

УДК 579.222 + 632.3:633.491+547.822.1

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-89-98

**ПОЛУЧЕНИЕ И ДЕЙСТВИЕ НА МИКРООРГАНИЗМЫ
КОМПЛЕКСОВ БИОМЕТАЛЛОВ(II) НА ОСНОВЕ СИСТЕМ,
ВКЛЮЧАЮЩИХ 4-ГИДРОКСИКУМАРИНОВЫЙ ФРАГМЕНТ**

© О.М. Цивилева, О.В. Кофтин, Д.Н. Ибрагимова, О.В. Федотова, В.Е. Никитина

Интерес к производным кумарина обусловлен, с одной стороны, широким практическим применением, с другой – уникальной реакционной способностью хромен-2-оной системы в структуре молекул. Кумарины широко распространены в растительном мире, при этом только единичные исследования связаны с выявлением и исследованием действия соединений этого класса в отношении высших грибов. В работе вновь синтезированные производные кумарина изучены в качестве компонентов питательных сред базидиомицетов. Выявлена бактерицидная активность продуктов из мицелиальной биомассы в отношении фитопатогенных бактерий родов *Micrococcus*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*. Эффект содержащего нитрогруппу соединения как компонента среды выращивания мицелия, используемого для изготовления потенциально бактерицидных образцов, оказался гораздо более выраженным. Имели место видоспецифические особенности проявления указанной биоактивности грибных биополимеров. Исследование путей получения и возможности практического использования комплексов биометаллов(II) на основе систем, включающих фрагмент кумарина, актуально в связи с высокой биологической активностью этого вещества, весьма перспективного в решении проблем растениеводства и защиты растений. В работе получены комплексы Cu(II), Mn(II), Zn(II) с 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-оном и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-оном. Выявлена антибактериальная активность продуктов биотрансформации полученных комплексов базидиомицетами против ряда фитопатогенных бактерий. Лидером в отношении антибактериальной активности внеклеточных грибных метаболитов оказался комплекс Cu(II) с 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-оном. Внеклеточные метаболиты *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes* способствовали формированию субстанций с более выраженной бактерицидной активностью. Исследовали влияние оксопропил-4-гидроксихроменонов на глубинные культуры базидиомицетов рода *Ganoderma*. Позитивным действием, наиболее выраженным в отношении индукции плодоношения *G. cattienensis*, *G. colossus* и *G. neojaponicum*, обладал 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-он. Вероятно, происходит взаимодействие добавок кумариновой природы с важнейшими биологически активными соединениями, принимающими участие в цитодифференцировке у высших грибов, и развивается плодоношение. Перспективны дальнейшие исследования условий и продуктов биотрансформации природных и синтетических кумаринов культурами базидиомицетов, направленные на решение актуальной задачи поиска материалов для сельскохозяйственных и биомедицинских технологий.

Ключевые слова: ксилотрофные базидиомицеты, фитопатогенные бактерии, физиолого-биохимические характеристики, антимикробная активность, кумарины, биометаллы.

ЦИВИЛЕВА Ольга Михайловна – д.б.н., Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, e-mail: tsivileva@ibppm.ru

КОФТИН Олег Владимирович, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, e-mail: nerrinart@gmail.com

ИБРАГИМОВА Диана Нуржановна – к.х.н., Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, e-mail: kumargalieva.diana@yandex.ru

ФЕДОТОВА Ольга Васильевна – д.х.н., Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, e-mail: ichem@info.sgu.ru

НИКИТИНА Валентина Евгеньевна – д.б.н., Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, e-mail: nikitina_v@ibppm.ru

Введение. Актуальна задача установления механизма действия, продуктов биотрансформации, синтеза производных и комплексов с биогенными металлами, выделения из биологических объектов перспективных биорегуляторов, большинство из которых совершенно не исследовано в связи с жизнедеятельностью базидиомицетов. К таковым относятся растительные кумарины.

Получено много доказательств широкого спектра биологического действия хромен-2-онов (кумаринов) природного и синтетического происхождения как основы малотоксичных и высокоэффективных лекарственных препаратов. Хромен-2-оновый фрагмент входит в состав витамина Е, коронарорасширяющих и сенсibiliзирующих средств [1, 2], представлен в соединениях, служащих в качестве флуоресцентных зондов и меток для биологических исследований [3, 4]. Значительное число природных и синтетических производных хромен-2-она также являются биологически активными веществами с широким спектром активности [5–7].

Комплексообразующая способность хромен-2-она и его замещенных изучена мало. Имеющиеся в литературе данные о комплексах самого хромен-2-она ограничены практически несколькими работами. Что касается комплексов с каким-либо производным 4-гидроксикумарина, нами обнаружены только сведения о комплексе редкоземельного металла неодима(III) с 4-гидрокси-3-(1-(4-нитро-фенил)3-оксобутил)-2Н-хромен-2-оном (аценокумаролом) [8].

Получение и исследование комплексов 3-замещенных 2Н-хромен-2-онов с солями биогенных металлов позволило бы значительно расширить представление не только о реакционной способности представителей вышеупомянутого класса соединений, но и о возможности их практического применения, в том числе биологической активности в координированном состоянии.

Кумарины распространены в растительном мире. Естественно предположить, что многие хромен-2-оны способны вовлекаться в биологические процессы, будучи структурно схожими с веществами фитоприсхождения. Нам не удалось обнаружить информацию об исследованиях, связанных с выявлением действия соединений этого класса в отношении высших грибов.

Цель работы – выявление биологических свойств метаболитов грибных культур, полу-

ченных в условиях выращивания в присутствии соединений кумариновой природы и их комплексов с биогенными металлами(II), характеристика эффекта низкомолекулярных добавок и оценка перспектив биотехнологического использования.

Материалы и методы. Антибактериальное тестирование препаратов из грибных культур проводили на экспериментальных образцах на основе грибов рода *Ganoderma* российских и вьетнамских коллекций: *Ganoderma applanatum*, *G. cattienensis*, *G. colossus*, *G. lucidum*, *G. neojaponicum*, *G. valesiacum*. Культуры поддерживали на агаризованном пивном сусле (4 град по Баллингу) в темноте. Мицелий выращивали глубинным способом на синтетических средах в присутствии 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-она (S(45)) или 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенил-пропил)-хромен-2-она (S(NO₂)), а также на тех же средах без указанных добавок, в течение 28 сут при 27°C. Биообразцы обозначали в соответствии с данными табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Биообразцы, использованные в работе

Номер	Грибной образец на основе
1	<i>G. applanatum</i> SIE1304
2	<i>G. lucidum</i> SIE1303
3	<i>G. lucidum</i> 1315
4	<i>G. cattienensis</i> SIE1302
5	<i>G. neojaponicum</i> SIEbgm
6	<i>G. colossus</i> SIE1301
7	<i>G. valesiacum</i> 120702
8	<i>G. applanatum</i> SIE1304 с S(NO ₂)
9	<i>G. lucidum</i> 1315 с S(NO ₂)
10	<i>G. colossus</i> SIE1301 с S(NO ₂)
11	<i>G. valesiacum</i> 120702 с S(NO ₂)
12	<i>G. applanatum</i> SIE1304 с S(45)
13	<i>G. lucidum</i> 1315 с S(45)
14	<i>G. colossus</i> SIE1301 с S(45)
15	<i>G. valesiacum</i> 120702 с S(45)

Бактериальные тест-системы выбирали на основе Специализированной научной коллекции ИБФРМ РАН (WFCC номер 975, WDCM номер 1021). Бактерии *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pseudomonas fluorescens* выращивали на среде состава (г/л):

мясной экстракт – 10.0, пептон – 10.0, NaCl – 5.0. Бактерии *Xanthomonas campestris* выращивали на среде состава (г/л): глюкоза – 20.0, дрожжевой экстракт – 10.0, CaCO₃ – 20.0. Концентрация Бакто агара в плотных средах составляла 18 г/л. рН питательных сред доводили до величины 7.2–7.4. Все культуры выращивали при 28°C.

Синтезировали комплексы биометаллов(II) на основе систем, включающих 4-гидроксикумариновый фрагмент. В плоскодонную колбу помещали 20 мл ацетонитрила, с попеременным нагреванием до 50–60°C и при перемешивании растворяли в нем субстрат. По порциям добавляли порошок соли металла в мольном соотношении 1:1. Выпавшие кристаллы отфильтровывали, промывали ацетонитрилом, а затем водой, и сушили. Получили шесть комплексов Cu(II), Mn(II), Zn(II) на основе неорганических солей этих металлов с соединениями S(45) и S(NO₂).

Изучение биологической активности комплексов биометаллов(II) с лигандами – производными 4-гидроксикумарина проводили с использованием базидиомицетов родов *Ganoderma*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, имеющихся в коллекции лаборатории микробиологии ИБФРМ РАН.

Статистическую обработку экспериментальных результатов проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010. Для определения достоверности различий между группами применяли непараметрическую статистику U-критерий Манна-Уитни. Оценку достоверности результатов проводили при

95%-м уровне надежности (уровень значимости 0.05).

Результаты и обсуждение. Антибактериальное действие метаболитов культур базидиомицетов, полученных в условиях выращивания в присутствии соединений кумариновой природы. Интерес к производным кумарина обусловлен, с одной стороны, широким практическим применением, с другой – уникальной реакционной способностью хромен-2-оновой системы в структуре молекул, которая может проявлять свойства ароматического кольца, алкена или ненасыщенного лактона. Некоторые кумарины и их аналоги (в частности, 3-оксикумарины) проявляют антимикробную активность [9]. В настоящей работе в качестве компонента питательных сред грибов изучены вновь синтезированные производные кумарина. Мы исследовали антибактериальную активность продуктов из мицелиальной биомассы в отношении фитопатогенных бактерий *Micrococcus luteus* В-109, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (штаммы 603 и MI), *Pectobacterium atrosepticum* 1043, *Pseudomonas fluorescens* EL-2.1, *Xanthomonas campestris* В-610.

Определение чувствительности фитопатогенов к биоагентам грибного происхождения проводили, используя метод диффузии в агар.

Умеренная способность угнетения роста *Xanthomonas campestris* В-610, выявленная у экстракта *G. valesiacum* при использовании добавки S(45) (рис. 1), – единственный случай проявления изучаемой биологической активности этим производным кумарина в рамках работы.

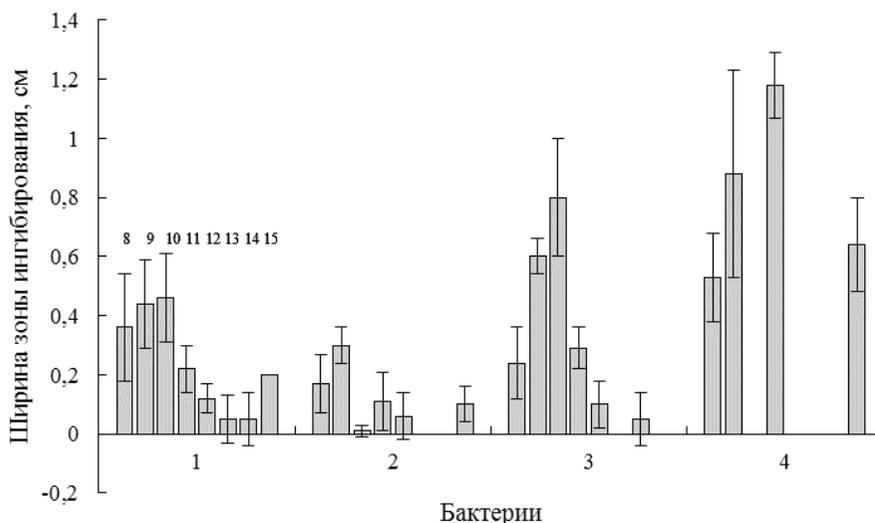


Рис. 1

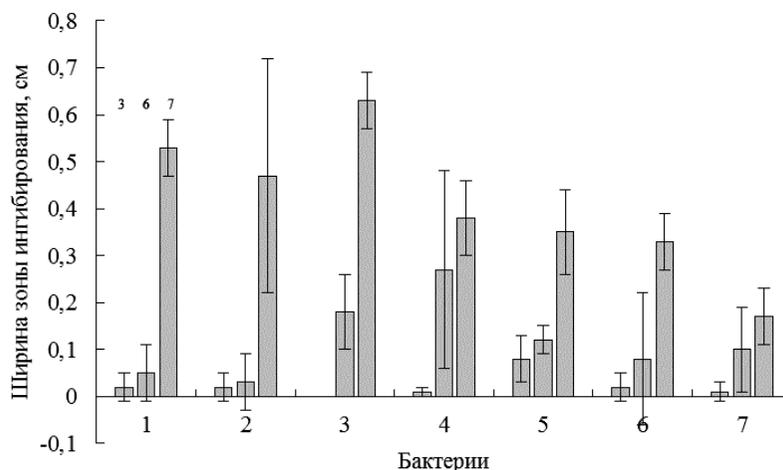


Рис. 2

Антибактериальную активность субстанций из этого гриба в отношении ряда фитопатогенов мы выявили и в отсутствие специальных кумариновых компонентов питательной среды (рис. 2), правда, более низкую, чем с участием S(45) (рис. 1).

Эффект S(NO₂) как компонента среды выращивания мицелия, используемого для изготовления потенциально бактерицидных образцов, оказался гораздо более выраженным, чем у S(45), и проявлялся в отношении двух-четырёх тестируемых штаммов фитопатогенов. Бактерии *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* не были чувствительны к действию ингибиторов грибного происхождения, полученных с участием производных кумарина.

Абсолютный максимум величины зоны ингибирования в нашем эксперименте наблюдался при угнетении бактерий *Xanthomonas campestris* биоагентами на основе экстрактов *G. valesiacum*, приготовленных при введении S(NO₂) в питательные среды (рис. 2). Относительно высокие количественные характеристики бактерицидного действия наблюдались в вариантах опыта «добавка S(NO₂)» для *G. lucidum* 1315 против *Xanthomonas campestris*, а также *G. colossus* SIE1301 против *Pseudomonas fluorescens* (рис. 2). Можно заключить, что базидиомицеты рода *Ganoderma*, культивируемые в присутствии некоторых производных кумарина, могут служить перспективным источником антибактериальных агентов в отношении *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium atrosepticum*. Выявлена умеренная бактерицидная активность субстанций из *Ganoderma valesiacum*, особенно в присутствии 4-гидрокси-

3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-она. Получение внутриклеточных субстанций грибного происхождения при исключении азотсодержащего производного кумарина из питательных сред базидиомицетов приводит к резко сниженной способности подавлять изученные фитопатогенные бактерии. Необходимы дальнейшие исследования видоспецифических особенностей проявления антибактериального эффекта внутриклеточных биополимеров, полученных на основе культур различной систематической принадлежности.

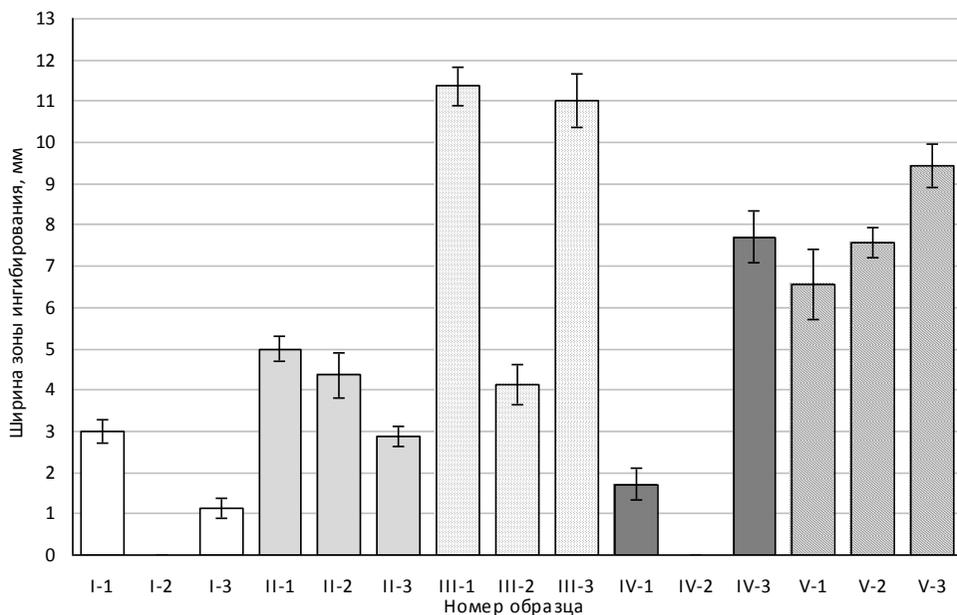
При характеристике комплексов биометаллов (II) с лигандами – производными 4-гидроксикумарина изучаемые эффекты сравнивали с действием соответствующих некомплексных солей на те же биологические объекты, наблюдаемые в аналогичных экспериментах.

Из глубинных культур *Ganoderma lucidum*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* выделяли суммарный пул внеклеточных метаболитов, содержащий в том числе продукты биотрансформации грибами интродуцированных органических комплексов металлов(II) или неорганических солей. Полученные субстанции грибного происхождения использовали для сравнительных исследований биологической активности.

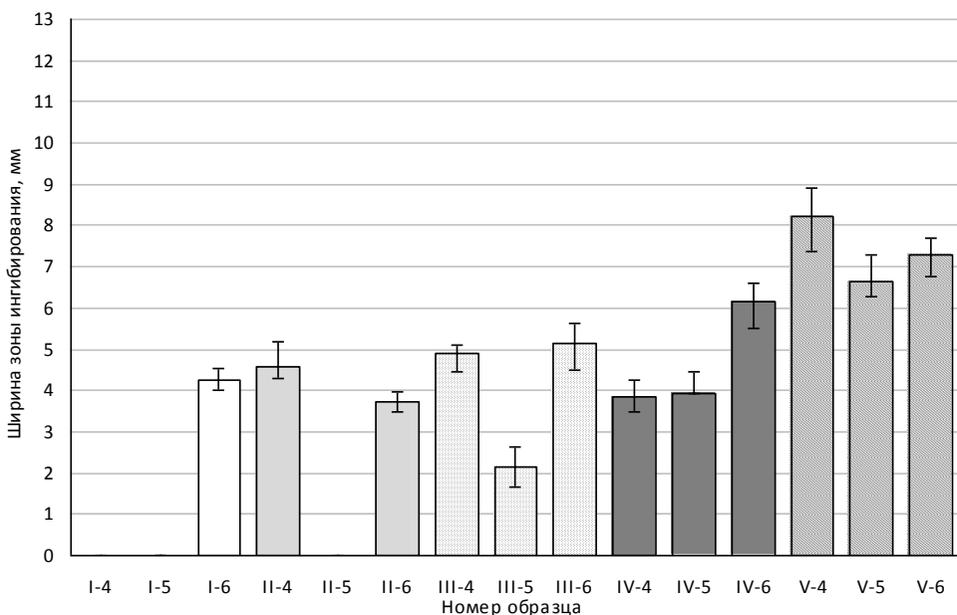
Выявлена антибактериальная активность продуктов биотрансформации полученных комплексов базидиомицетами против ряда фитопатогенных бактерий. Антибактериальное тестирование проводили на экспериментальных образцах на основе базидиомицетов *Ganoderma lucidum*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, тест-системами служили фитопатогены родов

Clavibacter michiganensis ssp. *sepedonicus*, *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas campestris*. Выявленную более высокую в большинстве случаев эффективность соединения S(45) в виде комплексов с биогенными ме-

таллами(II) можно представить в порядке убывания: Cu>>Zn>Mn для большинства изученных базидиомицетов. Внеклеточные метаболиты *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes* способствовали формированию субстанций с более выраженной бактерицидной активностью (рис. 3, 4).

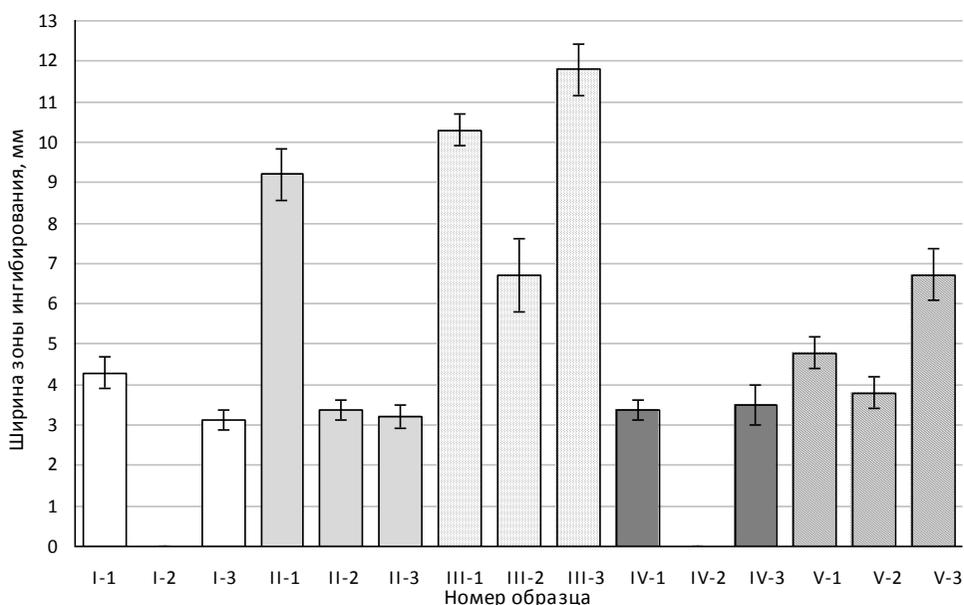


а

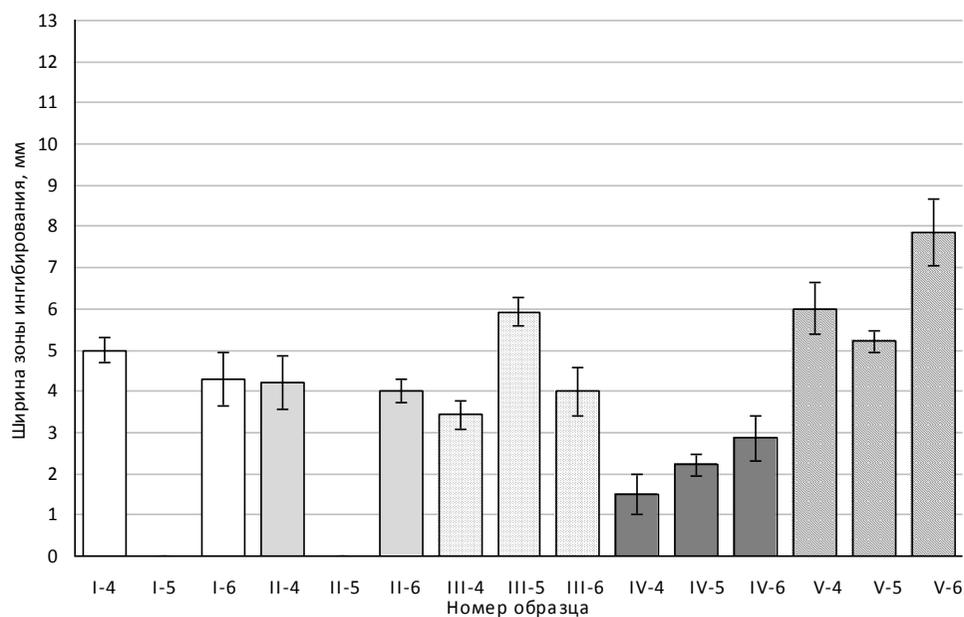


б

Рис. 3



а



б

Рис. 4

В условиях использования изучаемых комплексов в качестве компонентов питательных сред грибов лидером в отношении антибактериальной активности внеклеточных метаболитов оказался комплекс Cu(II) - (соединение S(45)).

Влияние систем, содержащих 4-гидроксикумариновый фрагмент, на плодоношение высших грибов. Снижение уровня энергетического и конструктивного метаболизма и

выход из неповрежденных клеток компонентов внутриклеточного пула являются характерными для защитных метаболических реакций (например, [10, 11]). Эти реакции характеризуются в культурах микроорганизмов различных таксономических групп синтезом и выделением в окружающую среду физиологически активных соединений различной химической природы, играющих в клеточном сообществе сигнальную роль к изменению количественно-

го (скорость роста) и качественного (дифференцировка) состояния культуры (например, [12, 13]). Поэтому интенсификация цитодифференцировки у базидиомицетов под влиянием внешнего индуктора вполне возможна и подлежит изучению. Мы предположили, что роль такого индуктора способно играть вещество кумариновой природы.

Ксилотрофные базидиомицеты – представители рода *Ganoderma* являются одними из наиболее биотехнологически ценных высших грибов съедобных и/или лекарственных видов. Нашей задачей явилась характеристика эффектов некоторых 4-гидроксикумаринов на формирование плодовых тел базидиомицетов рода *Ganoderma* в искусственной культуре.

Реакционная способность замещенных 2Н-хромен-2-онов и успехи их практического использования в значительной степени зависят от функциональных групп, формирующих скелет молекулы. Свойства 3-замещенных (4-гидрокси)-2Н-хромен-2-онов не были описаны в периодической печати еще 6 лет назад, но к настоящему времени уже выявлен значительный потенциал их биологической активности. Представляется, что он связан с наличием карбонильных групп различного характера (кетонной и лактонной), гетероциклической системы,

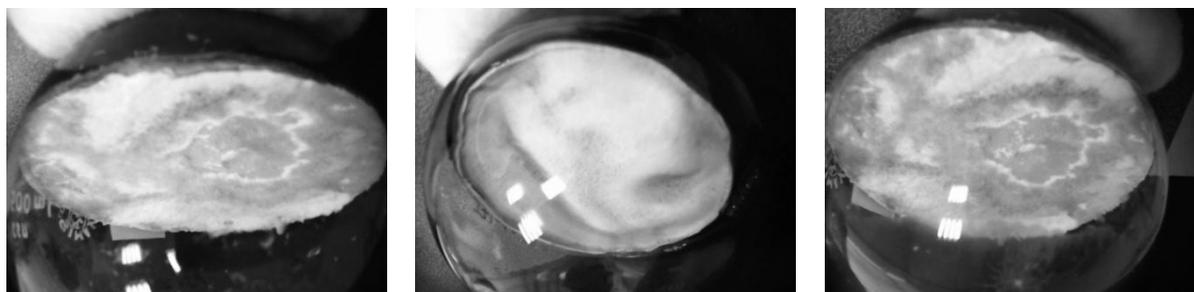
способной к рециклизации [14, 15], некоторыми другими факторами.

Мы исследовали влияние оксопропил-4-гидроксихроменонов на глубинные культуры базидиомицетов *Ganoderma applanatum*, *G. cattienensis*, *G. colossus*, *G. lucidum*, *G. neojaponicum*, *G. valesiacum*. Синтезированные 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-он и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-он использовали в качестве компонентов питательных сред грибов.

В отсутствие добавок соединений S(45) и S(NO₂), как и в присутствии соединения S(NO₂), плодоношения при использованных внешних условиях не наблюдали (рис. 5).

Позитивным действием, наиболее выраженным в отношении индукции плодоношения *G. cattienensis*, *G. colossus* и *G. neojaponicum*, обладало соединение S(45) (рис. 6).

На уровне химической структуры молекул (рис. 7) в рассматриваемой группе соединений S(45) и S(NO₂) наличие электроноакцепторных заместителей в кольце ароматического заместителя, таких как нитрогруппа (соединение S(NO₂)), оказывает негативное влияние на проявление рассматриваемого вида биологической активности.



a

b

c

Рис. 5



a

b

c

Рис. 6

Известно, что эффект действия препаратов из класса антиоксидантов, к которым относят и кумарин-содержащие субстанции [6], может быть связан не только с их антиоксидантными свойствами, но также с их воздействием на различные сигнальные системы. Полиоксосоединения лактонной природы 2Н-хромен-2-онового ряда способны участвовать как в процессе антиоксидантной защиты, так и в индукции апоптоза, и, аналогично другим биологически активным соединениям, осуществлять указанные эффекты путем прямого взаимодействия с белками или при ингибировании их экспрессии. По-видимому, рассматриваемые производные кумарина оказывают воздействие на сигнальные системы грибных клеток, в том числе на молекулярные мишени путей апоптоза. При неблагоприятных условиях роста культур базидиомицетов возникают биохимические условия возникновения стадий морфогенеза, предшествующих плодоношению. Может происходить взаимодействие соединений-добавок с важнейшими биологически активными соединениями (как антиоксидантной природы, так и вызывающими окислительный стресс; с соединениями другой природы, принимающими участие в цитодифференцировке у высших грибов), что и стимулирует плодоношение.

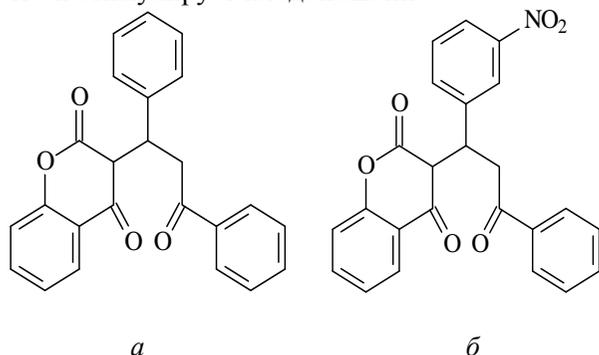


Рис. 7

Заключение. Настоящая работа направлена на изучение биотрансформации базидиомицетами и биологической активности соединений, включающих 4-гидроксикумариновый фрагмент, и их комплексов с биогенными металлами(II).

В работе показано, что базидиомицеты рода *Ganoderma*, культивируемые в присутствии некоторых производных кумарина, могут служить перспективным источником антибактериальных агентов в отношении *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium atrosepticum*.

Выявлена умеренная бактерицидная активность продуктов из *Ganoderma valesiacum* при использовании 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-она. Получение мицелиальных экстрактов при исключении соединения из питательных сред базидиомицетов приводит к резко сниженной способности подавлять изученные фитопатогенные бактерии.

Исследование путей получения и возможности практического использования комплексов биометаллов(II) на основе систем, включающих фрагмент кумарина, актуально в связи с высокой биологической активностью этого вещества, весьма перспективного в решении проблем растениеводства и защиты растений. В работе получены комплексы Cu(II), Mn(II), Zn(II) с 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-оном и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-оном. Изучена биологическая активность комплексов Cu(II), Mn(II), Zn(II) с лигандами – производными 4-гидроксикумарина в отношении базидиомицетов родов *Ganoderma*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus*. Выявлено антибактериальное действие продуктов биотрансформации полученных комплексов базидиомицетами против ряда фитопатогенных бактерий. Необходимы дальнейшие исследования для реализации возможности создания на этой основе новых биопрепаратов – факторов регуляции устойчивости растений к фитопатогенам.

Работа частично поддержана грантом РФФИ (проект № 16-08-01170-а).

Литература

1. Евстигнеева Р.П., Воков И.М., Чудинова В.В. Витамин Е как универсальный антиоксидант и стабилизатор биологических мембран // Биологические мембраны. 1998. Т. 15, № 12. С. 119–136.
2. Кучин А.В., Королева А.А., Федорова И.В., Шумова О.А., Чукичева И.Ю. Фенольные антиоксиданты – высокоэффективные стабилизаторы полимеров и материалов различного назначения // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 4. С. 80–93.
3. Gowrishankar G., Rao J. Visualizing RNA splicing *in vivo* // Mol. BioSyst. 2007. № 3. P. 301-307.
4. Цеплина С.Н., Цеплин Е.Е., Хвостенко О.Г. Термофлуоресценция хинонов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2014. № 3. С. 24–27.
5. Маршалкин В.Н., Смирнова Т.В., Ющенко К.В. Синтез и свойства 3-[α -(1,3-индандион-2-ил)-

R-бензил]-4-оксикумаринов и их тиоаналогов // Журнал органической химии. 1985. Т. 21, № 11. С. 2427–2433.

6. Парфенов Э., Смирнов Л. Гетероциклические биоантиоксиданты // Химия гетероциклических соединений. 1992. № 3. С. 329–334.

7. Luan X.H., Cerqueira N., Oliveira A. Synthesis of fluorescent 3-benzoxazol-2-yl-coumarins // Advances in Colour Science and Technology. 2002. Vol. 5, № 1. P. 18–22.

8. Kostova I. P., Radulova M.K., Manolov I.I. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. II. Neodymium(III)-acenocoumarol // Acta Pharm. 2004. Vol. 54. P. 119.

9. Ryzhenko L.M., Shebal'dova A.D., Khidekel' M.L. Ruthenium (IV) complexes with 3-hydroxy- and 3-carboxycoumarins // Russian Chemical Bulletin. 1983. Vol. 32, № 1. P. 183–184.

10. Андреев В.С., Попов В.Г., Дронова Н.В. Электробиохимический механизм регуляции физиологической деятельности микроорганизмов на популяционном уровне // Биотехнология. 1988. Т. 4, № 1. С. 32–36.

11. Коршунова Т.Ю., Сабиров А.А., Четвериков С.П., Бакаева М.Д., Логинов О.Н. Микроорганизмы, разлагающие нефтяные углеводороды при пониженной температуре // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 76–82.

12. Вахитов Т.Я. Регуляторные функции бактериальных экзометаболитов // Микробиология. 2006. Т. 75, № 4. С. 483–488.

13. Четвериков С.П., Худайгулов Г.Г., Логинов О.Н. Полиурониды бактерий родов *Pseudomonas* и *Paenibacillus* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 89–95.

14. Кумаргалиева (Ибрагимова) Д.Н., Федотова О.В., Мажукина О.А. Реакция Манниха в ряду замещенных 4-гидрокси-2н-(пирон)хромен-2-онов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Се. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13, № 4. С. 19–23.

15. Михальченко О.С., Волчо К.П., Толстикова Т.Г., Салахутдинов Н.Ф. Синтез гетероциклических соединений взаимодействием альдегидов с монотерпеноидами в присутствии монтмориллонитовых глин // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 4. С. 53–79.

References

1. Evstigneeva R.P., Volkov I.M., Chudinova V.V. Vitamin E as a universal antioxidant and stabilizer of biological membranes. Membrane & Cell Biology, 1998, vol. 12, no. 2, pp.151–172.

2. Kutchin A.V., Koroleva A.A., Fedorova I.V., Shumova O.A., Chukicheva I.Yu. Phenolic antioxidants – highly stabilizing polymers and materials for different purposes. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2012, no. 4, pp. 80–93.

3. Gowrishankar G., Rao J. Visualizing RNA splicing *in vivo*. Mol. BioSyst., 2007, no. 3, pp. 301–307.

4. Tseplina S.N., Tseplin E.E., Khvostenko O.G. Thermally activated fluorescence from quinone molecules. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2014, no. 3, pp. 24–27.

5. Marshalkin V.N., Smirnova T.V., Yushchenko K.V. Synthesis and properties of 3-[α -(1,3-indanedione-2-yl)-R-benzyl]-4-oxycoumarins and its thio analogs. Zhurnal organicheskoy khimii, 1985, vol. 21, no. 8, pp. 1670–1673.

6. Parfenov É.A., Smirnov L.D. Heterocyclic bioantioxidants. 3. Substituent influence on the result of reduction of 3-nitro-4-hetero-substituted coumarins by sodium hydrosulfite. Khimiya geterotsiklicheskih soedineniy, 1992, no 3, pp. 329–334.

7. Luan X.H., Cerqueira N., Oliveira A. Synthesis of fluorescent 3-benzoxazol-2-yl-coumarins. Advances in Colour Science and Technology, 2002, vol. 5, no. 1, pp. 18–22.

8. Kostova I. P., Radulova M.K., Manolov I.I. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. II. Neodymium(III)-acenocoumarol. Acta Pharm., 2004, vol. 54, pp. 119–131.

9. Ryzhenko L.M., Shebal'dova A.D., Khidekel M.L. Ruthenium (IV) complexes with 3-hydroxy- and 3-carboxycoumarins. Russian Chemical Bulletin, 1983, vol. 32, no. 1, pp. 183–184.

10. Andreev V.S., Popov V.G., Dronova N.V. Electrobiocemical regulation mechanism of microbial physiological activity on the population level. Biotekhnologiya, 1988, vol. 4, no. 1, pp. 32–36.

11. Korshunova T.Yu., Sabirov A.A., Chetverikov S.P., Bakaeva M.D., Loginov O.N. Microorganisms decomposing oil hydrocarbons at low temperature. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2012, no. 3, pp. 76–82.

12. Vakhitov T.Y., Petrov L.N. Regulatory functions of bacterial exometabolites. Mikrobiologiya, 2006, vol. 75, no. 4, pp. 483–488.

13. Chetverikov S.P., Khudaygulov G.G., Loginov O.N. Bacterial polyuronides of *Pseudomonas* and *Paenibacillus* genera. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2012, no. 3, pp. 89–95.

14. Kumargalievа (Ibragimova) D.N., Fedotova O.V., Mazhukina O.A. Mannich reaction in the row of substituted 4-hydroxy-2n-(pyron) chromen-2-ones. Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya Seriya. Ser. Khimiya. Biologiya. Ekologiya, 2013, vol. 13, no. 4, pp. 19–23.

15. Mikhalchenko O.S., Volcho K.P., Tolstikova T.G., Salakhutdinov N.F. Synthesis of heterocyclic compounds by interaction of aldehydes with monoterpenoids in the presence of montmorillonite clay. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2012, no. 4, pp. 53–79.

**PRODUCTION OF BIOMETAL COMPLEXES BASED ON THE SYSTEMS INCORPORATING 4-HYDROXYCOUMARIN FRAGMENT AND THEIR EFFECT ON MICROORGANISMS**

© O.M. Tsivileva¹, O.V. Koftin¹, D.N. Ibragimova², O.V. Fedotova², V.E. Nikitina¹

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences
13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russian Federation

²N.G. Chernyshevskii National Research Saratov State University
83, ulitsa Astrakhanskaya, 410012, Saratov, Russian Federation

The interest towards coumarin derivatives is determined, on the one hand, by their wide practical application and, on the other hand, by the unique reaction ability of the chromen-2-one system in the molecular structure. Coumarins are widely spread in the plant world; however, only a few studies are aimed at revealing and researching the effect of this class of compounds on higher fungi. This paper studies the newly synthesized coumarin derivatives as the components of nutrient media for basidiomycetes and identifies the bactericidal activity of mycelial biomass products against phytopathogenic bacteria of the genera *Micrococcus*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. The effect of the nitrogen-containing compound as the component of the medium for the mycelial growth used to prepare potentially bactericidal specimens turned out to be much more expressed. Species-specific features were observed in manifesting the aforesaid bioactivity of fungal biopolymers. Research on the ways of production methods and potentially practical application of biometal(II) complexes based on the systems incorporating a coumarin fragment is of current importance in connection with high biological activity of this substance much promising in solving the problems of horticulture and plant protection. This research paper describes the obtained Cu(II), Mn(II), Zn(II) complexes containing 4-hydroxy-3-(3-oxo-1,3-diphenylpropyl)-chromen-2-one and 4-hydroxy-3-(3-oxo-1-(3-nitrophenyl)-3-phenylpropyl)-chromen-2-one. Antibacterial activity of the biotransformation products of these complexes against a number of phytopathogenic bacteria was identified using basidiomycetes. The Cu(II) complex with 4-hydroxy-3-(3-oxo-1,3-diphenylpropyl)-chromen-2-one proved to be a leader regarding the antibacterial activity of extracellular fungal metabolites. Extracellular metabolites of *Laetiporus sulphureus* and *Lentinula edodes* promoted the formation of substances with much higher expressed bactericidal activity. The effect of oxopropyl-4-hydroxychromenones exerted on submerged cultures of basidiomycetes of the genus *Ganoderma* was studied. 4-Hydroxy-3-(3-oxo-1,3-diphenylpropyl)-chromen-2-one had a positive effect expressed most vividly towards the induced fructification of *G. cattiensis*, *G. colossus* and *G. neojaponicum*. Perhaps, the interaction occurred between coumarin additives and the most important biologically active compounds participating in cytodifferentiation of higher fungi, and fructification begin to develop. Further studies on conditions and biotransformation products of natural and synthetic coumarins using cultures of basidiomycetes had promising potential in searching materials for agricultural and biomedical technologies.

Key words: xylophilic basidiomycetes, phytopathogenic bacteria, physiological and biochemical characteristics, antimicrobial activity, coumarins, biometals.