

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра биохимии и биофизики

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТИМИКРОБНОЙ И
АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ
АРИЛМЕТИЛЕНБИСДИМЕДОНОВ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Терехиной Виолетты Александровны

Научный руководитель

канд. биол. наук

подпись, дата

М.В. Каневский

Зав. кафедрой биохимии и
биофизики,

док. биол. наук, профессор

подпись, дата

С.А. Коннова

Саратов 2026

Введение. В условиях прогрессирующей антибиотикорезистентности и роста заболеваний, связанных с окислительным стрессом, поиск новых терапевтических средств, обладающих многофункциональной активностью, является чрезвычайно актуальной задачей современной медицинской химии. Одним из перспективных классов таких соединений являются (арил)метиленбисдимедоны.

Димедон (5,5-диметил-1,3-циклогександион) — циклическое β-дикетоновое соединение, широко используемое в органическом синтезе и обладающее разнообразной биологической активностью. Производные димедона, особенно содержащие арильные заместители, привлекают внимание благодаря своей способности проявлять повышенную биологическую активность по сравнению с незамещенными аналогами. (Арил)метиленбисдимедоны являются производными димедона, в которых два фрагмента димедона соединены посредством (арил)метиленовой группы, что позволяет объединить в одной молекуле два активных дикетоновых центра и ароматическое ядро.

Известно, что (арил)метиленбисдимедоны проявляют антимикробную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов, включая грамположительные (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) и грамотрицательные бактерии (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Кроме того, они обладают значительными антиоксидантными свойствами благодаря наличию енольной формы в дикетоновом фрагменте.

Исходя из вышесказанного, **целью** данной работы является изучение некоторых аспектов биологической активности димедона и его бис-производных.

Задачи:

1. Провести синтез (арил)метиленбисдимедонов на основе формальдегида и некоторых гидрокси- и метоксипроизводных бензальдегида.
2. Оценить антимикробную активность (арил)метиленбисдимедонов, в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий.
3. Установить возможность использования полученных соединений в качестве фотосенсибилизаторов.
4. Методами pFRAP и CUPRAC выявить наличие восстанавливающей способности синтезированных соединений в отношении меди и железа.
5. Определить величину EC_{50} антирадикальной активности полученных соединений методом DPPH.
6. Провести оценку антиокислительной активности полученных соединений.

Структура бакалаврской работы. Работа состоит из введения, основной части, заключения, выводов, списка использованных источников. Литературный обзор составлен на основе анализа 44 источников и включает в себя следующие вопросы: общие сведения о димедоне и его производных (характеристика, синтез, биологическая активность), антиоксидантная активность (определение, классификация, механизмы действия, методы изучения), антимикробная активность (методы оценки, диффузионные методы, методы разведения, автоматизированные системы), а также методы оценки антиоксидантной активности (pFRAP, DPPH, CUPRAC, антиокислительная активность).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Субстратами для синтеза служили димедон (5,5-диметилциклогексан-1,3-дион), а также следующие ароматические альдегиды: ванилин (3-метокси-4-гидроксибензальдегид), анисовый альдегид (4-метоксибензальдегид),

формальдегид, салициловый альдегид (2-гидроксибензальдегид), 2,3-дигидроксибензальдегид и 2,4-дигидроксибензальдегид.

Синтез целевых (арил)метиленбисдимедонов проводили путём кипячения двух эквивалентов димедона и одного эквивалента соответствующего альдегида в этиловом спирте с использованием обратного холодильника. Реакцию считали завершённой после исчезновения пятна димедона на хроматограмме, что контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Для контроля чистоты полученных веществ применяли ТСХ на пластинках Silufol в системе растворителей гексан : этилацетат : ацетон в объёмном соотношении 3 : 1 : 1. Проявление хроматограмм осуществляли в парах йода.

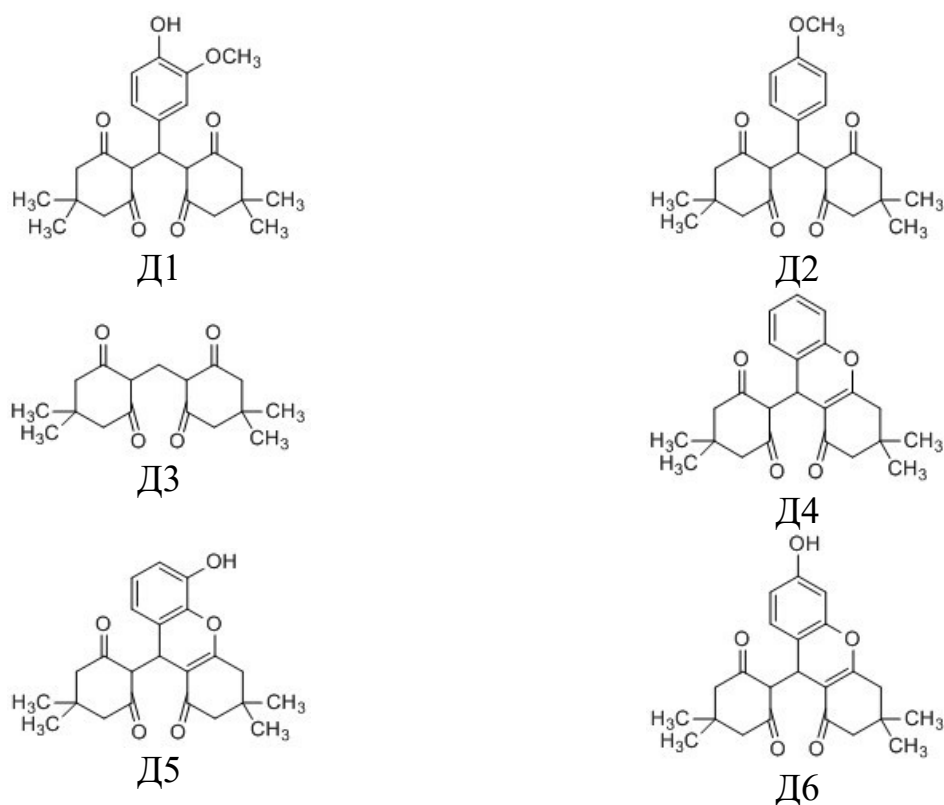


Рисунок 1 – Структурные формулы полученных соединений

В результате синтеза были получены шесть индивидуальных соединений, обозначенных как Д1–Д6. Строение и чистота синтезированных продуктов были подтверждены анализом температур плавления, значения которых соответствовали литературным данным для предполагаемых структур.

Таблица 1 – Температуры плавления полученных веществ

Вещество	t °C.
Д1	198-200
Д2	135-137
Д3	н/д
Д4	208-210
Д5	н/д
Д6	232-234

Антиоксидантные свойства изучали методами pFRAP, DPPH, CUPRAC и оценкой антиокислительной активности. Методом pFRAP установлено, что антиоксидантную активность проявил только продукт конденсации димедона с 2,3-дигидроксибензальдегидом (Д5, частичная активность); среди свободных альдегидов активность показал только 2,4-дигидроксибензальдегид. Методом DPPH определён ряд убывания антирадикальной активности: Д1 > Д2 > Д4 > Д5 > Д6, наиболее активным оказалось соединение Д1 (EC₅₀ минимальна). Методом CUPRAC все продукты конденсации показали более высокие значения по сравнению со свободными альдегидами, что свидетельствует об усилении восстановительной способности при синтезе. Антиокислительная активность всех синтезированных соединений ниже, чем у кверцетина (значения менее 1), однако для Д1 и Д4 отмечены достоверно более высокие показатели по сравнению с димедоном ($p \leq 0,05$).

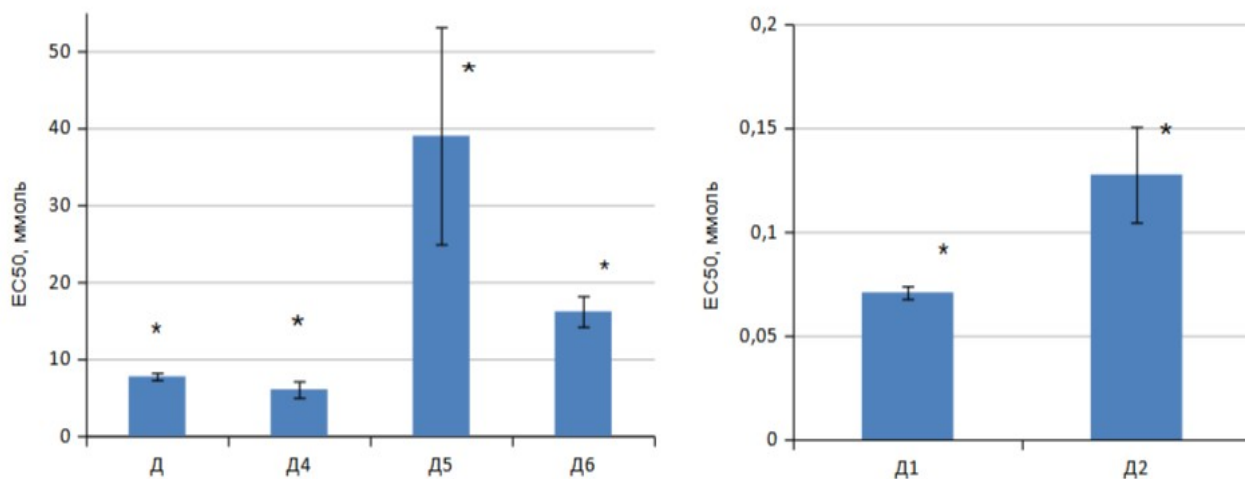


Рисунок 2 – Результаты оценки антирадикальной активности исследуемых веществ методом DPPH

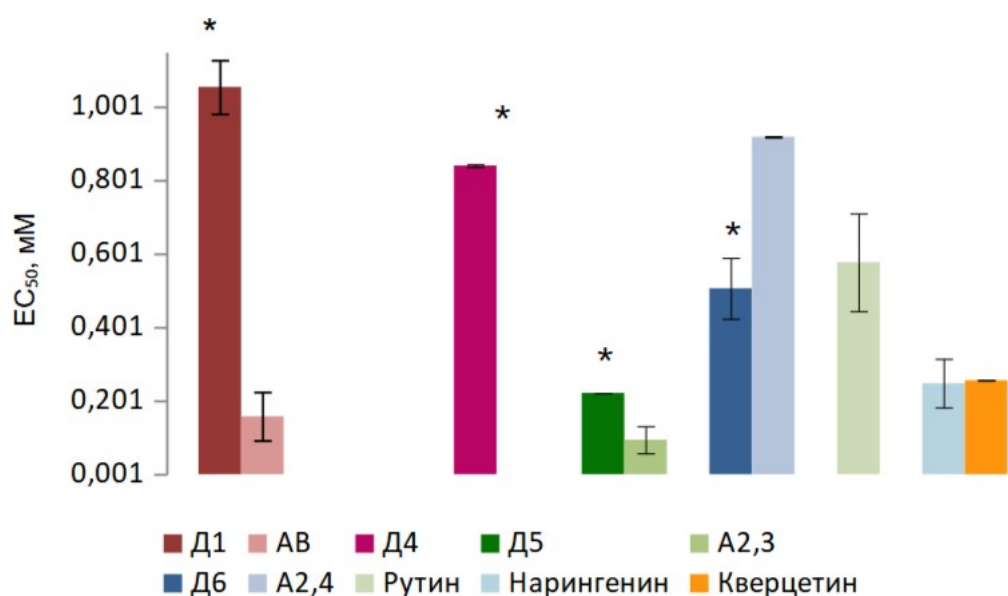


Рисунок 3 – Результаты антиоксидантной активности исследуемых веществ методом CUPRAC

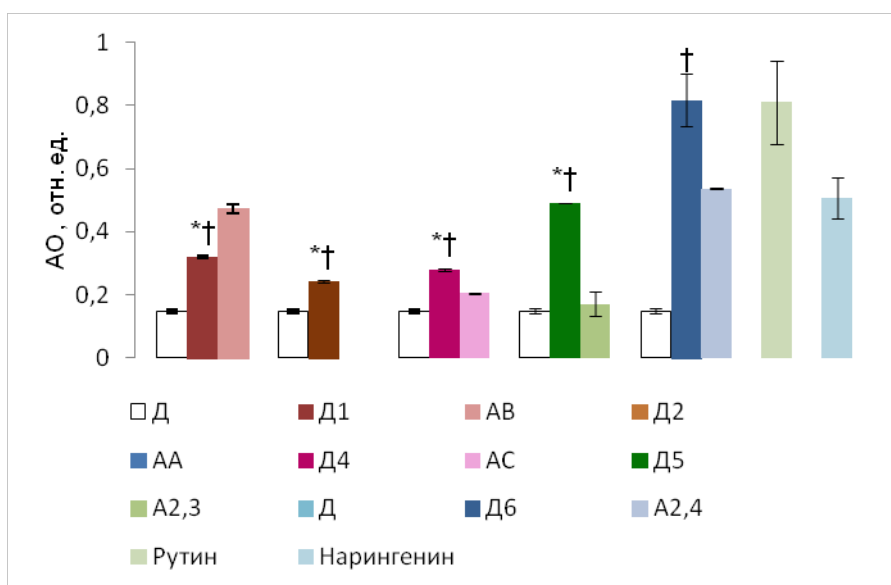


Рисунок 4 – Результаты антиокислительной активности исследуемых веществ

Примечание: * - отличия достоверны для $p \leq 0,05$ при сравнении с кверцетином; † - отличия достоверны для $p \leq 0,05$ при сравнении с димедоном

Антимикробную активность синтезированных соединений оценивали по минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в отношении грамположительных (*St. aureus*, *B. subtilis*) и грамотрицательных (*E. coli*, *A. brasilense*) бактерий.

Наиболее активными оказались Д1 и Д4. Их МИК для *E. coli* составила 0,0002 мкМ, что сопоставимо с доксициклином (0,0625 мкМ) и значительно превышает активность флавоноидов рутина и кверцетина (2 мкМ).

Соединения Д2 и Д4 также проявили высокую активность в отношении *A. brasilense* Sp7 с МИК 0,25 мкМ. В отношении *B. subtilis* все соединения показали активность в диапазоне 0,5–1 мкМ, за исключением Д3 и димедона, которые не подавляли рост этой бактерии.

В отношении *St. aureus* активность проявило только соединение Д6 (МИК 0,0625 мкМ). Остальные вещества, включая димедон, не

показали активности против данного штамма в исследованном диапазоне концентраций.

Таблица 2 – Минимальная концентрация исследуемых веществ, ингибирующая рост бактерий (мкМ)

Вещества	<i>St. aureus</i> 209P	<i>E. coli</i> 113-13	<i>B. subtilis</i> 29D	<i>A. brasillense</i> Sp7
Д	—	0,125	—	1
Д1	—	0,0002	1	0,5
Д2	—	0,0008	1	0,25
Д3	—	0,125	—	1
Д4	—	0,0002	1	0,25
Д5	—	2	0,5	—
Д6	0,0625	0,125	0,5	1
А _{Ван}	—	—	—	—
А _{Ани}	—	—	—	—
А _{Сал}	—	—	—	—
А _{Фор}	—	—	—	—
А _{2,3-ОН}	—	—	1	—
А _{2,4-ОН}	—	—	—	—
Рутин	2	2	2	2
Нарингенин	2	—	2	2
Кверцетин	2	—	2	2
Доксициклин	0,03125	0,0625	0,03125	0,0625

«—» - ингибирующая рост активность обнаружена не была

Влияние синтезированных соединений на формирование бактериальных биоплёнок оценивали методом окрашивания кристаллическим фиолетовым. Установлена выраженная видоспецифичность: для *E. coli* ингибирующее

действие зафиксировано только для ДЗ и рутина; для *B. subtilis* наблюдался универсальный подавляющий эффект; для *A. brasilense* большинство веществ ингибировали биоплёнку, за исключением Д6; для *St. aureus* активность проявило только соединение Д.

Фотоиндуцирующую антибактериальную активность изучали с использованием лазера с длиной волны 365 нм. Спектральный анализ показал, что интенсивную полосу поглощения в этой области имеет только соединение Д1. При облучении в течение 20 минут зафиксировано снижение числа КОЕ *St. aureus* более чем на порядок (примерно в 30 раз). Зависимость снижения КОЕ от времени облучения имеет дозозависимый характер. При облучении на длинах волн 405 и 428 нм эффект отсутствовал.

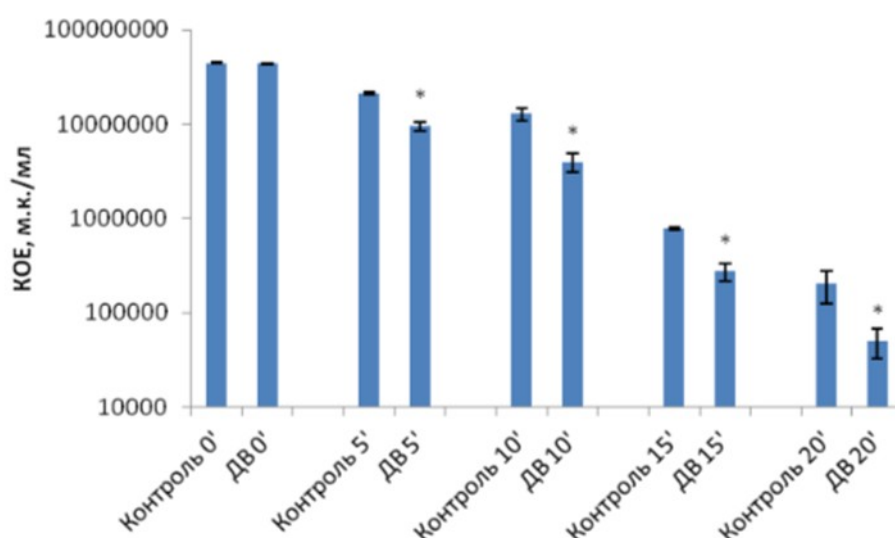


Рисунок 5 – Результаты антибактериальной активности при сочетанном действии лазера (365 нм) и вещества Д1 при разной экспозиции

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование метиленбисдимедонов продемонстрировало их значительный потенциал как в области антимикробной, так и

антиоксидантной активности. Уникальная химическая структура этих соединений, включающая два дикетонных центра и ароматическое ядро, позволяет им эффективно взаимодействовать с биомолекулами, что способствует формированию выраженного антимикробного эффекта. Показано, что данные соединения активны в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также способны ингибировать образование бактериальных биоплёнок, что особенно важно в условиях роста антибиотикорезистентности.

Кроме того, синтезированные (арил)метиленисдимедоны обладают выраженными антиоксидантными свойствами, что подтверждено несколькими независимыми методами оценки. Они проявляют восстановительную способность в отношении ионов металлов, нейтрализуют свободные радикалы и демонстрируют антиокислительную активность, сопоставимую с известными природными антиоксидантами. Особого внимания заслуживает способность некоторых соединений выступать в роли фотосенсибилизаторов под действием ультрафиолетового излучения, что открывает перспективы их использования в фотодинамической терапии бактериальных инфекций.

Таким образом, (арил)метиленисдимедоны представляют собой перспективный класс соединений для дальнейшего изучения и разработки на их основе новых терапевтических средств. Результаты работы открывают новые горизонты для применения этих соединений в медицине, фармации и косметологии. Перспективными направлениями будущих исследований являются углублённое изучение механизмов действия, оценка безопасности в экспериментах *in vivo*, а также создание комбинированных препаратов на основе (арил)метиленисдимедонов для повышения эффективности терапии и преодоления резистентности микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1. Синтезированы шесть целевых (арил)метиленбисдимедонов (Д1–Д6) на основе димедона и формальдегида, ванилина, анисового альдегида, салицилового альдегида, 2,3- и 2,4-дигидроксибензальдегида.

2. Антимикробная активность синтезированных соединений проявлялась в основном в отношении *E. coli* и *B. subtilis*. Наиболее активными оказались Д1 и Д4 (МИС для *E. coli* — 0,0002 мкм), что значительно превышает показатель доксициклина (0,0625 мкм) и флавоноидов (рутин, кверцетин — 2 мкм). Соединения Д2 и Д4 также проявили высокую активность в отношении *A. brasilense* Sp7 (МИК 0,25 мкм). Д6 продемонстрировал умеренную активность в отношении *St. aureus* (МИК 0,0625 мкм).

3. Фотосенсибилизирующие свойства были подтверждены для соединения Д1: при облучении лазером с длиной волны 365 нм в течение 20 минут было зафиксировано снижение количества КОЕ *St. aureus* более чем на порядок по сравнению с культурой, которую подвергали воздействию только лазерного излучения. При облучении при 405 и 428 нм эффекта не наблюдалось. В дополнительном эксперименте установлено, что соединение Д1 не разлагается под действием УФ-излучения (365 нм) в течение часа; более того, зафиксирован гипохромный эффект, свидетельствующий об усилении его фотосенсибилизирующей активности.

4. В тесте CUPRAC все продукты конденсации показали более высокие значения, чем свободные альдегиды и димедон.

5. Антирадикальная активность (DPPH) убывает в ряду: Д1 > Д2 > Д4 > Д5 > Д6. Максимальной активностью обладает Д1 ($EC_{50} = 0,07 \pm 0,031$), минимальной — Д6 ($EC_{50} = 16,18 \pm 1,99$).

6. Антиокислительная активность почти всех синтезированных соединений ниже, чем у кверцетина. Только соединения Д1 и Д4 продемонстрировали более высокие значения по сравнению с димедоном ($p \leq 0,05$).