ja kynaropikriini ovat α,β -tyydyttymättömiä karbonyyliryhmiä, joita pidetään välttämättömänä rakenteena MurA:n estämisessä ja jotka ovat rakenteeltaan samanlaisia kuin fosfoenolipyruvaatti (Chang et al., 2015).



Kuva 9. MurA-entsyymiä inhiboineet seskviterpenoidilaktonit

6 Effluksipumpun toiminnan häirintä

Effluksipumput ovat bakteerien sytoplasmamembraanissa sijaitsevia kuljetusproteiineja, jotka pumppaavat bakteerisolusta ulos myrkyllisiä aineita, kuten antibiootteja (Gaurav et al., 2023). Bakteereissa effluksimekanismit ovat lääkeaineesta riippumattomia proteiineja, jotka tunnistavat ja poistavat kemikaaleja, antibakteerisia aineita ja rakenteellisesti erillisiä yhdisteitä, ilman, että lääkeaineeseen kohdistuu muutoksia tai hajoamista. Mikrobilääkkeen poistuminen solusta aiheuttaa solunsisäisesti alhaisen antibioottipitoisuuden, joka johtaa vähäiseen tai olemattomaan vaikutukseen bakteerien kasvussa. Tämä aiheuttaa bakteerien elinajan pitenemisen ja mahdollistaa niiden spontaanien mutaatioiden syntyminen kohdeproteiineissa sekä lääkeresistenssin kehittymisen (Kumar and Kiran Tudu, 2023). Lisäksi effluksipumppujen liiallinen ilmeneminen ja esiintyvyys MRSA-kannoissa ovat yleisempiä kuin metisilliiniherkille *S. aureus* (MSSA) -kannoille. On osoitettu, että

yksittäisten geenien liiallinen ilmeneminen voi johtaa lievään tai olemattomaan resistenssiin (Hassanzadeh et al., 2020). MRSA-kantojen tuottamat effluksipumput, kuten MSr(A), Nor(A) ja Qac(A), antavat resistenssin rakenteellisesti toisistaan riippumattomille antibiooteille sekä antiseptisille aineille (Gibbons et al., 2003). Esimerkiksi NorA-effluksiproteiinin on havaittu välittävän norfloksasiiniresistenssiä *S. aureus* -kannoissa (de Araújo et al., 2021). Effluksipumppuja voidaan pitää potentiaalisesti tehokkaina antibakteerisina kohteina ja niiden inhibiittoreiden kehittämällä voi mahdollisesti elvyttää nykyisiä antibiootteja resistenttejä mikro-organismeja vastaan. Effluksipumput eroavat kuitenkin muista resistenssimekanismeista kuten β -laktamaaseista, jotka vaikuttavat tiettyyn antibioottiryhmään. Yksittäinen effluksipumppu voi kuitenkin poistaa laajan valikoiman eri antibioottiryhmiä, joten sen estäminen lisää bakteerien herkkyyttä useille mikrobilääkkeille. Tämän haasteen vuoksi on tärkeää löytää uusia laajakirjoisia effluksipumppujen inhibiittoreita (Blanco et al., 2016; Gaurav et al., 2023).

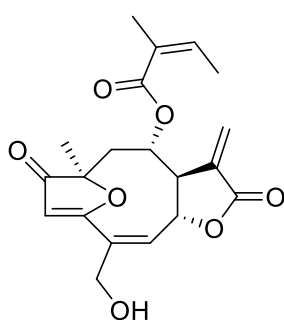
de Araújo ym. nostivat esille, että terpeenien ja effluksipumppujen välisen vuorovaikutuksen taustalla oleva mekanismi on epäselvä. Ei siis tiedetä, toimivatko ne kilpailevina, ei-kilpailevina vai allosteerisina estäjinä, mikä johtaisi merkittävään muutokseen näiden aktiivisten kalvokuljettajien effluksimekanismissa. On havaittu viitteitä, että hydrofobisuus voisi edistää erilaisten yhdisteiden stabiloitumista effluksipumpuissa (de Araújo et al., 2021). Tarkastellussa asiayhteydessä Van der Waalsin vuorovaikutukset ja aromaattisten renkaiden väliset heikot vuorovaikutukset (π - π -pinoutuminen) voivat estää effluksipumpun kunnollisen toiminnan edellyttämiä konformaatiomuutoksia. Lisäksi substraattien vuorovaikutukset ABC-perheen monilääkekuljettajien sitoutumistaskujen kanssa voivat mahdollisesti tapahtua hydrofobisten ja joustavien vetysidosten kautta (de Araújo et al., 2021). Vaikka seskviterpenoidilaktonien vaikutusta effluksi-pumppujen toimintaan ei ole vielä tutkittu, monoterpeenien on havaittu estävän niiden toimintaa. Tämä saattaa johtua monoterpeenien lipofiilisyydestä, jonka vuoksi ne voivat olla vuorovaikutuksessa solukalvon kanssa ja vaikuttaa effluksipumppujen toimintaan (de Araújo et al., 2021).

7 NF- κ B:n inhibiointi

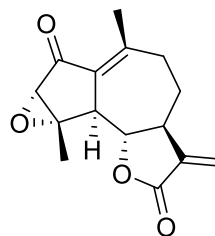
Transkriptiotekijä NF- κ B (engl. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) on keskeinen välittäjäaine ihmisen immuunivasteessa. Useimmissa solutyypeissä NF- κ B koostuu p50- ja p65-alayksiköistä ja pysyy inaktiivisena sytoplasmassa sitoutumalla inhiboivaan I κ B-alayksikköön (Rünger et al., 1999; Siedle et al., 2004). Erilaiset tulehdustilat, kuten bakteeri- ja virusinfektiot sekä tulehdussytokiinit, aktivoivat NF- κ B:n nopeasti (Rünger et al., 1999). NF- κ B aktivoi ensisijaisen tulehdusreaktion, joka johtaa MRSA:n aiheuttamaan keuhkotulehdukseen ja -vaurioihin.

Useat tulehdukselliset signaalintireitit osallistuvat MRSA:n aiheuttamaan akuuttiin keuhkovaurioon, joista NF- κ B-signalointia pidetään keskeisenä vaikuttajana (Zhu et al., 2023).

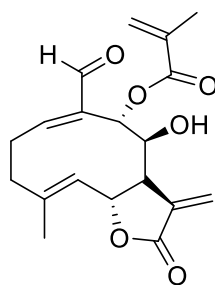
Rüngeler ym. (1999) tutkivat seskviterpenoidilaktonien kykyä inhiboida Nf- κ B:ta. Tutkimuksessa tarkasteltiin yhteensä 28 eri seskviterpenoidilaktonia niin pääluokista kuin alaluokista. Rüngeler ym. (1999) nostivat esille, että tehty tutkimus ei ollut kvantitatiivinen rakenneaktiivisuusvuorovaikutuksien suhteen, koska mittausjärjestelmä ei sallinut biologisten vaikutusten kvantifiointia eli annosvastekäyrien mittaamista (Rüngeler et al., 1999). Sama tutkimusryhmä teki myöhemmin kvantitatiivisen rakenneaktiivisuusvuorovaikutusten tutkimuksen käyttäen 103 eri seskviterpenoidilaktonia hyödyntäen aiempaa tutkimusta NF- κ B:n inhibiosta (Siedle et al., 2004). Tutkimuksessa osoitettiin, että guaianolidien inhibioteho riippuu niiden topologiasta, koska jäykkä runkorakenne ei voi mukautua kohteeseen. Sen sijaan joustavien runkorakenteiden, kuten germakranolideilla, inhibition saattaa määrittää pääasiassa α,β -tyydyttymättömien karbonyylirakenteiden lukumäärä ja tyyppi. Siedle ym. (2004) osoitti osalle rakenteista (kuva 10) 100 %:n inhibiokonsentraatioksi (IC₁₀₀, engl. inhibition concentration) 5 μ M, joka oli alin tutkimuksessa käytetty pitoisuus. Lisäksi kyseiset tutkimukset korreloivat pääasiassa sytotoksisuuden rakenneaktiivisuusvuorovaikutusten kanssa (Rüngeler et al., 1999; Siedle et al., 2004).



sentrateriini



3,4-epoksidgehydroleukodiini

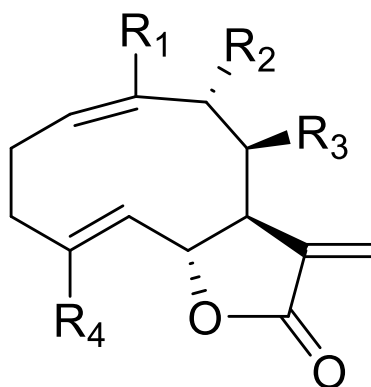


8 β -hydroksi-9R-metakryloyylioksi-14-oksoakantospermolidi

Kuva 10. Potentiaalisia seskviterpenoidilaktoneita NF- κ B:n inhibointiin, kun IC₁₀₀ = 5 μ M.

8 Synergistiset vuorovaikutukset

Cartagena ym. (2015) tutkivat *Acanthospremum hispidum* DC. -kasvista eristettyjen melampolidi-seskviterpenoidilaktonien (kuva 11) synergististä vaikutusta antibioottien kanssa MRSA:n luonnolliselle kannalle (SAR 1). Tutkimus osoitti, että seskviterpenoidilaktonien ja antibioottien yhdistelmät ovat tehokkaampia kuin pelkkä antibioottihoito MRSA:n torjumisessa (taulukot 1 ja 2). Lisäksi merkittävin synergistinen vaikutus esiintyi akantosspermaali B:llä (5) ja gentamisiinilla, jolloin MIC-arvo laski akantosspermaali B:llä 234,4 µg/mL (312,5 µg/mL - 78,1 µg/mL) ja gentamisiinilla 117 µg/mL (120 µg/mL - 3 µg/mL), kun ne yhdistettiin antibiootin kanssa. Tämän perusteella FIC-indeksi eli osittainen estävä pitoisuus (FIC, engl. fractional inhibitory concentration) oli 0,3. Lisäksi synergististä vaikutusta gentamisiinin kanssa esiintyi taulukon 1 yhdisteillä 1–2, 4–6 ja 8, kun taas oksasilliinin kanssa synergiaa esiintyi vain yhdisteellä 1 (Cartagena et al., 2015).



Kuva 11. *Acanthospremum hispidum* DC. kasvista eristettyjen seskviterpenoidilaktonien [1–8] runkorakenne, R₁, R₂, R₃ ja R₄, on selitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. *Acanthospremum hispidum* DC. kasvista eristettyjen seskviterpenoidilaktonien [1-8] (kuva 11) ja antibioottien MIC-arvot MRSA:ta vastaan (Cartagena et al., 2015). MIC = pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus

| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | MIC (µg/mL) |
|--------------|--------------------|----------------|-------------------|--------------------|-------------|
| 1 | CHO | H | metyylibutyraatti | CH ₂ OH | 1250 |
| 2 | CHO | H | isovaleraatti | CH ₂ OH | 625 |
| 3 | CHO | OAc | isobutyraatti | CH ₂ OH | 1000 |
| 4 | CHO | OAc | angelaatti | CH ₂ OH | 78,1 |
| 5 | CHO | OAc | metyylibutyraatti | CH ₂ OH | 312,5 |
| 6 | CHO | OH | metyylibutyraatti | CH ₂ OH | 1000 |
| 7 | CH ₂ OH | OAc | isobutyraatti | CH ₂ OH | 156,2 |
| 8 | CH ₂ OH | OAc | angelaatti | CH ₂ OH | 156,2 |
| gentamisiini | | | | | 120 |
| oksasilliini | | | | | 25 |

Taulukko 2. *Acanthospremum hispidum* DC. kasvista eristettyjen seskviterpenoidilaktonien [1-8] (kuva 11) ja antibioottien (gentamisiinin ja oksasilliinin) yhdistelmien MIC-arvot (µg/mL) sekä FIC-indeksi MRSA:ta vastaan esitettynä alkuperäisellä tarkkuudella (Cartagena et al., 2015). MIC = pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus, FIC = osittainen estävä pitoisuus, S = synergistinen vaikutus, NI = ei vuorovaikutusta tai additiivista vaikutusta

| yhdiste | Seos gentamisiinilla | | | Seos oksasilliinilla | | |
|---------|----------------------|------------------------|-------------|----------------------|------------------------|-------------|
| | yhdisteen MIC-arvo | gentamisiinin MIC-arvo | FIC-indeksi | yhdisteen MIC-arvo | oksasilliinin MIC-arvo | FIC-indeksi |
| 1 | 500 | 3,5 | 0,4 (S) | 500 | 3 | 0,5 (S) |
| 2 | 312,5 | 1,5 | 0,5 (S) | 312,5 | 1,5 | 0,6 (NI) |
| 3 | 500 | 3,5 | 1,1 (NI) | 500 | 3 | 0,6 (NI) |
| 4 | 78,1 | 1,5 | 0,3 (S) | 78,1 | 1,5 | 2 (NI) |
| 5 | 78,1 | 3 | 0,5 (S) | 156 | 3 | 0,6 (NI) |
| 6 | 500 | 3 | 0,5 (S) | 500 | 3 | 0,6 (NI) |
| 7 | 78,1 | 3 | 0,6 (NI) | 78,1 | 3 | 0,6 (NI) |
| 8 | 78,1 | 1,5 | 0,5 (S) | 156,2 | 3 | 1,1 (NI) |

9 Johtopäätökset

Seskviterpenoidilaktoneilla on kykyä inhiboida MRSA:n aktiivisuutta. Seskviterpenoidilaktonien rakenteiden monimuotoisuus ja ryhmän laajuus mahdollistavat niiden toiminnan antibakteerisina aineina, vaikka kaikki seskviterpenoidilaktonit eivät osoitakaan aktiivisuutta MRSA:ta vastaan. Seskviterpenoidilaktoneilla on useita runkorakenteita sekä karbonyyliryhmiä, joten olisi tutkimuksellisesti merkittävää selvittää, mitkä ryhmät toimivat aktiivisimpina MRSA:n inhiboimisessa. α -metyleeni- γ -laktoniosa on olennainen osa antibakteerisia ominaisuuksia, mutta olisi keskeistä tutkia lisää α,β -sykloptonenonin merkitystä rakenteessa.

Seskviterpenoidilaktonien vaikutusmekanismeja MRSA:ta vastaan ei vielä tunneta, mutta seskviterpenoidilaktonit ovat osoittaneet muita bakteereja vastaan erilaisia vaikutusmekanismeja, jotka olisivat potentiaalisia tutkimuskohteita. Erityisen tärkeänä olisi tutkia seskviterpenoidilaktonien vaikutusta MRSA:n biofilmin muodostumiseen. On kuitenkin tutkittu yleisesti seskviterpenoidilaktonien vaikutusta NF- κ B-inhibitiioon ja MurA-entsyymien inhibitiioon. Kyseisiä vaikutusmekanismeja MRSA:lle olisi potentiaalista tutkia ja niiden aktiivisuuksien säätely voisi olla kehityskohde MRSA:n vastaisessa tutkimuksessa.

Yhdisteillä on paljon mahdollisuuksia uusien lääkkeiden kehityksessä, mutta lisää tutkimusta vaaditaan niin rakenneaktiivisuuden vuorovaikutuksista kuin vaikutusmekanismeista. Seskviterpenoidilaktonit ovat potentiaalisia lääkekehityksen kohteita MRSA:ta vastaan, mutta erityisesti tarvitaan tutkimusta eri MRSA-kantoja vastaan ja niiden inhiboimisesta. Seskviterpenoidilaktonien biologinen aktiivisuus perustuu yleensä niiden karbonyyliryhmien rakenteeseen. Kun rakenneaktiivisuussuhteet tunnetaan, voidaan suunnitella sekä muokata entistä tehokkaampia johdannaisia. Lisäksi rakenteeseen lisäämällä sopiva sivuketju, voidaan parantaa yhdisteiden lipofiilisyyttä, joka mahdollisesti tehostaisi molekyylin läpäisevyyttä soluseinän ja biofilmin läpi.

Tulevaisuudessa voitaisiin mahdollisesti hyödyntää syvä(kone)oppimismalleja, jotka mahdollistaisivat rakenteiden suunnittelun ja niiden optimaalisten ominaisuuksien ennustamisen ennen laboratoriovaihetta. Syväoppiminen on kuitenkin kallista, ja vaatii paljon resursseja sekä mallien kouluttaminen vaatii suuria määriä dataa. Suuremmassa mittakaavassa koneet pystyvät seulomaan miljoonia yhdisteitä virtuaalisesti, johon ihmisten kapasiteetti ei kykene.

Viitteet

- Abood, S., Eichelbaum, S., Mustafi, S., Veisaga, M.-L., López, L.A., Barbieri, M., 2017. Biomedical Properties and Origins of Sesquiterpene Lactones, with a Focus on Dehydroleucodine. *Nat. Prod. Commun* 12, 995–1005. <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200638>
- Bachelier, A., Mayer, R., Klein, C.D., 2006. Sesquiterpene lactones are potent and irreversible inhibitors of the antibacterial target enzyme MurA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16, 5605–5609. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.08.021>
- Barrios, F.J., 2018. Chemistry of Sesquiterpene Lactones, in: Sülsen, V.P., Martino, V.S. (Eds.), *Sesquiterpene Lactones: Advances in Their Chemistry and Biological Aspects*. Springer International Publishing, Cham, pp. 93–117. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78274-4_5
- Bensen, D.C., Rodriguez, S., J. Nix, Cunningham, M.L., Tari, L.W., 2012. Structure of MurA (UDP-*N*-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase) from *Vibrio fischeri* in complex with substrate UDP-*N*-acetylglucosamine and the drug fosfomycin. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 68, 382–385. <https://doi.org/10.1107/S1744309112006720>
- Bhushan, A., Rathore, A., Baghel, V.S., Firdous, S., Dhiman, U., Sarkar, B., Bharitkar, Y.P., Gupta, P., Mahapa, A., Phatake, R.S., 2025. Selective membrane disrupting dispiro-oxindole Dehydrocostuslactone hybrids with potent anti-MRSA, antibiofilm, and synergistic activity. *Bioorganic Chemistry* 167, 109230. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.109230>
- Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J.A., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M., Bernardini, A., Sanchez, M.B., Martinez, J.L., 2016. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. *Microorganisms* 4. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>
- Cartagena, E., Alva, M., Montanaro, S., Bardón, A., 2015. Natural Sesquiterpene Lactones Enhance Oxacillin and Gentamicin Effectiveness Against Pathogenic Bacteria Without Antibacterial Effects on Beneficial *Lactobacilli*. *Phytotherapy Research* 29, 695–700. <https://doi.org/10.1002/ptr.5301>
- Cascioferro, S., Carbone, D., Parrino, B., Pecoraro, C., Giovannetti, E., Cirrincione, G., Diana, P., 2021. Therapeutic Strategies To Counteract Antibiotic Resistance in MRSA Biofilm-Associated Infections. *ChemMedChem* 16, 65–80. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000677>
- Castelli, M.V., López, S.N., 2018. Effects on Other Microorganisms, in: Sülsen, V.P., Martino, V.S. (Eds.), *Sesquiterpene Lactones: Advances in Their Chemistry and Biological Aspects*. Springer International Publishing, Cham, pp. 275–301. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78274-4_12
- Chaieb, K., Kouidhi, B., Hosawi, S.B., Baothman, O.A.S., Zamzami, M.A., Altayeb, H.N., 2022. Computational screening of natural compounds as putative quorum sensing inhibitors targeting drug resistance bacteria: Molecular docking and molecular dynamics simulations. *Computers in Biology and Medicine* 145, 105517. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2022.105517>
- Chang, C.-M., Chern, J., Chen, M.-Y., Huang, K.-F., Chen, C.-H., Yang, Y.-L., Wu, S.-H., 2015. Avenaciolides: Potential MurA-Targeted Inhibitors Against Peptidoglycan Biosynthesis in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Am. Chem. Soc.* 137, 267–275. <https://doi.org/10.1021/ja510375f>
- Cruz-Martínez, Y.R., Hernández-Delgado, T., Valencia, I., Nieto-Camacho, A., Ramírez-Apan, M.T., Espinosa-García, F.J., Delgado, G., 2024. Evaluation of selected natural sesquiterpenes as sensitizing agents of β -lactam-resistant bacterial strains. *J. Appl. Microbiol.* 135, lxad315. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad315>
- de Araújo, A.C.J., Freitas, P.R., dos Santos Barbosa, C.R., Muniz, D.F., de Almeida, R.S., Alencar de Menezes, I.R., Ribeiro-Filho, J., Tintino, S.R., Coutinho, H.D.M., 2021. In Vitro and In

- Silico Inhibition of *Staphylococcus aureus* Efflux Pump NorA by α -Pinene and Limonene. *Curr Microbiol* 78, 3388–3393. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02611-9>
- de Kraker, J.-W., Franssen, M.C.R., de Groot, A., König, W.A., Bouwmeester, H.J., 1998. (+)-Germacrene A Biosynthesis. *Plant Physiol* 117, 1381–1392. <https://doi.org/10.1104/pp.117.4.1381>
- Dong, L.-M., Huang, L.-L., Dai, H., Xu, Q.-L., Ouyang, J.-K., Jia, X.-C., Gu, W.-X., Tan, J.-W., 2018. Anti-MRSA Sesquiterpenes from the Semi-Mangrove Plant *Myoporum bontioides* A. Gray. *Mar. Drugs* 16. <https://doi.org/10.3390/md16110438>
- Dong, L.-M., Xu, Q.-L., Liu, S.-B., Zhang, S.-X., Liu, M.-F., Duan, J.-L., Ouyang, J.-K., Hu, J.-T., Fu, F.-Y., Tan, J.-W., 2023. Germacrane Sesquiterpene Dilactones from *Mikania micrantha* and Their Antibacterial and Cytotoxic Activity. *Molecules* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28052119>
- Fathalla, R.K., Fröhner, W., Bader, C.D., Fischer, P.D., Dahlem, C., Chatterjee, D., Mathea, S., Kiemer, A.K., Arthanari, H., Müller, R., Abdel-Halim, M., Ducho, C., Engel, M., 2022. Identification and Biochemical Characterization of Pyrrolidinediones as Novel Inhibitors of the Bacterial Enzyme MurA. *J. Med. Chem.* 65, 14740–14763. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01275>
- Frey, M., Vahabi, K., Cankar, K., Lackus, N.D., Padilla-Gonzalez, F., Ro, D.-K., Rieseberg, L., Spring, O., Tissier, A., 2024. Sesquiterpene Lactones – Insights into Biosynthesis, Regulation and Signalling Roles. *Critical Reviews in Plant Sciences* 43, 131–157. <https://doi.org/10.1080/07352689.2024.2307240>
- Gaurav, A., Bakht, P., Saini, M., Pandey, S., Pathania, R., 2023. Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. *Microbiology* 169, 001333. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001333>
- Gibbons, S., Oluwatuyi, M., Veitch, N.C., Gray, A.I., 2003. Bacterial resistance modifying agents from *Lycopus europaeus*. *Phytochemistry* 62, 83–87. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00446-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00446-6)
- Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Buommino, E., D’Abrosca, B., Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Buommino, E., D’Abrosca, B., 2020. Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25215024>
- Hassanzadeh, S., ganjloo, S., Pourmand, M.R., Mashhadi, R., Ghazvini, K., 2020. Epidemiology of efflux pumps genes mediating resistance among *Staphylococcus aureus*; A systematic review. *Microbial Pathogenesis* 139, 103850. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103850>
- Hoffmann, H.M.R., Rabe, J., 1985. Synthesis and Biological Activity of α -Methylene- γ -butyrolactones. *Angewandte Chemie International Edition in English* 24, 94–110. <https://doi.org/10.1002/anie.198500941>
- Kawazoe, K., Tsubouchi, Y., Abdullah, N., Takaiishi, Y., Shibata, H., Higuti, T., Hori, H., Ogawa, M., 2003. Sesquiterpenoids from *Artemisia g. ilvescens* and an Anti-MRSA Compound. *J. Nat. Prod.* 66, 538–539. <https://doi.org/10.1021/np020593m>
- Kumar, G., Kiran Tudu, A., 2023. Tackling multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* by natural products and their analogues acting as NorA efflux pump inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 80, 117187. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2023.117187>
- Lee, K.-H., Ibuka, T., Rong-Yang, W., Geissman, T.A., 1977. Structure-antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactones and related compounds. *Phytochemistry* 16, 1177–1181. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94355-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94355-3)
- Majik, M.S., Gawas, U.B., Mandrekar, V.K., 2020. Next generation quorum sensing inhibitors: Accounts on structure activity relationship studies and biological activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 28, 115728. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115728>

- Matos, M.S., Anastácio, J.D., Santos, C.N. dos, 2021. Sesquiterpene Lactones: Promising Natural Compounds to Fight Inflammation. *Pharmaceutics* 13. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070991>
- Moss, G.P., Smith, P. a. S., Tavernier, D., 1995. Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry* 67, 1307–1375. <https://doi.org/10.1351/pac199567081307>
- Naga, N.G., Shaaban, M.I., 2023. Quorum Sensing and Quorum Sensing Inhibitors of Natural Origin, in: Cruz, J.N. (Ed.), *Drug Discovery and Design Using Natural Products*. Springer Nature Switzerland, Cham, pp. 395–416. https://doi.org/10.1007/978-3-031-35205-8_13
- Ordóñez, P.E., Quave, C.L., Reynolds, W.F., Varughese, K.I., Berry, B., Breen, P.J., Malagón, O., Smeltzer, M.S., Compadre, C.M., 2011. Sesquiterpene lactones from *Gynoxys verrucosa* and their anti-MRSA activity. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 1055–1059. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.012>
- Otto, M., 2012. MRSA virulence and spread. *Cellular Microbiology* 14, 1513–1521 <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01832.x>
- Pantosti, A., Venditti, M., 2009. What is MRSA? *European Respiratory Journal* 34, 1190–1196. <https://doi.org/10.1183/09031936.00007709>
- Ramirez, A.M., Saillard, N., Yang, T., Franssen, M.C.R., Bouwmeester, H.J., Jongasma, M.A., 2013. Biosynthesis of Sesquiterpene Lactones in *Pyrethrum* (*Tanacetum cinerariifolium*). *PLOS ONE* 8, e65030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065030>
- Rodriguez, E., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C., 1976. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Phytochemistry* 15, 1573–1580. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97430-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97430-2)
- Rüngeler, P., Castro, V., Mora, G., Gören, N., Vichnewski, W., Pahl, H.L., Merfort, I., Schmidt, T.J., 1999. Inhibition of transcription factor NF- κ B by sesquiterpene lactones: a proposed molecular mechanism of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 7, 2343–2352. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(99\)00195-9](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(99)00195-9)
- Sato, Y., Oketani, H., Yamada, T., Singyouchi, K.-I., Ohtsubo, T., Kihara, M., Shibata, H., Higuti, T., 1997. A Xanthanolide with Potent Antibacterial Activity against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49, 1042–1044. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06038.x>
- Schmidt, T.J., 2006. Structure-Activity Relationships of Sesquiterpene Lactones, in: *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 309–392. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(06\)80030-X](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(06)80030-X)
- Shimoma, F., Kusaka, H., Azami, H., Wada, K., Suzuki, T., Hagiwara, H., Ando, M., 1998. Total Syntheses of (\pm)-Hymenolin and (\pm)-Parthenin. *J. Org. Chem.* 63, 3758–3763. <https://doi.org/10.1021/jo972077k>
- Siedle, B., García-Piñeres, A.J., Murillo, R., Schulte-Mönting, J., Castro, V., Rüngeler, P., Klaas, C.A., Da Costa, F.B., Kisiel, W., Merfort, I., 2004. Quantitative Structure–Activity Relationship of Sesquiterpene Lactones as Inhibitors of the Transcription Factor NF- κ B. *J. Med. Chem.* 47, 6042–6054. <https://doi.org/10.1021/jm049937r>
- Sülsen, V.P., Catalán, C.A.N., Martino, V.S., 2018. Analytical Procedures, in: Sülsen, Valeria Patricia, Martino, Virginia Susana (Eds.), *Sesquiterpene Lactones: Advances in Their Chemistry and Biological Aspects*. Springer International Publishing, Cham, pp. 119–136. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78274-4_6
- Wink, M., 1999. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. CRC Press.
- Zhang, F., Graham, J., Zhai, T., Liu, Y., Huang, Z., 2022. Discovery of MurA Inhibitors as Novel Antimicrobials through an Integrated Computational and Experimental Approach. *Antibiotics (Basel)* 11, 528. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040528>
- Zhang, J.-P., Wang, G.-W., Tian, X.-H., Yang, Y.-X., Liu, Q.-X., Chen, L.-P., Li, H.-L., Zhang, W.-D., 2015. The genus *Carpesium*: A review of its ethnopharmacology, phytochemistry and

pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 163, 173–191.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.027>

Zhang, M., Han, W., Gu, J., Qiu, C., Jiang, Q., Dong, J., Lei, L., Li, F., 2022. Recent advances on the regulation of bacterial biofilm formation by herbal medicines. *Front. Microbiol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1039297>

Zhu, X., Huang, B., Zhao, F., Lian, J., He, L., Zhang, Y., Ji, L., Zhang, J., Yan, X., Zeng, T., Ma, C., Liang, Y., Zhang, C., Lin, J., 2023. p38-mediated FOXN3 phosphorylation modulates lung inflammation and injury through the NF- κ B signaling pathway. *Nucleic Acids Res* 51, 2195–2214. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad057>