

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

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

Кафедра биохимии и биофизики

**Антибактериальные свойства бискумарина, бисдимедона и биспирона,
содержащих 3-этокси-4-гидроксифенильный заместитель**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Князева Тимофея Егоровича

Научный руководитель:

доцент, биол. наук

Зав. кафедрой:

профессор, док. биол. наук



М.В. Каневский



С. А. Коннова

11.05.2026,

Саратов 2026

Введение. Распространение антибиотикорезистентности бактерий растет. Актуальность проблемы обусловлена тем, что устойчивость к противомикробным препаратам является одной из главных угроз глобальному общественному здоровью и развитию. По данным ВОЗ, неправильное использование и чрезмерное применение антибактериальных препаратов людьми являются основными факторами развития антибиотикорезистентности. В 2021 году от бактериальных инфекций умерло 7,7 миллиона человек во всем мире, из них 4,71 миллиона смертей были связаны с резистентностью к лекарствам, а 1,14 миллиона - напрямую вызваны ею. Между 2018 и 2023 годами устойчивость к антибиотикам выросла более чем в 40% комбинаций патоген-антибиотик, с среднегодовым ростом от 5 до 15%. Согласно прогнозам, антибактериальная резистентность может привести к 39 миллионам смертей в мире за следующие 25 лет. Поэтому поиск новых антибактериальных соединений является одной из самых приоритетных задач.

Изучение кумаринов началось в 1820 году, когда кумарин был впервые выделен А. Фогелем из бобов тонка. Изучение димедона также началось давно, в 1897 году, когда он был синтезирован D. Vorländer. Димедон используется в том числе как субстрат для синтеза антибактериальных соединений. Гетероциклические соединения, такие как пираноны и хромоны, привлекают внимание благодаря их биологической активности, включая антибактериальные свойства. Среди них особый интерес представляют арилметиленис-2Н-(бензо)пиран-2-оны, синтезированные на основе гидрокси- и алкоксизамещенных бензальдегидов. Эти соединения сочетают в себе структурные элементы пиранового и бензольного колец, что предполагает их способность взаимодействовать с биологическими мишенями в бактериальных клетках.

Антибактериальная активность арилметиленис-2Н-(бензо)пиран-2-онов изучена недостаточно, поэтому проведение данного исследования является актуальным. Полученный результаты позволят расширить

теоретические знания и могут быть использованы при разработке антимикробных препаратов.

Основной **целью** работы является изучение антибактериальных свойств бискумарина, бисдимедона и биспирона, содержащих 3-этокси-4-гидроксифенильный заместитель. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Оценить минимальную ингибирующую активность исследуемых соединений диско-диффузионным методом в отношении бактерий разных таксономических групп.
2. Изучить влияние исследуемых веществ на рост бактерий методом подсчёта колониеобразующих единиц.
3. На основании спектров поглощения подобрать вещества, подходящие для использования в фотодинамической инактивации.
4. Оценить сочетанное действие лазерного излучения и рассматриваемых веществ в отношении *Staphylococcus aureus* 209P.

Полученные результаты расширяют представления об антибактериальной активности арилметиленис-гетероциклических соединений и позволяют рассматривать их в качестве перспективных соединений для разработки новых антимикробных препаратов и фотодинамических антибактериальных систем.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись синтезированные арилметиленис-гетероциклические соединения, содержащие 3-этокси-4-гидроксифенильный заместитель: бискумарин (БКэВАН), бисдимедон (БДэВАН) и биспирон (БПэВАН).

Для оценки антибактериальной активности использовали культуры грамположительных и грамотрицательных бактерий: *Staphylococcus aureus* 209P, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Выбор данных микроорганизмов был

обусловлен их широким применением в качестве тест-объектов при исследовании антимикробных свойств новых химических соединений.

Антибактериальную активность исследуемых веществ определяли диско-диффузионным методом. Бактериальные культуры выращивали на плотной питательной среде, после чего на поверхность агара наносили бумажные диски, содержащие исследуемые соединения в различных концентрациях. После инкубации оценивали наличие и размеры зон задержки роста микроорганизмов.

Для уточнения характера действия исследуемых соединений на бактерии применяли метод подсчёта колониеобразующих единиц (КОЕ). После инкубации бактериальных суспензий с исследуемыми веществами проводили высеивание на плотную питательную среду с последующим подсчётом количества выросших колоний. Полученные данные использовали для оценки влияния соединений на жизнеспособность бактериальных клеток.

Спектральные характеристики соединений изучали методом спектрофотометрии. Спектры поглощения регистрировали в растворах диметилсульфоксида в диапазоне длин волн, соответствующем области возможного фотоактивирования исследуемых веществ. Анализ спектров позволил оценить оптические свойства соединений и их потенциальную пригодность для фотодинамической инактивации микроорганизмов.

Исследование фотоиндуцированной антибактериальной активности проводили с использованием ультрафиолетового лазерного излучения. Бактериальные суспензии *Staphylococcus aureus* 209P инкубировали с исследуемыми соединениями и подвергали облучению в течение различных промежутков времени. Эффективность фотодинамического воздействия оценивали по изменению количества жизнеспособных клеток методом подсчёта КОЕ.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием стандартных методов вариационной статистики. Полученные данные представлены в виде средних значений с учётом ошибок измерений.

Структура и объем работы. Бакалаврская работа состоит из введения, обзора литературы, раздела материалы и методы исследования, раздела результаты исследований и их обсуждение, заключения, выводов и списка использованных источников. Работа изложена на 42 странице машинописного текста, содержит 10 рисунков и 4 таблиц. Список использованных источников включает 39 источников на русском и английском языках.

Основное содержание работы. На первом этапе работы была проведена оценка антибактериальной активности исследуемых соединений методом диффузии в агар. В качестве тест-организмов использовали грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus subtilis*, а также граммотрицательную бактерию *Escherichia coli*. Активность соединений оценивали по наличию и размеру зон ингибирования роста микроорганизмов.

В ходе эксперимента установлено, что все исследуемые соединения обладают антибактериальными свойствами, однако степень их активности существенно различается. Наиболее выраженное ингибирующее действие продемонстрировал бискумарин бКэВАН. В отношении *Staphylococcus aureus* 209P данное соединение сохраняло активность при разведении до 1:128, тогда как для бисдимедона бДэВАН и биспирона бПэВАН активность наблюдалась до разведения 1:32.

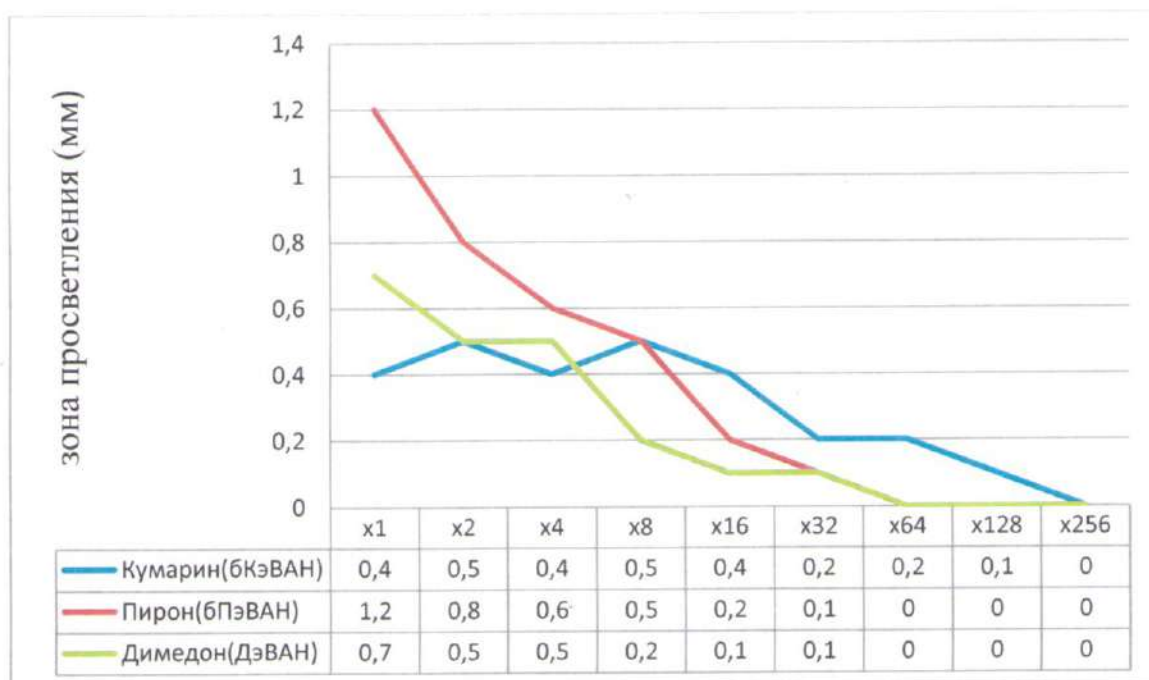


Рисунок 1 – Отношение зоны просветления к концентрации веществ против *St. aureus*

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности *Staphylococcus aureus* 209P к исследуемым соединениям и позволяют предположить, что наличие кумаринового фрагмента способствует усилению антибактериального эффекта. Среди всех исследованных веществ именно бКэВАН проявил наиболее выраженные ингибирующие свойства.

При исследовании активности в отношении *Escherichia coli* установлено, что грамотрицательная бактерия значительно менее чувствительна к действию изучаемых соединений. Несмотря на сохранение антибактериального эффекта, размеры зон задержки роста были существенно меньше по сравнению с грамположительными микроорганизмами. Наибольшую активность в данной серии опытов также продемонстрировал бискумарин.

Таблица 1 – Параметры антибактериальной активности соединений в отношении *E. coli*

Вещество	Концентрация, мкг/мл	Зона просвета (см)
Кумарин (бКэВАН)	250	0,2
Димедон (бДэВАН)	500	0,1
Пирон (бПэВАН)	1000	0,05

Исследование действия соединений на *Bacillus subtilis* показало высокую эффективность бискумарина и биспирона. Минимальная концентрация бискумарина, обеспечивающая подавление роста микроорганизма, составила 7,81 мкг/мл. Полученные данные свидетельствуют о выраженном антибактериальном потенциале данного соединения и подтверждают его перспективность для дальнейших исследований.

Таблица 2 – Параметры антибактериальной активности соединений в отношении *B. subtilis*

Вещество	Концентрация, мкг/мл	Зона просвета (см)
Кумарин (бКэВАН)	7,81	0,2
Димедон (бДэВАН)	31,25	0,2
Пирон (бПэВАН)	250	0,05

Сравнение результатов, полученных для различных тест-культур, показало наличие выраженной селективности исследуемых соединений в отношении грамположительных бактерий. Вероятно, выявленные различия связаны с особенностями строения клеточной стенки грамотрицательных микроорганизмов, наружная мембрана которых препятствует проникновению многих антимикробных агентов.

Таким образом, проведённые исследования позволили установить наличие антибактериальной активности у всех трёх изученных соединений.

Наиболее перспективным соединением оказался бискумарин бКэВАН, продемонстрировавший максимальную эффективность в отношении исследованных грамположительных бактерий.

Для уточнения характера антибактериального действия бисдимедона бДэВАН была проведена оценка его влияния на жизнеспособность клеток *Staphylococcus aureus* 209P методом подсчёта колониеобразующих единиц (КОЕ). Данный метод позволяет определить количество жизнеспособных бактериальных клеток после воздействия исследуемого вещества и установить наличие бактерицидного или бактериостатического эффекта.

В эксперименте бактериальные суспензии инкубировали с различными концентрациями бДэВАН, после чего проводили высев на плотную питательную среду и подсчитывали количество образовавшихся колоний. Полученные результаты сравнивали с контрольными образцами, не содержащими исследуемого соединения.

Таблица 3 – Результат подсчёта колоний

Концентрация бДэВАН, мкг/мл	Количество КОЕ, N_t	Снижение по сравнению с контролем
160	930	1,075
80	770	1,299
40	860	1,163
20	800	1,25
0	1000	-

Установлено, что внесение бДэВАН в концентрациях от 20 до 160 мкг/мл не приводило к значительному уменьшению числа жизнеспособных клеток *Staphylococcus aureus* 209P. Количество колониеобразующих единиц оставалось сопоставимым с контрольными значениями, несмотря на ранее

выявленную способность соединения ингибировать рост бактерий в диско-диффузионном тесте.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что бДэВАН не вызывает массовой гибели бактериальных клеток и не обладает выраженным бактерицидным действием в исследованном диапазоне концентраций. Вероятно, наблюдаемое ингибирование роста связано с подавлением процессов клеточного деления, метаболической активности или межклеточной коммуникации микроорганизмов.

Сопоставление данных диско-диффузионного метода и результатов подсчёта КОЕ позволяет сделать вывод о преимущественно бактериостатическом характере действия бисдимедона бДэВАН. Подобный механизм представляет практический интерес, поскольку бактериостатические соединения способны ограничивать рост популяции микроорганизмов и повышать эффективность других антимикробных воздействий.

Полученные результаты послужили основанием для дальнейшего исследования возможности усиления антибактериального действия бДэВАН с помощью фотоактивации, поскольку соединение проявляло спектральные характеристики, потенциально пригодные для использования в фотодинамической инактивации микроорганизмов.

Для оценки возможности использования исследуемых соединений в фотодинамической инактивации микроорганизмов были изучены их спектральные характеристики. Спектры поглощения регистрировали в растворах диметилсульфоксида в диапазоне длин волн, соответствующем области фотоактивации органических соединений.

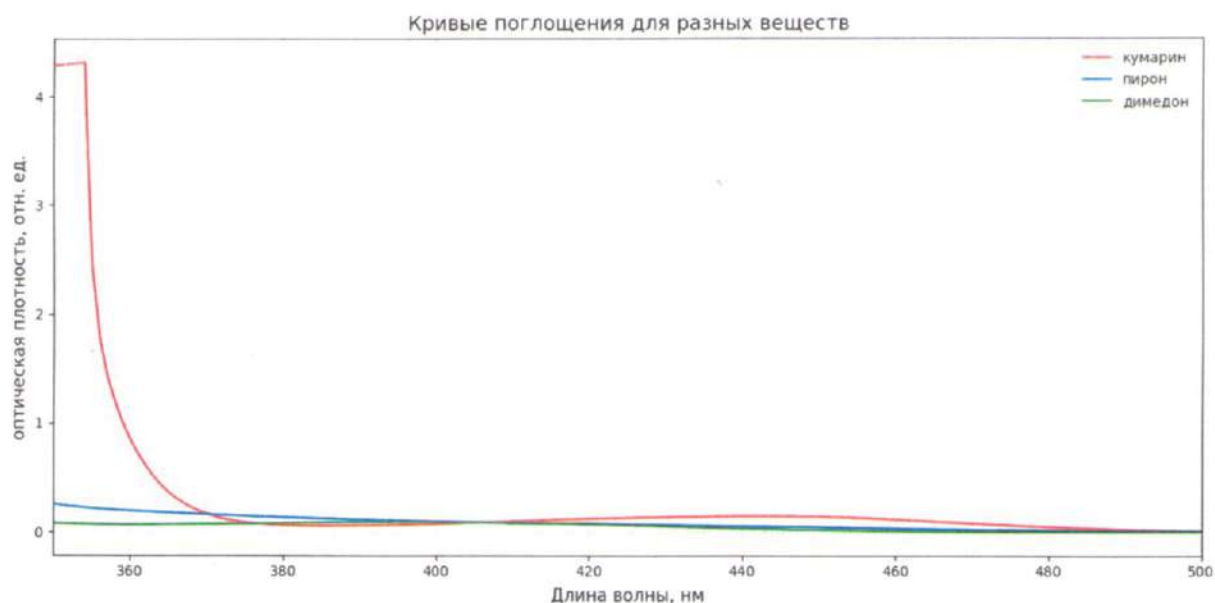


Рисунок 2 – Сравнительный анализ поглощения

Проведённый спектрофотометрический анализ показал, что все исследуемые вещества хорошо растворимы в диметилсульфоксиде и образуют устойчивые растворы. Для исследованных соединений наблюдалась линейная зависимость оптической плотности от концентрации, что свидетельствует об отсутствии процессов агрегации и позволяет использовать данные вещества для дальнейших фотобиологических исследований.

Наиболее интенсивное поглощение в ультрафиолетовой области спектра было зарегистрировано для бискумарина бКэВАН, что обусловлено наличием развитой системы сопряжённых двойных связей. Вместе с тем спектральные характеристики бисдимедона бДэВАН также указывали на возможность его фотоактивации под действием ультрафиолетового излучения, что послужило основанием для проведения экспериментов по фотодинамической инактивации микроорганизмов.

Для оценки фотоиндуцированной антибактериальной активности использовали культуру *Staphylococcus aureus* 209P. Бактериальную суспензию инкубировали с раствором бДэВАН, после чего подвергали воздействию ультрафиолетового лазерного излучения различной

продолжительности. Эффективность воздействия оценивали методом подсчёта колониеобразующих единиц.

Установлено, что сочетанное применение бДэВАН и ультрафиолетового излучения приводит к резкому снижению количества жизнеспособных клеток по сравнению как с контрольными образцами, так и с образцами, содержащими только исследуемое соединение. Уже после 5 минут облучения степень ингибирования роста бактерий достигала 96,5 %. При дальнейшем увеличении времени воздействия эффективность фотодинамической инактивации сохранялась на высоком уровне и превышала 96 %.

Таблица 4 – влияние УФ-облучения на выживаемость *St. aureus* в присутствии бДэВАН

Время облучения, мин	Количество КОЕ в 3 повторностях, N_t			Среднее количество КОЕ, N_t	Выживаемость Р, %	Ингибирование I, %
0 (контроль)	1000			1000	100	0
5	39	35	31	35	3,5	96,5
10	69	69	63	67	6,7	93,3
15	59	60	60	60	6,0	94,0
20	30	28	37	32	3,2	96,8

Полученные результаты существенно отличаются от данных, полученных при исследовании бДэВАН без облучения, когда соединение проявляло преимущественно бактериостатический эффект. Это свидетельствует о том, что под действием ультрафиолетового излучения происходит активация молекул бДэВАН с последующим образованием реакционноспособных форм кислорода, оказывающих повреждающее действие на бактериальные клетки.

Таким образом, бисдимедон бДэВАН способен выступать в качестве фотосенсибилизатора и значительно усиливать антибактериальный эффект при фотоактивации. Полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего изучения данного соединения для разработки новых средств фотодинамической инактивации микроорганизмов и борьбы с антибиотикорезистентными формами бактерий.

Заключение. В ходе выполнения бакалаврской работы были исследованы антибактериальные свойства арилметиленис-гетероциклических соединений, содержащих 3-этокси-4-гидроксифенильный заместитель. Актуальность проведённых исследований обусловлена необходимостью поиска новых антимикробных веществ, способных эффективно воздействовать на микроорганизмы в условиях возрастающей антибиотикорезистентности.

В результате проведённых экспериментов установлено, что все исследуемые соединения обладают антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий. Наиболее выраженный ингибирующий эффект продемонстрировал бискумарин бКэВАН, проявивший высокую активность в отношении *Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus subtilis*. В отношении *Escherichia coli* эффективность исследуемых веществ была существенно ниже, что свидетельствует об их селективности по отношению к грамположительным микроорганизмам.

Исследование влияния бисдимедона бДэВАН на жизнеспособность клеток *Staphylococcus aureus* 209P показало отсутствие выраженного бактерицидного эффекта в исследованном диапазоне концентраций. Полученные результаты позволяют сделать вывод о преимущественно бактериостатическом характере действия данного соединения.

Проведённый спектрофотометрический анализ подтвердил наличие у исследуемых веществ спектральных характеристик, позволяющих рассматривать их как потенциальные объекты для фотодинамических

исследований. Установлено, что под действием ультрафиолетового лазерного излучения бисдимедон бДэВАН проявляет выраженную фотоиндуцированную антибактериальную активность. Сочетанное применение соединения и облучения приводило к значительному снижению числа жизнеспособных клеток *Staphylococcus aureus* 209P по сравнению с необлучёнными образцами.

Таким образом, результаты проведённой работы свидетельствуют о перспективности исследованных соединений в качестве потенциальных антибактериальных агентов. Особый интерес представляет бисдимедон бДэВАН, способный проявлять свойства фотосенсибилизатора и усиливать антимикробное действие при фотоактивации. Полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований механизмов действия данных соединений и разработки новых подходов к борьбе с бактериальными инфекциями.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что бискумарин бКэВАН, бисдимедон бДэВАН и биспирон бПэВАН обладают антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus subtilis*.
2. Наиболее выраженное антибактериальное действие среди исследованных соединений проявил бискумарин бКэВАН, сохранявший ингибирующую активность при наибольших разведениях и минимальных концентрациях.
3. Исследуемые соединения характеризуются значительно меньшей эффективностью в отношении грамотрицательной бактерии *Escherichia coli*, что свидетельствует об их селективности по отношению к грамположительным микроорганизмам.
4. Бисдимедон бДэВАН не вызывает существенного снижения количества жизнеспособных клеток *Staphylococcus aureus* 209P в исследованном

диапазоне концентраций и проявляет преимущественно бактериостатическое действие.

5. Под действием ультрафиолетового лазерного излучения бисдимедон бДэВАН приобретает выраженную фотоиндуцированную антибактериальную активность, обеспечивая подавление роста *Staphylococcus aureus* 209P более чем на 96 %.
6. Полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего изучения арилметиленбис-гетероциклических соединений как потенциальных антибактериальных препаратов и фотосенсибилизаторов для фотодинамической инактивации микроорганизмов.



16.06.26