

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА**

СВІЖАК ВЕРОНІКА КОСТЯНТИНІВНА

УДК 615.28.011:547.783'781

**АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА ПЕРСПЕКТИВИ
ВИКОРИСТАННЯ В МЕДИЦИНІ НОВИХ
5-КАРБОФУНКЦІОНАЛІЗОВАНИХ ІМІДАЗОЛІВ**

03.00.07 – мікробіологія

**Автореферат
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Дейнека Святослав Євгенович**, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології та вірусології

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Виноград Наталія Олексіївна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри епідеміології;
- кандидат медичних наук, доцент **Бобир Віталій Васильович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Захист дисертації відбудеться 30 березня 2018 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К. 05.600.05 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, 21018, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця.

Автореферат розісланий «___» _____ 2018 р.

**В.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук, доцент**

Л.К. Сорокоумова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. З моменту використання перших антибіотиків і до теперішнього часу основною проблемою застосування антибактеріальних препаратів є формування розвитку антибіотикорезистентності мікроорганізмів (Vincent J-L. et al., 2016). Її глобальне поширення стало однією з найактуальніших проблем сучасної антибактеріальної терапії (Нальотов А.В., 2015; Rodríguez-Rojas A. et al., 2013; King A.M. et al., 2014; Li X.-Z. et al., 2015), є причиною глобальної кризи в галузі охорони здоров'я (Blair J. et al., 2015), ставить під загрозу прогрес сучасної медицини (ВНО, 2016) і загрожує нівелюванням досягнень, пов'язаних скасувати вигоди пов'язані зі застосуванням антимікробних засобів (Bell B.G. et al., 2016). Незважаючи на те, що для лікування інфекцій доступна велика кількість антибіотиків та хіміотерапевтичних засобів, стійкі до них бактерій є найбільшою загрозою для здоров'я людини (Davies D.S. et al., 2015). Мікробна резистентність викликає серйозне занепокоєння в медичному середовищі (Deer A. et al., 2014), оскільки ефективність лікування антибіотиками зменшується (Sengupta S. et al., 2013; Leibovici L. et al., 2016), зростають тривалість захворювання, показники смертності та витрати на лікування резистентних інфекцій (Laxminarayan R. et al., 2013).

За останні декілька десятиліть проблема антибіотикорезистентності набула загрозливих соціально-економічних масштабів (Бондар М.В. та ін., 2016; Kasprzyk J. et al. 2015; Carlet J., 2015; Wiercińska O. et al., 2015; Waksmańska W. et al., 2017). На думку низки авторів, життя майбутніх пацієнтів у реальній небезпеці внаслідок зростаючої резистентності мікроорганізмів (Carlet J. et al., 2012). Сьогодні антибіотикорезистентність основних збудників інфекційних захворювань – це велика клінічна проблема (Costa C. et al., 2013; Urbaniak A. et al., 2014; Gibson M.K. et al., 2015; Pawelec M. et al., 2016), одна з найбільших проблем сучасної медицини (Laxminarayan R. et al., 2013; Wellington E.M.H. et al., 2013; Leibovici L. et al., 2016), яка становить загрозу для здоров'я людей у всьому світі (Климова Т.М. и др., 2017; Berendonk T. et al., 2015; Willems R., 2016) і є глобальною проблемою (Bhullar K. et al., 2012; Amábile-Cuevas C.F., 2015; Pei R. et al., 2015). Вона поширюється по всьому світу (Laxminarayan R. et al., 2013), усі країни світу стикаються з підвищеним рівнем стійкості до існуючих антибіотиків (Kieny M.-P., 2015), а глобальний вплив стійкості до антибіотиків на клінічні, соціальні та економічні аспекти є безпрецедентним (Song J.-H., 2015).

Інтенсивно наростаюча антибіотикорезистентність мікроорганізмів обумовлює необхідність пошуку нових ефективних антимікробних препаратів (Фролова А. В., 2013; Chandra S.M. et al., 2013; Ghasemi V. et al., 2015; Tommasi R. et al., 2015), оскільки сьогодні загальноновизнаною є ідея, що кардинально підвищити ефективність антибіотикотерапії можна лише впровадивши в клініку нові антибіотики (Davin-Regli A., 2012; Lewis K., 2012; Sengupta S. et al., 2013). Тому пошук нових антибіотиків і модифікація відомих з метою їх удосконалення є надзвичайно актуальним у всьому світі (Sengupta S. et al., 2013; Kalinowska-Lis U. et al., 2016) і залишається одним із головних напрямів сучасної медицини (Тодосійчук Т.С. та ін., 2011).

Одним із перспективних шляхів пошуку нових високоефективних

антимікробних препаратів є скринінг речовин синтетичної природи (Максимов Ю.М., Вринчану Н.О., 2010), у тому числі розробка хімічних модифікацій, які забезпечать можливість уникнення антимікробним похідним можливості формування механізмів стійкості (Schwarz, S. et al., 2017). Стійкість бактерій до антибіотиків спонукає дослідників оцінювати все нові антибактеріальні сполуки, у тому числі похідні імідазолу (Ghasemi B. et al., 2015). Імідазоли є привілейованими гетероциклічними біологічно активними речовинами, які успішно застосовуються в клінічній практиці для лікування багатьох захворювань (Zhang L. et al., 2014; Torres F.C. et al., 2016). Досить широкі можливості хімічної модифікації імідазольного циклу створюють вагомні передумови для дизайну нових потенційних лікарських засобів (Rani N. et al., 2013; Zhang L. et al., 2014; Kovalenko A.A. et al., 2016; Shalmali N. et al., 2017), у тому числі зі значним потенціалом протимікробної активності (Ghasemi B. et al., 2015; Sharma A. et al., 2016).

Надзвичайно перспективною групою хімічних сполук для пошуку нових ефективних антимікробних засобів є карбофункціоналізовані похідні імідазолу, що проявляють протигрибкові та антибактеріальні властивості (Chornous V.A. et al., 2014; Chornous V.A. et al., 2015). Саме тому, пошук структурно нових імідазолів з більш ефективними і менш токсичними властивостями та з меншою здатністю до формування мікробної резистентності є надзвичайно актуальним. Це залишається досить складним завданням, однак є реальним завдяки унікальній структурній особливості імідазольного кільця (Lamberth C. et al., 2013).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом планової комплексної науково-дослідної роботи кафедри медичної та фармацевтичної хімії і кафедри мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» на тему «Молекулярний дизайн біоактивних систем на основі функціоналізованих азолів» (№ держреєстрації 0115U002770). Дисертант була виконавцем відповідного фрагменту вказаної планової комплексної науково-дослідної роботи.

Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 26 від 1 грудня 2014 року) та на засіданні Проблемної комісії «Мікробіологія» МОЗ України та НАМН України (протокол № 11 від 27 жовтня 2015 року).

Мета і завдання дослідження – мікробіологічне обґрунтування створення високоефективних лікарських антимікробних препаратів шляхом дослідження *in vitro* та *in vivo* антибактеріальної та протигрибкової активності сполук, одержаних у результаті цілеспрямованого органічного синтезу різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Провести первинний мікробіологічний скринінг серед отриманих у результаті спрямованого органічного синтезу різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів та відібрати їх найактивніших представників для наступних поглиблених досліджень.

2. Дослідити антимікробну активність найактивніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів, відібраних у результаті первинного скринінгу, стосовно розширеного спектру музейних штамів мікроорганізмів.

3. Визначити антибактеріальну і антикандидозну дію найактивніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів щодо актуальних у регіоні клінічних штамів мікроорганізмів.

4. Вивчити вплив різних фізико-хімічних чинників на антимікробну активність 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

5. Дослідити за умов експерименту швидкість формування резистентності досліджуваних мікроорганізмів до 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

6. Вивчити *in vivo* на моделі експериментальної стафілокової інфекції антибактеріальну дію найперспективніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

7. Дослідити *in vivo* на моделі експериментальної трихофітії хіміотерапевтичну ефективність найперспективніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

Об'єкт дослідження – музейні та клінічні штами умовнопатогенних мікроорганізмів, 5-карбофункціоналізовані похідні імідазолу.

Предмет дослідження – антимікробна активність *in vitro* 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу стосовно музейних та клінічних штамів мікроорганізмів, хіміотерапевтична ефективність найперспективніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів, антибіотикочутливість мікроорганізмів, виділених від хворих на гнійно-запальні процеси.

Методи дослідження – мікробіологічні (вивчення *in vitro* антибактеріальної та протигрибкової активності 161 спрямованого органічного синтезу сполуки 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолів, вплив на антимікробну активність фізико-хімічних чинників і швидкість формування резистентності мікроорганізмів до них, аналіз антибіотикочутливості клінічних штамів мікроорганізмів), біологічні (вивчення *in vivo* хіміотерапевтичної ефективності найперспективніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів) та статистичні дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше з використанням 38 музейних та 39 клінічних штамів різних за таксономічним положенням бактерій і мікоміцетів охарактеризована антибактеріальна та протигрибкова активність 161 сполуки, отриманої в результаті спрямованого органічного синтезу 5-карбофункціоналізованої похідної імідазолів, у результаті чого виявлені перспективні для подальшого вивчення з метою розробки антимікробних засобів медичного призначення. Вперше виявлено найперспективніші 7 сполук 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

Вперше встановлено, що формування резистентності стафілококів до 5-карбофункціоналізованих імідазолів відбувається повільно, їх антимікробна активність незначно змінюється під впливом різних факторів (рН середовища, підвищеної концентрації білків сироватки) і залишається статистично достовірно високою для пригнічення росту і розмноження збудників захворювань, у зв'язку з чим слід очікувати позитивного профілактичного та лікувального ефекту в разі їх клінічного застосування.

Вперше з використанням моделей експериментальної трихофітії та експериментальної локалізованої стафілокової гнійної інфекції м'яких тканин доведена *in vivo* хіміотерапевтична ефективність 2 сполук 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані в дисертаційній роботі результати виконаних досліджень являють собою первинний етап вивчення хімічних сполук спрямованого органічного синтезу з протимікробною дією. Доведена висока протигрибкова та антибактеріальна активність 7 сполук 5-карбофункціоналізованих імідазолів, що дозволяє розглядати їх як потенційних кандидатів у лікувальні антимікробні засоби і рекомендувати для поглибленого фармакологічного вивчення.

Основні наукові положення дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, кафедрах мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету, ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» та Харківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним завершеним науковим дослідженням автора. Дисертант самостійно обрала напрям дослідження, провела інформаційно-патентний пошук та аналіз джерел літератури за темою дисертації. Вибір теми наукового дослідження, планування роботи, постановка мети, завдань дослідження, методологія виконання роботи, аналіз та узагальнення одержаних результатів дослідження були узгоджені з науковим керівником роботи. Дисертантом самостійно проведено підбір методик дослідження, вивчено антимікробну активність 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу стосовно референс та клінічних штамів мікроорганізмів, проведено аналіз антибіотикочутливості мікроорганізмів, виділених від хворих. Автором самостійно проведено статистичне оброблення матеріалу, розроблено основні теоретичні і практичні положення роботи, сформульовано висновки та практичні рекомендації, підготовлені матеріали для публікацій у фаховій періодичній науковій літературі, написані всі розділи дисертації. Персональний внесок автора у всіх опублікованих зі співавторами працях наводиться за текстом дисертації в списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення і висновки роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях: XV з'їзді Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Одеса, 2017 р.), X Międzynarodowa naukowo-praktyczna konferencja "*Dynamika naukowych badan - 2014*" (Przemysl, 2014), The X International scientific and practical conference «*Modern european science*» (Sheffield, England, 2014), X mezinarodna vedecko-prakticka konference «*Aplikovane vedecke novinky - 2014*» (Praha, 2014), міжнародній науково-практичній конференції «*Теоретичні та практичні проблеми розвитку сучасної медичної науки*» (Одеса, 2015), The XI International scientific and practical conference «*Fundamental and applied science*» (Sheffield, England, 2015), 71-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «*Актуальные проблемы современной медицины*» (Самарканд, 2017), міжнародній наук.-практ. Інтернет-конференції «*Chernivtsi international medical*

conference (CIMEC) 2017'1» (Чернівці, 2017) та 96-й, 97-й і 98-й підсумкових наукових конференцій професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (2015-2017 роки).

Публікації. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 28 наукових праць (2 - одноосібно), у тому числі 8 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 2 статті у виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus (у тому числі 1 стаття в закордонному виданні), 1 стаття у виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази Web of Science, 1 стаття в міжнародному виданні, що входить до наукометричної бази РИНЦ; 17 тез у матеріалах з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського та науково-практичних конференцій, 7 з яких міжнародні. У роботах, виконаних у співавторстві, ідея й основні наукові положення належать дисертантові.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 256 сторінках комп'ютерного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу об'єктів і методів досліджень, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури (421 джерело, з яких кирилицею 116, латиницею 305), додатків. Робота ілюстрована 28 таблицями та 27 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано вибір теми дослідження, зазначено зв'язок роботи з науковими програмами, викладено мету дослідження та завдання, які вирішувалися для досягнення поставленої мети. Висвітлено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, визначено особистий внесок здобувача, наведено дані щодо апробації результатів дослідження, вказано обсяг та структуру дисертації.

В огляді літератури, який містить три підрозділи, детально висвітлено багатогранність глобальної проблеми антибіотикорезистентності: масштаби, медичне та соціально-економічне значення, причини та механізми, а також показані необхідність та перспективи розробки антимікробних засобів на основі синтетичних сполук. Окреслено сучасні наукові погляди на похідні імідазолів як один із найперспективніших типів гетероциклічних сполук, що застосовуються в сучасній фармацевтичній практиці, оскільки досить широкі можливості хімічної модифікації імідазольного циклу створюють вагомі передумови для дизайну нових потенційних лікарських засобів, у тому числі антимікробних. Відзначено, що значна кількість функціоналізованих, у тому числі карбофункціоналізованих похідних імідазолу проявляє антибактеріальну та протигрибкову дію, що зумовлює пріоритетність та перспективність дослідження антимікробних властивостей їх нових представників.

Об'єкти та методи дослідження. Для реалізації поставленої мети та виконання завдань як об'єкти дослідження використано 5-карбофункціоналізовані похідні імідазолу, а також 38 музейних й 39 клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів різні за таксономічним положенням

Для дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності відібрано 161 нову хімічну сполуку, що одержано в результаті спрямованого органічного

синтезу на кафедрі медичної та фармацевтичної хімії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України. Сполуки належали до різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів: тіосемикарбазонів 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-карбальдегідів, 2,4-дизаміщених 3-(1-арил-імідазол-5-іл)пропен-1-онів та 2,4-дизаміщених 3-(1-арил-імідазол-5-іл)пропан-1-онів, 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-метилкарбінолів та 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-карбальдегідів, 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідразонів ізонікотинової кислоти, 1-арил-4-хлоро-5-дифторо(трифторо)метилімідазолів, (імідазол-5-іл)іліден(метилен)тіазолідонів, 1,2,4-тризаміщених імідазоліл-5-метиленазинів та гідразонів, 2-(імідазол-5-іл)-1-нітроетенів(етанів) та 3-(імідазол-5-іл)-2-нітропропенів(пропанів), функціоналізованих (імідазол-5-іл)метил сульфідів, амінів та карбінолів, бігетероциклічних похідних імідазолу та 5-функціоналізованих імідазолів.

Як антимікробні лікарські засоби, включені в дослідження для порівняння, відібрано серійні промислові зразки шести лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь: I покоління - Біфонал (діюча речовина біфоназол), Клотримазол (діюча речовина клотримазол), Мікогель (діюча речовина міконазол); II покоління - Еконазол (діюча речовина еконазол), Ломексин (діюча речовина фентиконазол) та III покоління - Кетодін (діюча речовина кетоконазол).

У роботі використано штами умовно-патогенних мікроорганізмів, які отримано з музею живих мікроорганізмів лабораторії профілактики краплинних інфекцій ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» (10 штамів), музею живих культур кафедри мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України (28 штамів), бактеріологічної лабораторії ДУ "Чернівецький обласний лабораторний центр МОЗ України" (39 штамів) та бактеріологічної лабораторії міської дитячої клінічної лікарні м. Чернівці (419 штамів). Для вивчення були вибрані як грампозитивні, так і грамнегативні бактерії, різні за таксономічним положенням: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* var. *Lysodecticus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus anthracoides*, *Bacillus cereus* var. *Mycooides*, *Bacillus stearothermophilus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Alcaligenes faecalis*. Мікоміцети використані нами для вивчення протимікробної дії належали до родів *Candida*, *Aspergillus*, *Microsporum* та *Trichophyton*.

Вивчення антибактеріальної та протигрибкової дії досліджуваних 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу проведено з використанням загальноприйнятої методики двократних серійних розведень у рідкому живильному середовищі (Методичні вказівки 9.9.5-143-2007 «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». К.: МОЗ України, 2007. 63 с.).

Визначали мінімальні бактеріостатичні (МБсК), мінімальні фунгістатичні (МФсК), мінімальні бактерицидні (МБцК), мінімальні фунгіцидні (МФцК) концентрації 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу щодо референс-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Усі досліди супроводжували відповідними контролюми

(контролем середовища на стерильність, контролем росту культури в середовищі без сполуки, контролем росту культури в середовищі з розчинником /ДМСО/), а з метою отримання достовірних результатів експерименти проводилися тричі з кожною концентрацією сполуки та досліджуваною культурою мікроорганізмів.

Шляхом пасажування музейних штамів *Staphylococcus aureus* на МПБ з наростаючими концентраціями 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу вивчали формування стійких варіантів даних стафілококів до досліджуваних антимікробних сполук (Ю.Л. Волянський, 1980).

Для з'ясування хіміотерапевтичної характеристики виявлених 7 сполук 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу використано модель експериментальної трихофітії (Васильєва Н.В. и соавт., 2013) та експериментальну модель локалізованої стафілококової гнійної інфекції м'яких тканин (Боднар Б.М., 1983). Моделювання експериментальних інфекцій проводили на морських свинках (по 18 тварин на кожен модель) масою 390-520 г. Дослідження *in vivo* проведено з дотриманням основних положень Ухвали Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.) і наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р. та № 616 від 03.08.2012 року.

Статистичне оброблення отриманих результатів проведено з використанням програми Statistica 8.0. Розраховувалися середнє значення (\bar{X}), стандартну помилку середнього значення ($S_{\bar{x}}$) бактеріостатичних (фунгістатичних) та бактерицидних (фунгіцидних) концентрацій. Достовірність відмінностей результатів у дослідних і контрольних групах лабораторних тварин оцінювали за коефіцієнтом Стьюдента (t), та вірогідністю відмінності вибірок (p), де $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати власних досліджень викладено в третьому-п'ятому розділах.

У третьому розділі наведено результати експрес-оцінювання антимікробної активності нових 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

На першому етапі досліджень проведено *in vitro* експрес-оцінювання антимікробної активності 75 нових сполук хімічного синтезу, що належали до 6 різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів (2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-метилкарбінолів, 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-карбальдегідів, 2,4-дизаміщених 3-(1-арил-імідазол-5-іл)пропен-1-онів, 2,4-дизаміщених 3-(1-арил-імідазол-5-іл)пропан-1-онів, 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти та тіосемикарбазонів 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-карбальдегідів і деяких їх похідних), стосовно референс-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Було встановлено, що досліджені сполуки проявляють антимікробну активність як щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, так і дріжджоподібних грибів. При цьому антикандидозна активність цих сполук перевищувала їх антибактеріальну дію - середні значення МФСК усіх шести типів досліджених сполук стосовно референс-штаму *C.albicans* ATCC 885-653 становили $90,92 \pm 32,04$ мкг/мл, тоді як їх середні значення МБСК стосовно *E.coli* ATCC 25922

сягала ($139,20 \pm 29,71$) мкг/мл та ($143,45 \pm 27,60$) мкг/мл - стосовно *S. aureus* ATCC 25923. Мінімальні фунгіцидні концентрації досліджених 5-карбофункціоналізованих імідазолів у середньому в 1,84 рази, а мінімальні бактерицидні концентрації в середньому в 2 рази перевищували їх мінімальні фунгістатичні та бактериостатичні концентрації.

Проведені на цьому етапі дослідження підтвердили перспективність пошуку ефективних антимікробних засобів серед 5-карбофункціоналізованих імідазолів та дозволили обґрунтувати рекомендації для подальшого цілеспрямованого синтезу нових хімічних сполук з вираженими протимікробними властивостями.

Синтезовані в результаті цього 86 нових сполук (1-арил-4-хлоро-5-дифторо(трифторо)метилімідазоли, (імідазол-5-іл)іліден(метилен)тіазолідони, 1,2,4-тризаміщених імідазоліл-5-метиленазини та гідразони, 2-(імідазол-5-іл)-1-нітроетени(етани) та 3-(імідазол-5-іл)-2-нітропропени(пропани), функціоналізовані (імідазол-5-іл)метил сульфіді, аміни та карбіноли, бігетероциклічні похідні імідазолу та 5-функціоналізовані імідазоли) цілеспрямованого хімічного синтезу були в подальшому досліджені на наявність та вираженість антимікробних властивостей. При цьому встановлено, що вони проявляли різну за силою протимікробну активність, яка залежала від хімічної будови сполук, а також таксономічної приналежності мікроорганізмів.

Встановлена за експрес-оцінюванням антимікробна активність 161 нової сполуки, що належали до 14 різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів, дозволила відібрати їх найперспективніші типи і представників для наступних поглиблених досліджень з метою оцінювання антибактеріальних та протигрибкових властивостей. Як найактивніші представники 5-карбофункціоналізованих імідазолів для поглиблених досліджень відібрано сполуки 2287, 2385, 2393, 2424, 2548, 3061 та 3062, мінімальні бактериостатичні концентрації яких стосовно референс-штаму грампозитивних бактерій (*S. aureus* ATCC 25923) встановлено на рівні 0,24 - 7,8 мкг/мл, а мінімальні фунгістатичні концентрації для переважної більшості з них щодо *C. albicans* ATCC 885-653 знаходилися в межах від 3,9 мкг/мл до 15,62 мкг/мл.

У четвертому розділі наведено результати дослідження антимікробної дії найактивніших представників 5-карбофункціоналізованих імідазолів щодо розширеного спектру 38 музейних та 39 клінічних штамів, що належали до різних таксономічних груп бактерій і грибів.

Встановлено, що найвищу антибактеріальну дію в цілому щодо всіх 14 досліджених музейних штамів грампозитивних бактерій проявила сполука 3062, середнє значення МБсК якої стосовно всіх цих штамів становило ($5,04 \pm 2,15$) мкг/мл, а МБсК знаходилися в діапазоні від 0,24 мкг/мл до 16,62 мкг/мл. Середні значення МБсК сполук 2287 та 2548 становили відповідно ($6,59 \pm 1,50$) мкг/мл та ($12,90 \pm 4,56$) мкг/мл. За середнім значенням МБсК сполука 3060 перевищувала в 2,38 – 9,33 рази досліджені лікарські засоби групи похідних імідазолів трьох поколінь (Біфонал, Еконазол, Ломексин та Кетодін). Винятками були лише Клотримазол та Мікогель, які проявили вищу за сполуку 3062 бактериостатичну дію (рис. 1).

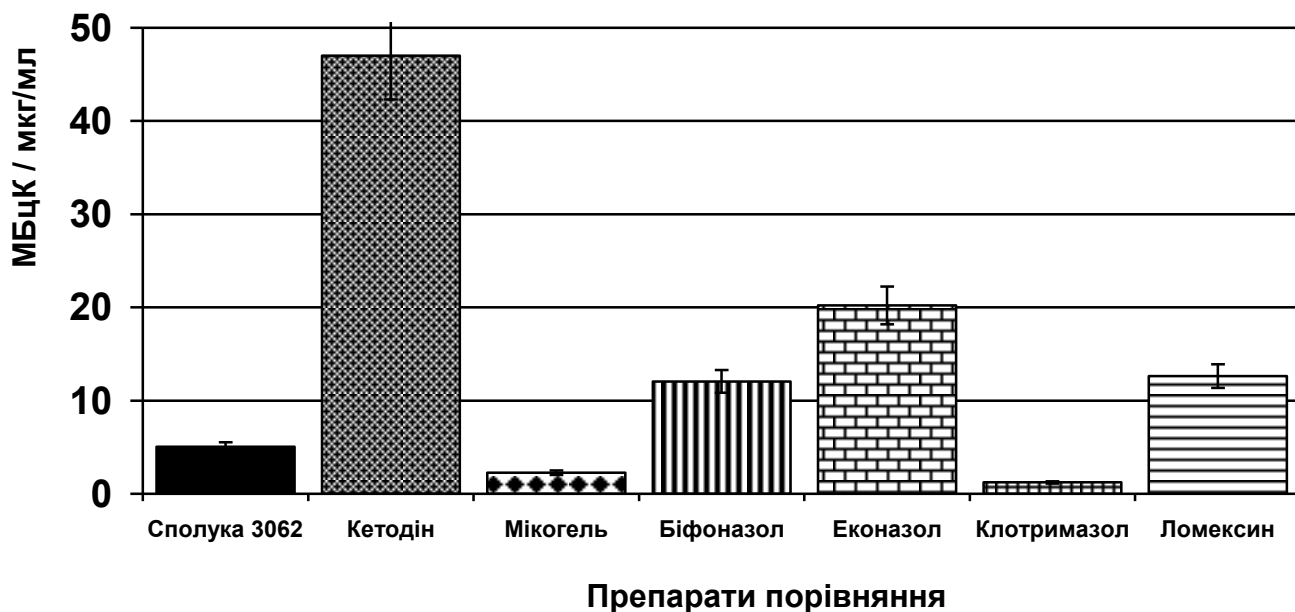


Рисунок 1 - Середні значення мінімальних бактеріостатичних концентрацій сполуки 3062 та лікарських засобів, включених у дослідження для порівняння, стосовно музейних штамів грамполозитивних бактерій (мкг/мл).

Найнижчі величини МБсК стосовно окремих з досліджених 12 музейних штамів грамнегативних бактерій встановлено у сполук 3062, 2385, 2393, 2287 та 3061 на рівні 3,9 мкг/мл, а в сполук 2548 та 2424 - 1,95 мкг/мл. Водночас досліджені шість лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь проявляли бактеріостатичну дію щодо окремих музейних штамів грамнегативних бактерій випадках на рівні лише 31,25 мкг/мл.

Найвищу антикандидозну дію в цілому щодо всіх 6 досліджених музейних штамів кандид проявила сполука 2548, середнє значення МФсК якої стосовно всіх вивчених штамів кандид становило $(2,11 \pm 0,59)$ мкг/мл, а МФсК знаходилися в діапазоні від 0,97 мкг/мл до 3,9 мкг/мл. Середні значення МФсК сполук 2287 та 2385 становили відповідно $(18,88 \pm 4,33)$ мкг/мл та $(20,18 \pm 8,70)$ мкг/мл.

Середнє значення МФсК сполуки 2548 стосовно всіх вивчених музейних штамів кандид: *Candida albicans* ATCC 885/653, *Candida tropicalis* ATCC 20336, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida albicans* 815, *Candida albicans* 669/1080, *Candida parapsilosis* ВКПГу 448/10 $(2,11 \pm 0,59)$ мкг/мл було приблизно рівним середньому значенню МФсК Клотримазолу $(2,19 \pm 0,77)$ мкг/мл, дещо нижчим за середнє значення МФсК Мікогелю $(2,99 \pm 1,53)$ мкг/мл та значно нижчим за середні значення МФсК інших препаратів порівняння (від $(7,00 \pm 2,77)$ мкг/мл до $(14,32 \pm 3,73)$ мкг/мл). Таким чином, встановлено, що сполука 2548 проявляє антикандидозну активність стосовно музейних штамів кандид на рівні Клотримазолу та переважає за нею решту досліджених лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь в 1,42 – 6,79 рази.

Мінімальні фунгістатичні концентрації найактивніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів стосовно музейних штамів мікоміцетів: *Aspergillus niger* K9, *Aspergillus amstelodali* K12, *Aspergillus fumigatus* K 11, *Microsporium gypseum* 33/Mi

12, *Trichophyton interdigitale* ATCC 9533, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* 97, знаходилися в широких межах (від 0,12 мкг/мл до 250 мкг/мл), хоча в $(52,38 \pm 2,17)$ % випадків вони не перевищували 7,8 мкг/мл (табл. 1).

Таблиця 1 - Протигрибкова дія найактивніших 5-карбофункціоналізованих імідазолів стосовно музейних штамів грибів (мкг/мл)

Штами	Шифри досліджуваних сполук						
	2548	2385	2393	2287	3061	3062	2424
<i>A. niger</i> K9	0,48/ 0,48	7,80/ 7,80	62,5/ 62,5	7,80/ 7,80	62,5/ 62,5	125/ 125	62,5/ 62,5
<i>A. amstelodali</i> K12	1,95/ 1,95	7,80/ 7,80	125/ 125	15,62/ 15,62	250/ 250	125/ 125	125/ 125
<i>A. fumigatus</i> K11	0,12/ 0,12	0,12/ 0,12	15,62/ 15,62	0,12/ 0,12	3,90/ 3,90	3,90/ 3,90	7,80/ 7,80
<i>M. gypseum</i> 33/Mi 12	15,62/ 15,62	31,25/ 31,25	62,5/ 62,5	31,25/ 31,25	62,5/ 62,5	62,5/ 62,5	125/ 125
<i>T. interdigitale</i> ATCC 9533	0,12/ 0,12	0,97/ 0,97	7,80/ 7,80	0,48/ 0,48	31,25/ 31,25	7,80/ 7,80	3,90/ 3,90
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> 97	0,12/ 0,12	0,97/ 0,97	15,62/ 15,62	0,97/ 0,97	15,62/ 15,62	1,95/ 1,95	3,90/ 3,90

Примітка. У чисельнику – мінімальна фунгістатична концентрація; у знаменнику – мінімальна фунгіцидна концентрація

Найвищу фунгістатичну дію в цілому щодо всіх 6 досліджених музейних штамів грибів проявила сполука 2548, середнє значення МФсК якої стосовно всіх вивчених штамів становило $(3,07 \pm 2,53)$ мкг/мл, а МФсК знаходилися в діапазоні від 0,12 мкг/мл до 15,62 мкг/мл. Сполука 2548 за величиною МФсК стосовно штаму *Aspergillus niger* K9 переважає Кетодін, Мікогель, Біфонал та знаходиться на рівні Клотримазолу, стосовно штаму *Aspergillus amstelodali* K12 переважає Кетодін, Мікогель, Ломексин та знаходиться на рівні Біфоналу і Клотримазолу, стосовно штаму *Aspergillus fumigatus* K 11 переважає всі досліджені препарати порівняння (рис. 2), стосовно штаму *Microsporum gypseum* 33/Mi 12 переважає лише Кетодін, стосовно штаму *Trichophyton interdigitale* ATCC 9533 переважає Кетодін і Клотримазол та знаходиться на рівні Еконазолу, а стосовно штаму *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* 97 переважає Клотримазол та знаходиться на рівні Мікогелю, Еконазолу та Ломексину.

Децю нижчу протигрибкову дію встановлено в сполук 2385 та 2287, середні значення МФсК яких становили відповідно $(8,15 \pm 4,83)$ мкг/мл та $(9,38 \pm 5,02)$ мкг/мл.

Перед проведенням досліджень з клінічними штамми умовно-патогенних мікроорганізмів ми вважали за доцільне та необхідне здійснити аналіз видового складу основних збудників інфекцій, що формував запальний процес гнійних ран хворих, які виділялися практичними бактеріологічними лабораторіями міста

Чернівці й Чернівецької області у 2012-2015 роках, та провести аналіз рівня чутливості до антибіотиків різних фармакологічних груп цих клінічних штамів мікроорганізмів, ізолюваних та ідентифікованих упродовж цих років із вмісту гнійних ран.

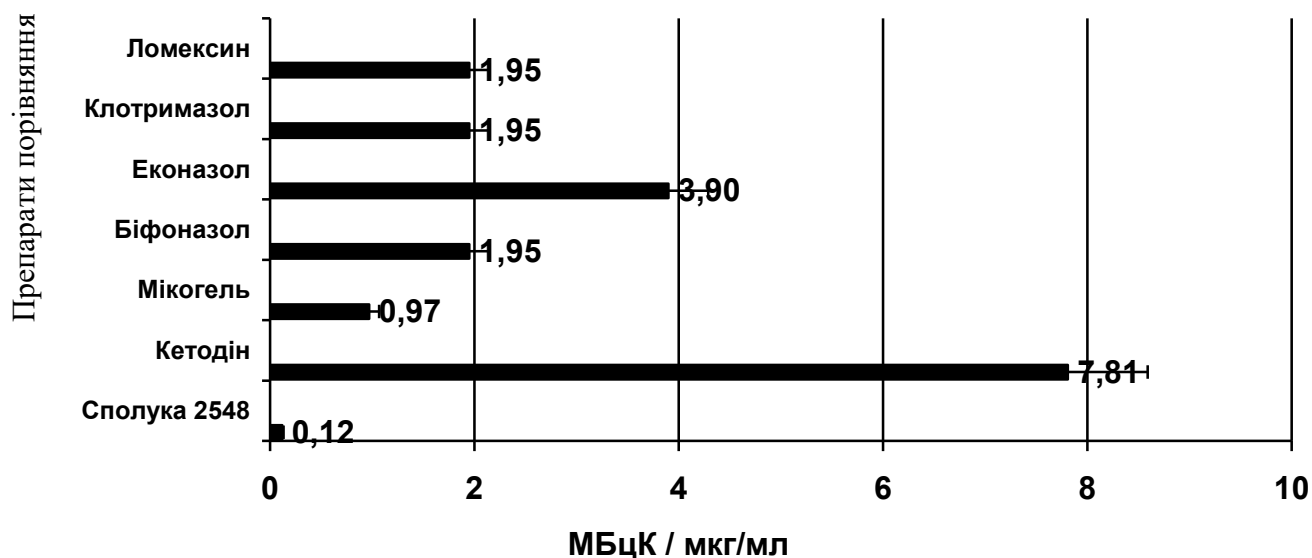


Рисунок 2 - Середні значення мінімальних фунгістатичних концентрацій сполуки 2548 та лікарських засобів, включених у дослідження для порівняння, стосовно музейного штаму *Aspergillus fumigatus* К 11 (мкг/мл)

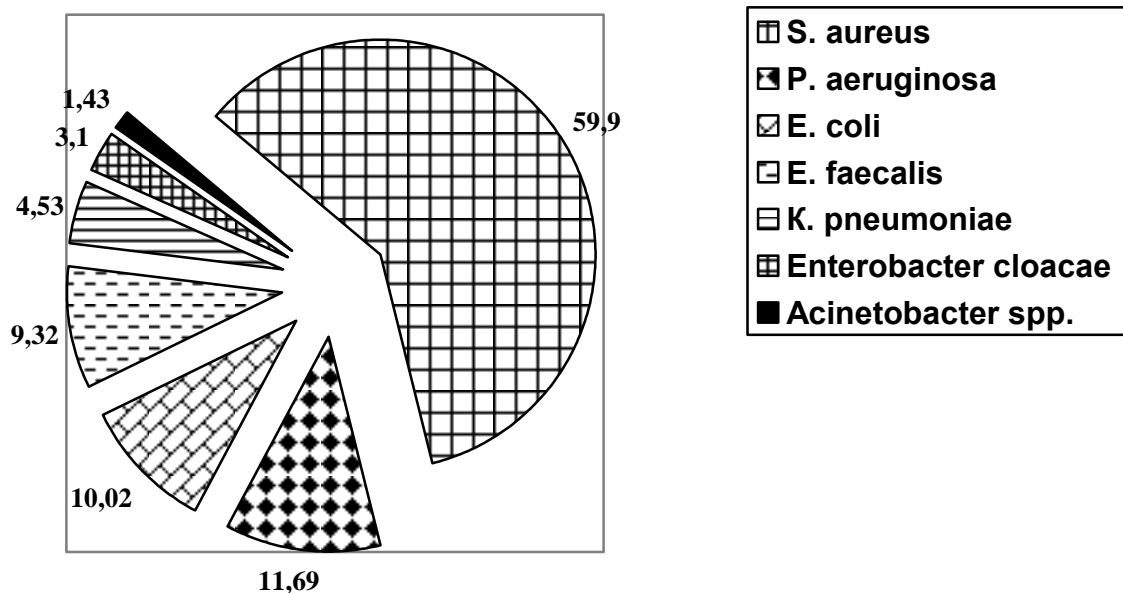


Рисунок 3 - Результати аналізу виділення мікроорганізмів від хворих у закладах охорони здоров'я м. Чернівці, Чернівецької області.

Результати проведеного аналізу засвідчили, що провідними збудниками запального процесу гнійних ран були *S. aureus* ($59,90 \pm 2,39$ %), *P. aeruginosa* ($11,69 \pm 1,57$ %), *E. coli* ($10,02 \pm 1,47$ %) та *E. faecalis* ($9,32 \pm 1,42$ %). Інші мікроорганізми - *K. pneumoniae* ($4,53 \pm 1,03$ %), *Enterobacter cloacae* ($3,10 \pm 0,85$ %)

та *Acinetobacter spp.* ($1,43 \pm 0,58$) % були другорядними у формуванні запального процесу.

Беручи до уваги, що домінуючим видом у виділеннях гнійних ран був *S. aureus*, нами проведено вивчення антистафілококової дії відібраних нами 5-карбофункціоналізованих імідазолів стосовно клінічних штамів стафілококів. Найвищу антистафілококову дію в цілому щодо всіх 15 досліджених клінічних штамів проявили сполуки 2548, 2287 та 3062, середні значення МБсК яких стосовно всіх вивчених клінічних штамів стафілококів становили від $38,41 \pm 8,87$ мкг/мл до $41,73 \pm 15,93$ мкг/мл. Водночас, найактивніший серед препаратів порівняння Клотримазол мав середнє значення МБсК стосовно всіх вивчених клінічних штамів стафілококів $48,99 \pm 12,89$ мкг/мл. Сполука 2548 за величиною середнього значення МБсК переважала Клотримазол у 1,28 рази, Ломексин у 1,6 рази, Біфонал у 1,63 рази, Мікогель у 1,8 рази, Кетодін у 2,16 рази та Еконазол у 2,36 рази. Сполука 2287 за величиною середнього значення МБсК переважала Клотримазол у 1,25 рази, Ломексин у 1,57 рази, Біфонал у 1,59 рази, Мікогель у 1,77 рази, Кетодін у 2,11 рази та Еконазол у 2,31 рази. А сполука 3062 за величиною середнього значення МБсК переважала Клотримазол у 1,17 рази, Ломексин у 1,47 рази, Біфонал у 1,49 рази, Мікогель у 1,66 рази, Кетодін у 1,98 рази та Еконазол у 2,17. Таким чином, антибактеріальна дія сполуки 2548 стосовно клінічних штамів стафілококів перевищувала відповідну дію досліджених серійних промислових зразків шести лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь у 1,28 – 2,36 рази, а сполуки 2287 та 3062 – відповідно 1,25-2,31 рази і 1,17-2,17 рази.

Антибактеріальна дія сполуки 2548 стосовно клінічних штамів ешерихій перевищувала відповідну дію досліджених шести лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь у 2-3 рази, а сполуки 2287 та 3062 – відповідно 1,6-2,4 рази і 1,14-1,7 рази.

Найвищу антикандидозну дію в цілому щодо всіх 19 досліджених клінічних штамів кандид проявила сполука 2548, середнє значення МФсК якої стосовно всіх вивчених штамів кандид становило ($35,5 \pm 7,84$) мкг/мл, а МФсК знаходилися в діапазоні від 0,48 мкг/мл до 125 мкг/мл. Середні значення МФсК сполук 2287 та 2385 становили відповідно ($52,22 \pm 9,75$) мкг/мл та ($62,50 \pm 8,84$) мкг/мл. При цьому сполука 2548 проявляла антикандидозну активність стосовно клінічних штамів кандид вищу в 2,08-3,05 рази за досліджені лікарські засоби групи похідних імідазолів трьох поколінь, а сполуки 2287 та 2385 – вищу відповідно в 1,43-2,10 рази та 1,20-1,75 рази (рис. 3).

Важливою властивістю антимікробних засобів є їх здатність зберігати протимікробну дію в біологічних рідинах організму людини. Беручи до уваги, що білки сироватки крові можуть змінювати активність протимікробних препаратів в організмі хворого за рахунок зв'язування з ними, нами вивчено вплив різних концентрацій сироватки в живильних середовищах на антимікробну активність досліджуваних 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолу.

Вивчення впливу білків крові (5 % та 10 %) у живильному середовищі на антимікробну активність досліджених 5-карбофункціоналізованих імідазолів дозволило встановити, що сироватка крові впливає на їх активність, а саме

збільшення концентрації білків спричиняє дозозалежне зниження антимікробної дії (у середньому в 2 – 4 рази). Так, додавання в м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) 5 % сироватки крові призводило до зростання в 2 рази МБсК відносно контролю усіх досліджених сполук стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923. При цьому величина МБсК сполуки 2287 стосовно цього штаму стафілококу знизилася до 1,96 мкг/мл, сполуки 2548 – до 7,8 мкг/мл, а сполуки 3062 – до 0,48 мкг/мл.

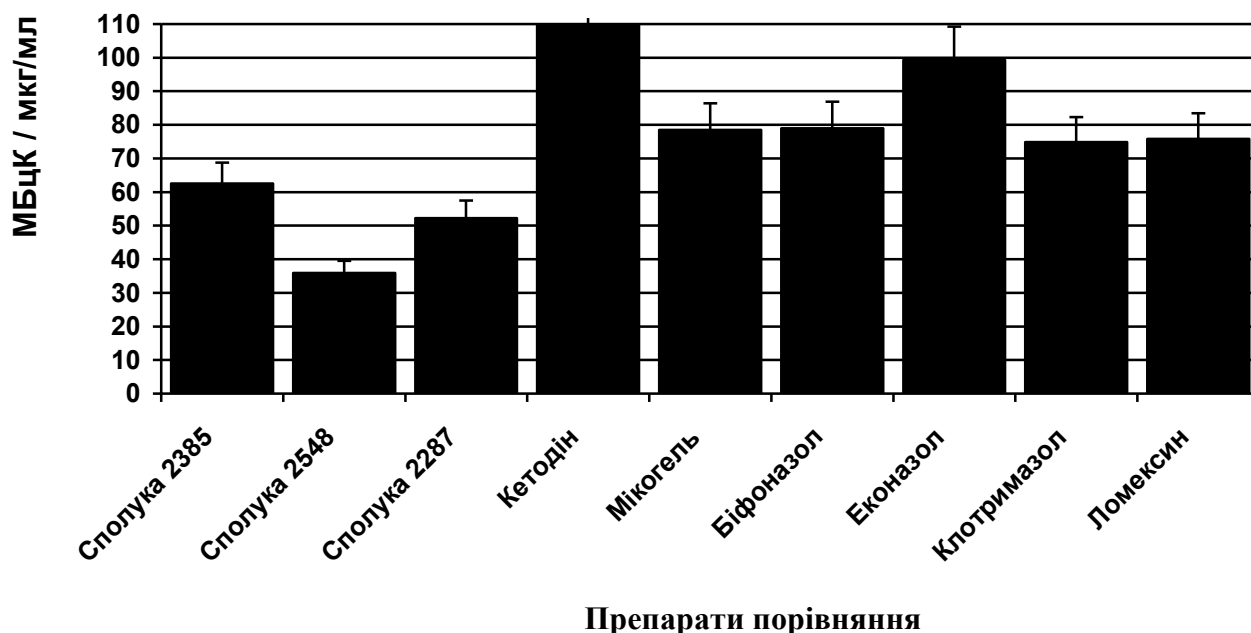


Рисунок 3 - Середні значення мінімальних бактеріостатичних концентрацій сполук 3062, 2548 і 2287 та препаратів порівняння стосовно клінічних штамів *C. albicans* (мкг/мл).

Збільшення концентрації сироватки крові в МПБ до 10 % призводило до зростання в 4 рази порівняно з контролем МБсК сполук 2548 та 3062 - величини їх МБсК стосовно штаму стафілококу становили відповідно 15,6 мкг/мл та 0,96 мкг/мл. Водночас, величина МБсК сполуки 2287 як при концентрації сироватки 10 %, так і 5 %, була вищою в 2 рази відносно контролю і залишалась на рівні 1,96 мкг/мл. Додавання до середовища 5 % сироватки призводило до зменшення антикандидозної активності всіх досліджених сполук удвічі, а 10 % сироватки призводить до зменшення в 4 рази порівняно з контролем вказаної активності сполук 2287 та 3062 (рис. 4). Однак, при вмісті 5 % та 10 % сироватки крові вивчені сполуки зберігають достатню антимікробну активність, що має важливе практичне значення. Можливо також припустити, що подальше збільшення вмісту білків сироватки в живильному середовищі може призводити до подальшого зменшення антимікробної активності досліджуваних похідних імідазолів.

Вивчено протимікробну активність досліджуваних сполук за різних умов рН поживного середовища (у тому числі у слабкокислому та в слаболужному середовищах). Величина рН здійснює істотний вплив на здатність сполуки проникати в клітину. Як результат коливання рН біологічних рідин у фізіологічних межах можуть впливати на антимікробну активність різних протимікробних засобів. Саме

тому антимікробним препаратам для забезпечення їх протимікробної дії на збудників важливо проявляти антимікробні властивості в присутності різної концентрації іонів водню.

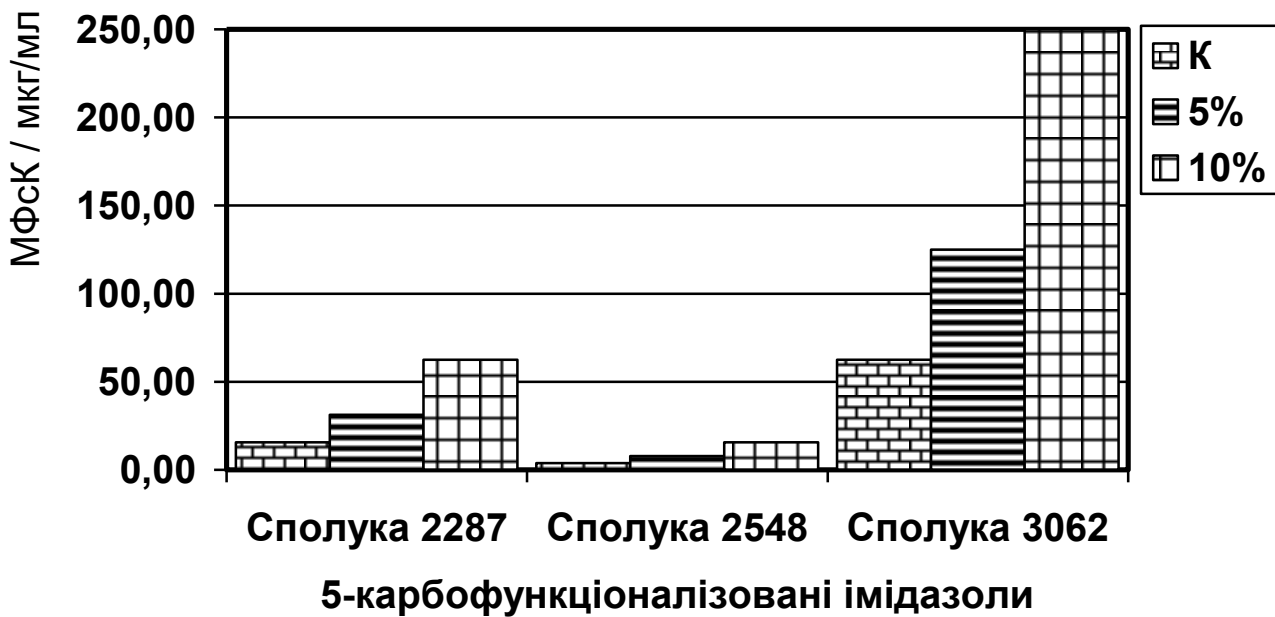


Рисунок 4 - Мінімальні фунгістатичні концентрації 5-карбофункціоналізованих імідазолів стосовно референс-штаму *C.albicans* ATCC 885-653 за впливу різних концентрацій сироватки крові в живильному середовищі (мкг/мл).

Встановлено, що як слабкокислое живильне середовище (рН 6,0), так і слабколужне живильне середовище (рН 8,0) порівняно з контролем (рН 7,2), статистично достовірно не впливало на антимікробну активність досліджених 5-карбофункціоналізованих імідазолів, що дозволяє вважати їх засобами з високою протимікробною дією в слабкокислому та слабколужному середовищах.

Слабкокислое живильне середовище (рН 6,0) порівняно з контролем (рН 7,2) удвічі зменшувало протистафілококову дію сполук 2287 і 2548, удвічі знижувало антибактеріальну дію сполук 2287 та 3062 стосовно *E. coli* ATCC 25922 та зменшувало антикандидозну активність сполук 2287 та 2548 у 2 рази, а сполуки 3062 – у 4 рази. Водночас, при зміні рН у лужний бік антимікробна активність вивчених похідних імідазолу не змінювалась і була рівною контрольним величинам.

При вивченні швидкості формування стійкості *S. aureus* ATCC 25923 до сполуки 3062 встановлено, що формування резистентності стафілококів відбувалось повільно, а саме МБСК упродовж 30 пасажів зростала в 8 разів. У випадку сполук 2548 та 2287 формування резистентності *S. aureus* ATCC 25923 відбувалось відповідно вдвічі повільніше і вдвічі швидше сполуки 3062, а саме МБСК упродовж 30 пасажів зростали відповідно в 4 рази та 16 разів.

Важливим етапом створення нового лікарського засобу є прогнозування його токсичності, у тому числі і за допомогою інформаційних технологій. З врахуванням цього визначено вірогідні параметри гострої токсичності сполук 2548

та 3062. Вказане визначення проведено за допомогою комп'ютерної програми для аналізу кількісних співвідношень структура-активність і структура-властивість (з можливістю передбачення цих характеристик для нових речовин) GUSAR. За допомогою вказаної програми розраховано наступні показники гострої токсичності сполук 2548 та 3062 для білих щурів: LD₅₀ при внутрішньовенному способі введення (Rat IV LD₅₀), яка становить відповідно 78,28 та 51,60 мг/кг маси тіла, LD₅₀ при оральному шляху введення (Rat Oral LD₅₀), яка становить відповідно 308,60 та 872,70 мг/кг маси тіла, LD₅₀ при підшкірному шляху введення (Rat SC LD₅₀), яка становить відповідно 809,90 та 1283,00 мг/кг маси тіла. Отримані величини вірогідних параметрів гострої токсичності, які розраховано за допомогою комп'ютерної програми для аналізу кількісних співвідношень структура-активність і структура-властивість GUSAR, дозволили віднести досліджувані сполуки 2548 та 3062 до малотоксичних сполук (IV клас токсичності).

У п'ятому розділі наведено результати дослідження хіміотерапевтичної ефективності найактивніших представників 5-карбофункціоналізованих імідазолів при експериментальних інфекціях.

На моделі експериментальної трихофітії сполука 2548 проявила протигрибкові властивості на рівні препарату порівняння - Мікогелю (діюча речовина міконазол, I покоління імідазолів) (рис. 5). При цьому в групі тварин, яка отримувала лікування сполукою 2548, на останній день експерименту сумарна оцінка інтенсивності клінічних ознак ($0,27 \pm 0,19$) бала статистично вірогідно ($p < 0,05$) відрізнялася від відповідного показника контрольної групи ($0,73 \pm 0,37$) бала, однак вірогідно не відрізнялася ($p = 0,11$) від сумарної оцінки інтенсивності клінічних ознак ($0,12 \pm 0,09$) бала групи тварин, які отримували лікування лікарським препаратом порівняння Мікогелем. Вказане дозволило підтвердити *in vivo* хіміотерапевтичну ефективність сполуки 2548 та встановити кореляцію активності вказаної сполуки *in vitro* і *in vivo* щодо *T. mentagrophytes*.

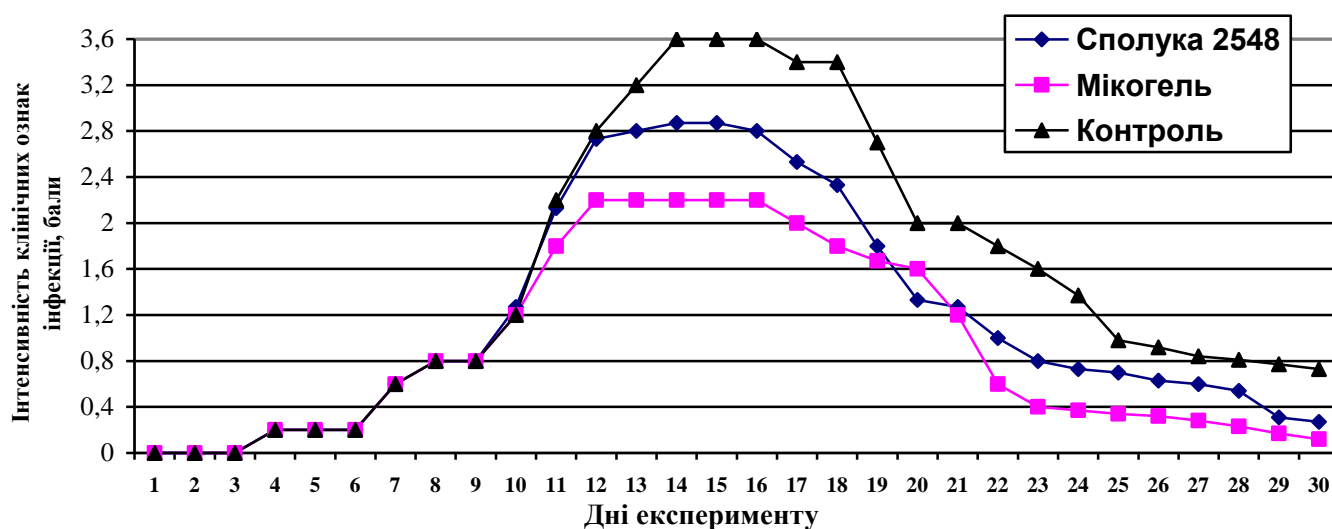


Рисунок 5 - Динаміка результатів сумарної оцінки інтенсивності клінічних ознак за умов експериментальної трихофітії (бали).

За умов експериментальної моделі локалізованої стафілококової гнійної інфекції м'яких тканин сполука 3062 проявила антибактеріальні властивості на

рівні препарату порівняння - Ломексину (діюча речовина фентиконазол, II покоління імідазолів) (рис. 6). При цьому в групі тварин, яка отримувала лікування сполукою 3062, на останній день експерименту середні розміри ран ($1,33 \pm 0,42$) мм статистично вірогідно ($p < 0,001$) відрізнялася від відповідного показника контрольної групи ($7,67 \pm 0,21$) мм, однак вірогідно не відрізнялася ($p = 0,31$) від середніх розмірів ран ($1,0 \pm 0,63$) мм групи тварин, які отримували лікування лікарським препаратом порівняння Ломексином. Вказане дозволило підтвердити *in vivo* її хіміотерапевтичну ефективність та встановити кореляцію активності вказаної сполуки *in vitro* та *in vivo* щодо стафілококів.

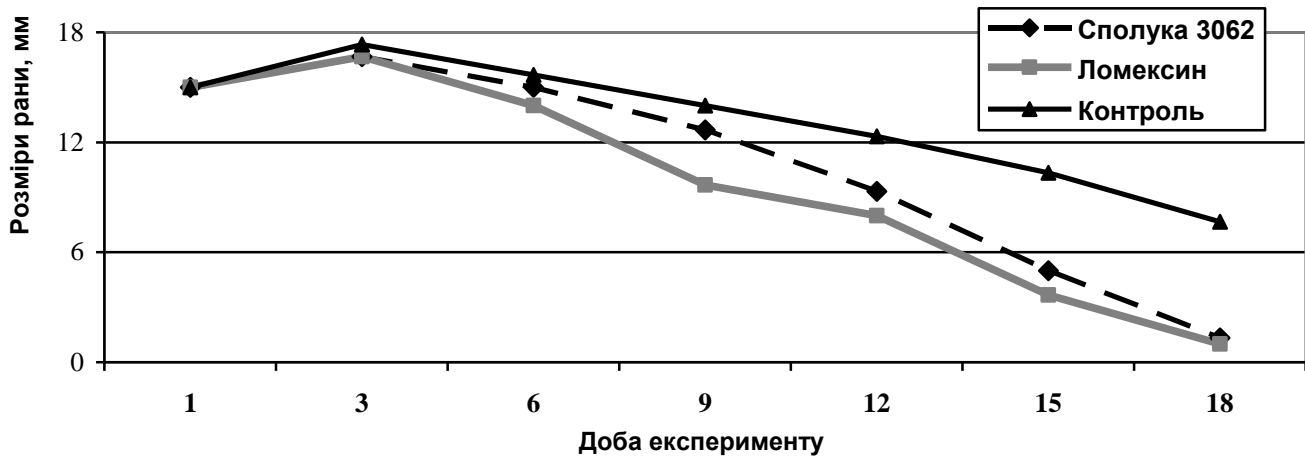


Рисунок 6 - Динаміка середніх розмірів ран за умов стафілококової гнійної інфекції м'яких тканин морських свинок (мм)

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання – пошуку високоефективних в антимікробному відношенні синтетичних сполук шляхом дослідження *in vitro* та *in vivo* антибактеріальної та протигрибкової активності одержаних у результаті ціленаправленого органічного синтезу різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів, що є базою для подальшого створення лікарських антимікробних препаратів.

1. Антибактеріальна та протигрибкова активність 161 одержаної в результаті спрямованого органічного синтезу 5-карбофункціоналізованої похідної імідазолів, яка встановлена шляхом експрес-дослідження з використанням референс-штамів грамозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) і грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans* ATCC 885/653), залежить від хімічної будови сполук, таксону мікроба і характеризується вираженим антимікробним впливом у першу чергу щодо дріжджоподібних грибів роду *Candida* та грамозитивних бактерій - золотистих стафілококів. Мінімальні фунгіцидні концентрації досліджених 5-карбофункціоналізованих імідазолів у середньому в 1,84 рази, а мінімальні бактерицидні концентрації в середньому в 2 рази перевищували їх мінімальні фунгістатичні та бактериостатичні концентрації.

2. Найвищою антибактеріальною активністю стосовно 14 досліджених музейних штамів грамозитивних бактерій володіє сполука 3062, яка за середнім значенням мінімальних бактериостатичних концентрацій ($5,04 \pm 2,15$) мкг/мл

переважає в 2,38-9,33 рази досліджені препарати порівняння – лікарські засоби групи похідних імідазолів трьох поколінь, що містили в своєму складі діючі речовини біфоназол, еконазол, фентиконазол та кетоконазол. Досліджені 5-карбофункціоналізовані імідазоли володіють антибактеріальною дією стосовно музейних штамів грамнегативних бактерій у 8-16 разів вищою порівняно з лікарськими засобами, включеними в дослідження для порівняння. Сполука 2548 має найвищу фунгістатичну дію стосовно досліджених музейних штамів грибів (середнє значення мінімальних фунгістатичних концентрацій рівне $(3,07 \pm 2,53)$ мкг/мл) і проявляє антикандидозну активність стосовно музейних штамів кандид на рівні Клотримазолу та переважає за нею решту досліджених лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь в 1,42-6,79 рази.

3. Антибактеріальна дія сполук 2548, 2287 та 3062 стосовно клінічних штамів стафілококів перевищує відповідну дію досліджених шести лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь в 1,17-2,36 рази, а стосовно клінічних штамів кишкових паличок - в 1,14-3,0 рази. Сполука 2548 проявляє антикандидозну активність стосовно клінічних штамів кандид вищу в 2,08-3,05 рази ніж досліджені лікарські засоби, а сполуки 2287 та 2385 – вищу в 1,2-2,1 рази.

4. При вмісті 5 % та 10 % сироватки крові в живильному середовищі спостерігається дозозалежне зниження (у середньому в 2-4 рази) антимікробної дії досліджених 5-карбофункціоналізованих імідазолів стосовно референс-штамів *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 та *C. albicans* ATCC 885-653. Як слабкокислое, так і слабколужне середовище суттєво не впливають на антимікробну активність 5-карбофункціоналізованих імідазолів – за умов слабкокислого середовища (рН 6,0) порівняно з контролем (рН 7,2) протистафілококова та антиешеріхіозна активність досліджуваних сполук зменшувалися в 2 рази, антикандидозна - у 2-4 рази, а при зміні рН у лужний бік вказані активності не змінювалися і були рівними контрольним величинам.

5. Формування стійкості стафілококів до похідних імідазолу відбувається повільно - упродовж 30 пасажів стафілококів з наростаючими концентраціями 5-карбофункціоналізованих імідазолів мінімальні бактеріостатичні концентрації сполук 2548, 3062 та 2287 зростали відповідно в 4, 8 та 16 разів.

6. Доведено ефективну антибактеріальну дію сполуки 3062 за умов експериментальної локалізованої стафілококової гнійної інфекції м'яких тканин, на якій вказана сполука проявила антимікробні властивості на рівні лікарського препарату порівняння, що містить у своєму складі діючу речовину фентиконазол.

7. Виражена хіміотерапевтична ефективність сполуки 2548 за умов експериментальної трихофітії, на якій вона проявила антимікробні властивості на рівні лікарського препарату порівняння, що містить у своєму складі діючу речовину міконазол, а також доступність напівпродуктів та малостадійність синтезу дозволяють вважати вказану похідну 5-карбофункціоналізованих імідазолів перспективною щодо розробки на її основі лікувальних протимікробних препаратів.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Встановлені при дослідженнях *in vitro* та *in vivo* антибактеріальна та

протигрибкова активності 161 одержаної в результаті спрямованого органічного синтезу сполуки, що належить до різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів, можуть бути використані для оптимізації подальшого пошуку фармакологічно активних 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолів.

2. Антимікробна активність сполук 2548 та 3062, яка виявлена в ході досліджень *in vitro* з використанням 38 музейних та 39 клінічних штамів різних за таксономічним положенням бактерій і грибів та підтверджена *in vivo* їх вираженою хіміотерапевтичною ефективністю за умов експериментальної трихофітії та експериментальної моделі локалізованої стафілокової гнійної інфекції м'яких тканин, а також доступність напівпродуктів для їх синтезу та малостадійність самого синтезу дозволяють рекомендувати вказані 5-карбофункціоналізовані імідазоли як перспективні щодо розробки на їх основі лікувальних протимікробних препаратів. Вказана рекомендація підтверджується і тим, що за вірогідними параметрами гострої токсичності сполуки належать до малотоксичних (IV клас токсичності), а також формування резистентності стафілококів до цих імідазолів відбувається повільно та їх антимікробна активність незначно змінюється під впливом різних факторів (рН середовища, білків сироватки) і залишається досить високою для пригнічення росту і розмноження збудників захворювань, що має важливе практичне значення.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Свіжак В.К., Дейнека С.Є. Антибіотикорезистентність: багатогранність проблеми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2014. Т. XIII, № 2 (48). С. 222-224. (Особистий внесок – брала участь в аналізі вітчизняної та зарубіжної наукової літератури та підготовці статті).

2. Свіжак В.К., Данчук А.Г., Дейнека С.Є. Локальний моніторинг антибіотикочутливості основних збудників гнійно-запальних інфекцій. Частина 1. Таксономічний склад мікробіоти, що формує запальний процес. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2015. Т. XIV, № 3 (53). С. 113-116. (Особистий внесок – брала участь в обробці лабораторних даних, аналізі отриманих результатів та підготовці статті).

3. Свіжак В.К., Данчук А.Г., Дейнека С.Є. Локальний моніторинг антибіотикочутливості основних збудників гнійно-запальних інфекцій. Частина 2. Антибіотикорезистентність провідних збудників. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2015. Т. XIV, № 4 (54). С. 143-150. (Особистий внесок – брала участь в обробці лабораторних даних, аналізі отриманих результатів та підготовці статті).

4. Свіжак В.К., Дейнека С.Є., Черноус В.О., Свіжак В.Й. Скринінг антимікробної активності нових похідних 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-іліденгідрозонів ізонікотинової кислоти. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI, № 1 (59). С. 135-139. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці статті).

5. Свіжак В.К., Черноус В.О., Дейнека С.Є. Вплив хімічної будови 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-метилкарбінолів та 5-карбальдегідів на їх антимікробну активність. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21, № 1 (81). С. 126-131. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та

підготовці статті).

6. Свіжак В.К., Дейнека С.Є., Черноус В.О. Експрес-оцінка антимікробної дії тіосемикарбазонів 2,4-дизаміщених 1-арил-імідазол-5-карбальдегідів та деяких їх похідних. *Запорізький медичний журнал*. 2017. Т. 19, № 4. С. 509-516. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці статті).

7. Свіжак В.К. Порівняльна антимікробна ефективність препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21, № 3 (83). С. 68-74. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, експериментальних дослідженнях, обробці експериментальних даних та підготовці статті).

8. Svizhak V.K., Dejneka S.E., Chornous V.A., Azarov O.I., Svizhak V.J. Antimicrobial properties of new derivatives of imidazole. *Мікробіол. журн*. 2017. Т. 79, № 5. С. 46-56. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці статті).

9. Świżak V., Dejneka Ś., Chornous V., Świżak V., Azarov A. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe 5-funkcjonalizowanych pochodnych imidazolu. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*. 2017. V. 69. P. 143 – 161. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці статті).

10. Svizhak V.K., Dejneka S.E., Chornous V.A., Svizhak V.J. Antimicrobial action of 1-aryl-4-chloro-5-difluoro(trifluoro) methyl-1H-imidazoles. *The Unity of Science*. 2017. October. P. 70-73. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці статті).

11. Свіжак В.К., Дейнека С.Є., Черноус В.О. Похідні імідазолу як перспективні антимікробні засоби. *Мед. форум*. 2014. 2 (2). С. 146-151. (Особистий внесок – брала участь в аналізі вітчизняної та зарубіжної наукової літератури та підготовці статті).

12. Свіжак В.К., Дейнека С.Є. Сучасні альтернативні напрямки пошуку нових антимікробних засобів. *Dinamika naukowych badan – 2014 : Materialy X Miedzynarodowej naukow-praktycznej konferencji*. V. 7. Medycyna. Przemysl: Nauka i studia, 07-15 lipca 2014. P. 14-16. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

13. Свіжак В.К., Дейнека С.Є. Пошук нових антимікробних засобів як один з основних шляхів подолання зростаючого рівня антибіотикорезистентності. *Modern european science : Materials of the X International scientific and practical conference*. V. 11. Medicine. Sheffield, England: Science and education LTD, june 30-july 7, 2014. P. 35-37. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

14. Свіжак В.К., Дейнека С.Є. Класичні та сучасні методи визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних засобів: переваги та недоліки. *Aplikovane vedecke novinky – 2014: Materialy X mezinarodni vedecko-prakticka konference*. Dil 13. Lekarstvi. Praha: Publishing House «Education and Science», 27.07-05.08, 2014. С. 42-44. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

15. Дейнека С.Є., Свіжак В.К., Патратій В.К., Бліндер О.О. Антибіотикорезистентність як одна з найбільших проблем сучасної медицини. *Мат.*

96-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету, 16, 18, 23 лютого 2015 р.. Чернівці, 2015. С. 151. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

16. Свіжак В.К., Яковичук Н.Д., Дейнека С.Є., Черноус В.О. Похідні імідазолу як перспективний клас лікарських засобів. Мат. 96-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету, 16, 18, 23 лютого, 2015. Чернівці, 2015 р. С. 157-158. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

17. Свіжак В.К., Черноус В.О., Дейнека С.Є. Пошук біологічно активних речовин у ряду похідних 5-карбофункціоналізованих імідазолів. Теоретичні та практичні проблеми розвитку сучасної медичної науки : мат. міжнар. наук.-практ. конф. Одеса, 2015. С. 51-55. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

18. Дейнека С.Є., Данчук А.Г., Свіжак В.К. Аналіз структури видового складу мікроорганізмів-збудників, виділених із виділень гнійних ран. Мат. 97-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», 15, 16, 22 лютого 2016 р. Чернівці, 2016. С. 171-172. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

19. Свіжак В.К., Данчук А.Г., Дейнека С.Є. Аналіз антибіотикочутливості основних збудників гнійно-запальних інфекцій. Мат. 97-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», 15, 16, 22 лютого 2016 р. Чернівці, 2016. С. 180. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

20. Свіжак В.К., Данчук А.Г., Дейнека С.Є. Аналіз антибіотикочутливості штамів *Pseudomonas aeruginosa* - збудників гнійно-запальних інфекцій. Fundamental and applied science : Materials of the XI International scientific and practical conference «». V. 14 «Medicine. Veterinary medicine. Chemistry and chemical technology». Sheffield, England, October 30 – November 7, 2015. P. 25-28. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

21. Дейнека С.Є., Яковичук Н.Д., Ротар Д.В., Свіжак В.К. Приховані сторони антибіотикорезистентності. Мат. 98-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», 13, 15, 20 лютого 2017 р. Чернівці, 2017. С. 180-181. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

22. Свіжак В.К., Данчук А. Г., Дейнека С.Є. Динаміка видового складу та антибіотикочутливості основних збудників, виділених із виділень гнійних ран. Мат. 98-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу ВНЗУ України «Буковинський державний медичний університет», 13, 15, 20 лютого 2017 р. Чернівці, 2017. С. 189-190. (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

23. Dejneka S.Y., Svizhak V.K., Chornous V.O. Search of substances with antimicrobial properties among the derivatives of 2,4-disubstituted 3-(1-aryl-imidazole-5-yl)propan-1-ones and propan-1-ones. *Мат. 98-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», 13, 15, 20 лютого 2017 р. Чернівці, 2017. С. 197-198.* (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

24. Svizhak V.K., Chornous V.O., Dejneka S.Y. Dependence of structure-antimicrobial activity of a number of new 2,4-disubstituted 1-aryl-imidazole-5-methylcarbonyls and 5-carbaldehydes. *Матеріали 98-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», 13, 15, 20 лютого 2017 р. Чернівці, 2017. С. 201-203.* (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

25. Свижак В.К. Антимикробная активность новых производных 2,4-дизамещенных 1-арил-имидазол-5-метилкарбинолов. *Актуальные проблемы современной медицины : мат. 71-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 18-19 мая 2017 р. Самарканд, 2017. С. 451.*

26. Svizhak V.K., Dejneka S.Y., Chornous V.O., Svizhak V.Y. Screening examination of antimicrobial action of new 1,2,4-trisubstituted imidazolil-5-methylenazines and hydrazones. *Chernivtsi international medical conference (CIMEC) 2017'1 : мат. міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., 02-03 червня 2017 р. Чернівці, 2017. С. 21-22.* (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

27. Свижак В.К., Дейнека С.Є., Черноус В.О., Свижак В.Й. Порівняльна характеристика антимікробної дії різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів. *Тези доповідей XV з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 11-15 вересня 2017 р. Львів, 2017. С. 93.* (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

28. Дейнека С.Є., Свижак В.К., Бліндер О.О., Сидорчук Л.І., Ротар Д.В. Етапність досліджень з пошуку нових антимікробних засобів. *Тези доповідей XV з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 11-15 вересня 2017 р. Львів, 2017. С. 186.* (Особистий внесок – брала участь в експериментальних дослідженнях та підготовці тез).

АНОТАЦІЯ

Свижак В.К. Антимікробна активність та перспективи використання в медицині нових 5-карбофункціоналізованих імідазолів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дисертація присвячена пошуку вискоєфективних сполук шляхом дослідження *in vitro* та *in vivo* антибактеріальної та протигрибкової активності різних типів 5-карбофункціоналізованих імідазолів.

У дисертаційній роботі з використанням 38 музейних та 39 клінічних штамів різних за таксономічним положенням бактерій і грибів, охарактеризована антибактеріальна та протигрибкова активність 161 сполук 5-карбофункціоналізованих похідних імідазолів.

Встановлено, що формування резистентності стафілококів до похідних імідазолів відбувається повільно, їх антимікробна активність незначно змінюється під впливом різних факторів

Хіміотерапевтична ефективність найперспективніших 2 сполук підтверджена на моделі експериментальної трихофітії та експериментальній моделі локалізованої стафілококової гнійної інфекції м'яких тканин

Ключові слова: 5-карбофункціоналізовані імідазоли, антимікробна активність, антибактеріальна дія, протигрибкові властивості, антибіотикорезистентність.

АННОТАЦИЯ

Свижак В.К. Антимикробная активность и перспективы использования в медицине новых 5-карбофункционализированных имидазолов. - На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 03.00.07 - микробиология. - Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Диссертация посвящена поиску высокоэффективных соединений путем исследования *in vitro* и *in vivo* антибактериальной и противогрибковой активности различных типов 5-карбофункционализированных имидазолов.

В диссертационной работе с использованием 38 музейных и 39 клинических штаммов различных по таксономическим положениям бактерий и грибов описаны антибактериальная и противогрибковая активность 161 соединений, 5-карбофункционализированных имидазолов.

Установлено, что формирование резистентности стафилококков к производным имидазолам происходит медленно, их антимикробная активность незначительно изменяется под влиянием различных факторов

Химиотерапевтическая эффективность перспективных 2 соединений подтверждена на модели экспериментальной трихофитии и экспериментальной модели локализованной стафилококковой гнойной инфекции мягких тканей.

Ключевые слова: 5-карбофункционализированные имидазолы, антимикробная активность, антибактериальное действие, противогрибковые свойства, антибиотикорезистентность.

ANNOTATION

Svizhak V.K. Antimicrobial activity and prospects of use of new 5-carbofunctionalized imidazole derivatives in medicine. – Qualification scientific work as a manuscript.

The thesis to obtain the academic degree of Candidate of Medical Sciences on specialty 03.00.07 – microbiology. – National Pirogov Memorial Medical University,

Vinnitsya, Ministry of Public Health of Ukraine, Vinnitsya, 2017.

Substantiation of choice of the research issue. Global spread of antibiotic resistance of microorganisms has become one of the most topical issues of modern antibacterial therapy, a cause of a universal crisis in health care, and a worldwide antibiotic resistance effect on clinical, social and economic aspects is unprecedented. Therefore, the search of new antibiotics and modification of the existing ones with the aim of their improvement is extremely topical and remains one of the main directions in modern medicine. One of the perspective ways to search for new highly effective antimicrobial drugs is screening of substances with synthetic nature including those of imidazole derivatives.

The objective of the study is the search of highly effective antimicrobial compounds by means of investigation *in vitro* and *in vivo* of antibacterial and antifungal activity of various types of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives obtained in the result of purposeful organic synthesis, which can be a basis for further generation of medical antimicrobial drugs.

To achieve the purpose the following *tasks* had to be solved: to carry out *in vitro* primary microbiological screening among various types of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives obtained in the result of purposeful organic synthesis, and having chosen the most perspective representatives to perform deep investigation of antimicrobial activity concerning an extended range of both museum and clinical strains of microorganisms; to study the effect of different physical-chemical factors on antimicrobial activity of the selected 5-carbofunctionalized imidazole derivatives and examine *in vitro* the rate of resistance formation of microorganisms to them; to determine *in vivo* chemotherapeutic effectiveness of the most perspective 5-carbofunctionalized imidazole derivatives on the patterns of experimental infections.

The object of the study was museum and clinical strains of opportunistic microorganisms, 5-carbofunctionalized imidazole derivatives; *the subject of the study* was antimicrobial activity *in vitro* of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives concerning the museum and clinical strains of opportunistic microorganisms, chemotherapeutic effectiveness of the most perspective 5-carbofunctionalized imidazole derivatives and antibiotic sensitivity of microorganisms isolated from patients. Microbiological, biological and mathematic-statistical *methods* were applied in the study.

Results. At the first stage of the study *in vitro* express assessment of antimicrobial activity of 75 new chemically synthesized compounds was performed. They belong to 6 different types of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives concerning reference-strains of gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922).

The investigation carried out at the first stage of the study proved the reasonability to search effective antimicrobial means among 5-carbofunctionalized imidazole derivatives, and enabled to substantiate the recommendations for purposeful synthesis of new chemical compounds with pronounced antimicrobial properties. As a result, 86 new compounds were synthesized and further examined concerning the availability and expression of their antimicrobial properties.

The investigations performed have determined that the highest general antibacterial action concerning all the 14 examined museum strains of gram-positive

bacteria was manifested by the compound 3062. The highest anti-candidal action concerning all the 6 examined museum strains was demonstrated by the compound 2548.

Investigation of the effect of different concentrations of hydrogen ions on antimicrobial activity of the examined 5-carbofunctionalized imidazole derivatives determined that weak-acid (pH 6,0) and weak-alkali media (pH 8,0) as compared to the control (pH 7,2) were not found to effect considerably antimicrobial activity of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives, which enabled to consider them as the agents with high antimicrobial action in weak-acid and weak-alkali media.

By means of staphylococci passaging with increasing concentrations of 5-carbofunctionalized imidazole derivatives the rate of formation of stable variants of these microorganisms to these compounds was studied. In general, staphylococci resistance to the examined imidazole derivatives is formed slowly, although with different rate depending on the compound and taxon.

Chemotherapeutic effectiveness of the most perspective 5-carbofunctionalized imidazole derivatives is proved on the pattern of experimental trichophytosis and experimental pattern of localized staphylococcal purulent infection of the soft tissues. In this case the compounds 2548 and 3062 demonstrated their antimicrobial properties on the level of two drugs of comparison – Mycogel and Lomexin

Key words: 5-carbofunctionalized imidazole derivatives, antimicrobial activity, antibacterial action, antifungal properties, antibiotic-resistance, antimicrobial agents.

Підписано до друку 20.02.2018 р. Замовл. № 033.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ імені М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

