

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН  
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА  
ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ  
ДЕРЖАВНА ВЕТЕРИНАРНА ТА ФІТОСАНІТАРНА СЛУЖБА УКРАЇНИ  
МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

*Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису*

**БАБКІНА МАРІЯ МИХАЙЛІВНА**

УДК 636.09:602.4:615.281.9

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ СТВОРЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ІЗ  
БАКТЕРИЦИДНОЮ АКТИВНІСТЮ НА ОСНОВІ  
МОДИФІКОВАНИХ ПОЛІАКЦЕПТОРНИХ СПОЛУК**

03.00.20 – біотехнологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата  
сільськогосподарських наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело Бабкіна Марія Михайлівна \_\_\_\_\_.

Науковий керівник (консультант) **Головко А.М.**, академік НААН України, доктор ветеринарних наук, професор.

Київ – 2018

## АНОТАЦІЯ

**Бабкіна М.М. Біотехнологічні основи створення препаратів із бактерицидною активністю на основі модифікованих поліакцепторних сполук.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

*Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. Білоцерківський національний аграрний університет МОН України, Біла Церква, 2018.*

Здобувач проходила навчання в аспірантурі без відриву від виробництва в Інституті біології тварин НААН (м. Львів) у 2011–2014 рр.

Дисертація присвячена визначенню антибактеріальної активності новосинтезованих модифікованих гетероциклічних сполук та встановленню їхньої мінімальної інгібуючої концентрації.

Проведена експериментальна робота з підбору культур клітин, культур мікроорганізмів, оптимального розчинника для досліджуваних сполук.

Відібрано для досліджень культури мікроорганізмів: грамнегативні культури *Escherichia coli* штам 1257, *Salmonella typhimurium* штам 144, *Pasteurella multocida* штам № 115, *Klebsiella pneumoniae* штам К-56N 3534/51 та грампозитивні *Erysipelothrix rhusiopathiae* штам VR-2, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* штам Р 209 та *Bacillus anthracis* штам СБ.

Також для проведення досліджень відібрано культури клітин Vero, ВНК та HeLa.

Дослідженнями доведено, що оптимальним розчинником для новосинтезованих модифікованих гетероциклічних сполук є диметилсульфоксид (ДМСО), оскільки він проявляє меншу токсичність, здатність до повного розчинення сполук та забезпечує стерильність у розчині.

При проведенні первинного скринінгу у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup> із 184 сполук було відібрано 163 сполуки, які проявили активність. До *E. rhusiopathiae* активність виявили 90 сполук, а до *S. pyogenes* – 75 сполук. Ріст *S. aureus* пригнічували 65 сполук, а *P. multocida* – 64 сполуки. До

*K. pneumoniae* активність виявили 62 речовини, а до *S. typhimurium* антибактеріальну дію виявили 46 речовин. Інгібуючу дію до *E. coli* виявили 37 сполук, а до *B. anthracis* (спорової та суміші спорової та вегетативних форм) – лише 34 речовини із 184 досліджуваних сполук. Не проявляла активності у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup> до жодного тест-мікроорганізму 21 речовина, що не використовувалась в подальших дослідженнях.

Визначена мінімальна інгібуюча концентрація речовин. Сполуки різних класів виявили різну антибактеріальну активність відносно тест-мікроорганізмів, які досліджувалися. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. А зони затримки росту мали значення від до 7,5±0,22 мм до 29,3±0,39 мм.

При визначенні мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) відібрано 6 речовин, які виявляли активність до усіх 8 тест-мікроорганізмів, це: № 24 із класу хінолонів (3-гідрокси-8-нітро-2-феніл-хінолін-4(1*H*)-он), сполука № 45, що належить до класу трициклічних триазинів (7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1*H*-[1,2,4]триазино-[5,6-*b*][1,4]бензотіазин-9-карбо-нова кислота), сполука № 58 із класу трициклічних триазинів (7-метил-3-оксо-*N*-піридин-2-ил-2,3-дигідро-1*H*-[1,2,4]триазино-[5,6-*b*][1,4]-бензотіазин-9-карбоксамід), речовина № 109 із класу незаміщених акридонів (*N*-(6-метилпіридин-2-ил)-9-оксо-9,10-дигідроакридин-4-карбоксамід), речовина № 124, що належить до класу заміщених феназінів (9-метокси-*N*-(2-метилфеніл)феназін-1-карбоксамід) та сполука № 171 із класу амідів три-азинпропанкарбонової кислоти (9-[(3,4-діметилфеніл)аміно]-*N*-феніл-акридин-4-карбоксамід). Відібрані хімічні сполуки належать до різних класів, мають різну хімічну формулу та різні замітники у різних положеннях.

Ці відібрані 6 речовини були досліджені на наявність цитотоксичної дії на перещеплюваних культурах клітин HeLa, Vero та ВНК у концентраціях: 0,41 мг/см<sup>3</sup>; 0,041 мг/см<sup>3</sup>; 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Визначено, що ці речовини не виявили токсичної дії на моношар перещеплюваних культур HeLa, Vero та ВНК.

6 відібраних сполук були досліджені на наявність антибактеріальної активності до польових ізолятів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а зони затримки росту мали значення від 9,8±0,56 мм до 24,3±0,43 мм. Найбільш активною до польових ізолятів виявилася сполука № 45 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,041 мг/см<sup>3</sup> до 0,041 мг/см<sup>3</sup> та зонами затримки росту від 21,6±0,53 мм до 24,3±0,43 мм, а найменш активною – сполука № 58 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,041 мг/см<sup>3</sup> та зонами затримки росту від 11±0,6 мм до 21,6±0,6 мм.

**Ключові слова:** модифіковані поліакцепторні сполуки, культура мікроорганізмів, культура клітин, мінімальна інгібуюча концентрація, антибактеріальна дія.

#### **Список публікацій здобувача**

1. **Бабкіна М.М.** Встановлення мінімальної інгібуючої концентрації нових модифікованих гетероциклічних сполук по відношенню до *Klebsiella spp* / **М.М. Бабкіна**, Л.Г. Пальчиковська, О.В. Васильченко, О.М. Дерябин // *Вет. біотехнологія: бюл. / НААН Ін-т вет. медицини.* – Київ, 2012. – Вип.21. – С. 122–129. (*Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку та підготовлено статтю до друку*).

2. Пальчиковська Л. І. Оцінка протибактерійної та противірусної активності N-ариламідів 9-заміщених феназин-1-карбонових кислот – інгібіторів модельної транскрипції фага T7 / Л.І. Пальчиковська, О.В. Васильченко, М.О. Платонов, В.Г. Костіна, **М.М. Бабкіна**, О.А. Тарасов, Д.Б. Старосила, С.П. Самійленко, С.Л. Рибалко, О.М. Дерябин, Д.М. Говорун // *Biopolymers and Cell.* – 2012. – Vol. 28 (№ 6). – P. 477–485. (*Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку результатів*).

3. **Бабкіна М.М.** Дослідження антибактеріальної дії похідних триазину, феназину та триазинбензотіазину проти мікроорганізму *Erysipelothrix rhusiopathiae* / **М.М. Бабкіна**, О.В. Васильченко, А.М. Головка // *Вет.*

біотехнологія: бюл. / НААН Ін-т вет. медицини. – Київ, 2013. – Вип. 22. – С. 16–20. (Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку та підготовлено статтю до друку).

4. **Бабкіна М.М.** Оцінка антибактеріальних властивостей гетероциклічних сполук класу хінолонів стосовно *Pasteurella multocida* / **М.М. Бабкіна**, Л.Г. Пальчиковська, О.В. Васильченко, О.М. Дерябін, О.А. Тарасов // Біологія тварин: бюл. / НААН Ін-т біології тварин. – Львів, 2016. – Т.18, № 3. – С. 9–16. (Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку та підготовлено статтю до друку).

5. **Бабкіна М.М.** Визначення антибактеріальних властивостей триазинів стосовно *Salmonella typhimurium* / **М.М. Бабкіна**, О.В. Васильченко, О.М. Дерябін, О.А. Тарасов, А.М. Головка, Л.Г. Пальчиковська // Біологія тварин: бюл. / НААН Ін-т біології тварин. – Львів, 2017. – Т.19, № 1. – С. 16–23. (Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку та підготовлено статтю до друку).

6. **Бабкіна М.М.** Вивчення антибактеріальних властивостей нових модифікованих гетероциклічних сполук / **М.М. Бабкіна** // Біологія тварин. – Львів, 2012. – Т.14, № 1–2. – С. 580–584 (Автором проведено аналіз одержаних матеріалів, статистичну обробку та підготовлено статтю до друку).

#### ***Матеріали наукових конференцій***

7. **Бабкіна М.М.** Дослідження антибактеріальної дії похідних 3-гідроксохінолонів проти бактерії *Staphylococcus aureus* / **М.М. Бабкіна**, О.М. Замотаєв, О.В. Васильченко, Л.Г. Пальчиковська, О.М. Дерябін // Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини: матеріали XI наук.-практ. конф. молодих вчених, (Львів, 4 груд. 2012 р.). – Львів, 2012. (Дисертанткою проведена експериментальна частина роботи, обробка даних та їх аналіз).

8. **Babkina M.** Investigation of antimicrobial action of the new synthesized modified compounds / **M. Babkina** // 3rd ASM Conference on AMR in Zoonotic Bacteria and Foodborne Pathogens. – Aix-en-Provence, 2012. – P. 61.

*(Дисертанткою проведена експериментальна частина роботи, обробка даних та їх аналіз).*

9. Васильченко О.В. Використання ДНК-залежної РНК-полімерази фага T7 для пошуку інгібіторів вірусу бичачої діареї серед похідних триазинобензотіазину / О.В. Васильченко, О.В. Моцар, **М.М. Бабкіна**, Л.І. Пальчиковська // Молодь і поступ біології: тези доповідей наук.-практ. конф. [«IX Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів»], (16–19 квіт. 2013 р.). – Львів, 2013. – С. 364–365. *(Дисертанткою проведена експериментальна частина роботи, обробка даних та їх аналіз).*

10. **Бабкіна М.М.** Вивчення антибактеріальної активності трициклічних триазинів по відношенню до *Klebsiella pneumoniae* / **М.М. Бабкіна**, Л.Г. Пальчиковська, О.В. Васильченко, О.М. Дерябін, О.А. Тарасов // Ветеринарна біотехнологія: бюл. // Сучасний стан з вивчення інфекційних хвороб тварин (прогнозування, діагностика, профілактика): матеріали науково-практичної конференції молодих вчених, 18 жовтня 2016. – Київ, 2016. – Вип. 29. – С. 34–42. *(Дисертанткою проведена експериментальна частина роботи, обробка даних та їх аналіз).*

***Опубліковані матеріали, які додатково відображають наукові результати дисертації***

11. Патент України на корисну модель UA 104386, МПК А61К 35/00 Спосіб визначення антимікробної активності антибіотичних речовин / **М.М. Бабкіна**, О.А. Тарасов, С.А. Ничик. – № у 201507437; заявл. 24.07.15; опубл. 25.01.16; Бюл. № 2. – 7 с. *(Дисертанткою проведено патентний пошук, складено заявку на патент, сформульовано формулу винаходу).*

12. Методичні рекомендації для визначення антибактеріальних властивостей модифікованих гетероциклічних сполук / **М.М. Бабкіна**, А.М. Головка, Л.Г. Пальчиковська, Н.Г. Пінчук, О.М. Дерябін, О.А. Тарасов, В.О. Ушкалов. – Київ, 2014. – 30 с. *(Автором підготовлено текст методичних рекомендацій, проведено валідаційні дослідження).*

## ANNOTATION

**Babkina M.M. Biotechnological ground for designing of bactericidal activity preparations on the basis of modified polyacceptor compounds.** – Qualification scientific work on manuscript copyright.

*The thesis for a candidate of agricultural sciences degree (Doctor of Philosophy) by a specialty 03.00.20 – biotechnology. Belotserkovsky national agrarian university Ministry of Education and Science of Ukraine, Bila Tserkva, 2018.*

The author was on position of postgraduate student at the Institute of Biology of Animals NAAS (Lviv) in 2011–2014.

The thesis is devoted to the determination of antibacterial activity of novelsynthesized modified heterocyclic compounds and determination of their minimal inhibitory concentration.

Experimental work was carried out using the selection of cell cultures, microorganisms, optimal solvent for the investigated compounds.

The microorganism cultures used for research: gram-negative cultures of *Escherichia coli* strain 1257, *Salmonella typhimurium* strain 144, *Pasteurella multocida* strain № 115, *Klebsiella pneumoniae* strain K-56N 3534/51, and gram-positive *Erysipelothrix rhusiopathiae* strain VR-2, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* strain P 209 and *Bacillus anthracis* strain SB.

There are cells lines Vero, BHK, and HeLa were used for research.

In a number of studies it have shown that the best solvent for novelsynthesized modified heterocyclic compounds was dimethylsulfoxide (DMSO), because it showed low toxicity and ability for complete dissolution of the compounds and conservant properties for the solution.

During the initial screening with a concentration of 0,41 mg/cm<sup>3</sup> from 184 ones 163 compounds that exhibited activity were selected. For *E. rhusiopathiae* antimicrobial activity was detected for 90 compounds and for *S. pyogenes* – 75 compounds. The growth of *S. aureus* inhibited by 65 compounds and *P. multocida* – by 64 compounds. For *K. pneumoniae* 62 substances were found to be

active, and 46 substances with antibacterial activity were detected for *S. typhimurium*. The 37 compounds were found to have an inhibitory effect on *E. coli*, and for *B. anthracis* (spore and a mixture of spore and vegetative forms) only 34 of the 184 compounds were revealed antimicrobial activity.

It was detected 21 substances didn't show activity at a concentration of 0,41 mg/cm<sup>3</sup> to the test microorganisms and were not used in further studies.

Minimum inhibitory concentration of substances was determined. Compounds of different classes have shown different antibacterial activity in relation to the tested microorganisms. The minimum inhibitory concentration ranged from 0,41 mg/cm<sup>3</sup> to 0,00041 mg/cm<sup>3</sup>. A growth inhibition zones ranged from 7,5±0,22 mm to 29,3±0,39 mm.

It was selected 6 substances according to the determination of minimum inhibitory concentration (MIC), which had antimicrobial activity for all 8 test microorganisms – № 24 from the class of quinolones (3-hydroxy-8-nitro-2-phenylquinolin-4(1H)-one), compound № 45, which belong to the class of tricyclic № 45, which belong to the class of tricyclic triazines (7-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-1H-[1,2,4]triazino[5,6-b][1,4]-benzothiazin-9-carboxylic acid), compound № 58 of the class of tricyclic triazines (7-methyl-3-oxo-N-pyridin-2-yl-2,3-dihydro-1H-[1,2,4]triazino[5,6-b][1,4]benzothiazine-9-carboxamide), substance № 109 from the class of unsubstituted acridones (N-(6-methylpyridin-2-yl)-9-oxo-9,10-dihydroacridine-4-carboxamide), substance № 124, which belong to the class of substituted phenazines (9-methoxy-N-(2-methylphenyl)phenazine-1-carboxamide) and compound №171 of the amide of triazinpropanecarboxylic acid class (9-[(3,4-dimethylphenyl)amino]-N-phenyl-acridine-4-carboxamide).

It was selected 6 substances, which were tested for cytotoxicity in per-massive cell lines HeLa, Vero and BHK with concentrations 0,41 mg/cm<sup>3</sup>; 0,041 mg/cm<sup>3</sup>; 0,0041 mg/cm<sup>3</sup> and 0,00041 mg/cm<sup>3</sup>. It has been determined that these substances did not reveal any toxic effects on the monolayer of per-massive HeLa, Vero and BHK cell lines.



Six selected compounds were tested for antibacterial activity towards to field isolates. The minimum inhibitory concentration varied from 0,41 mg/cm<sup>3</sup> to 0,0041 mg/cm<sup>3</sup>, and the inhibition zones had sizes between 9,8±0,56 mm to 24,3±0,43 mm. The most active to field isolates was compound № 45 with a minimum inhibitory concentration of 0,041 mg/cm<sup>3</sup> to 0,041 mg/cm<sup>3</sup> and growth inhibition zones had sizes between 21,6±0,53 mm to 24,3±0,43 mm. The weakest active compound was № 58 with a minimum inhibitory concentration of 0,41 mg/cm<sup>3</sup> to 0,041 mg/cm<sup>3</sup> and growth inhibition zones had sizes 11±0,6 mm to 21,6±0,6 mm.

Key words: modified polyacceptor compounds, culture of microorganisms, cell culture, minimal inhibitory concentration, antibacterial activity

### **List of publications of the applicant**

1. **Babkina M.M.** Establishment of the minimum inhibitory concentration of new modified heterocyclic compounds in relation to *Klebsiella spp.* / **M.M. Babkina**, L.G. Palchikovska, O.V. Vasilchenko, O.M. Deryabin / Vet Biotechnology: Bull. / NAAS Institute of Veterinary Medicine. – Kyiv, 2012. Vol. 21. – P. 122–129. (*The author conducted an analysis of the received materials, statistical processing and wrote of the article*).

2. Palchikovskaya L. I. Estimation of antibacterial and antiviral activity of N-arylamides of 9-substituted phenazine-1-carboxylic acids–inhibitors of model transcription of phage T7 / L.I. Palchikovska, O.V. Vasilchenko, M.O. Platonov, V.G. Kostina, **M.M. Babkina**, O.A. Tarasov, D.B. Starosila, S.P. Samilenko, S.L. Rybalko, O.M. Deryabin, D.M. Govorun / Biopolymers and Cell. – Vol. 28 (№ 6). – 2012. – P. 477–485. (*The author conducted an analysis of the received materials, statistical analysis of the results*).

3. **Babkina M.M.** Investigation of the antibacterial action of triazine derivatives, phenazine and triazine benzothiazine against the microorganism *Erysipelothrix rhusiopathiae* / **M.M. Babkina**, O.V. Vasilchenko, A.M. Golovko / Vet. Biotechnology: Bull. / NAAS Institute of Veterinary Medicine. – Kyiv, 2013. Vol.22. – P. 16–20. (*The author conducted an analysis of the received materials, statistical analysis and wrote of the article*).

4. Babkina M.M. Evaluation of antibacterial properties of heterocyclic compounds of the class of quinolones in relation to *Pasteurella multocida* / **M.M. Babkina**, L.G. Palchikovska, O.V. Vasilchenko, O.M. Deryabin, O.A. Tarasov // *Biology of Animals: Bul.* / NAAS Institute of Animal Biology. – Lviv, 2016.– Vol. 18, № 3 – P. 9–16. (*The author conducted an analysis of the received materials, statistical analysis and wrote of the article*).

5. **Babkina M.M.** Determination of antibacterial properties of triazines in relation to *Salmonella typhimurium* / **M.M. Babkina**, O.V. Vasilchenko, O.M. Deryabin, O.A. Tarasov, A.M. Golovko, L.G. Palchikovska // *Biology of Animals: Bul.* / NAAS Institute of Animal Biology. – Lviv, 2017. – V.19., Issue 1 – P. 16–23. (*The author conducted an analysis of the received materials, statistical analysis and wrote of the article*).

6. **Babkina M.M.** Investigation of antibacterial action of derivatives 3-hydroxyquinolones against bacteria *Staphylococcus aureus* / **M.M. Babkina**, O.M. Zamotaev, O.B. Vasilchenko, L.G. Palchikovska, O.M. Deryabin (*The author did the experimental part of the work, data processing and their analysis*).

7. **Babkina M.** Investigation of antimicrobial action of the new synthesized modified compounds / M. Babkina // 3rd ASM Conference on AMR in Zoonotic Bacteria and Foodborne Pathogens, Aix-en-Provence, 2012. – P. 61. (*The author did the experimental part of the work, data processing and their analysis*).

8. **Babkina M.M.** Study of antibacterial properties of new modified heterocyclic compounds / M.M. Babkina // *Biology of animals*. – Lviv, 2012. – Vol.14. – № 1–2. – P. 580–584 (*The author did the experimental part of the work, data processing and their analysis*).

9. Vasilchenko O.V. Using of DNA-dependent RNA-polymerase of T7 phage for finding inhibitors of bovine diarrhea virus among triazine-benzothiazine derivatives / O.V. Vasilchenko, O.V. Mozar, **M.M Babkina**, L.I. Palchikovska // *Youth and the progress of biology*. – Lviv, 2013. – P. 364–365. (*The author did the experimental part of the work, data processing and their analysis*).

10. **Babkina M.M.** Study of antibacterial activity of tricyclic triazines in relation to *Klebsiella pneumoniae* / M.M. Babkina, L.G. Palchikovska, O.V. Vasilchenko, O.M. Deryabin, O.A. Tarasov // Veterinary Biotechnology: Bul. – Kyiv, 2016. – Vol. 29. – P. 34–42. (*The author did the experimental part of the work, data processing and their analysis*).

11. Patent of Ukraine on utility model: Method of determination of antimicrobial activity of antibiotic substances / **M.M. Babkina**, O.A. Tarasov, S.A. Nychik – UA 104386 of 25.01. 2016. – Bull. №. 2. (*The dissertation did a patent search, formulated an application for a patent, formulated the formula of the invention*).

12. Guidelines for determining the antibacterial properties of modified heterocyclic compounds / **M.M. Babkina**, A.M. Golovko, Palchikovskaya L.G., Pinchuk N.G., Deryabin O.M., Tarasov O.A., Ushkalov V.O. (*The author prepared the text of guidelines, conducting validation studies*).

## ЗМІСТ

<b>Список скорочень</b>	16
<b>ВСТУП</b>	17
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	25
1.1. Сучасний стан застосування протимікробних препаратів у ветеринарній та гуманній медицині	25
1.2. Класифікація антибіотиків	28
1.3. Методи вивчення антибіотикочутливості	31
1.4. Напрями створення нових препаратів із антибактеріальною активністю	35
1.5. Характеристика класів гетероциклічних сполук як потенційних протимікробних препаратів	38
1.6. Етапи тестування нових хімічних сполук при створенні хіміотерапевтичних засобів (у т.ч. антибактеріальних)	46
1.7. Висновки щодо огляду літератури та обґрунтування напрямів досліджень.....	48
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ</b>	50
2.1. Матеріали	50
2.1.1. Хімічні сполуки	50
2.1.2. Розчинники	51
2.1.3. Культури мікроорганізмів	51
2.1.4. Культури клітин	53
2.1.5. Розчини	55
2.1.6. Посуд	56
2.1.7. Поживні середовища	57
2.1.8. Обладнання	58
2.2. Бактеріологічні методи досліджень	61
2.2.1. Метод серійних мікророзведень	61
2.2.2. Диско-дифузійний метод	61
2.3. Визначення цитотоксичної дії досліджуваних речовин	62

2.3.1. Культури клітин для проведення досліджень	62
2.3.2. Підготовка дослідного зразка	62
2.3.3. Проведення дослідження	62
2.3.4. Підготовка розчину для забарвлення	63
2.3.5. Забарвлення клітин	64
2.3.6. Облік результатів	64
2.4. Статистична обробка результатів	64
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ</b>	
<b>ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	<b>66</b>
3.1. Підбір культур клітин та культур мікроорганізмів	66
3.2. Підбір розчинника для хімічних сполук	68
3.3. Первинний скринінг речовин	70
3.4. Вивчення антимікробних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук	70
3.4.1. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи моноциклічних триазинів	70
3.4.2. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи хінолонів	76
3.4.3. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи трициклічних триазинів	87
3.4.4. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи заміщених акридонів	95
3.4.5. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених акридонів	106
3.4.6. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених тіоксантонів	114
3.4.7. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених феназинів	122
3.4.8. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи амідів пропанкарбонової кислоти	133

3.4.9. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи полізаміщених акридонів	140
3.5. Вивчення цитотоксичної дії модифікованих поліакцепторних сполук	148
3.6. Визначення чутливості польових ізолятів до сполук, що мали широкий спектр антибактеріальної активності	150
<b>РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	154
<b>ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	171
<b>ВИСНОВКИ</b>	172
<b>ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ</b>	175
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	176
<b>ДОДАТКИ</b>	198

## СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ДНКІБШМ – Державний науково-контрольний інститут біотехнології та штамів мікроорганізмів

ВООЗ – Всесвітня Організація Охорони Здоров'я

НААН – Національна академія аграрних наук

ООН – Організація Об'єднаних Націй

SOAR – Survey Of Antibiotic Resistance

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

ЧДА – чистий для аналізу

ХЧ – хімічно чистий

АБП – антибактеріальний препарат

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

ФКК-1 – феназин-1-карбонова кислота

ТГГК – трициклічні гетероароматичні карбонові кислоти

РНК – рибонуклеїнова кислота

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ВГС – вірус гепатиту С

ДМСО – диметилсульфоксид

ВРХ – велика рогата худоба

ГОСТ – Государственный стандарт

ДФУ – Державна Фармакопея України

МУК – методические указания

ННЦ «ІЕКВМ» – Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

## ВСТУП

Сьогодні основними засобами боротьби з патогенними та умовно-патогенними бактеріями – збудниками інфекційних хвороб тварин і людини – є хімічні антибактеріальні препарати різних груп, у тому числі антибіотики [1].

Основною перешкодою у стратегії застосування антибактеріальних препаратів є еволюційно детермінована властивість мікроорганізмів формувати стійкість до препаратів, що застосовуються. Широко відомі факти, коли через кілька років після впровадження антибіотиків у клінічну практику селекціонуються антибіотикостійкі види мікроорганізмів [2].

Резистентність до антибіотиків основних збудників інфекційних захворювань є однією з найбільших проблем сучасної ветеринарної і гуманної медицини. Швидкість, з якою формується і поширюється стійкість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, примушує фармацевтичні компанії до постійного пошуку нових речовин з високою антибактеріальною активністю. Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ) швидке підвищення стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, які застосовуються медичною наукою протягом останніх 50 років, загрожує основам охорони здоров'я [3]. Проблема поширення стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних речовин є глобальною і безпосередньо пов'язана із інтенсивністю застосування антибіотиків у клінічній практиці. Особливу увагу ветеринарної і гуманної медицини привертає поява антибіотикорезистентних форм у *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa* та інших бактерій, які є причиною зокрема і нозокоміальних інфекцій. Важливе значення в епідеміології має здатність мікроорганізмів формувати антибіотикорезистентність відразу до декількох антибіотиків [4].

Крім того, характер резистентності, котра з'являється у важливих патогенних мікроорганізмів, варіює у просторі та часі. Наприклад, широке застосування тетрацикліну в багатьох районах світу призвело до розвитку резистентності до цього антибіотика [5]. Тому сьогодні дуже гостро стоїть



проблема пошуку та створення нових біологічно активних сполук, які б мали антибактеріальну та (або) антивірусну активність [4].

Найчастіше в лікуванні та профілактиці інфекційних хвороб використовують антибіотики природного походження, але останніми роками значного поширення набуває використання синтетичних препаратів [6]. Основним шляхом отримання нових антибіотиків стає модифікація вже існуючих препаратів. Вивчаються властивості багатьох нових речовин на предмет їхньої активності відносно антибіотикорезистентних бактерій. Слід відзначити, що синтетичні антибіотики спричиняють резистентність меншою мірою, ніж природні препарати. Синтетичні речовини можуть утруднювати процеси адаптації мікроорганізмів, оскільки препарат і бактерія не зустрічалися у природі раніше [6].

В усіх країнах світу ідуть пошуки нових речовин для боротьби з мікроорганізмами, що набуває характеру постійног змагання процесів еволюції мікроорганізмів і створення нових препаратів [4].

Тому програми стримання розвитку стійкості до протимікробних препаратів були темою Всесвітнього дня здоров'я у 2011 році. ВООЗ розробляє всеохоплюючий набір стратегій для того, щоб Міністерства охорони здоров'я могли працювати з усіма зацікавленими сторонами. Це, в свою чергу, має покласти початок діям щодо зниження інтенсивності процесів формування стійкості мікробів, підвищення інформування та освіти, а також відстежування та стримання розвитку стійкості мікроорганізмів. Доки не буде розроблено повного комплексу дій, які б дозволяли вирішити зазначені проблеми, нестримне застосування антибіотиків буде продовжуватися. Найважливішими кроками на шляху до стримання подальшого розвитку стійкості до протимікробних препаратів мають бути: регулювання їх застосування, освіта та охорона здоров'я, які враховують соціально-культурні та економічні фактори [5].

Тому питання подальшого пошуку, тестування та вивчення біологічних властивостей антибактеріальних речовин з метою створення нових засобів у боротьбі з інфекційними хворобами, безперечно, залишається актуальним.

**Актуальність теми.** Пошук нових речовин з метою створення антимікробних лікарських засобів обумовлений низкою причин, з яких найбільш важливими є еволюційна мінливість та швидка адаптація мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Проблема поширення стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних речовин є глобальною і безпосередньо пов'язана із інтенсивністю застосування антибіотиків у клінічній практиці. Швидкість, з якою формується і поширюється стійкість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, примушує фармацевтичні компанії до постійного пошуку нових речовин з високою антибактеріальною активністю.

Природна сировина була традиційним джерелом як народних, так і офіційних лікувальних засобів. Сучасні біотехнологічні компанії постійно проводять пошук біологічно активних сполук для створення нових лікарських препаратів. На сьогодні альтернативними способами отримання біологічно активних сполук із природної сировини є створення нових синтетичних лікарських агентів на основі базових природних сполук або синтез нових хімічних речовин із прогнозованими властивостями. Раціональний «drug-design» передбачає модифікацію базової природної сполуки і дає змогу створити нові молекули з іншими хімічними, фізичними та терапевтичними властивостями, що в свою чергу дозволяє отримати позитивний ефект стосовно резистентних штамів мікроорганізмів.

Синтезується та досліджується велика кількість речовин, що можуть бути використані у гуманній та ветеринарній медицині з метою лікування та профілактики різних патологій.

Тому вирішення цього питання полягає у постійному пошуку біологічно активних сполук природного та хімічного походження для поповнення

арсеналу речовин, які б могли бути використані у створенні антимікробних препаратів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є окремим самостійним фрагментом та складовою частиною виконання наукової тематики Державного наукового інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) «Вивчення біологічних властивостей інноваційних штамів мікроорганізмів», номер державної реєстрації № 0113U007408 (2013 р.).

**Мета і задачі досліджень.** Метою досліджень є біотехнологічні основи відбору речовин для створення препаратів із антибактеріальною активністю серед сполук класів моноциклічних триазинів, хінолонів, трициклічних триазинів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, незаміщених тіоксантонів, заміщених феназинів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів.

Для досягнення мети необхідно було розв'язати наступні задачі:

- провести підбір тестових мікроорганізмів та культур клітин для оцінки активності сполук, що використовувалися;
- підібрати оптимальний розчинник для хімічних сполук та методику його застосування;
- провести первинний скринінг речовин, відібраних для дослідження;
- визначити мінімальну інгібуючу концентрацію речовин, які виявили бактерицидну активність при первинному скринінгу;
- визначити цитотоксичну дію сполук, що проявили антибактеріальну дію до всіх тест-мікроорганізмів;
- визначити мінімальну інгібуючу концентрацію речовин, які справляли антибактеріальну дію відносно всіх тест-мікроорганізмів, до польових ізолятів;
- розробити методичні рекомендації для визначення антибактеріальних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук.

*Об'єкт дослідження:* біотехнологічні прийоми зі створення препаратів з антибактеріальними властивостями.

*Предмет дослідження:* біотехнологічна схема відбору та створення в лабораторних умовах антибактеріальних препаратів на основі модифікованих поліакцепторних сполук.

*Методи дослідження:* бактеріологічні (метод серійних мікророзведень, метод дисків із використанням рідких та щільних живильних середовищ), біологічні (визначення цитотоксичної дії за допомогою культури клітин), статистичні (математична обробка цифрового матеріалу), аналітичні (огляд літератури, узагальнення результатів досліджень).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Адаптовано біотехнологічну схему для масових досліджень та пошуку нових модифікованих поліакцепторних сполук.

Проведено підбір тестових мікроорганізмів та культур клітин для визначення активності сполук, що використовували.

Проведено підбір оптимального розчинника для досліджуваних хімічних сполук.

Проведено первинний скринінг новосинтезованих модифікованих поліакцепторних сполук.

Визначена мінімальна інгібуюча концентрація речовин, що виявили антибактеріальну активність при первинному скринінгу.

Визначена цитотоксична дія сполук, які проявили активність до всіх тест-мікроорганізмів.

Визначена мінімальна інгібуюча концентрація речовин, що проявили активність до усіх тест-мікроорганізмів, по відношенню до польових ізолятів.

Розроблено методичні рекомендації для визначення антибактеріальних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук.

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропоновано біотехнологічну схему для відбору антибактеріальних препаратів на основі модифікованих поліакцепторних сполук.

Адаптовано біотехнологічну схему для відбору антибактеріальних препаратів на основі модифікованих поліакцепторних сполук. Адаптована біотехнологічна схема запропонована для вивчення у вищих навчальних закладах, для науково-дослідницьких організацій, а також організацій, що займаються визначенням чутливості до антибіотиків.

Наукові розробки увійшли до методичних рекомендацій «Методичні рекомендації для визначення антибактеріальних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук», які затверджені вченою радою Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) (протокол № 6 від 10.10.2014 р.) та науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 25.12.2014 р.).

Основні положення та розробки дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес у Харківській державній зооветеринарній академії та у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто проаналізовано джерела літератури за темою дисертаційної роботи, розроблено методичні підходи до розв'язання поставлених задач, проведено експериментальні дослідження, проаналізовано та узагальнено одержані результати, виконано їх статистичну обробку. Підготовлено до публікації статті і тези наукових доповідей.

Дослідження антибактеріальних властивостей новосинтезованих речовин проводили у співавторстві з керівником наукової роботи – доктором ветеринарних наук, професором, академіком Національної академії аграрних наук А.М. Головком; кандидатом хімічних наук, старшим науковим співробітником Інституту молекулярної біології та генетики

Л.Г. Пальчиковською; доктором ветеринарних наук, професором, членом-кореспондентом НААН України, завідувачем Національного центру штамів мікроорганізмів України В.О. Ушкаловим; кандидатом ветеринарних наук, завідуючою відділом біотехнології та контролю бактеріальних препаратів ДНКІБШМ Н.Г. Пінчук та завідувачем відділом молекулярної біології та імунохімії ДНКІБШМ О.М. Дерябіним.

Науковий керівник, доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН Головка Анатолій Миколайович брав безпосередню участь у проведенні досліджень, обробці та інтерпретації отриманих результатів, а також надавав необхідну методичну та наукову допомогу у плануванні та виконанні досліджень.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації доповідались і були схвалені на засіданнях вченої ради Інституту біології тварин НААН; на засіданні методичної комісії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів; на науково-практичній конференції молодих учених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (4 грудня 2012 р., м. Львів); на VIII Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів (16–19 квітня 2013 р., м. Львів); на міжнародній конференції «3rd ASM Conference on Antimicrobial Resistance in Zoonotic Bacteria and Foodborne Pathogens» (June 26–29, 2012, France); на IX Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів (Львівський національний університет ім. І. Франка (16–19 квітня 2013 р., м. Львів); на міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (4–5 листопада 2012 р., Інститут біології тварин, м. Львів), на науково-практичній конференції молодих учених «Сучасний стан з вивчення інфекційних хвороб тварин (прогнозування, діагностика, профілактика)» (18 жовтня 2016 р., ДНКІБШМ, м. Київ).

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 12 наукових праць, зокрема 6 статей (5 статей – у фахових виданнях; 1 стаття – у виданні, що входить до наукометричної бази даних «SCOPUS»), 4 тези доповідей на наукових конференціях, 1 методичні рекомендації та 1 деклараційний патент України на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 175 сторінках комп'ютерного тексту. Складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, що включає 205 джерел, у тому числі 37 латиницею, та додатків. Робота містить 5 рисунків та 31 таблицю.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Сучасний стан застосування протимікробних препаратів у ветеринарній та гуманній медицині

У 1928 році мікробіологом О. Флемінгом був відкритий перший антибіотик – пеніцилін. Але це відкриття не змогло бути реалізованим на практиці аж до 1942 року, коли використання стало можливим завдяки вченим Флорі та Чейну [7–10].

Пізніше були відкриті інші антибіотики, але останнім часом цей процес дуже сильно сповільнюється. На сьогоднішній день антибіотикотерапія залишається одним із основних засобів терапії захворювань бактеріальної етіології, а у деяких випадках і їх запобіганню як у гуманній, так і у ветеринарній медицині [11].

Антимікробні препарати використовують у ветеринарній медицині для дрібних тварин та для сільськогосподарських тварин (продуктивних). Для сільськогосподарських тварин антибіотики застосовують як з метою профілактики, так і для терапії бактеріальних захворювань [11].

За даними голови Експертної комісії з боротьби з антибіотикочутливими бактеріями при президенті США Мартіна Блейзера, щорічно у світі використовується 300000 тонн антибіотиків, або близько 73 мільярдів разових доз (дані 2016 року). Це призводить до дуже швидкого виникнення резистентності мікроорганізмів до антибіотиків [11].

До антимікробних препаратів, що використовуються сьогодні як у гуманній, так і ветеринарній медицині, належать пеніциліни, цефалоспорини, тетрацикліни, хлорамфенікол, аміноглікозиди, спектиноміцин, лінкозаміди, макроліди, нітрофурані, нітроімідазоли, сульфаніламіді, триметоприм, поліміксини і хінолони [12, 13].

Основними класами антимікробних речовин, що застосовуються у ветеринарній медицині з лікувальною метою, є  $\beta$ -лактами, аміноглікозиди,



тетрацикліни, макроліди, хінолони, феніколи, плевромутиліни, лінкозаміди, сульфонаміди і триметоприм [12, 14].

Найбільш активними антибіотиками, за критеріями Інституту клінічних та лабораторних стандартів (CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute), є цефотоксим (100%), цефтриаксон (99,5%), амоксицилін/клавуланова кислота (99%) та офлоксацин (97,6%) [15].

Але останнім часом система захисту людей і тварин, яка базувалась на вакцинації та використанні антибіотиків, повільно, але впевнено втрачає ефективність [16]. Все частіше з'являються штами мікроорганізмів з антибіотикорезистентністю (навіть множинною), яка за короткий період формується навіть до нових антибактеріальних препаратів [17, 18]. Широке застосування антибіотиків призводить також до виникнення багатьох побічних негативних ефектів у живому організмі [19, 20].

Для обмеження нераціонального застосування антибіотиків у ветеринарній та гуманній медицині, насамперед, потрібно переглянути тактику антибіотикотерапії. Вибір антибактеріального засобу потрібно здійснювати за умови встановленого діагнозу, вірогідності бактеріальної природи захворювання та показань до застосування антибіотика. На ефективність антибіотикотерапії часто впливає те, що в організмі хворої тварини нерідко циркулюють штами мікроорганізмів, резистентних до багатьох антибактеріальних препаратів (полірезистентність) [21].

Голова ВООЗ Маргарет Чен назвала стійкість мікроорганізмів до ліків фундаментальною загрозою здоров'ю, розвитку та безпеці людини. У зв'язку з цим, організації, які входять до складу ООН, у спільній заяві зобов'язались розробити національні плани щодо протидії стійкості мікроорганізмів до антибіотиків на основі глобального плану, який був представлений ВООЗ у 2015 році. Зокрема, передбачається посилення моніторингу стійких до ліків інфекцій та контролю застосування антибіотиків у гуманній і ветеринарній медицині, сільському господарстві, а також зростання міжнародного співробітництва та фінансування [11].

Також члени організації взяли на себе зобов'язання законодавчого регулювання застосування антибіотиків, займатися пошуком їх раціонального використання (наприклад, шляхом покращення діагностики інфекцій з урахуванням їх чутливості до препаратів) та широко впроваджувати заходи з профілактики інфекційних захворювань (зокрема, вакцинацію, очищення води, санітарію, належний рівень чистоти у лікарнях та на фермах) [11].

Також проводяться дослідження Survey Of Antibiotic Resistance (SOAR) – мультицентрове дослідження антибіотикорезистентності патогенів, яке було ініційоване компанією «ГлаксоСмитКляйн» у 2002 році і дотепер здійснюється у 21-й країні світу, в тому числі і в Україні. У дослідженнях використовуються стандартизовані методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків, що визнані на міжнародному рівні. Ці методи забезпечують точність кількісних даних (із визначення мінімальної інгібуючої концентрації) і дозволяють виявити навіть невеликі відмінності резистентності, а також досліджувати її динаміку. Ці дослідження проводяться постійно і їх результати можуть бути вже використані у практиці [15].

Із січня 2005 року за рішенням Європарламенту забороняється використання антибіотиків як стимуляторів росту. В Україні згідно з Законом України «Про ветеринарну медицину» (стаття 14) заборонено використання цих препаратів у кормах для тварин [22].

В Україні щорічно, починаючи з 2000 року, розробляється, впроваджується та виконується План Державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у необроблених харчових продуктах тваринного походження і кормах. При цьому антибіотики почали досліджувати з 2004 року. В Україні з 2011 року обов'язковим є визначення антибіотиків групи тетрациклінів (тетрациклін, хлортетрациклін, окситетрациклін, доксициклін), що передбачено Директивою Ради 96/23/ЕС [23, 24].

Оскільки використання антибіотикотерапії все помітніше втрачає свої позиції, цілеспрямований пошук природних біологічно активних субстанцій,

вивчення їхніх фізико-хімічних та фармакологічних характеристик є головним напрямом сучасної ветеринарної фармакології [25, 26].

Нині синтезується та досліджується велика кількість різноманітних речовин, що можуть бути використані у гуманній та ветеринарній медицині з метою лікування та профілактики різних патологій, у тому числі вірусної етіології [27, 28].

Одним із перспективних способів боротьби з резистентністю є хімічна трансформація молекул антимікробних речовин, спрямована на створення нових препаратів, активних у відношенні до антибіотикостійких мікроорганізмів [29–32].

## **1.2. Класифікація існуючих антибіотиків**

На сьогоднішній день існує велика кількість антибіотиків, які використовуються у ветеринарній та гуманній медицині. Для більш зручного їх застосування у терапії існує декілька класифікацій антибіотиків:

I. За способом отримання їх поділяють на:

- природні;
- синтетичні;
- напівсинтетичні (на початковому етапі отримують природним шляхом, потім синтез проводять штучно) [33, 34].

II. За джерелом отримання.

Продукцентами більшості антибіотиків є:

- актиноміцети;
- цвілеві гриби;
- бактерії (поліміксини);
- вищі рослини (фітонциди);
- тканини тварин і риб (еритрин, ектерицид).

III. За спрямованістю дії:

- антибактеріальні;
- протигрибкові;
- протипухлинні [34–36].

IV. За спектром дії (кількістю видів мікроорганізмів, на які діють антибіотики) вони поділяються на:

– препарати широкого спектра дії (цефалоспорины 3-го покоління, макроліди);

– препарати вузького спектра дії (циклосерин, лінкоміцин, бензилпеніцилін, кліндаміцин) [34, 37–39].

V. За хімічною будовою антибіотики поділяються на:

1)  $\beta$ -лактамі антибіотики – основу з молекули становить  $\beta$ -лактаміне кільце. До них належать:

а) пеніциліни – це група природних і напівсинтетичних антибіотиків, молекула яких містить 6-амінопеніциланову кислоту, що складається з двох кілець – тiazолідонового і  $\beta$ -лактаміного.

В свою чергу вони поділяються на біосинтетичні (пеніцилін, G-бензилпеніцилін), амінопеніциліни (амоксицилін, ампіцилін, бекампіцилін) та напівсинтетичні «антистафілококові» пеніциліни (оксацилін, метицилін, клоксацилін, диклоксацилін, флуклоксацилін), основною перевагою яких є стійкість до мікробних  $\beta$ -лактамаз, передусім, стафілококових;

б) цефалоспорины – це природні та напівсинтетичні антибіотики, отримані на основі 7-аміноцефалоспоринової кислоти і містять цефемове (також  $\beta$ -лактаміне) кільце, тобто за структурою вони подібні до пеніцилінів. Ця група антибіотиків поділяється на :

– цефалоспорины 1-го покоління: цепорин, цефалотин, цефалексин;

– цефалоспорины 2-го покоління: цефазолін (кефзол), цефамезин, цефамандол (мандол);

– цефалоспорины 3-го покоління: цефуроксим (кетоцеф), цефотаксим (клафоран), цефуроксим аксетил (зиннат), цефтриаксон (лонгацеф), цефтазидим (фортум);

– цефалоспорины 4-го покоління: цефепім, цефпіром (цефром) [34, 40, 41];

в) монобактамі – азтреонам (азактам, небактам);

г) карбопенеми – меропенем (Мерон) та іміпінем;

2) аміноглікозиди – вони містять аміноцукри, з'єднані глікозидним зв'язком з іншою частиною (агліконовим фрагментом) молекули. До них відносять: стрептоміцин, гентаміцин (гараміцин), канаміцин, неоміцин, мономіцин, сизоміцин, тобраміцин (Тобр), спектиноміцин, амікацин (амікін), нетилміцин (нетилін);

3) тетрацикліни – основу молекули становить поліфункціональне гідронафтаценове з'єднання. Серед них є природні тетрацикліни – тетрациклін, окситетрациклін (клініміцин) і напівсинтетичні тетрацикліни – метациклін, хлортетрин, доксициклін (вібраміцин), міноциклін, ролітетрациклін [34, 42–44];

4) макроліди – препарати цієї групи містять у своїй молекулі макроциклічне лактонове кільце, пов'язане з одним або декількома вуглеводними залишками. До них належать: еритроміцин, олеандоміцин, рокситроміцин (рулід), азитроміцин (сумамед), кларитроміцин (коаліціада), спіраміцин, диритроміцин. Антибіотики із класу макролідів, такі як еритроміцин та його наступники, були введені для боротьби з проблемою стійкості до метициліну і широко використовуються для лікування інфекцій, які спричинені грамполозитивними мікроорганізмами [45];

5) лінкозаміди – до них відносять лінкоміцин та кліндаміцин. Фармакологічні та біологічні властивості цих антибіотиків дуже близькі до макролідів;

6) глікопептиди – препарати цієї групи у своїй молекулі містять заміщені пептидні сполуки, це такі препарати, як ванкоміцин (ванкацин, діатрацин), тейкопланін (Таргоцид), даптоміцин;

7) поліпептиди – препарати цієї групи в своїй молекулі містять залишки поліпептидних сполук. До цієї групи належать: граміцидин, поліміксини М і В, бацитрацин, колістин;

8) поліени – препарати цієї групи в своїй молекулі містять кілька зв'язаних подвійних зв'язків. До них відносять: амфотерицин В, ністатин, леворин, натаміцин;

9) антрациклінові антибіотики – протипухлинні антибіотики – доксорубіцин, карміноміцин, рубоміцин, акларубіцин [34, 46, 47].

VI. Класифікація, за якою антибіотики поділяються на 3 групи за ступенем їх проникності до клітин макроорганізму:

1 група – препарати, внутрішньоклітинна концентрація яких становить менше 50 % від зовнішньоклітинної (за іншими даними, враховується співвідношення цих показників: у цьому випадку воно становить менше, ніж 1). До цієї групи належать більшість бета-лактамних антибіотиків, стрептоміцин, спектиноміцин та деякі інші;

2 група – антибіотики, внутрішньоклітинна концентрація яких становить 50–200 % від зовнішньоклітинної (співвідношення 1:10). До них відносять тетрацикліни, аміноглікозиди, лінкоміцин, хлорамфенікол, рифампіцин, фторхінолони (перфлорксацин, офлорксацин, ломефлорксацин), поліміксин В [48–51];

3 група – антибіотики з високим ступенем проникнення до клітини. Їх внутрішньоклітинна концентрація сягає більше, ніж 200 % від зовнішньоклітинної (співвідношення більше, ніж 10). Це еритроміцин, кларитроміцин, азаліди, кліндаміцин та деякі фторхінолони, зокрема, спарфлорксацин [52–55].

### **1.3. Методи вивчення антибіотикочутливості**

На сьогоднішній день існує два різновиди стандартизованих методів, які найбільш широко використовуються для визначення чутливості до антибіотиків – методи серійних розведень та дифузійні методи [56].

Принцип методу серійних розведень полягає у прямому визначенні основного кількісного показника, що характеризує мікробіологічну активність антибактерійного препарату (АБП) – мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). МІК – мінімальна концентрація АБП, яка пригнічує видимий ріст мікроорганізмів у рідкому або щільному живильному середовищі. Для визначення МІК задані концентрації АБП вносять у поживне середовище, яке

потім засівають культурою мікроорганізму та після інкубації оцінюють наявність або відсутність видимого росту [56].

Показаннями для визначення антибіотикочутливості за методом серійних розведень є необхідність одержання кількісних даних (переважно при тяжкому перебігу інфекційних процесів) для проведення регульованої антибіотикотерапії. Встановлення ступеня чутливості мікробів до антибактеріальних препаратів впливає на вибір антибіотика (наприклад, відмова від ліків з високою токсичністю при помірному ступені чутливості збудника до них), його дозування (концентрація антибіотика в крові має в 2–3 рази перевищувати його мінімальну інгібуючу концентрацію по відношенню до збудника) і режиму введення. Крім того, її кількісне визначення необхідне також для встановлення бактерицидної дії обраного препарату (як гарантії швидкого терапевтичного ефекту та безрецидивного перебігу) по відношенню до певного збудника [56].

Залежно від об'єму середовища, яке використовують, розрізняють метод серійних макро- та мікророзведень [56].

У випадку методу макророзведень тестування проводиться в кінцевому об'ємі 1 см<sup>3</sup>. Ріст культури порівнюють із референтною пробіркою («негативний контроль»). Тобто, у пробірці з чистим бульйоном, бульйон має залишатись прозорим. У пробірці з бульйоном та культурою має бути ріст мікроорганізму. У пробірках з бульйоном, культурою та АБП бульйон має бути прозорим, що свідчить про дію АБП. МІК визначається як найменша концентрація АБП, яка інгібує видимий ріст бактерії. Відсутність росту бактерій в усіх пробірках, крім контрольної, свідчить, що МІК препарату нижча, ніж та, що використовується в досліді [56].

Перевагами методу є низька похибка результатів, зручність роботи з великими об'ємами, простота виконання та легка інтерпретація результатів. Недоліками методу макророзведень є низька продуктивність, що обмежує використання цього методу у випадках оцінки чутливості культур

мікроорганізмів одиничних штамів. Також потрібно готувати ряд пробірок із розведеннями, що потребує значного витрачання розхідних матеріалів [56].

У методі мікророзведень тестування проводиться в кінцевому об'ємі 0,25 см<sup>3</sup> та менше, що дозволяє значно скоротити кількість розхідних матеріалів. Інтерпретація результатів проводиться візуально або спектрофотометрично шляхом порівняння росту мікроорганізмів у присутності АБП з ростом культури у лунці без АБП. У лунках із чистим бульйоном, бульйон має залишатися прозорим в усіх лунках. У лунках із бульйоном та культурою повинен бути ріст мікроорганізму в усіх лунках. У лунках із бульйоном, культурою та АБП бульйон має бути прозорим, що свідчить про дію АБП. За мінімальну інгібуючу концентрацію приймають мінімальну концентрацію, яка забезпечує повне пригнічення видимого росту тест-мікроорганізму у лунках [56].

Перевагами методу мікророзведень є висока продуктивність, економічність, можливість зберігання заздалегідь підготовлених планшет, легка модифікація для виготовлення тест-систем. Недоліками методу є трудомісткість, людський фактор – відповідальність та акуратність того, хто проводить дослідження, а також наявність у лабораторії багатоканальних дозаторів та стерильних 96-лункових планшетів [56].

Дифузійні методи визначення чутливості основані на проникненні (дифузії) АБП у щільне поживне середовище та пригніченні видимого росту мікроорганізмів у тій зоні, де концентрація АБП більша, ніж МІК [56].

Вірогідність результатів забезпечується шляхом стандартизації проведення тесту на всіх етапах дослідження: вибір і виготовлення живильних середовищ із урахуванням усіх властивостей тест-мікроорганізмів, виготовлення і розливання посівного матеріалу на поверхню агару, вибір дисків, кількість дисків на чашці і т. д. [56].

Розрізняють диско-дифузійний метод та метод Е-тесту.

При застосуванні диско-дифузійного методу як носій АБП використовують паперовий диск (діаметр 6 мм). Цей метод заснований на



здатності дифундувати з диска в агар із культурою мікроорганізмів та пригнічувати їхній ріст. Виникнення зони пригнічення відбувається за рахунок дифузії АБП із носія у щільне поживне середовище. Визначені значення діаметра зони затримки росту зворотно пропорційні МІК. Діаметр зони затримки росту визначають з точністю до 1 мм. При вимірюванні зони затримки потрібно орієнтуватися на зону повного пригнічування росту. При інтерпретації результатів на дуже дрібні колонії, які є у межах зони затримки росту, а також на дрібний наліт по краях зони зазвичай уваги не звертають [56].

Нині замість класичного (вихідного) методу частіше застосовують модифікацію, запропоновану Кірбі і Бауером та визнану стандартним тестом. Після посіву тест-культури на агар наносять диски з фільтрувального паперу, просочені різними антимікробними препаратами (як правило, використовують комерційні зразки, що містять відомі концентрації). Після інкубації при  $37\pm 0,3^{\circ}\text{C}$  протягом 20–24 годин проводять визначення діаметра зони гальмування росту. Розміри зон, отримані в досліді, порівнюють з величинами зон затримки росту, зазначеними в інструкціях, які додаються до дисків, після чого виділені мікроорганізми відносять до чутливих, помірно чутливих або резистентних [56].

Перевагами методу є простота у виконанні, економічність, можливість визначати чутливість до кількох АБП одночасно. Тому їх частіше застосовують на практиці для епідеміологічного контролю резистентності. Недоліком методу дисків є те, що цей метод дозволяє лише опосередковано судити про значення МІК [56].

Е-тест являє собою вузьку смужку полімеру ( $0,5\times 6$  см), на яку нанесений градієнт концентрацій (від мінімальних до максимальних). Інгібування росту мікроорганізму біля смужки відбувається у тій зоні, де концентрація АБП вища, ніж МІК. При цьому утворюється зона затримки росту у формі краплі. МІК враховують там, де зона затримки впритул підходить до носія. Перевагами методу є наявність на одній смужці різних концентрацій АБП, а також економічність розхідних матеріалів. Недоліками методу є те, що він є якісним

методом і дозволяє встановити лише факт чутливості або резистентності збудників інфекції [56].

З усього вищенаведеного можна зробити висновок, що найефективнішими та найпоширенішими є методи мікророзведень та диско-дифузійний [56].

Тому у своїй роботі при дослідженні антибіотикочутливості 184 новосинтезованих модифікованих поліакцепторних сполук ми використовували саме ці 2 методи.

#### **1.4. Напрями створення нових препаратів із антибактеріальною активністю**

На сьогодні відомо більше 1000000 природних сполук. Більшість із них (50–60%) виділено з рослин, а 5% мають мікробне походження. За сучасними оцінками, від 25000 до 30000 природних сполук виявляють антибіотичну активність. Виділено понад 13000 антимікробних, протипухлинних і антивірусних сполук рослинного походження, а також близько 7000 антибіотичних сполук, які утворюються різними тваринними організмами, насамперед морськими (губки, кишковопорожнинні, покривники, молюски тощо). Близько 1700 природних сполук мікробного походження виявляють антибіотичну активність. Актиноміцети утворюють 45% з відомих біоактивних мікробних сполук (насамперед представниками роду *Streptomyces.*), гриби – 38 %, а бактерії – 17 %. Антибіотики актиноміцетного походження становлять більшість і серед тих, що використовуються у медицині, ветеринарії та сільському господарстві [57–60].

Пошук нових антимікробних сполук і препаратів ведеться і серед відомих класів речовин із метою одержання більш активних шляхом хімічної модифікації молекул сучасних засобів, комбінації антибіотиків, які широко використовуються у клінічній практиці, серед речовин природного походження [61–63].

Наприклад, пошук нових біологічно активних речовин з ряду похідних 1,4-нафтохінону та 9,10-антрахінону ведеться протягом багатьох років як за

кордоном, так і в Україні. За цей час було виявлено значну кількість похідних 1,4-нафтохінону, які проявляють бактерицидну [64–69], фунгіцидну [70, 71] дію, можуть використовуватися як засоби захисту рослин [72, 73]. Були відзначені похідні 1,4-нафтохінону з протівірусною [74], протитуберкульозною [75], антибіотичною [76], антималярійною [77], протипухлинною [78–82] активністю.

Варто відзначити, що з 90-х років минулого століття не припиняються систематичні спроби поєднувати в одній низькомолекулярній структурі дві якості – антибактеріальну та імуномодулювальну активність. Поки що найбільш вдалим результатом такого цілеспрямованого пошуку вважається цефодизим. На основі цефалоспоринової структури отримано лікарський препарат, що діє (на клітинному рівні) на дві мішені – бактерію і фагоцит. Цей препарат має антибактеріальний та імуностимулювальний ефект [83–85].

Шляхами пошуку нових лікарських засобів є:

- 1) хімічний синтез препаратів;
- 2) одержання препаратів з лікарської сировини й виділення окремих речовин;
- 3) виділення лікарських речовин, що є продуктами життєдіяльності грибів і мікроорганізмів;
- 4) біотехнологія (клітинна і генна інженерія).

Синтез нових сполук має певні переваги відносно інших підходів до пошуку антимікробних засобів. Це менш витратний шлях, він не потребує ідентифікації діючих речовин у разі встановлення такого виду активності, на протипагу сполукам біологічного походження (рослини, гриби, бактерії тощо), дозволяє отримати значну кількість похідних та ін. Разом із тим на самому початку досліджень він має емпіричний характер, і тільки після вивчення залежності активності від хімічної структури можливий цілеспрямований синтез сполук антимікробної дії. Нині пошук таких речовин здійснюється серед різних хімічних класів у різних країнах, у тому числі і в Україні [86, 87].

Сьогодні ведеться інтенсивний пошук нових сполук з антимікробною активністю серед різних хімічних класів. Отримані результати дозволяють твердити, що такий шлях пошуків у цілому перспективний і може привести до розробки принципово нових синтетичних препаратів.

Необхідно підкреслити, що, незважаючи на нагальну потребу у нових антимікробних засобах, обумовлену появою штамів мікроорганізмів, резистентних до сучасних хіміотерапевтичних препаратів, розробка лікарських форм та впровадження їх у клінічну практику вкрай недостатні. Це стосується не тільки синтетичних сполук, а й речовин біологічного та напівсинтетичного походження [88].

Таким чином, незважаючи на значну потребу, фармацевтичні фірми знизили інтенсивність розробки нових антимікробних засобів. Ця ситуація цілком зрозуміла, оскільки антибіотики мають невисоку рентабельність внаслідок швидкого терапевтичного ефекту (використовуються лише декілька діб), а розробка препаратів і впровадження їх у практику потребує значних коштів та тривалого часу (до 10 років і більше). Ця проблема потребує державного втручання та цілеспрямованого фінансування наукових досліджень, спрямованих на пошук нових антимікробних засобів, у тому числі і в Україні. Доречно зазначити, що в США щорічно витрачається 7–9 млрд дол. на пошук нових хімічних речовин із різними видами фармакологічної активності [89].

У 2001 р. ЄС розробив «Загальну стратегію проти антимікробної резистентності» («Community strategy against antimicrobial resistance»). В рамках цієї стратегії у 2002 р. стартувала «Шоста Рамочна програма» («6th Framework programme») із загальним бюджетом 17,5 мільйонів €. Згідно з цією програмою, перспективними шляхами пошуку нових антимікробних речовин є подальший скринінг природних продуктів та модифікація «старих» хімічних структур [90].

Сьогодні загальноновизнаною є ідея, що кардинально підвищити ефективність антибіотикотерапії можна лише впровадивши нові антибіотики тих класів, які раніше не використовувалися, або тих, що використовувалися

дуже рідко. Тому пошук нових антибіотиків і модифікація уже відомих з метою їх удосконалення є одним із основних напрямів сучасної біотехнології.

### **1.5. Характеристика класів гетероциклічних сполук як потенційних протимікробних препаратів**

Гетероциклічні сполуки – це органічні сполуки циклічної будови, де в одній або декількох ланках циклу атом вуглецю замінено на інші атоми. Гетероциклічні сполуки поділяють за розміром циклу, за природою гетероатома, а також за кількістю гетероатомів. Найбільш своєрідними гетероциклічними сполуками є ароматичні. В ароматичних гетероциклах гетероатом віддає один валентний електрон (в шестичленних циклах) або неподілену електронну пару (в п'ятичленних) [91].

Залежно від природи гетероатома розрізняють кисне-, азото- та сірковмісні сполуки. Існують і сполуки, у складі яких є одночасно кілька однакових (діоксан) або різних гетероатомів (тіазол, оксазин).

Крім того, їх поділяють на насичені сполуки (піперидин) і ненасичені, тобто які містять кратні зв'язки (фуран, піридин, тіофен) [92, 93].

Залежно від кількості циклічних фрагментів у молекулі розрізняють моноядерні моноциклічні сполуки і поліядерні – містять кілька циклів, причому цикли можуть бути конденсовані (індол) або поєднані простим зв'язком (біпіридил) [92, 93].

Залежно від кількості гетероатомів розрізняють:

- тричленні (азиридин, оксисен та ін.);
- чотиричленні (азитидин, окситан, тієт);
- п'ятичленні (піролідин, фуран, тетрагідротіофен);
- шестичленні (піридин, тетрагідропіран);
- семичленні (азепан, оксипан, тієпін) [92, 93].

Гетероциклічні сполуки мають велике біологічне значення. Наприклад, 2-оксоазетидиновий фрагмент ( $\beta$ -лактамний цикл) входить до складу  $\beta$ -лактамних антибіотиків, таких як пеніциліни, цефалоспорини, карбопенени та монобактами. Багато природних та синтетичних гетероциклічних сполук

використовують як лікарські речовини (хінін, морфін, акрихін, пірамідон) [94–96].

У дисертаційній роботі досліджувалися гетероциклічні сполуки класів моноциклічних триазинів, трициклічних триазинів, хінолонів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, полізаміщених акридонів, незаміщених феназинів, незаміщених тіоксантонів та амідів пропанкарбонової кислоти.

Природні поліциклічні гетероароматичні сполуки та їх синтетичні аналоги, у тому числі і карбонові кислоти та їх похідні, як правило, мають множинну біологічну активність [97, 98].

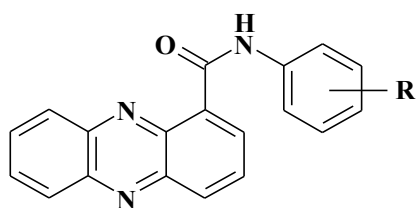
Похідні феназин-1-карбонової кислоти (ФКК-1) проявляють як протипухлинну [91–94], так і антибактеріальну активність [94], у тому числі антимікобактеріальну та антималярійну [95]. Похідні акридон-4-карбонової кислоти проявили себе як дієві протипухлинні сполуки [101, 103], ефективні препарати, що ліквідують мультидрагрезистентність клітин [100], інгібітори реплікації вірусу гепатиту С та інших вірусів [100, 101], сполуки, що мають антималярійну активність.

Дослідження впливу природи та положення замісників на протипухлинну активність карбоксамідів феназин-1-карбонової кислоти показали, що заміщення 9 положення збільшує активність сполук більш як у 100 разів [100] порівняно з незаміщеними карбоксамідами ФКК-1 [91].

Тоді як модифікація 3-го положення збільшує активність лише в 10 разів, а введення замісників в інші положення або не впливає на активність, або збільшує її в 2–3 рази. Найефективнішим у більшості випадків виявилось введення метильної групи та хлору [91].

Інформація щодо антибактеріальних та антивірусних властивостей синтетичних похідних трициклічних гетероароматичних карбонових кислот (ТГКК) досить обмежена.

Синтетичні ариламіді незаміщеної ФКК-1 (рис. 1) продемонстрували досить ефективне пригнічення ряду патогенних бактеріальних культур, а саме *Micrococcus spp.*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *S. aureus* [94].



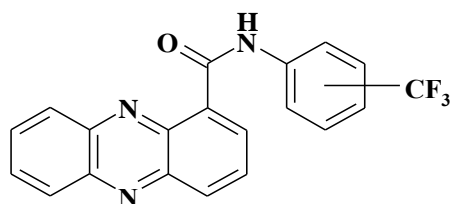
R = o, m, p - CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>

Зона затримки росту  
*Micrococcus* sp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *S. Aureus*  
 >25 мм

**Рис. 1.1. Структура ариламідів ФКК-1, яка проявляє антибактеріальну активність**

Та сама серія ариламідів ФКК-1 досліджувалася проти дикого штаму *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* та ряду її резистентних штамів [94, 95].

Ефективність зазначених сполук за показниками МІК спостерігалася на рівні відомих протитуберкульозних препаратів ізоніазиду та рифампіцину. Найефективнішими виявилися ариламідні ФКК-1 з трифторметильною групою у різних положеннях ариламідного фрагмента (рис. 1), до яких були чутливими майже всі досліджувані штами *M. tuberculosis* [100].



Використані штами АТСС:  
 H37Rv 27294, PZA-R 35828, STR-R 35820,  
 RIF-R 35838, INH-R 35822  
 МІК = 0,39-3,12 μМ

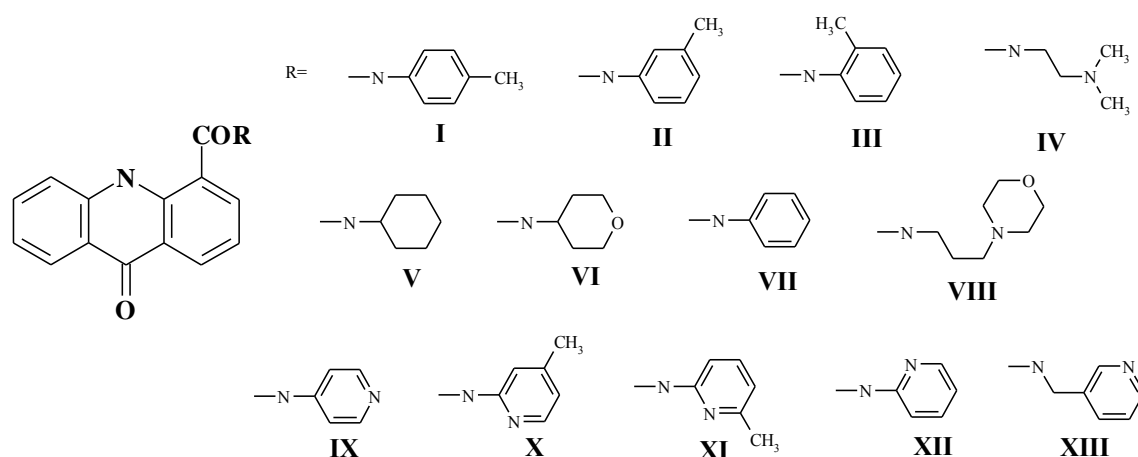
**Рис. 1.2. Структура ариламідів ФКК-1, яка проявляє антимікобактеріальну активність**

Слід підкреслити, що антимікобактеріальна активність представлених ариламідів ФКК-1 значно перевищує таку для вихідної ФКК-1.

Автори дослідження вважають, що однією з мішеней для цих сполук можуть бути бактеріальні РНК-синтезуючі комплекси, оскільки ариламідні ФКК-1 вірогідно інгібують транскрипцію ДНК-залежної РНК-полімерази фага Т7 (ДзРп Т7) *in vitro*.

Також досліджувалася активність амідів акридон-4-карбонової кислоти (рис. 2) щодо вірусу гепатиту С (ВГС) [100].

Встановлено, що ариламиди акридон-4-карбонової кислоти ефективно блокують функціонування реплікону ВГС (рис. 3). Високу активність проявили піриламиди, а найефективнішим у цій серії виявився ортопіридиламід – сполука XII за відсутності значної токсичності [94].



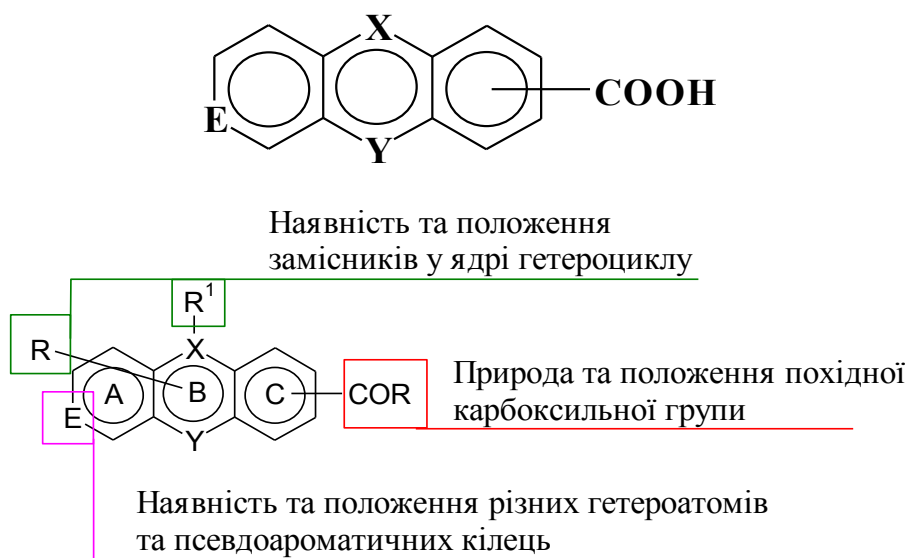
№	EC <sub>50</sub> , μM (IS)	№	EC <sub>50</sub> , μM (IS)	№	EC <sub>50</sub> , μM (IS)
I	>100 (-)	VI	>100 (-)	XI	11,1 (3,5)
II	5,6 (1)	VII	12,9 (7,1)	XII	10,2 (40,5)
III	14,9 (5,2)	VIII	>100 (-)	XIII	4,3 (2,4)
IV	>100 (-)	IX	9,0 (19,4)	4'-azacitidine	1,4 (>200)
V	>100 (-)	X	6,5 (1,1)		

**Рис. 1.3. Анти ВГС активність амідів акридон-4-карбонової кислоти**

Систематизувати підходи до синтезу ТГКК доволі важко, адже для їх синтезу використовують методи, що включають різні шляхи. Так, уведення карбоксильної групи може відбуватися як до створення трициклічної системи, так і після формування трициклу. Сама трициклічна система може бути створена як з виділенням проміжної сполуки (з двома моноциклічними фрагментами), так і прямим синтезом трициклічного остову. «Бокові» та «центральне» кільця можуть бути ароматичними під час створення



трициклічної системи або ж ароматизуватися після її створення. Також самі трициклічні системи можуть піддаватися модифікаціям, таким як окиснення чи декарбоксілювання, для синтезу шуканих сполук. На рис. 4 та 5 наведена загальна структура ТГКК і ключові точки, від яких залежать підходи до синтезу того чи іншого гетероциклу [102].

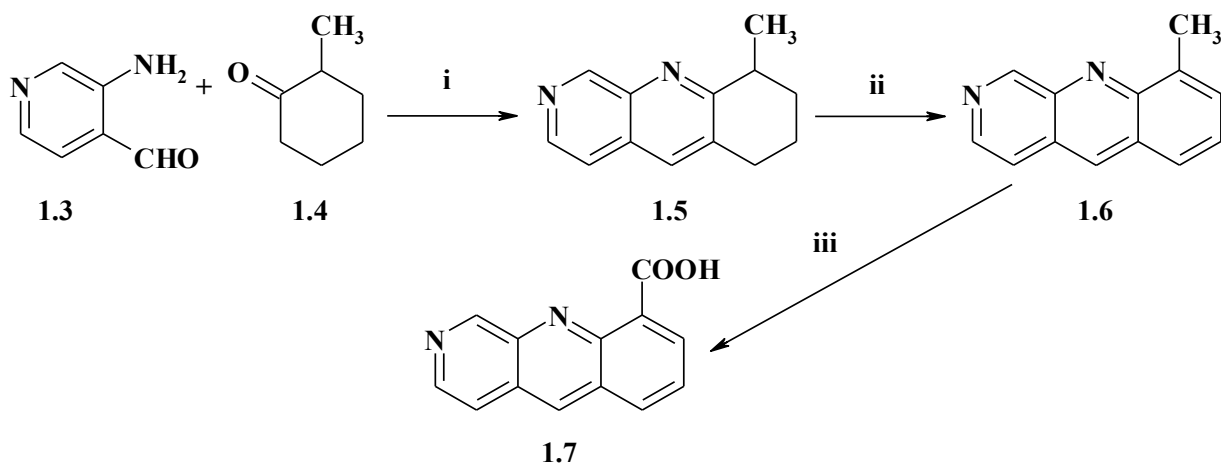


**Рис. 1.4.** Зображення ключових фрагментів, від яких залежить тип та ефективність біологічної активності похідних ТГКК

Зазвичай дослідники намагаються синтезувати трицикли з уже введеною карбоксильною групою. Коли ж такий підхід неможливий або недоцільний, карбоксильну групу вводять у вже синтезований трицикл, різними шляхами [103].

Найбільш поширеним методом введення карбоксильної групи є окиснення метильної групи. Такий підхід було використано для синтезу ... (1.7) (рис. 5). [103].

Також у цьому випадку проводилася модифікація одного трициклу (1.5) в інший (1.6) шляхом ароматизації, а сама трициклічна система була отримана за один етап з двох моноциклічних фрагментів (1.3, 1.4), причому обидва зв'язуючі атоми «X» та «Y» містилися в одному гетероциклі (1.3) [103].



**Рис. 1.5. Схема синтезу трициклічної системи**

Похідні акридину – відомі антимікробні засоби, дія яких обумовлена інактивацією ДНК. Їхня активність ґрунтується на здатності зв'язуватись із нуклеїновими кислотами, що обумовлює вплив на епісомальні генетичні елементи бактерій [104].

Різноманітні похідні акридину вже використовуються як медичні, ветеринарні препарати, барвники та аналітичні реагенти [105].

Зважаючи на широкий спектр біологічної активності гідроксипохідних хіноліну, хімія цієї групи сполук набула значного розвитку [106].

Нині явище полірезистентності мікроорганізмів до антибіотиків набуло небезпечного значення. У розвинутих країнах світу постійно триває пошук заходів захисту від полірезистентності до антибактерійних препаратів, у тому числі підтримується розробка нових ліків, радикально відмінних від існуючих антибіотиків [107].

Похідним 1,3-тіазину притаманні різні види біологічної активності. Вони можуть використовуватися як пестицидні препарати, так і як лікарські (протисудомні, анагетичні, протипухлинні та антибактеріальні) засоби. У зв'язку з цим пошук нових методів синтезу і дослідження фізіологічної активності конденсованих гетероциклів, які містять 1,3-тіазинове кільце, є перспективним напрямом у сучасній органічній хімії та фармації [108].

Пошук нових біологічно активних сполук є вагомим стимулом розвитку та удосконалення основних методів органічної хімії і привертає увагу багатьох

дослідників у всьому світі. Одним із класів органічних сполук, які мають практичну значущість, є азотисті гетероцикли, серед яких можна виділити моноциклічні та конденсовані 1,2,4-триазини [108–119].

1,2,4-Триазини мають широкий спектр корисних властивостей, їхньому синтезу присвячена велика кількість оглядів та монографій [108–119]. Так, моноциклічні 1,2,4-триазини добре зарекомендували себе як реагенти в аналітичній хімії, гербіциди («Голтикс-700»), протисудомні препарати («Ламотриджин»). У низьці конденсованих 1,2,4-триазинів знайдені сполуки, які мають різні види біологічної активності: анагетичну активність [120], антифламаторну та антиперитичну дію [121], виявляють протитромбозний ефект [122], мають діуретичні властивості [123], анти-ВІЛ активність [124–130] та вираженупротипухлину дію, зокрема, антилейкімічну [131, 132].

Тіоксантони є вихідними речовинами для синтезу сполук ряду тіоксантену. Сам тіоксантон отримують з виходом до 90 % при обробці тіосаліцилової кислоти бензолом та концентрованою сірчаною кислотою [133].

Аміди кислот — похідні кислот, в яких гідроксильна група ОН заміщена аміногрупою  $\text{NH}_2$ . Використовують аміди кислот у виробництві синтетичних волокон, лікарських препаратів тощо [134].

Хінолони – група антибактеріальних препаратів, яка також включає фторхінолони. Хінолони являють собою групу синтетичних антимікробних препаратів, що мають бактерицидну дію [135].

Для фторхінолонів характерні такі загальні властивості:

1. Препарати цієї групи інгібують життєво важливий фермент мікробної клітини ДНК-гіразу (топоізомераза II типу), яка забезпечує суперспіралізацію та ковалентне замикання молекул ДНК. Блокада ДНК-гірази призводить до роз'єднання ниток ДНК та, відповідно, до загибелі клітини (бактерицидна дія). Вибірковість антимікробної дії фторхінолонів пов'язана з тим, що у клітинах макроорганізму відсутня топоізомераза II типу.

2. Для фторхінолонів характерним є широкий спектр антибактеріальної дії. Вони проявляють дію по відношенню до грампозитивних та

грамнегативних коків, кишкової палички, сальмонел, шигел, протею, клебсіел, хеліктобактерій та синьогнійної палички. Окремі препарати (ципрофлоксацин, офлоксацин, ломефлоксацин) діють на мікобактерії туберкульозу. До фторхінолонів не чутливі спірохети, лістерії та більшість анаеробів.

3. Для препаратів цієї групи характерним є виражений постантибіотичний ефект.

4. Резистентність мікрофлори до фторхінолонів формується досить повільно.

5. Фторхінолони створюють високі концентрації у крові та тканинах при внутрішньому застосуванні. До того ж їх біодоступність не залежить від прийому їжі.

6. Фторхінолони добре проникають у різні органи та тканини: легені, нирки, кістки та ін. [136].

Мішенню дії хінолонів є бактеріальні топоізомерази – топоізомераза IV та ДНК-гіраза, ферменти, які здійснюють зміну просторової конфігурації молекули ДНК на різних етапах її реплікації [137].

Модель дії хінолонів можна розглянути на прикладі зв'язування ципрофлоксацину з комплексом ДНК-гіраза. Хінолони, маючи низьку афінність до вільних молекул топоізомерази або ДНК, виявляють високу спорідненість до комплексу ДНК-фермент. Ділянка зв'язування хінолонів з комплексом ДНК-фермент отримала назву «хінолонова кишеня». Необхідно підкреслити, що у формуванні «хінолонової кишені» беруть участь усі субодиниці ферменту молекули ДНК. Після попадання хінолонів у кишеню просування ДНК-гірази вздовж молекули зупиняється, а потім зупиняється і просування реплікаційної розвилки. У результаті відбувається зупинка всього процесу реплікації. Крім зупинки процесу реплікації, в силу не зовсім з'ясованого механізму виникають розриви дволанцюжкових молекул ДНК, з якими пов'язують летальний ефект хінолонів [137].

Основним механізмом стійкості до хінолонів є зниження афінності препаратів до комплексу ДНК-фермент. Цей процес відбувається у результаті

спонтанних мутацій, що призводять до амінокислотних заміни у поліпептидних ланцюгах ДНК-гірази чи топоізомерази IV. Для зниження афінності до хінолонів значення мають лише мутації, що виникають на ділянках поліпептидних ланцюгів, які входять до складу хінолонової кишені. Ділянки отримали назву «область, детермінуючу стійкість до хінолонів». Розмір цієї області у субодиниці A ДНК-гірази кишкової палички становить близько 40 амінокислот. При цьому заміни деяких амінокислот призводять до найбільш вираженого зниження афінності і, відповідно, до максимального зниження чутливості [137].

Однак, дослідження у цьому напрямі активно продовжуються, оскільки розвинута біотехнологія дозволяє сьогодні постійно розширювати перелік новостворених препаратів.

Враховуючи вищенаведене, пошук та створення високоефективних комбінованих антибактеріальних препаратів є актуальним практичним та соціальним завданням, оскільки це удосконалив стратегію антибактеріальної терапії із урахуванням динаміки утворення резистентності.

#### **1.6. Етапи тестування нових хімічних сполук при створенні хіміотерапевтичних засобів ( у т.ч. антибактеріальних)**

Нині не існує універсального підходу до експериментальної оцінки антибактеріальної дії хіміопрепаратів [124].

Як правило, попереднє наукове тестування препаратів складається із двох етапів, перший з яких – це дослідження *in vitro* (доклінічні дослідження), а другий – *in vivo* (на лабораторних тваринах) [125].

Дослідження *in vitro* зазвичай проводяться на культурах клітин, оскільки вони є найбільш вдалою моделлю для аналізу дії хіміопрепаратів. За допомогою цієї моделі можна визначити прямий чи опосередкований ефект. На цьому етапі досліджень застосовуються методи, які дозволяють виявити властивості у діапазоні концентрацій, що не сприяють прояву цитотоксичного ефекту для тієї чи іншої біологічної моделі [126, 127].

Після проведення доклінічних досліджень встановлено, що перспективними для подальших досліджень є сполуки, що проявляють антибактеріальні властивості у концентраціях, які є нетоксичними для культур клітин.

При проведенні клінічних досліджень (*in vivo*) використовують різні показники токсичності – гостру токсичність (визначають LD<sub>50</sub>), підгостру токсичність. LD<sub>50</sub> – середня доза речовини, яка спричиняє загибель 50 % тварин досліджуваної групи. Визначення гострої токсичності є етапом для одержання інформації щодо безпечності (або небезпечності) препарату (засобу) з урахуванням клінічних та морфологічних змін в організмі лабораторних тварин за умови прийому великих доз [126, 127].

Дослідження ж підгострої токсичності передбачає одержання даних щодо токсичної дії речовини внаслідок уведення її до тест-системи (лабораторної тварини) протягом обмеженого часу.

Зазвичай для досліджень (*in vivo*) використовують наступну схему:

1) взяття крові від піддослідних тварин до початку досліджень для морфологічних та біохімічних досліджень;

2) проведення досліджень із застосуванням лабораторним тваринам першої дослідної групи антибактеріального препарату, що вичається, другої – антибіотика у тих же концентраціях, що і досліджуваний антибактеріальний препарат;

3) щоденне клінічне дослідження піддослідних тварин;

4) взяття крові від піддослідних тварин на 7-му та 14-ту добу після проведеного дослідження для морфологічних та біохімічних досліджень [126, 127].

На цьому етапі досліджень за тваринами спостерігають упродовж 14 днів, протягом яких ураховують загальний стан (стан волосяного покриву, слизових оболонок, прийом корму і води та ін.), поведінку, наявність симптомів інтоксикації, можливу загибель, а також оцінюють стан місця введення препарату. Крім того, щоденно, протягом усього етапу досліджень, реєструють

масу тіла дослідних тварин (за 1 день до та на 4-й, 7-й, 14-й дні після введення сполук). На 7 та 14 добу досліджень у тварин відбирають кров для біохімічних та клінічних досліджень у кількості  $0,5 \pm 0,003 \text{ см}^3$ . Після 14 діб роблять патологоанатомічний розтин для виявлення патоморфологічних змін. Для цього відбирають зразки (проби) з органів (печінка, легені, селезінка, нирки, серце, м'язова тканина) та роблять макро- і мікроскопічні дослідження з метою визначення патологічних змін [126, 127].

На моделях лабораторних тварин критеріями оцінки ефективності препарату є ступінь захисту (%), середня ефективна доза  $ED_{50}$  за показником виживання, середня тривалість життя тварин та хімотерапевтичний індекс (ХТІ) хімотерапевтичний індекс.  $ED_{50}$  – це величина добової дози препарату (мг/ОД), яка забезпечує захист 50 % тварин. Показник ХТІ чисельно виражається відношенням  $LD_{50}$  до  $ED_{50}$  [128, 129].

### **1.7. Висновки щодо огляду літератури та обґрунтування напрямів досліджень**

Аналізуючи дані літератури, можна дійти висновку, що проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів дуже поширена у світі і в Україні. Ця проблема існує як у ветеринарній, так і у гуманній медицині.

Основними методами боротьби з антибіотикорезистентністю є:

- раціональне використання антибіотиків та АБП у клінічній практиці;
- пошук та синтез нових препаратів синтетичного та природного походження із антибактеріальною дією;
- хімічна трансформація молекул уже відомих антибіотиків та АБП.

Тому роботи, пов'язані зі скринінгом антибактеріальних препаратів є надзвичайно актуальними.

Для вивчення антибактеріальної активності хімічних речовин, що досліджувалися нами, були обрані як тест-об'єкти культури грампозитивних мікроорганізмів (*Erysipelothrix rhusiopathiae* VR-2, *Staphylococcus aureus* P 209, *Streptococcus pyogenes* та *Bacillus anthracis* СБ) та культури грамнегативних мікроорганізмів (*Escherichia coli* 1257, *Salmonella typhimurium* 144, *Klebsiella*

*pneumoniae* K-56N 3534/51 та *Pasteurella multocida* № 115), а також культури клітин (Vero, ВНК-21, HeLa). Відібрані мікроорганізми утворювали рівномірний ріст у живильному середовищі та належали до різних таксономічних груп. Відібрані культури клітин утворювали рівномірний моношар клітин та належали до різних видових ліній. Такий вибір культур мікроорганізмів та культур клітин забезпечував різноманіття та цікавість для наукових досліджень.

Після літературного та патентного пошуку були вибрані нові хімічні речовини, що належать до різних класів та є різними за хімічною структурою, і що можуть бути застосовані як антибактеріальні препарати. Дослідження антибактеріальних властивостей цих хімічних сполук дозволять розширити арсенал резерву нових лікарських засобів в антибактеріальній терапії, а також слугуватимуть підґрунтям для пошуку нових лікувальних засобів при антибактеріальних інфекціях.



## **РОЗДІЛ 2**

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Дослідження проводили на базі Державного науково-контрольного інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів, (м. Київ) впродовж 2011–2014 рр.

Хімічні сполуки були отримані від відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології та генетики НАН (м.Київ).

Культури клітин отримували із колекції Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (м.Київ).

Культури мікроорганізмів були отримані із колекції Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (м.Київ).

Польові ізоляти мікроорганізмів були люб'язно надані ТОВ «СмартБіоЛаб» (м. Харків).

#### **2.1. Матеріали**

##### **2.1.1. Хімічні сполуки**

Хімічні сполуки представлені гетероциклічними речовинами класів моноциклічних триазинів, хінолонів, трициклічних триазинів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, незаміщених тіоксантонів, заміщених феназинів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів.

Сполуки для досліджень відбирались за наступними критеріями:

- сполуки мають пептидний зв'язок для можливості зв'язування з пептидами;
- сполуки є аналогами природних сполук;
- сполуки є естерами (складними ефірами) природних метаболітів;
- сполуки є стійкими при нагріванні.

Усі хімічні сполуки були новосинтезованими та досліджувалися вперше. Речовини отримували у вигляді порошку із залишковим вмістом

вологи 2–3 %. Речовини мали різне забарвлення, виходячи із їх хімічної формули.

Як розчинник використовували диметилсульфоксид (ДМСО, 99–98 %) двох виробників – «Sigma» та «Calbiochem». При кожному досліді, поряд з установленням антибактеріальної дії досліджуваних речовин, перевіряли інгібуючу дію ДМСО, яка не була виявлена. Також у кожному досліді перевіряли інгібуючу дію антибіотика «Норфлуксацин».

Повний перелік хімічних сполук наведено у додатку Б.

### **2.1.2. Розчинники**

У процесі хімічних сполук, що вивчалися, для їхнього розчинення проводився підбір оптимальний розчинник за розчинними та цитотоксичними властивостями.

Пошук проводився серед таких розчинників:

1. Вода дистильована (ДНКІБШМ)
2. Етиловий спирт, 95° (ТОВ «ВФК «БІО-ФАРМА ЛТД»)
3. Хлороформ, ЧДА (ООО «ННП «УКРОРГСИНТЕЗ»)
4. Ацетон, ЧДА (ООО «Компанія «Хімком»)
5. Діоксан («SkyLab»)
6. Етилацетат, ХЧ («ООО «Флюгер»)
7. ДМФА («Sigma-Aldrich»)
8. ДМСО («Sigma» та «Calbiochem»)

### **2.1.3. Культури мікроорганізмів**

Для досліджень антибактеріальних властивостей новосинтезованих речовин використовували стандартні тестові культури грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

Відбір культур мікроорганізмів для досліджень проводився за такими критеріями:

- мікроорганізми різних таксономічних груп (грампозитивні та грамнегативні, спороутворювальні та споронеутворювальні, коки, паличкоподібні і т.д.);
- мікроорганізми, які найчастіше виділяють з патматеріалу;
- наявність резистентності в окремого мікроорганізму до АБП;
- наявність певного мікроорганізму у Національному центрі штамів мікроорганізмів (табл.2.1).

Таблиця 2.1

Перелік мікроорганізмів та їх характеристики

Назва мікроорганізму	Штам	Характеристика мікроорганізму
1	2	3
<i>Escherichia coli</i>	1257	Тестовий мікроорганізм для визначення активності антибіотичних речовин
<i>Salmonella typhimurium</i>	144	Еталонний штам, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського
<i>Pasteurella multocida</i>	№ 115	Виробничий штам, ВДНКІ ветпрепаратів
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	К-56N 3534/51	Еталонний штам, ДНДІ стандартизації та контролю медичних та біологічних препаратів ім. Л.А.Тарасевича
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	VR-2	Вакцинний штам
<i>Streptococcus pyogenes</i>		Еталонний штам, ДНДІ стандартизації та контролю медичних та біологічних препаратів ім. Л.А.Тарасевича
<i>Staphylococcus aureus</i>	Р 209	Тестовий мікроорганізм для визначення активності антибіотичних речовин
<i>Bacillus anthracis</i>	СБ	Тестовий мікроорганізм для визначення активності антибіотичних речовин
<i>Escherichia coli</i>		Польовий ізолят, Харківська обл., с. Андріївка
<i>Streptococcus</i>		Польовий ізолят, Сумська обл., смт. Миколіївка
<i>Staphylococcus</i>		Польовий ізолят, Харківська обл., с. Андріївка

1	2	3
<i>Pasteurella</i>		Польовий ізолят, Сумська обл., смт. Миколіївка

#### 2.1.4. Культури клітин

У дослідженнях для визначення цитотоксичної дії хімічних сполук, що вивчалися, використовували перещеплювані культури клітин [139–191].

Культури клітин, які використовували яктестові для визначення цитотоксичності препаратів, відповідали наступним вимогам:

- культура клітин була не контамінована бактеріальною, грибковою, вірусною мікрофлорою та мікоплазмами;
- ріст та розмноження клітин був рівномірним та стабільним із визначеним індексом проліферації;
- морфологія клітин відповідала наступним вимогам: відсутність зернистості та вакуолізації цитоплазми; відсутність вакуолізації ядер клітин; відсутність симпластів у моношарі;
- клітини мали рівномірний ріст та відповідали паспорту якості;
- клітини належали до різних видових ліній культур.

В результаті були відібрані культури клітин Vero, ВНК та HeLa (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

#### Характеристика культур клітин

Назва культури клітин	Клон	Характеристика культури клітин
1	2	3
Vero	14,5	Культура клітин нирок зеленої африканської мавпи. <u>Середовище культивування</u> . Середовище Ігла (90%), сироватка крові ВРХ (10%), рН 7,3-7,5.

		<p><u>Спосіб підтримання.</u> Вирощується як моношарова культура клітин. Культивування протягом 120 годин за температури <math>+35\pm 0,5^{\circ}\text{C}</math> в умовах <math>\text{CO}_2</math>-термостата при концентрації <math>\text{CO}_2</math> – 5 %.</p> <p><u>Морфологія.</u> Клітини фібробластоподібні.</p> <p><u>Середовище заморожування.</u> Ембріональна сироватка (95%) та ДМСО (5%).</p>
ВНК	21	<p>Культура клітин нирки сирійського хом'яка.</p> <p><u>Середовище культивування.</u> Середовище Ігла (90%), сироватка крові ВРХ (10%), рН 7,4-7,5.</p> <p><u>Спосіб підтримання.</u> Вирощується як моношарова культура клітин. Культивування протягом 120 годин за температури <math>+35\pm 0,5^{\circ}\text{C}</math> в умовах <math>\text{CO}_2</math>-термостата при концентрації <math>\text{CO}_2</math> – 5 %.</p> <p><u>Морфологія.</u> Клітини фібробластоподібні, з чіткими границями та гомогенною цитоплазмою.</p> <p><u>Середовище заморожування.</u> Ембріональна сироватка (95%) та ДМСО (5%).</p>
HeLa		<p>Культура онкоклетин шийки матки людини.</p> <p><u>Середовище культивування.</u> Середовище Ігла (90%), сироватка крові ВРХ (10%), рН 7,2-7,3.</p> <p><u>Спосіб підтримання.</u> Вирощується як моношарова культура клітин. Культивування протягом 120 годин за температури <math>+35\pm 0,5^{\circ}\text{C}</math> в умовах <math>\text{CO}_2</math>-термостата при концентрації <math>\text{CO}_2</math> – 5 %.</p> <p><u>Морфологія.</u> Клітини в основному епітеліоподібні</p> <p><u>Середовище заморожування.</u> Ембріональна сироватка (95%) та ДМСО (5%).</p>

## 2.1.5. Розчини

У процесі досліджень використовувалися допоміжні розчини, перелік та характеристика яких наведено у таблиці 2.3.

Таблиця 2.3.

Перелік допоміжних розчинів, що були використані у дослідженнях

Розчини	Марка, виробник	Норм. документ	Призначення
1	2	3	4
ДМСО	«Sigma», «Calbiochem» (США)	Сертифікат якості, ДФУ 2001, стор. 195	Для розчинення хімічних сполук
NaCl	ДП «Фарматрейд» (Україна)	ДФУ, 2001, стор. 236, Настанова по застосуванню	Для розведення суспензії мікроорганізмів до необхідного рівня каламутності
«Норфлоксацин» (серія 4, контроль 4)	«Alprovet» (Росія)	Настанова по застосуванню	Антибіотик як позитивний контроль
Перекис водню, 6%	ВАТ «Одесреакім» (Україна)	ДФУ, 2001, стор. 310, паспорт препарату, настанова по застосуванню	Для інактивування суспензій мікроорганізмів
Розчин KCl	ЗАТ "Інфузія" (Україна)	ГОСТ 4234-77; ДФУ, 2001, стор.214; Настанова по застосуванню	Для приготування барвника для фарбування культури клітин
Хлорамін Б, 3%	"Bochemie SRO" (Чехія)	Настанова по застосуванню	Для інактивування культур клітин, для дезінфекції
Гліцерин	«Макрохім» (Україна)	Сертифікат якості	Для заморожування культур клітин
0,02%-й розчин Версену	«Биолот» (Росія)	Сертифікат якості, настанова по застосуванню	Для відмивання культур клітин

1	2	3	4
40,25%-й розчин трипсину	«Укрмедіаснаб» (Україна)	Сертифікат якості, настанова по застосуванню	Для диспергування клітин
Розчин Хенксу	Новосибірський завод медичних препаратів (Росія)	Сертифікат якості, настанова по застосуванню	Для відмивання клітин перед трипсинізацією
Набір для забарвлювання за Грамом		Настанова по застосуванню	Для забарвлювання мікроорганізмів за Грамом
Вода дистильована	ДНКІБШМ	ГОСТ 6709-72	Для миття посуду та розчинення середовищ

### 2.1.6. Посуд

Для проведення досліджень використовувався пластиковий та скляний посуд. Перелік та характеристика посуду наведені у таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Перелік посуду, що використовували у роботі

Посуд	Марка, виробник	Норм. документ	Призначення
1	2	3	4
Чашки Петрі скляні	«Астралайф» (Україна)	ГОСТ 23932-90	Для культивування культур мікроорганізмів, для визначення антибіотико-чутливості

Продовження табл. 2.4.			
1	2	3	4
Градуйовані піпетки	«Sarstedt» (Німеччина)	ГОСТ 29227-91 (частина 1)	Для культивування культур клітин та мікроорганізмів
Пробірки типу «еппENDORF»	«Sarstedt» (Німеччина)	Настанова по застосуванню	Для наважок, розчинення хімічних сполук, для спектрофотометрії
Культуральні флакони різних об'ємів	«Sarstedt» (Німеччина)	Настанова по застосуванню	Для культивування культур клітин та визначення токсичної дії хімічних сполук
Пробірки скляні	«Simax» (Чехія)	ГОСТ 25336-82	Для вирощування культур мікроорганізмів
Планшети для імунологічних досліджень на 96 лунок	«Sarstedt» (Німеччина)	ISO 10993-5	Для визначення мінімальної інгібуючої концентрації хімічних сполук

### 2.1.7. Поживні середовища

Для культивування мікроорганізмів та культур клітин, а також для визначення дії хімічних сполук використовувалися поживні середовища, їх перелік та характеристика наведено у таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Перелік поживних середовищ, що були використані у дослідженнях

Назва середовища	Марка, виробник	Норм. документ	Призначення
1	2	3	4
Середовище Ігла (МЕМ)	ТОВ «НВФ Укрмедіалаб» (Україна)	Настанова на середовище	Для культивування культур клітин, визначення цитотоксичної дії хімічних сполук
Бульйон Мюллер-Хінтона	«HiMedia Laboratories Pvt Ltd» (Росія, Індія)	Настанова на середовище	Для культивування мікроорганізмів, для визначення чутливості хімічних сполук



Продовження табл. 2.5.			
1	2	3	4
Агар Мюллер-Хінтона	«HiMedia Laboratories Pvt Ltd» (Росія, Індія)	Настанова на середовище	Для культивування мікроорганізмів, для визначення дії хімічних сполук
Сироватка крові ВРХ	ННЦ «ЛЕКВМ» (Харків )	Сертифікат якості	Для культивування культур клітин, визначення цитотоксичної дії хімічних сполук

### 2.1.8. Обладнання

Дослідження проводили на метрологічно повіреному та відкаліброваному обладнанні (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

Перелік обладнання, що використовували у роботі

Обладнання	Марка, виробник	Норм. документ	Призначення
1	2	3	4
Термостат	АО "ГРПЗ" (Росія)	ТУ 64-1-1868-72; Паспорт на обладнання	Для культивування мікроорганізмів, для визначення дії хімічних сполук
Ваги	«Techniprot» (Польща)	ГОСТ 24104-2001; Паспорт на обладнання	Для зважування хімічних сполук
CO <sub>2</sub> -термостат	Memmert (Німеччина)	Паспорт на обладнання	Для культивування культур клітин, для визначення дії хімічних сполук
Нагрівач	«Термо 24-15», ООО «БИО-КОМ» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для підігріву та розчинення хімічних сполук
Ламінарний кабінет Biosafety 2	«ВІО» (Україна)	Паспорт на обладнання	Для проведення досліджень
Мікроцентрифуга	«Тета 2», ООО «БИОКОМ» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для розчинення хімічних сполук

Продовження табл. 2.6			
1	2	3	4
Автоклав	БК-75-01, ОАО «ТЗМОИ» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для стерилізації та інактивування
Інвертований світловий мікроскоп	Ulab XD-30T ООО «Хімлаборреактив» (Україна)	Паспорт на обладнання	Для мікроскопії культур клітин
Світловий мікроскоп	Микмед-1 ВАТ «ЛЮМО» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для мікроскопії культур мікроорганізмів
Холодильник	«Nord» (Україна)	Паспорт на обладнання	Для зберігання культур мікроорганізмів, культур клітин, живильних середовищ
Дозатор автоматичний	«Ленпипет» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для культивування мікроорганізмів та визначення дії хімічних сполук
Наконечники для дозатора	«Ленпипет» (Росія)	Паспорт на обладнання	Для культивування мікроорганізмів та визначення дії хімічних сполук
Дистилятор	Indesit (Італія)	Паспорт на обладнання	Для дистилювання води
pH-метр	«pH-150 M», РУП «Гомельский завод измерительных приборов», Республіка Білорусь	Паспорт на обладнання	Для визначення pH середовища, для культивування та визначення антибіотикочутливості мікроорганізмів

Дослідження проводили за шість етапів:

- підбір культур клітин та культур мікроорганізмів;
- підбір оптимального розчинника;
- первинний скринінг усіх досліджуваних речовин на культурах тестових грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів;

- встановлення мінімальної інгібуючої концентрації для речовин, які виявили активність при первинному скринінгу;
- перевірка цитотоксичності речовин, які виявили активність до досліджуваних культур мікроорганізмів;
- встановлення мінімальної інгібуючої концентрації для речовин, які виявили активність до досліджуваних культур мікроорганізмів, до польових ізолятів.

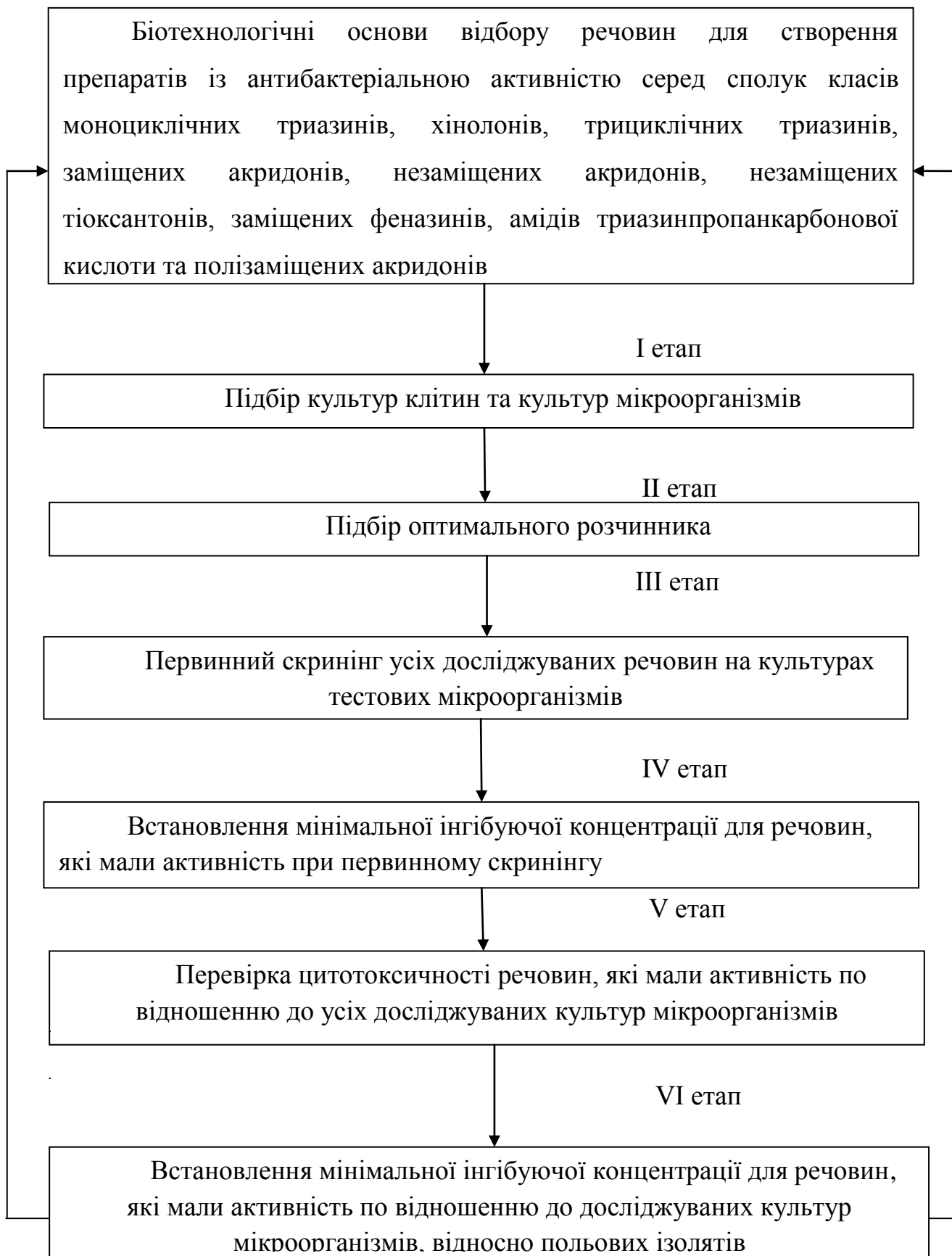


Рис. 2.1. Загальна схема дисертаційних досліджень

У роботі для встановлення дії хімічних сполук використовували бактеріологічні та цитологічні методи досліджень.

## 2.2. Бактеріологічні методи досліджень

У дослідженнях використовували наступні бактеріологічні методи:

- метод серійних мікророзведень;
- диско-дифузійний метод

Для культивування мікроорганізмів *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. multocida*, *K. pneumoniae*, *E. rhusiopathiae*, *B. anthrax*, а також польових ізолятів використовували бульйон Мюллер-Хинтона (МХБ).

### 2.2.1. Метод серійних мікророзведень

Метод оснований на визначенні мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Цей метод в роботі використовувався для проведення первинного скринінгу та для визначення МІК речовин, що досліджувалися.

МІК – мінімальна концентрація, яка пригнічує (інгібує) видимий ріст мікроорганізму у бульйонній культурі або на щільному поживному середовищі.

Принцип методу заснований на використанні десятикратних послідовних розведень концентрацій препаратів, які мають антибактеріальну активність.

Метод серійних мікророзведень застосовувався згідно зі стандартним протоколом, що був рекомендований МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания» [56].

Облік результатів проводили візуально. Залежно від значення МІК сполуки поділяли на:

- слабоактивні (значення МІК було  $0,41 \text{ мг/см}^3$ );
- середньоактивні (із значенням МІК  $0,041 \text{ мг/см}^3$ );
- високоактивні (із значенням МІК  $0,0041 \text{ мг/см}^3$  та  $0,00041 \text{ мг/см}^3$ ).

### 2.2.2. Диско-дифузійний метод

Диско-дифузійний метод був застосований за стандартним протоколом, рекомендованим МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности

микроорганізмів к антибактеріальним препаратам. Методические указания» [56].

Використовували диско-дифузійний метод для підтвердження антибактеріальної активності речовин.

### **2.3. Визначення цитотоксичної дії досліджуваних речовин**

Для культивування культур клітин Vero, HeLa та ВНК-21 використовували поживне середовище Ігла.

#### **2.3.1. Культури клітин для проведення досліджень**

Використовували культури Vero (нирка африканської зеленої мавпи), HeLa (онкоклетини шийки матки) та ВНК-21 (нирка сирійського хом'яка).

Визначення цитотоксичності проводили методом цитологічного контролю життєздатності клітин.

#### **2.3.2. Підготовка дослідного зразка**

Для приготування робочих розведень хімічних сполук із метою визначення цитотоксичності робили наважку на вагах по  $0,5 \pm 0,002$  мг та розчиняли її у  $50 \pm 0,05$   $\mu$ л ДМСО, тобто концентрація речовин була  $0,41 \pm 0,001$  мг/см<sup>3</sup>.

Перед дослідом робочі розчини нагрівали у нагрівачі за температури  $+50 \pm 0,5^\circ\text{C}$  та перемішували на мікроцентрифузі до повного розчинення хімічної речовини у розчиннику.

#### **2.3.3. Проведення дослідження**

Визначення цитотоксичних властивостей хімічних речовин на культури клітин проводили за декілька етапів.

1. Обрану лінію культури клітин висівали по  $200 \pm 3$   $\mu$ л з посівною концентрацією (150–200) тис. кл./см<sup>3</sup> у 96-лункові культуральні планшети. Ростового середовища використовували  $2 \pm 0,02$  см<sup>3</sup>. Засіяну культуру клітин культивували протягом 48 годин за температури  $+35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в умовах CO<sub>2</sub>-термостата при концентрації CO<sub>2</sub> – 5 %.

2. При проведенні визначення цитотоксичної дії речовин на окремих планшетах робили розтитровку хімічних сполук, що вивчали. Розтитровку

проводили методом десятикратних серійних розведень. У перший ряд планшетів у кожену лунку вносили  $50 \pm 0,5$   $\mu\text{l}$  речовини в концентрації  $0,41 \pm 0,004$   $\text{мг}/\text{см}^3$ , у другий ряд –  $90 \pm 1$   $\mu\text{l}$  ДМСО та  $10 \pm 0,1$   $\mu\text{l}$  речовини в концентрації  $0,41 \pm 0,004$   $\text{мг}/\text{см}^3$  (тобто. концентрація становила  $0,041 \pm 0,003$   $\text{мг}/\text{см}^3$ ), у третій ряд –  $90 \pm 1$   $\mu\text{l}$  ДМСО та  $10 \pm 0,1$   $\mu\text{l}$  речовини в концентрації  $0,041 \pm 0,003$   $\text{мг}/\text{см}^3$  (концентрація становила  $0,0041 \pm 0,0005$   $\text{мг}/\text{см}^3$ ) та у четвертий ряд –  $90 \pm 1$   $\mu\text{l}$  ДМСО та  $10 \pm 0,1$   $\mu\text{l}$  речовини в концентрації  $0,0041 \pm 0,0005$   $\text{мг}/\text{см}^3$  (концентрація становила  $0,00041 \pm 0,00005$   $\text{мг}/\text{см}^3$ ).

3. Підготовлені розведення досліджуваних речовин по  $10 \pm 0,1$   $\mu\text{l}$  робочих концентрацій вносили у відповідні лунки планшета з суцільним моношаром клітин, з яких попередньо видалили ростове середовище. Дослід супроводжували контролем культури клітин (щонайменше 4 лунки з культурою у підтримувальному середовищі) та контролем розчинника (ДМСО). Оброблені таким чином культури клітин культивували до появи цитопатичної дії в лунках із контролем культури клітин 5 діб за температури  $+35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  при концентрації  $\text{CO}_2$  – 5 % в умовах  $\text{CO}_2$  - термостата зі щоденним перегляданням під інвертованим світловим мікроскопом із використанням об'єктива « $\times 20$ » та окуляра « $\times 7$ » або « $\times 10$ ».

4. Для прижиттєвого забарвлення клітин використовували трипановий синій. За допомогою забарвлення клітин робочим розчином трипанового синього визначали їхню життєздатність. Це пов'язано з тим, що структура цитоплазматичної мембрани під дією різних негативних впливів порушується, в результаті чого барвник швидко проникає усередину клітини та забарвлює її у синюватий колір. Стінки живих клітин непроникні для барвника протягом 1–3 годин і в полі зору мікроскопа вони виглядають прозорими, безбарвними, іноді із сіруватим відтінком.

#### 2.3.4. Підготовка розчину для забарвлення

Робочі розчини трипанового синього нестійкі. Робочий розчин барвника зберігають не більше 2–3 діб за температури  $+4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Тому розчин готували безпосередньо перед використанням.

Спочатку готували основний розчин:  $200 \pm 0,05$  мг барвника розчиняли в  $100 \pm 0,03$  см<sup>3</sup> дистильованої води (0,2% розчин). Потім  $2 \pm 0,02$  см<sup>3</sup> основного розчину змішували з  $0,5 \pm 0,005$  см<sup>3</sup> 4,25% розчину KCl.

#### 2.3.5. Забарвлення клітин

У лунки з культурою клітин додавали робоче розведення барвника. Через 10–15 хвилин виготовлений таким чином препарат переглядали під інвертованим світловим мікроскопом з використанням об'єктива «-×20» та окуляра «-×7» або «-×10». По всій площі лунки рахували незабарвлені (живі) клітини. Зразок вважали цитотоксичним, якщо концентрація мертвих чи ушкоджених клітин була вищою за аналогічний показник у контролі.

#### 2.3.6. Облік результатів

Результати досліджень вважали вірогідними, якщо культура клітин у контролі культури та у контролі розчинника не мала ознак дегенерації.

Прояв токсичного впливу досліджуваних речовин, досліджували під інвертованим мікроскопом у режимі контрастної мікроскопії шляхом порівняння стану моношару клітин у контролі та досліді. Враховували появу дегенованих клітин, часткове або повне відокремлення клітин від поверхні, змінення морфології клітин порівняно з контролем. Нетоксичною для культури клітин вважали концентрацію препарату, що не сприйняла змін у моношарі клітин, які за зовнішніми ознаками не відрізняли від культури клітин у контролі.

Документування отриманих даних щодо токсичності досліджуваних сполук проводили фотографуванням із наступним друком зображення.

### 2.4. Статистична обробка результатів

Статистичну обробку проводили за допомогою загальноприйнятих методів статистики з використанням комп'ютерної програми «Microsoft Excel 7.0». При обробці результатів вираховували середні арифметичні величини, середнє квадратичне відхилення, вірогідність різниці між середніми величинами (критерій значення “P”). Значення P визначали за таблицею Стьюдента залежновід числа ступенів свободи.



Різницю вважали вірогідною при  $P < 0,05$ . При значенні  $P > 0,05$  різниці між значеннями величин не було.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Підбір культур клітин та культур мікроорганізмів

Виходячи із визначених критеріїв, нами була проведена робота з підбору представників мікроорганізмів різних таксономічних груп, що мають епідеміологічне значення для людини та тварин. З урахуванням цього, досліджували представників грампозитивних та грамнегативних бактерій, спороутворюючих мікроорганізмів та ін.. З метою уніфікації умов постановки досліду необхідно було підібрати мікроорганізми, які б мали однаковий рівень накопичення за однакових умов культивування. Нами були відновлені та досліджені ростові та культурально-морфологічні властивості 18 представників мікроорганізмів різних таксономічних груп (табл. 3.1.).

Таблиця 3.1

Результати вивчення ростових та культурально-морфологічних властивостей тест-мікроорганізмів

Назва мікроорганізму	Штам	Термін культивування при t+35°C, год	Рівень каламутності за McFarland
1	2	3	4
<i>E. coli</i>	1257	24–32	0,5
<i>S. typhimurium</i>	144	24–32	0,5
<i>P. multocida</i>	№ 115	24–32	0,5
<i>K. pneumoniae</i>	К-56N 3534/51	24–32	0,5
<i>E. rhusiopathiae</i>	VR-2	24–32	0,5
<i>S. pyogenes</i>		24–32	0,5
<i>S. aureus</i>	P 209	24–32	0,5
<i>B. anthracis</i>	СБ	24–32	0,5
<i>M. lysodeikticus</i>		24–32	0,4
<i>M. luteus</i>	ATCC 9341	24–32	0,4
<i>B.cereus var anthracoides</i>	96	24–32	0,4
<i>C. xerosis</i>	1911	24–32	0,3
<i>E. rhusiopathiae</i>	ATCC 19414	24–32	0,3

Продовження табл.3.1			
1	2	3	4
<i>S. thermophilus</i>	96	24–32	0,2
<i>S. enteritidis</i>	SS/15	24–32	0,3
<i>E.coli</i>	055K59 № 3912/41	243–2	0,4
<i>S. epidermidis</i>	14990	24–32	0,3
<i>B. megaterium</i>		24–32	0,3

За результатами проведених досліджень були відібрані наступні мікроорганізми:

- грампозитивні *E. rhusiopathiae* VR-2, *S. aureus* P 209, *S. pyogenes* та *B. anthracis* СБ;
- грамнегативні *E. coli* 1257, *S. typhimurium* 144, *K. pneumoniae* K-56N 3534/51 та *P. multocida* № 115.

Ці мікроорганізми забезпечували накопичення клітин у кількості 0,5 за McFarland, при +35° С, протягом 24–32 годин.

При дослідженні властивостей перещеплюваних культур клітин РК-15, РК-13, СПЕВ, CV, Vero, ВНК та HeLa за показниками контамінації, терміну формування моношару, морфологічними властивостями встановлено, що культури не контаміновані сторонніми вірусами, бактеріями і мікоплазмами, відповідали морфологічними ознаками та паспортним даним.

Результати досліджень характеристик культур клітин наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Перелік культур клітин, що використовували в роботі

Назва культури клітин	Походження	t° культивування	Максимальний час інкубування без дегенерації моношару (год)	Індекс проліферації
1	2	3	4	5
Vero	Мавпа	+35±0,5°С	144	2,8
ВНК-21	Сирійський хом'як	+35±0,5°С	144	2,9

Продовження табл.3.2				
1	2	3	4	5
HeLa	Людина	+35±0,5°C	144	2,7
PK-15	Свиня	+35±0,5°C	120	3,0
СПЕВ	Кріль	+35±0,5°C	120	2,9
RK-13	Свиня	+35±0,5°C	96	2,9
CV	Мавпа	+35±0,5°C	96	3,0

Для досліджень нами були відібрані такі культури клітин: Vero, ВНК-21, HeLa, оскільки вони не проявляли ознак дегенерації моношару після 144 годин культивування.

### 3.2. Підбір розчинника для хімічних сполук

Для визначення розчинника сполук, що досліджували, оцінювали такі хімічні сполуки: вода дистильована, етиловий спирт 95°, хлороформ, ацетон, діоксан, етилацетат, ДМФА та ДМСО (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Результати вибору розчинника для новосинтезованих поліакцепторних сполук

Розчинник	Розчинення сполук
Вода дистильована	–
Етиловий спирт, 95°(ФК «БІО-ФАРМА ЛТД»)	–
Хлороформ, ЧДА (ООО «ННП «УКРОРГСИНТЕЗ»)	–
Ацетон, ЧДА (ООО «Компанія «Хімком»)	–
Діоксан («SkyLab»)	–
Етилацетат, ХЧ («ООО «Флюгер»)	–
ДМФА («Sigma-Aldrich»)	+
ДМСО («Sigma»)	+
ДМСО («Calbiochem»)	+

Примітки: 1) – - сполуки не розчинялись; 2) + - сполуки розчинялись.

Як видно із таблиці 3.3, такі розчинники, як вода дистильована, етиловий спирт, хлороформ, ацетон, діоксан, етилацетат не розчиняли дослідні речовини, тому в подальшому ми їх не використовували.

Диметилформамід та диметилсульфоксид всі сполуки розчиняли (табл. 3.4), але проявляли для культур різну токсичність. В подальшому ми використовували ДМСО, враховуючи, що його токсичність для культур була вдвічі меншою, ніж ДМФА.

Таблиця 3.4.

#### Результати визначення цитотоксичності розчинників

Розчинник	Максимально допустима концентрація у культурі клітин, %		
	HeLa	Vero	ВНК
ДМСО «Sigma»	2,0	1,75	2,0
ДМФА, «Sigma-Aldrich»	1,0	0,75	1,0

**Примітки:** 1) ДМСО – диметилсульфоксид; 2) ДМФА – диметилформамід; 3) ЧДА – чистий для аналізу; 4) "+" – індол-вмісні сполуки повністю розчинились; 5) "±" – індол-вмісні сполуки розчинились частково; 6) "-" – індол-вмісні сполуки не розчинилися

В подальших дослідженнях встановили (табл. 3.5), що деякі досліджувані хімічні сполуки (№ 15, № 55, № 100) не розчинялись у ДМСО шляхом простого змішування і потребували проведення додаткових маніпуляцій, а саме, перемішування на вортексі або шейкері та прогрівання до +55°C. Деякі сполуки (№ 24, № 45) розчинялися без нагрівання.

Таблиця 3.5

#### Характеристика розчинення сполук

Речовина	Вортекс, 10 хв	Прогрівання при +35°C	Прогрівання при +55°C
№ 24	+	н.д.	н.д.
№ 45	+	н.д.	н.д.
№ 109	+	н.д.	н.д.
№ 15	–	–	+
№ 55	–	–	+
№ 100	–	–	+

**Примітки:** 1) + - речовина розчинялась; 2) – - речовина не розчинялась; 3) н.д. – не досліджували

Таким чином, виходячи із того, що ДМСО не мав токсичних властивостей, а додаткові процедури, пов'язані із перемішуванням та прогріванням хімічних сполук, не впливали на їхні антибактеріальні властивості, оптимальним розчинником був визначений диметилсульфоксид.

### **3.3. Первинний скринінг речовин**

Метою первинного скринінгу був виявлення речовин з відсутністю антибактеріальної активності для виключення їх із переліку сполук для визначення МІК.

У результаті проведеного первинного скринінгу із 184 сполук, що досліджували, в концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup> до *E. rhusiopathiae* активність виявили 90 сполук, до *E. coli* активними були 37 сполук, до *S. typhimurium* антибактеріальну дію виявили 46 речовин. Ріст *K. pneumoniae* пригнічували 62 речовини, ріст *P. multocida* пригнічували 64 сполуки, а ріст *S. pyogenes* – 75 із 184 досліджуваних сполук. До *S. aureus* активність виявили 65 сполук, а до *B. anthracis* (спорової та суміші спорової і вегетативних форм) – лише 34 речовини із 184 сполук, що досліджували. Не проявляла активності у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup> до жодного тест-мікроорганізму 21 речовина, їх ми не використовували в подальших дослідженнях.

### **3.4. Вивчення антимікробних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук**

#### **3.4.1. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи моноциклічних триазинів**

Властивості групи моноциклічних триазинів досліджували з використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*. До складу групи тест-культур входили представники грамполозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджувані речовини мали як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.6.).

Таблиця 3.6

Результати визначення МІК моноциклічних триазинів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
1	ОДИ-1	<b>0,00041</b>	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41
2	ОДИ-2	<b>0,00041</b>	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41
3	ОДИ-3	<b>0,00041</b>	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	0,041	0,41	0,41
5	ОДИ-5	<b>0,00041</b>	< 0,41	0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	0,041	< 0,41	< 0,41
6	ОДИ-6	0,41	<b>0,00041</b>	< 0,41	< 0,41	< 0,41	0,41	0,041	< 0,41	< 0,41
7	ОДИ-7	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	0,041	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
8	ОДИ-8	<b>0,00041</b>	< 0,41	<b>0,0041</b>	< 0,41	0,41	< 0,41	0,41	< 0,41	< 0,41
9	ОДИ-9	<b>0,00041</b>	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41
10	ОДИ-10	<b>0,00041</b>	< 0,41	0,41	0,41	0,41	< 0,41	0,41	0,041	0,41
11	ОДИ-11	< 0,41	< 0,41	0,041	< 0,41	0,41	< 0,41	0,041	< 0,41	< 0,41
12	ОДИ-12	0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41
13	ОДИ-13	< 0,41	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	0,41	< 0,41	0,41	0,41	0,041
14	ОДИ-14	<b>0,00041</b>	< 0,41	0,41	<b>0,0041</b>	< 0,41	< 0,41	0,041	< 0,41	< 0,41
15	ОДИ-15	<b>0,00041</b>	< 0,41	0,41	< 0,41	0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41	< 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* - p&lt;0,05; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Як видно із таблиці 3.6, найбільшу активність до *E. rhusiopathiae* виявили сполуки під № № 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10, 14 та № 15 класу моноциклічних триазинів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки виявили не високу дію на *E. rhusiopathiae*.

Ріст *E.coli* пригнічувала речовина № 6 у мінімальній концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки не мали або мали недостатню активність антибактеріальної дії на *E.coli*.

Високоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 8 та № 13 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Інші хімічні сполуки класу моноциклічних триазинів проявили недостатню антимикробну дію або не справляли дії на *S. typhimurium*.

Високу антибактеріальну активність до *K. pneumoniae* виявили сполуки № 13 та № 14 у мінімальній інгібуючій концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки виявили недостатньо виражену дію або не справляли дії на тест-мікроорганізм, який досліджували.

Стосовно *P. multocida*, *S. aureus* та *S. pyogenes*, то жодна сполука класу, що досліджувався, не виявила високої протимикробної дії на ці тест-мікроорганізми.

Високоактивною по відношенню до спорової форми *B. anthracis* була сполука № 7 із значенням мінімальної інгібуючої дії 0,0041 мг/см<sup>3</sup>.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічувала сполука № 7 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки не проявили досить високої протимикробної дії ані на спорову форму, ані на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Таким чином, було встановлено, що найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки під № № 3, 6, 8, 10, 13 та № 14 (40% від усіх досліджуваних сполук класу) із значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливою із усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, на яку пригнічуючу дію справили



73,33 % досліджуваних речовин, а найменш чутливим – *S. aureus*, відносно якого виявили активність 6,66 % сполук, що вивчалися.

З метою підтвердження даних, отриманих за допомогою методу мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу моноциклічних триазинів із використанням диско-дифузійного методу. Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, що вивчалися (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Результати вивчення антибактеріальних властивостей моноциклічних триазинів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
1	ОДИ-1	<b>26,5±0,56<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
2	ОДИ-2	<b>27,3±0,33<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
3	ОДИ-3	<b>26,1±0,47<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	20,6±0,33	11,5±0,5	9,5±0,22
5	ОДИ-5	<b>27,3±0,33<sup>a</sup></b>	< 6	9,3±0,49	< 6	< 6	< 6	21±0,36	< 6	< 6
6	ОДИ-6	13±0,36	<b>25,8±0,3<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	10±0,36	20	< 6	< 6
7	ОДИ-7	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	21±0,36	<b>23,8±0,4<sup>b</sup></b>	<b>24<sup>b</sup></b>
8	ОДИ-8	<b>27,1±0,48<sup>a</sup></b>	< 6	<b>22,6±0,61<sup>b</sup></b>	< 6	10,3±0,42	< 6	10,8±0,31	< 6	< 6
9	ОДИ-9	<b>27±0,26<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
10	ОДИ-10	<b>28±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	10,5±0,42	11,2±0,4	10,3±0,61	< 6	9±0,36	21±0,36	11,2±0,31
11	ОДИ-11	< 6	< 6	<b>21,1±0,47<sup>b</sup></b>	< 6	12,6±0,49	< 6	21,5±0,22	< 6	< 6
12	ОДИ-12	11,1±0,65	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
13	ОДИ-13	< 6	10,3±0,42	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	11±0,48	< 6	9,3±0,49	9,5±0,5	21±0,36
14	ОДИ-14	<b>27,6±0,49<sup>a</sup></b>	< 6	11,1±0,22	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	20,8±0,31	< 6	< 6
15	ОДИ-15	<b>26±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	11,3±0,49	< 6	10,5±0,43	< 6	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як видно з таблиці 3.7, серед сполук класу моноциклічних триазинів найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* були сполуки № 1 (зона затримки росту  $26,5 \pm 0,56$  мм), № 2 (зона затримки росту  $27,3 \pm 0,33$  мм), № 3 (зона затримки росту  $26,1 \pm 0,47$  мм), № 5 (зона затримки росту  $27,3 \pm 0,33$  мм), № 8 (зона затримки росту  $27,1 \pm 0,48$  мм), № 9 (зона затримки росту  $27 \pm 0,26$  мм), № 10 (зона затримки росту  $28 \pm 0,36$  мм), № 14 (зона затримки росту  $27,6 \pm 0,49$  мм) та № 15 (зона затримки росту  $26 \pm 0,36$  мм). Інші сполуки проявили невисоку активність або не справляли дії на *E. rhusiopathiae*

Найбільш активною до *E. coli* виявилася сполука № 6 із зоною затримки росту  $25,8 \pm 0,3$  мм. Усі інші сполуки класу моноциклічних триазинів, які досліджувалися, не проявили активності або вона була недостатньо вираженою відносно *E. coli*.

Високу активність по відношенню до *S. typhimurium* виявили речовини № 8 (зона затримки росту  $22,6 \pm 0,61$  мм) та № 13 (зона затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм). Сполука № 11 проявила середню активність із значенням зони затримки росту  $21,1 \pm 0,47$  мм. Сполуки № № 1– 7, 9, 10, 12 та 14 та № 15, які досліджувалися, не справляли дії або вона була недостатньо вираженою до *S. typhimurium*.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що серед сполук класу моноциклічних триазинів високу активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявили речовини № 13 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм) та № 14 (зона затримки росту  $24,3 \pm 0,33$  мм). Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності або вона була недостатньо високою по відношенню до *K. pneumoniae*.

Стосовно *S. aureus*, *P. multocida* та *S. pyogenes*, то досліджувані речовини класу моноциклічних триазинів, не виявили активності або вона була недостатньо високою відносно досліджуваних тест-мікроорганізмів.

За результатами проведених досліджень нами було встановлено, що серед сполук класу моноциклічних триазинів високу активність до спорової форми *B. anthracis* проявила речовина № 7 із зоною затримки росту  $23,8 \pm 0,4$  мм. Усі інші

сполуки класу, який досліджувався, не проявили або справляли недостатньо виражену активність.

Високу антибактеріальну дію по відношенню до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* виявила хімічна сполука № 7 із значенням зони затримки росту 24 мм. Інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності або вона була невисокою.

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, які досліджувалися, виявилися сполуки під № № 3, 6, 8, 10, 13 та № 14 (40% від усіх досліджуваних сполук класу) із зоною затримки росту від  $9,5 \pm 0,22$  мм до  $27,6 \pm 0,49$  мм. Найбільш чутливою із усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, на яку пригнічуючу дію справляли 73,33% досліджуваних речовин, а найменш чутливим – *S. aureus*, відносно якого виявили активність лише 6,66% сполук, що вивчалися.

#### **3.4.2. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи хінолонів**

З метою вивчення антибактеріальних властивостей хімічних сполук групи хінолонів використовували 8 видів бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Група була представлена грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами, споровою та вегетативною формами збудника сибірки. Результати досліджень показали як високу, так і низьку антибактеріальну активність речовин, що досліджували (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Результати визначення МІК хінолонів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E.</i> <i>rhusiopathiae</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>S.</i> <i>typhimurium</i>	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P.</i> <i>multocida</i>	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>S.</i> <i>pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16	ОДИ-16	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41
17	ОДИ-17	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
18	ОДИ-18	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
19	ОДИ-19	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	0,041	<b>0,0041</b>
20	ОДИ-20	> 0,41	0,041	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	0,41	0,41	0,041	0,041
21	ОДИ-21	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
22	ОДИ-22	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41
23	ОДИ-23	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41
24	ОДИ-24	<b>0,0041</b>	0,041	0,041	<b>0,0041</b>	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	0,041
25	ОДИ-25	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
26	ОДИ-26	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,00041</b>	0,41	> 0,41	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41
27	ОДИ-27	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
28	ОДИ-28	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
29	ОДИ-29	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,041	0,041	<b>0,0041</b>
30	ОДИ-30	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
31	ОДИ-31	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	<b>0,0041</b>	0,041

Продовження табл. 3.8										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
33	ОДИ-33	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,041
34	ОДИ-34	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
35	ОДИ-35	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
36	ОДИ-36	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	0,041	> 0,41	> 0,41
37	ОДИ-37	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
38	ОДИ-38	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
39	ОДИ-39	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,00041</b>	<b>0,00041</b>	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	<b>0,00041</b>
40	ОДИ-40	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
41	ОДИ-41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
42	ОДИ-42	> 0,41	0,041	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
43	ОДИ-43	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Як видно із таблиці 3.8, високу активність по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявили сполуки № 19 та № 24 класу хінолонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявила речовина № 36 із концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 16 та № 25 виявили низьку антимікробну активність відносно *E. rhusiopathiae* із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки не впливали на ріст мікроорганізму, який досліджували.

Ріст *E. coli* пригнічували сполука № 29 у мінімальній концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 20, № 24 та № 42 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовина № 18 виявила слабку протимікробну активність відносно *E. coli* з інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші досліджені сполуки класу хінолонів не справляли дії на *E. coli*.

Середньоактивною по відношенню до *S. typhimurium* була сполука № 24 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 28 та № 29 проявили слабку активність у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, який досліджували, не справляли дії на *S. typhimurium*.

До *K. pneumoniae* найбільш активною була речовина № 26 із мінімальною концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні сполуки № № 20, 24, 27, 37, 41 та 42 класу хінолонів проявили високу антимікробну дію на *K. pneumoniae* у мінімальній концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а речовини № 28 та № 33 – середню дію у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під № № 16 – 19, 21–23, 25, 29–32, 34–36, 38–40 та № 43 не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *P. multocida* пригнічували сполука № 39 у мінімальній концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та сполуки під № № 20, 24, 26, 28, 29, 34, 36, 37, 38 та № 43 – у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу хінолонів не проявили антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Найактивнішими по відношенню до *S. aureus* були сполука № 39 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та № 24 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середній ступінь протимікробної дії проявили сполуки № № 16,

22, 23, 36 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку активність виявили речовини № № 17– 21, 33 та № 42 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Із даних таблиці 3.8 випливає, що, найбільш активними по відношенню до *S. pyogenes* була сполука класу хінолонів № 26 у концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 24 та № 39 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середньоактивними виявилися сполуки під № № 19, 28, 29, 34, 36 та 43 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а слабоактивними – № № 16, 17, 18, 20, 25, 30, 31, 35, 37, 38 та № 40 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під № № 21, 22, 23, 27, 32, 33, 41 та № 42 не проявили антимікробної активності до *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми *B. anthracis*, то антибактеріальну дію виявили сполуки № № 24, 31, 33, 39 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, речовини № № 19, 20, 29 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup> та № № 17, 18, 25 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу хінолонів не виявили антибактеріальної активності відносно спорової форми *B. anthracis*.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполука № 39 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, речовини № 19 та № 29 із мінімальною концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, хімічні сполуки № № 20, 24, 31, 33 із інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № № 17, 18 та 25 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під № № 15, 21, 22, 23, 26, 27, 30, 32, 34–38, 40–43 не справили антимікробної дії на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Отже, найбільш активними хінолонами по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № № 20, 24, 39 (11% від усіх досліджуваних сполук класу) із значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливим із усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявився *S. pyogenes*, відносно якого активність проявили 71,42% сполук класу, що досліджувався, а найменш чутливим – *S. typhimurium*, антибактеріальну дію на цей мікроорганізм справляли лише 10,71% речовин класу хінолонів.



Для підтвердження даних, які були отримані методом мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу хінолонів із використанням методу дисків. Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, що вивчалися (табл. 3.9).

Таблиця 3.9.

Результати вивчення антибактеріальних властивостей хінолонів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16	ОДИ-16	12±0,57	< 6	< 6	< 6	< 6	20,8±0,31	12,3±0,61	< 6	< 6
17	ОДИ-17	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	12,3±0,56	8±0,36	12,3±0,4	10,5±0,22
18	ОДИ-18	< 6	10,8±0,4	< 6	< 6	< 6	12,8±0,31	13,5±0,42	9±0,36	7,5±0,22
19	ОДИ-19	<b>22,5±0,57<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	8,3±0,56	21,8±0,4	20,8±0,38	<b>24,2±0,4<sup>b</sup></b>
20	ОДИ-20	< 6	21,3±0,33	< 6	<b>23,5±0,34<sup>b</sup></b>	11,8±0,61	13,1±0,27	10,8±0,31	21,5±0,22	20,5±0,22
21	ОДИ-21	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	9,3±0,24	< 6	< 6	< 6
22	ОДИ-22	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	21,1±0,48	< 6	< 6	< 6
23	ОДИ-23	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	21,5±0,34	< 6	< 6	< 6
24	ОДИ-24	<b>22,3±0,42<sup>b</sup></b>	21±0,36	20,6±0,33	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>	12,1±0,47	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>23,8±0,3<sup>b</sup></b>	21,5±0,22
25	ОДИ-25	11,5±0,76	< 6	< 6	< 6	< 6	10,3±0,58	9,6±0,21	8,8±0,46	8±0,36
26	ОДИ-26	< 6	< 6	< 6	<b>28,5±0,43<sup>a</sup></b>	12,8±0,6	< 6	<b>29,3±0,58<sup>a</sup></b>	< 6	< 6
27	ОДИ-27	< 6	< 6	< 6	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
28	ОДИ-28	< 6	< 6	10,5±0,42	21±0,36	8,5±0,43	< 6	21,1±0,29	< 6	<sup>82</sup> < 6

Продовження табл. 3.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
29	ОДИ-29	< 6	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	9,6±0,42	< 6	10,1±0,43	< 6	22,2±0,42	20,5±0,22	<b>24,3±0,31<sup>b</sup></b>
30	ОДИ-30	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	7,8±0,4	< 6	< 6
31	ОДИ-31	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10,2±0,31	<b>23,3±0,21<sup>b</sup></b>	20,5±0,34
33	ОДИ-33	< 6	< 6	< 6	21,8±0,31	< 6	12,3±0,61	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	21±0,36
34	ОДИ-34	< 6	< 6	< 6	< 6	11,5±0,43	< 6	22±0,36	< 6	< 6
35	ОДИ-35	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	8,6±0,33	< 6	< 6
36	ОДИ-36	22,8±0,47	< 6	< 6	< 6	10,6±0,4	21±0,36	21±0,36	< 6	< 6
37	ОДИ-37	< 6	< 6	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	9,8±0,34	< 6	9,5±0,22	< 6	< 6
38	ОДИ-38	< 6	< 6	< 6	< 6	12±0,51	< 6	12,8±0,48	< 6	< 6
39	ОДИ-39	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>27,8±0,3<sup>a</sup></b>	<b>27,6±0,33<sup>a</sup></b>	<b>24,1±0,1<sup>b</sup></b>	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>	<b>28±0,36<sup>a</sup></b>
40	ОДИ-40	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	12±0,36	< 6	< 6
41	ОДИ-41	< 6	< 6	< 6	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
42	ОДИ-42	< 6	21,6±0,33	< 6	<b>23,3±0,21<sup>b</sup></b>	< 6	13,2±0,4	< 6	< 6	< 6
43	ОДИ-43	< 6	< 6	< 6	< 6	10,6±0,33	< 6	21,2±0,4	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлоксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як видно із таблиці 3.9, серед сполук класу хінолонів високу активність по відношенню до *E. rhusiopathiae* проявила сполука № 24 (зона затримки росту  $22,3 \pm 0,42$  мм). Середню активність виявили речовини № 19 (зона затримки росту  $22,5 \pm 0,57$  мм) та № 36 (зона затримки росту  $22,8 \pm 0,47$  мм). Незначну антибактеріальну дію справляли речовини № 25 із значенням зони затримки росту  $11,5 \pm 0,76$  мм та № 16 із значенням зони затримки росту  $12 \pm 0,57$  мм. Усі інші сполуки класу, які досліджували, не виявили антибактеріальної активності до *E. rhusiopathiae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середню антибактеріальну активність по відношенню до *E. coli* проявили сполуки № 20 (зона затримки росту  $21,3 \pm 0,33$  мм), № 24 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм), № 29 (зона затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм) та № 42 (зона затримки росту  $21,6 \pm 0,33$  мм). Незначну активність мала речовина № 18 із зоною затримки росту  $10,8 \pm 0,4$  мм. Сполуки під № № 16, 17, 19, 21, 22, 23, 25–28, 30–41 та № 43 не проявили активності по відношенню до *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середню антимікробну дію по відношенню до *S. typhimurium* справляла речовина № 24 із зоною затримки росту  $20,6 \pm 0,33$  мм. Слабку активність до використаної тест-культури виявили сполуки № 28 із зоною затримки росту  $10,5 \pm 0,42$  мм та № 29 із зоною затримки росту  $9,6 \pm 0,42$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджували, не проявили протимікробної дії до *S. typhimurium* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу хінолонів найбільш активною по відношенню до *K. pneumoniae* виявилися речовина № 20 із зоною затримки росту  $23,5 \pm 0,34$  мм, № 24 із зоною затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм, № 26 із зоною затримки росту  $28,5 \pm 0,43$  мм, № 27 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,33$  мм, № 37 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм, № 41 із зоною затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм та № 42 із зоною затримки росту  $23,3 \pm 0,21$  мм. Середню антибактеріальну активність проявили сполуки № 28 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм), № 33 (зона затримки росту  $21,8 \pm 0,31$  мм). Речовини досліджуваного класу № № 16–19, 21, 22, 23, 25, 29–

32, 34–36, 38–40 та № 43 не проявили активність відносно *K. pneumoniae* (зона затримки росту < 6 мм).

Найбільш активною сполукою по відношенню до *P. multocida* виявилася речовина № 39 із зоною затримки росту  $27,8 \pm 0,3$  мм. Слабку протимікробну дію справляли сполуки № 20 (зона затримки росту  $11,8 \pm 0,61$  мм), № 24 (зона затримки росту  $12,1 \pm 0,47$  мм), № 26 (зона затримки росту  $12,8 \pm 0,6$  мм), № 28 (зона затримки росту  $8,5 \pm 0,43$  мм), № 29 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,43$  мм), № 34 (зона затримки росту  $11,5 \pm 0,43$  мм), № 36 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,4$  мм), № 37 (зона затримки росту  $9,8 \pm 0,34$  мм), № 38 (зона затримки росту  $12 \pm 0,51$  мм) та № 43 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,33$  мм). Усі інші сполуки класу, які досліджувалися, не проявили антимікробну дію на *P. multocida* (зона затримки росту < 6 мм).

Найбільш активною сполукою по відношенню до *S. aureus* виявилася сполука № 39 із зоною затримки росту  $27,6 \pm 0,33$  мм. Середню антибактеріальну активність проявили сполуки № 16 (зона затримки росту  $20,8 \pm 0,31$  мм), № 22 (зона затримки росту  $21,1 \pm 0,48$  мм), № 23 (зона затримки росту  $21,5 \pm 0,34$  мм), № 24 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм) та № 36 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм). Слабку протимікробну дію до *S. aureus* справляли сполуки № 17 із значенням зони затримки росту  $12,3 \pm 0,56$  мм, № 18 із значенням зони затримки росту  $12,8 \pm 0,31$  мм, № 19 із значенням зони затримки росту  $8,3 \pm 0,56$  мм, № 20 із значенням зони затримки росту  $13,1 \pm 0,27$  мм, № 21 із значенням зони затримки росту  $9,3 \pm 0,24$  мм, № 25 із значенням зони затримки росту  $10,3 \pm 0,58$  мм, № 33 із значенням зони затримки росту  $12,3 \pm 0,61$  мм та № 42 із значенням зони затримки росту  $13,2 \pm 0,4$  мм. Інші речовини класу хінолонів, які досліджувалися, не проявили активності відносно *S. aureus* (зона затримки росту < 6 мм).

Із даних таблиці 3.9 випливає, що, серед сполук класу хінолонів найбільш активними по відношенню до *S. pyogenes* виявилися сполуки № 26 із значенням зони затримки росту  $29,3 \pm 0,58$  мм та № 39 із значенням зони затримки росту  $24,1 \pm 0,1$  мм. Середню протимікробну активність проявили речовини № 19 із

зоною затримки росту  $21,8 \pm 0,4$  мм, № 24 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм, № 28 із зоною затримки росту  $21,1 \pm 0,29$  мм, № 29 із зоною затримки росту  $22,2 \pm 0,42$  мм, № 34 із зоною затримки росту  $22 \pm 0,36$  мм, № 36 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм та № 43 із зоною затримки росту  $21,2 \pm 0,4$  мм. Слабку активність виявили хімічні сполуки № 16 (зона затримки росту  $12,3 \pm 0,61$  мм), № 17 (зона затримки росту  $8 \pm 0,36$  мм), № 18 (зона затримки росту  $13,5 \pm 0,42$  мм), № 20 (зона затримки росту  $10,8 \pm 0,31$  мм), № 25 (зона затримки росту  $9,6 \pm 0,21$  мм), № 30 (зона затримки росту  $7,8 \pm 0,4$  мм), № 31 (зона затримки росту  $10,2 \pm 0,31$  мм), № 35 (зона затримки  $8,6 \pm 0,33$  мм), № 37 (зона затримки росту  $9,5 \pm 0,22$  мм), № 38 (зона затримки росту  $12,8 \pm 0,48$  мм) та № 40 (зона затримки росту  $12 \pm 0,36$  мм). Сполуки № № 21, 22, 23, 27, 32, 33, 41 та № 42 не справляли активності відносно *S. pyogenes* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

В результаті проведених досліджень нами було встановлено, що серед сполук класу хінолонів високу активність по відношенню до спорової форми *B. anthracis* виявили речовини № 24 із зоною затримки росту  $23,8 \pm 0,3$  мм, № 31 із зоною затримки росту  $23,3 \pm 0,21$  мм, № 33 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм та № 39 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,33$ . Середню активність проявили речовини № 19 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,38$  мм, № 20 із зоною затримки росту  $21,5 \pm 0,22$  мм та № 29 із зоною затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм. Слабку антибактеріальну дію на спорову форму *B. anthracis* справляли речовини № 17 (зона затримки росту  $12,3 \pm 0,4$  мм), № 18 (зона затримки росту  $9 \pm 0,36$  мм) та № 25 (зона затримки росту  $8,8 \pm 0,46$  мм). Усі інші сполуки досліджуваного класу, не проявили активності (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найбільш активну антибактеріальну дію по відношенню до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* проявили сполука № 19 із значенням зони затримки росту  $24,2 \pm 0,4$  мм, № 29 із значенням зони затримки росту  $24,3 \pm 0,31$  мм, № 39 із значенням зони затримки росту  $28 \pm 0,36$  мм. Середню антимікробну дію справляли речовини № 20 із зоною затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм, № 24 із зоною затримки росту  $21,5 \pm 0,22$  мм, № 31 із зоною

затримки росту  $20,5 \pm 0,34$  мм та № 33 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабку антибактеріальну дію на спорову та вегетативну форму *B. anthracis* виявили сполуки класу хінолонів № 17 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,22$  мм), № 18 (зона затримки  $7,5 \pm 0,22$  мм) та № 25 (зона затримки росту  $8 \pm 0,36$  мм). Усі інші сполуки цього класу не проявили активність (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Таким чином, найбільш активними сполуками класу хінолонів по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № № 20, 24, 39 (11% від усіх досліджуваних сполук класу) із значенням зон затримки росту від  $10,8 \pm 0,31$  мм до  $28 \pm 0,36$  мм. Найбільш чутливим з усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявився *S. pyogenes*, відносно якого протимікробну активність проявили 71,42% досліджених сполук, а найменш чутливою – *S. typhimurium*, ріст якої пригнічували 10,71% речовин, що вивчалися.

### **3.4.3. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи трициклічних триазинів**

Групу трициклічних триазинів досліджували згідно з попередньо апробованою методикою з використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*. Серед них були представники як грампозитивних, так і грамнегативних мікроорганізмів, а також спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджені речовини виявили як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Результати визначення МІК трициклічних триазинів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
44	ОДИ-44	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
45	ОДИ-45	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	<b>0,00041</b>	0,041	<b>0,0041</b>	0,041	<b>0,0041</b>
46	ОДИ-46	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41
47	ОДИ-47	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
48	ОДИ-48	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
49	ОДИ-49	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
50	ОДИ-50	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
51	ОДИ-51	0,041	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
52	ОДИ-52	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
53	ОДИ-53	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
54	ОДИ-54	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
56	ОДИ-56	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
57	ОДИ-57	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
58	ОДИ-58	0,041	<b>0,0041</b>	0,41	0,41	0,41	0,41	0,041	0,041	0,041
60	ОДИ-60	<b>0,00041</b>	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* - p&lt;0,05; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)



Як видно із даних таблиці 3.10., найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки № № 44, 46, 49, 50, 52, 54, 56 та 60 класу трициклічних триазинів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовина № 57 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 51 та № 58 проявили середню антимікробну активність відносно *E. rhusiopathiae* із мінімальною концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а сполука № 45 – слабку дію у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № № 47, 48, 53, 55 та 59 не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *E.coli* пригнічували сполуки № № 45, 51 та № 58 із мінімальною концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, який досліджували, не виявили протимікробної дії відносно *E.coli*.

Високоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 45 та № 60 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 50 та № 58 виявили слабку активність із концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу трициклічних триазинів не проявили антимікробної дії на *S. typhimurium*.

Високу активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявили речовини № № 44–46, 48, 57 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність виявили хімічні сполуки № 51 та № 56 у мінімальній концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № № 50, 54, 58 та № 60 справляли слабку антибактеріальну дію у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під № 47, 49, 52, 53, 55 та № 59 не впливали на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *P. multocida* пригнічували сполука № 45 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, речовина № 46 із концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та сполуки № № 47, 49, 50, 56–58 виявляли у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші речовини класу, який вивчали, не мали антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Середньоактивними по відношенню до *S. aureus* були сполуки № 45 та № 46 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку

активність проявили речовини № 52 та № 53 із мінімальною пригнічуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші хімічні сполуки класу трициклічних триазинів не виявляли інгібуючої дії на *S. aureus*.

Високу активність по відношенню до *S. pyogenes* проявили сполуки № 45 та № 60 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили речовини № 47, № 51 та № 58 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабоактивними були сполуки № № 46, 48, 50 та № 54 із концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під № № 44, 49, 52, 53, 55, 56, 57 та № 59 не проявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми *B. anthracis*, то середній ступінь антибактеріальної дії виявили хімічні сполуки класу трициклічних триазинів № 45 та № 58 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки цього класу не проявили антибактеріальної активності відносно спорової форми *B. anthracis*.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполука № 45 із значенням мінімальної концентрації антимікробної дії 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та речовина № 58 із інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Інші хімічні сполуки класу, який досліджували, не справляли антимікробної дії на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грамозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № № 45, 46, 50 та № 58 класу трициклічних триазинів (23% від усіх досліджуваних сполук класу) із значенням МІК від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, антибактеріальну дію відносно якої виявили 70,59% сполук, що досліджували, а найменш чутливою – *B. anthracis*, ріст якого пригнічували лише 11,76% сполук класу трициклічних триазинів.

З метою підтвердження даних, отриманих за допомогою методу мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу трициклічних триазинів із використанням диско-дифузійного методу. Отримані результати

підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук ,  
що вивчалися (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Результати вивчення антибактеріальних властивостей трициклічних триазинів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
44	ОДИ-44	<b>27,3±0,33<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	<b>23±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
45	ОДИ-45	11,6±0,42	<b>23,8±0,45<sup>b</sup></b>	<b>23,3±0,21<sup>b</sup></b>	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>27,3±0,33<sup>a</sup></b>	21,2±0,31	<b>23,6±0,21<sup>b</sup></b>	20,8±0,4	<b>24,2±0,31<sup>b</sup></b>
46	ОДИ-46	<b>27,5±0,42<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>	<b>24,1±0,3<sup>b</sup></b>	21±0,36	10,6±0,3	< 6	< 6
47	ОДИ-47	< 6	< 6	< 6	< 6	7,8±0,4	< 6	21,5±0,5	< 6	< 6
48	ОДИ-48	< 6	< 6	< 6	<b>24,6±0,21<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	13±0,36	< 6	< 6
49	ОДИ-49	<b>27,6±0,33<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	11,8±0,3	< 6	< 6	< 6	< 6
50	ОДИ-50	<b>26,1±0,51<sup>a</sup></b>	< 6	10,5±0,56	9,8±0,31	12±0,44	< 6	8,8±0,31	< 6	< 6
51	ОДИ-51	21,6±0,49	<b>24±0,25<sup>b</sup></b>	< 6	17,5±0,5	< 6	< 6	21±0,36	< 6	< 6
52	ОДИ-52	<b>28,1±0,3<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	8,6±0,55	< 6	< 6	< 6
53	ОДИ-53	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10,6±0,33	< 6	< 6	< 6
54	ОДИ-54	<b>27,1±0,48<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	8,8±0,31	< 6	< 6	8,6±0,4	< 6	< 6
56	ОДИ-56	<b>27,5±0,42<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	17,8±0,55	11±0,51	< 6	< 6	< 6	< 6
57	ОДИ-57	<b>22,8±0,3<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	21±0,36	10±0,36	< 6	< 6	< 6	< 6
58	ОДИ-58	18,5±0,57	<b>23,6±0,49<sup>b</sup></b>	10,1±0,47	10±0,36	10,6±0,33	12,5±0,43	21±0,36	20,8±0,3	20,3±0,21
60	ОДИ-60	<b>27,8±0,15<sup>a</sup></b>	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	8±0,36	9,6±0,49	< 6	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як впливає з даних таблиці 3.11, серед сполук класу трициклічних триазинів найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися речовини № 44 (зона затримки росту  $27,3 \pm 0,33$  мм), № 46 (зона затримки росту  $27,5 \pm 0,42$  мм), № 49 (зона затримки росту  $27,6 \pm 0,33$  мм), № 50 (зона затримки росту  $26,1 \pm 0,51$  мм), № 52 (зона затримки росту  $28,1 \pm 0,3$  мм), № 54 (зона затримки росту  $27,1 \pm 0,48$  мм), № 56 (зона затримки росту  $27,5 \pm 0,42$  мм) № 57 (зона затримки росту  $22,8 \pm 0,3$  мм) та № 60 (зона затримки росту  $27,8 \pm 0,15$  мм). Середню антимікробну активність проявили сполуки № 51 із значенням зони затримки росту  $21,6 \pm 0,49$  мм та № 58 із значенням зони затримки росту  $18,5 \pm 0,57$  мм. Слабкою антибактеріальною активністю на *E. rhusiopathiae* характеризувалася речовина № 45 із зоною затримки росту  $11,6 \pm 0,42$  мм. Речовини № № 47, 48, 53, 55 та № 59 не проявили активності (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що високу активність по відношенню до *E. coli* виявили речовини № 45 із зоною затримки росту  $23,8 \pm 0,45$  мм, № 51 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,25$  мм та № 58 із зоною затримки росту  $23,6 \pm 0,49$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджували, не проявили активності відносно *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високоактивними по відношенню до *S. typhimurium* виявилися сполуки № 45 із зоною затримки росту  $23,3 \pm 0,21$  мм та № 60 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм. Слабку антимікробну дію справляли сполуки № 50 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,56$  мм) та № 58 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,47$  мм). Інші сполуки класу трициклічних триазинів, які досліджувалися, не проявили протимікробної дії відносно *S. typhimurium* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високу антимікробну активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявили речовини № 44 (зона затримки росту  $23 \pm 0,36$  мм), № 45 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 46 (зона затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм), № 48 (зона затримки росту  $24,6 \pm 0,21$  мм) та № 57 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм). Середню активність виявили речовини № 51 (зона затримки росту  $17,5 \pm 0,5$  мм) та № 56 (зона затримки росту  $17,8 \pm 0,55$  мм). Слабку антибактеріальну дію

справляли сполуки № 50 із зоною затримки росту  $9,8 \pm 0,31$  мм, № 54 із зоною затримки росту  $8,8 \pm 0,31$  мм та № 60 із зоною затримки росту  $8,8 \pm 0,36$  мм. Сполуки № № 47, 49, 52, 53, 55 та № 59 не проявляли активності відносно *K. pneumoniae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу трициклічних триазинів найбільш активними по відношенню до *P. multocida* були речовини № 45 із зоною затримки росту  $27,3 \pm 0,33$  мм та № 46 із значенням зони затримки росту  $24,1 \pm 0,3$  мм. Слабку антимікробну дію по відношенню до *P. multocida* виявили сполуки № 47 (зона затримки росту  $7,8 \pm 0,4$  мм), № 49 (зона затримки росту  $11,8 \pm 0,3$  мм), № 50 (зона затримки росту  $12 \pm 0,44$  мм), № 56 (зона затримки росту  $11 \pm 0,51$  мм), № 57 (зона затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм), № 58 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,33$  мм) та № 60 (зона затримки росту  $9,6 \pm 0,49$  мм). А речовини № № 44, 48, 51–55 та № 59 не проявили антибактеріальної активності відносно *P. multocida* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середньоактивними по відношенню до *S. aureus* виявилися сполуки № 45 із зоною затримки росту  $21,2 \pm 0,31$  мм та № 46 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабкою антимікробною активністю характеризувалися сполуки № 52 (зона затримки росту  $8,6 \pm 0,55$  мм), № 53 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,33$  мм) та № 58 (зона затримки росту  $12,5 \pm 0,43$  мм). Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності по відношенню до *S. aureus* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високу протимікробну активність по відношенню до *S. pyogenes* виявила речовини № 45 із зоною затримки росту  $23,6 \pm 0,21$  мм та № 60 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,33$  мм. Середню активність проявили сполуки № 47 із зоною затримки росту  $21,5 \pm 0,5$  мм, № 51 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм та № 58 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабку протимікробну дію на *S. pyogenes* справляли сполуки № 46 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,3$  мм), № 48 (зона затримки росту  $13 \pm 0,36$  мм), № 50 (зона затримки росту  $8,8 \pm 0,31$  мм) та № 54 (зона затримки росту  $8,6 \pm 0,4$  мм). Речовини під № № 44, 49, 52, 53, 55–57

та 59 не виявили антибактеріальної активності відносно тест-мікроорганізму, який досліджували (зона затримки росту < 6 мм).

Стосовно спорової форми *B. anthracis*, то антибактеріальну дію проявили сполуки № 45 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,4$  мм та № 58 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,3$  мм. Інші речовини класу трициклічних триазинів, який досліджувався, не виявили інгібуючої дії на спорову форму *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Високу антимікробну дію на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis* проявила сполука № 45 із зоною затримки росту  $24,2 \pm 0,31$  мм. Середній ступінь активності виявила речовина № 58 із зоною затримки росту  $20,3 \pm 0,21$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, були неактивними відносно суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Таким чином, найвищу активність по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів проявили сполуки № № 45, 46, 50 та № 58 класу трициклічних триазинів (23% від усіх досліджуваних сполук класу) із значенням зон затримки росту від  $8,8 \pm 0,31$  мм до  $27,5 \pm 0,42$  мм. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, антибактеріальну дію відносно якої проявили 70,59% досліджуваних сполук, а найменш чутливим – *B. anthracis*, ріст якого пригнічували лише 11,76% сполук класу трициклічних триазинів.

#### **3.4.4. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи заміщених акридонів**

Групу хімічних сполук класу заміщених акридонів досліджували з використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*, серед яких були представники грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, а також спорова та вегетативна форми сибірки. Досліджені речовини проявили як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Результати визначення МІК заміщених акридонів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E.</i> <i>rhusiopathiae</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>S.</i> <i>typhimurium</i>	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P.</i> <i>multocida</i>	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>S.</i> <i>pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
1	2	3	4	5	6	78	9	10	11	12
61	ОДИ-61	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
62	ОДИ-62	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
63	ОДИ-63	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
64	ОДИ-64	0,041	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
65	ОДИ-65	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
66	ОДИ-66	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
67	ОДИ-67	<b>0,00041</b>	0,041	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
68	ОДИ-68	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
69	ОДИ-69	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
71	ОДИ-71	> 0,41	0,041	0,41	0,041	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
72	ОДИ-72	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
73	ОДИ-73	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
74	ОДИ-74	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
75	ОДИ-75	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
76	ОДИ-76	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41
77	ОДИ-77	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41



Продовження таблиці 3.12										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
78	ОДИ-78	0,041	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
79	ОДИ-79	0,041	0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
80	ОДИ-80	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,041	> 0,41	0,41	<b>0,0041</b>
81	ОДИ-81	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
82	ОДИ-82	0,041	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
83	ОДИ-83	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
84	ОДИ-84	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
85	ОДИ-85	0,041	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	0,041	> 0,41	> 0,41
87	ОДИ-87	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
88	ОДИ-88	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
89	ОДИ-89	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
90	ОДИ-90	0,41	0,41	0,41	<b>0,00041</b>	0,041	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Як видно із даних таблиці 3.12, найбільш активною по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилася сполука № 67 класу заміщених акридонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Середню антибактеріальну дію на культуру тест-мікроорганізму, що досліджували, справляли речовини під № № 61, 64, 65, 76, 78, 79, 82, 84 та № 85 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № № 62, 63 та № 90 проявили низьку антимікробну активність відносно *E. rhusiopathiae* із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні сполуки № № 66, 68–75, 77, 80, 81, 83, 86–89 та № 90 не справляли антимікробної дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *E. coli* пригнічували сполуки № 67 та № 71 із мінімальною концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовина № 90 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, який вивчали, не проявили протимікробної дії відносно *E. coli*.

Високоактивною по відношенню до *S. typhimurium* була сполука № 74 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявила сполука № 64 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під № № 67, 71, 73, 79, 82 та № 90 виявили слабку дію у мінімальній концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу заміщених акридонів не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Найбільш активною по відношенню до *K. pneumoniae* була речовина № 90 класу заміщених акридонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність виявили сполуки № 71 та № 73 із мінімальною концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовина № 78 пригнічувала ріст мікроорганізму, який досліджували, у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, який вивчали, не проявили антибактеріальної активності відносно *K. pneumoniae*.

Ріст *P. multocida* пригнічували сполуки № 84 у мінімальній концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та № 90 із значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під № № 65–67, 69, 73, 79, 80, 82 виявили інгібуючу дію до

тест-мікроорганізму, який вивчали, у мінімальній концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки досліджуваного класу не справляли протимікробної дії на *P. multocida*.

Високоактивною по відношенню до *S. aureus* була сполука № 90 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили речовини під № № 76, 77, 80, 85 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини класу заміщених акридонів під № № 64, 65, 68, 71–73, 84, 88 та № 89 проявили слабку активність до мікроорганізму, який досліджували, із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під № № 61–63, 66, 67, 69, 70, 74, 75, 78, 79, 81–83, 86 та № 87 не мали дії на *S. aureus*.

Високу активність по відношенню до *S. pyogenes* проявили сполуки № 75 і № 81 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а середню активність виявили № № 64, 74, 85 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № № 61, 62, 76, 77, 78, 83 та № 87 справляли слабку антибактеріальну дію у мінімальній концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу заміщених акридонів не проявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми *B. anthracis*, то низьку активність виявила сполука № 80 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили антимікробної активності на спорову форму *B. anthracis*.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічувала сполука № 80 зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші вивчаємого класу, який вивчався, не проявили антибактеріальної активності на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки класу заміщених акридонів № № 64, 67, 71 та № 73 (13% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливим із усього спектра, мікроорганізмів, які

вивчали, виявився *S. pyogenes*, до якого антибактеріальну активність проявили 40% сполук класу заміщених акридонів, а найменш чутливим – *B. anthracis*, відносно якого активність проявили лише 3,33% речовин, що вивчалися.

Для підтвердження даних, які були отримані за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу заміщених акридонів із використанням методу дисків. Результати, які були отримані, підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, що вивчалися (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Результати вивчення антибактеріальних властивостей заміщених акридонів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E.</i> <i>rhusiopathiae</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>S.</i> <i>typhimurium</i>	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P.</i> <i>multocida</i>	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>S.</i> <i>pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
61	ОДИ-61	17,8±0,4	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10,2±0,48	< 6	< 6
62	ОДИ-62	9,8±0,54	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	13,2±0,4	< 6	< 6
63	ОДИ-63	12±0,36	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
64	ОДИ-64	17,6±0,49	< 6	21,3±0,33	< 6	< 6	11,5±0,34	<b>21,3±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
65	ОДИ-65	18±0,44	< 6	< 6	< 6	10,1±0,4	14±0,36	< 6	< 6	< 6
66	ОДИ-66	< 6	< 6	< 6	< 6	12,1±0,7	< 6	< 6	< 6	< 6
67	ОДИ-67	<b>27,6±0,49<sup>a</sup></b>	<b>22±0,36<sup>b</sup></b>	11,8±0,65	< 6	10,3±0,56	< 6	< 6	< 6	< 6
68	ОДИ-68	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	8,2±0,4	< 6	< 6	< 6
69	ОДИ-69	< 6	< 6	< 6	< 6	13±0,45	< 6	< 6	< 6	< 6
71	ОДИ-71	< 6	<b>21,5±0,34<sup>b</sup></b>	9,8±0,3	17±0,36	< 6	14	< 6	< 6	< 6
72	ОДИ-72	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	11,8±0,65	< 6	< 6	< 6
73	ОДИ-73	< 6	< 6	11,6±0,66	17,8±0,4	11,5±0,43	9,3±0,42	< 6	< 6	< 6
74	ОДИ-74	< 6	< 6	<b>24,1±0,3<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	<b>20,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
75	ОДИ-75	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6

Продовження табл. 3.13.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
76	ОДИ-76	17±0,36	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	10±0,36	< 6	< 6
77	ОДИ-77	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	7±0,36	< 6	< 6
78	ОДИ-78	18±0,51	<b>25,8±0,4<sup>a</sup></b>	< 6	9,3±0,34	< 6	< 6	12,5±0,43	< 6	< 6
79	ОДИ-79	17±0,51	12±0,51	11±0,36	< 6	10,1±0,31	< 6	< 6	< 6	< 6
80	ОДИ-80	< 6	< 6	< 6	< 6	12,6±0,49	<b>20,8±0,34<sup>b</sup></b>	< 6	11,8±0,4	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>
81	ОДИ-81	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
82	ОДИ-82	17,3±0,42	< 6	9,3±0,49	< 6	9±0,36	< 6	< 6	< 6	< 6
83	ОДИ-83	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	7,8±0,4	< 6	< 6
84	ОДИ-84	17,6±0,42	< 6	< 6	< 6	<b>23,8±0,3<sup>b</sup></b>	9,8±0,34	< 6	< 6	< 6
85	ОДИ-85	19,1±0,3	9,5±0,34	< 6	< 6	< 6	<b>21,2±0,4<sup>b</sup></b>	21,1±0,6	< 6	< 6
87	ОДИ-87	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	11,2±0,4	< 6	< 6
88	ОДИ-88	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10,2±0,37	< 6	< 6	< 6
89	ОДИ-89	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	13,6±0,43	< 6	< 6	< 6
90	ОДИ-90	11±0,36	11,3±0,33	12,3±0,55	<b>27,5±0,42<sup>a</sup></b>	<b>21,5±0,43<sup>b</sup></b>	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як впливає із даних табл. 3.13, серед сполук класу заміщених акридонів найбільш активною по відношенню до *E. rhusiopathiae* була речовина № 67 із зоною затримки росту  $27,6 \pm 0,49$  мм. Середню активність виявили сполуки № 61 (зона затримки росту  $17,8 \pm 0,4$  мм), № 64 (зона затримки росту  $17,6 \pm 0,49$  мм), № 65 (зона затримки  $18 \pm 0,44$  мм), № 76 (зона затримки росту  $17 \pm 0,36$  мм), № 78 (зона затримки росту  $18 \pm 0,51$  мм), № 79 (зона затримки росту  $17 \pm 0,51$  мм), № 82 (зона затримки росту  $17,3 \pm 0,42$  мм), № 84 (зона затримки росту  $17,6 \pm 0,42$  мм), № 84 (зона затримки росту  $17,6 \pm 0,42$  мм) та № 85 (зона затримки росту  $19,1 \pm 0,3$  мм). Слабку протимікробну дію справляли сполуки № 62 із зоною затримки росту  $9,8 \pm 0,54$  мм, № 63 із зоною затримки росту  $12 \pm 0,36$  мм та № 90 із зоною затримки росту  $11 \pm 0,36$  мм. Хімічні сполуки № № 66, 68–75, 77, 80, 81, 83, 86–89 не проявили активності відносно *E. rhusiopathiae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найбільш активною по відношенню до *E. coli* виявилася речовина № 78 із зоною затримки росту  $25,8 \pm 0,4$  мм. Середню активність проявили сполуки № 67 зі значенням зони затримки росту  $22 \pm 0,36$  мм та № 71 зі значенням зони затримки росту  $21,5 \pm 0,34$  мм. Слабку протимікробну дію по відношенню до *E. coli* справляли сполуки № 79 (зона затримки росту  $12 \pm 0,51$  мм), № 85 (зона затримки росту  $9,5 \pm 0,34$  мм) та № 90 (зона затримки росту  $11,3 \pm 0,33$  мм). Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності по відношенню до *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високу активність до *S. typhimurium* виявила сполука № 74 із зоною затримки росту  $24,1 \pm 0,3$  мм. Середню активність проявила сполука № 64 із зоною затримки росту  $21,3 \pm 0,33$  мм. Слабку протимікробну дію по відношенню до тест-мікроорганізму, який досліджували, справляли сполуки № 67 (зона затримки росту  $11,8 \pm 0,65$  мм), № 71 (зона затримки росту  $9,8 \pm 0,3$  мм), № 73 (зона затримки росту  $11,6 \pm 0,66$  мм), № 79 (зона затримки росту  $11 \pm 0,36$  мм), № 82 (зона затримки росту  $9,3 \pm 0,49$  мм) та № 90 (зона затримки росту  $< 6$  мм).

12,3±0,55 мм). Інші сполуки класу заміщених акридонів не проявили активності відносно *S. typhimurium* (зона затримки росту < 6 мм).

Найактивнішою сполукою по відношенню до *K. pneumoniae* виявилася речовина № 90 із зоною затримки росту 27,5±0,42 мм. Середню активність проявили сполуки № 71 (зона затримки росту 17±0,36 мм) та № 73 (зона затримки росту 17,8±0,4 мм). Слабку протимікробну дію на грамнегативний тест-мікроорганізм, який досліджували, справила сполука № 78 із значенням зони затримки 9,3±0,34 мм. Усі інші сполуки класу, який вивчався, не проявили активності відносно *K. pneumoniae* (зона затримки росту < 6 мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу заміщених акридонів високу активність по відношенню до *P. multocida* виявила сполука № 84 із зоною затримки росту 23,8±0,3 мм. Середню активність проявила речовина № 90 із зоною затримки росту 21,5±0,43 мм. Слабку протимікробну дію на тест-мікроорганізм, який вивчали, справили сполуки № 65 (зона затримки росту 10,1±0,4 мм), № 66 (зона затримки росту 12,1±0,7 мм), № 67 (зона затримки росту 10,3±0,56 мм), № 69 (зона затримки росту 13±0,45 мм), № 73 (зона затримки росту 11,5±0,43 мм), № 79 (зона затримки росту 10,1±0,1 мм), № 80 (зона затримки росту 12,6±0,49 мм), № 82 (зона затримки росту 9±0,36 мм). Інші сполуки класу заміщених акридонів не проявили антибактеріальної дії на *P. multocida* (зона затримки росту < 6 мм).

Найактивнішою по відношенню до *S. aureus* виявилася речовина № 90 (зона затримки росту 24,1±0,31 мм). Середню активність проявили сполуки № 76 (зона затримки росту 21±0,36 мм), № 77 (зона затримки росту 21±0,36 мм), № 80 (зона затримки росту 20,8±0,34 мм) та № 85 (зона затримки росту 21,2±0,4 мм). Слабку протимікробну дію на *S. aureus* справляли сполуки № 64 із зоною затримки росту 11,5±0,34 мм, № 65 із зоною затримки росту 14±0,36 мм, № 68 із зоною затримки росту 8,2±0,4 мм, № 71 із зоною затримки росту 14 мм, № 72 із зоною затримки росту 11,8±0,65 мм, № 73 із зоною затримки росту 9,3±0,42 мм, № 84 із зоною затримки росту 9,8±0,34 мм, № 88 із зоною затримки росту 10,2±0,37 мм та № 89 із зоною затримки росту



13,6±0,43 мм. Сполуки під №№ 61–63, 66, 67, 69, 70, 74, 75, 78, 79, 81, 82, 83, 86 та № 87 класу, що вивчали, не проявили активності до тест-мікроорганізму, який досліджувався (зона затримки росту < 6 мм).

Високоактивними по відношенню до *S. pyogenes* виявилися сполуки № 75 із зоною затримки росту 24±0,36 мм та № 81 із зоною затримки росту 24±0,36 мм. Середній ступінь активності проявили сполуки № 64 із зоною затримки росту 21,3±0,33 мм, № 74 із зоною затримки росту 20,8±0,4 мм, № 75 із зоною затримки росту 24±0,36 мм та № 85 із зоною затримки росту 21±0,6 мм. Слабку протимікробну дію на тест-мікроорганізм, що вивчали, справили сполуки № 61 (зона затримки росту 10,2±0,48 мм), № 62 (зона затримки росту 13,2±0,4 мм), № 76 (зона затримки росту 10±0,36 мм), № 77 (зона затримки росту 7±0,36 мм), № 78 (зона затримки росту 12,5±0,43 мм), № 83 (зона затримки росту 7,8±0,4 мм), № 85 (зона затримки росту 21±0,6 мм) та № 87 (зона затримки росту 11,2±0,4 мм). Хімічні речовини під №№ 63, 65–73, 79, 80, 82, 84, 86, 88–90 класу заміщених акридонів не проявили антибактеріальної дії відносно *S. pyogenes* (зона затримки росту < 6 мм).

Слабку активність по відношенню до спорової форми *B. anthracis* виявила сполука № 80 із зоною затримки росту 11,8±0,4 мм. Усі інші сполуки класу не проявили активності відносно спорової форми *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Високу протимікробну дію на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis* справила сполука № 80 класу заміщених акридонів із зоною затримки росту 24,5±0,22 мм. Інші сполуки цього класу не проявили активності по відношенню до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № № 64, 67, 71 та № 73 (13% від усіх досліджуваних сполук класу) із зоною затримки росту від 9,3±0,42 мм до 27,6±0,49 мм. Найбільш чутливим із усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявився *S. pyogenes*, по відношенню до якого

активність проявили 40% досліджуваних сполук, що досліджували, а найменш чутливим – *B. anthracis*, ріст якого пригнічували лише 3,33% сполук класу заміщених акридонів.

#### **3.4.5. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених акридонів**

Хімічні сполуки класу незаміщених акридонів досліджували із використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*. Із них були представники грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а також спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджені речовини виявляли як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Результати визначення МІК незаміщених акридонів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
91	ОДИ-91	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
92	ОДИ-92	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41
93	ОДИ-93	0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
94	ОДИ-94	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
95	ОДИ-95	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
97	ОДИ-97	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
98	ОДИ-98	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
99	ОДИ-99	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
100	ОДИ-100	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
101	ОДИ-101	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41
103	ОДИ-103	> 0,41	0,41	0,41	0,041	0,41	<b>0,00041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
104	ОДИ-104	<b>0,00041</b>	0,041	<b>0,00041</b>	0,041	<b>0,0041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41
105	ОДИ-105	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	0,041	0,41
106	ОДИ-106	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
107	ОДИ-107	0,041	0,041	> 0,41	0,041	0,41	<b>0,0041</b>	0,041	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
109	ОДИ-109	0,041	0,041	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	0,041	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
110	ОДИ-110	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
111	ОДИ-111	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* - p&lt;0,05; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Із даних таблиці 3.14, випливає, що найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки № 104 та № 106 класу незаміщених акридонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 107 та № 109 характеризувалися середньою активністю зі значенням мінімальної концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № № 93, 97, 99 та № 105 справляли слабку антимікробну дію відносно *E. rhusiopathiae* із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 91, 92, 94–96, 98, 100–103, 108, 110 та № 111 не проявляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *E. coli* пригнічували сполуки №№ 104, 107 та № 109 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 101 та № 103 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу незаміщених акридонів не проявили протимікробної дії відносно *E. coli*.

Найактивнішими по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 104 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та № 105 у мінімальній концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини №№ 95, 97, 99, 103, 106 та № 109 проявили слабку дію із концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під №№ 91–94, 96, 98, 100–102, 107, 108, 110 та № 111 не справляли дії на *S. typhimurium*.

Високоактивною по відношенню до *K. pneumoniae* була речовина № 109 класу незаміщених акридонів із мінімальною концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Средню активність виявили сполуки № 93, 94, 103, 104 та № 107 із концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовина № 98 проявила слабку активність у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки класу незаміщених акридонів під № № 91, 92, 95–97, 99–102, 105, 106, 108, 110 та № 111 не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *P. multocida* пригнічували сполуки під №№ 104, 105 та № 109 зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини під №№ 92, 98, 99, 103, 107 та № 110 у мінімальній концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>.

Усі інші сполуки класу, який досліджували, не проявили антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Найактивнішою по відношенню до *S. aureus* були сполуки № 103 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та № 107 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середньою активністю по відношенню до зазначеного тест-мікроорганізму характеризувалися сполуки №№ 101, 104, 109 із концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Низьку активність проявили речовини №№ 93, 100 та 111 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини класу незаміщених акридонів під №№ 91, 92, 94–99, 102, 105, 106, 108 та № 110 не справили дії на *S. aureus*.

Високоактивними по відношенню до *S. pyogenes* були сполуки №№ 93, 98 та 103 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середньоактивними виявилися сполуки № 99 та № 107 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку активність проявили речовини № 91, № 109 та № 110 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки №№ 92, 94–97, 100–102, 104–106, 108 та № 111 не проявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми *B. anthracis* високу активність виявили сполуки № 107 та № 109 класу незаміщених акридонів у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середньоактивною була сполука № 105 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Низькою активністю відзначалася речовина № 92 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу незаміщених акридонів не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполуки № 107 та № 109 із мінімальною концентрацією антимікробної дії 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також № 92 та № 105 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу, що досліджувався не проявили активності відносно суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 107 та № 109 (13% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням

мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилася *P. multocida*, відносно якої протимікробну активність виявили 42,85% досліджуваних сполук, а найменш чутливим – *B. anthracis*, антимікробну дію до якого проявили 19,04% речовин, які вивчалися.

З метою підтвердження даних, отриманих за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу незаміщених акридонів із використанням диско-дифузійного методу. Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, що вивчалися (табл. 3.15).

Результати вивчення антибактеріальних властивостей незаміщених акридонів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат. ф.
91	ОДИ-91	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10±0,36	< 6	< 6
92	ОДИ-92	< 6	< 6	< 6	< 6	9,1±0,3	< 6	< 6	9±0,48	8,6±0,21
93	ОДИ-93	12,1±0,65	< 6	< 6	16,8±0,31	< 6	8,3±0,42	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
94	ОДИ-94	< 6	< 6	< 6	18,1±0,43	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
95	ОДИ-95	< 6	< 6	11,1±0,4	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
97	ОДИ-97	11±0,36	< 6	12,3±0,42	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
98	ОДИ-98	< 6	< 6	< 6	11,3±0,42	11,5±0,61	< 6	<b>23,5±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
99	ОДИ-99	12,1±0,65	< 6	11,6±0,49	< 6	9,8±0,4	< 6	20,8±0,31	< 6	< 6
100	ОДИ-100	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10,5±0,22	< 6	< 6	< 6
101	ОДИ-101	< 6	11,3±0,6	< 6	< 6	< 6	21±0,36	< 6	< 6	< 6
103	ОДИ-103	< 6	12,1±0,4	10,1±0,47	17,8±0,31	11,6±0,52	<b>27,6±0,4<sup>a</sup></b>	<b>23,8±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
104	ОДИ-104	<b>26,3±0,42<sup>a</sup></b>	20,8±0,3	<b>26,8±0,47<sup>a</sup></b>	17±0,36	<b>22,8±0,3<sup>b</sup></b>	21,2±0,4	< 6	< 6	< 6
105	ОДИ-105	12,3±0,33	< 6	<b>21,1±0,3<sup>b</sup></b>	< 6	<b>23,3±0,3<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	20,8±0,3	11,8±0,44
106	ОДИ-106	<b>26,8±0,3<sup>a</sup></b>	< 6	10±0,54	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
107	ОДИ-107	22±0,51	20,6±0,33	< 6	17,5±0,43	11±0,36	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	20,5±0,22	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>
109	ОДИ-109	22±0,36	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	10,5±0,52	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>23,1±0,3<sup>b</sup></b>	21±0,36	11,3±0,33	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>	<b>23,3±0,21<sup>b</sup></b>
110	ОДИ-110	< 6	< 6	< 6	< 6	10,1±0,48	< 6	8±0,36	< 6	< 6
111	ОДИ-111	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	10±0,36	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: \* 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як свідчать таблиці 3.15, серед сполук класу незаміщених акридонів найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* були речовини № 104 із зоною затримки росту  $26,3 \pm 0,42$  мм та № 106 із зоною затримки росту  $26,8 \pm 0,3$  мм. Середню активність проявили сполуки № 107 зі значенням зони затримки росту  $22 \pm 0,51$  мм та № 109 – зона затримки росту  $22 \pm 0,36$  мм. Слабку протимікробну дію виявили сполуки № 93 (зона затримки росту  $12,1 \pm 0,65$  мм), № 97 (зона затримки росту  $11 \pm 0,36$  мм), № 99 (зона затримки росту  $12,1 \pm 0,65$  мм) та № 105 (зона затримки росту  $12,3 \pm 0,33$  мм). Сполуки під №№ 91, 92, 94–96, 98, 100–103, 108, 110 та № 111 не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середню антимікробну активність по відношенню до *E. coli* проявили речовини № 104 зі значенням зони затримки росту  $20,8 \pm 0,3$  мм, № 107 зі значенням зони затримки росту  $20,6 \pm 0,33$  мм та № 109 зі значенням зони затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабкою протимікробною дією характеризувалися сполуки № 101 (зона затримки росту  $11,3 \pm 0,6$  мм) та № 103 (зона затримки росту  $12,1 \pm 0,4$  мм). Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності відносно *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найактивнішими по відношенню до *S. typhimurium* виявилися сполуки № 104 із зоною затримки росту та № 105 зі значенням зони затримки росту  $21,1 \pm 0,3$  мм. Слабку антимікробну активність виявили сполуки № 95 (зона затримки росту  $11,1 \pm 0,4$  мм), № 97 (зона затримки росту  $12,3 \pm 0,42$  мм), № 99 (зона затримки росту  $11,6 \pm 0,49$  мм), № 103 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,47$  мм), № 106 (зона затримки росту  $10 \pm 0,54$  мм) та № 109 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,52$  мм). Хімічні речовини під №№ 91–94, 96, 98, 100–102, 107, 108, 110 та № 111 не справляли дії на *S. typhimurium* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що активність по відношенню до *K. pneumoniae* виявили речовини № 93 (зона затримки росту  $16,8 \pm 0,31$  мм), № 94 (зона затримки росту  $18,1 \pm 0,43$  мм), № 103 (зона затримки росту  $17,8 \pm 0,31$  мм), № 104 (зона затримки росту  $17 \pm 0,36$  мм), № 107 (зона затримки росту  $17,5 \pm 0,43$  мм) та № 109 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм).



Слабку активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявила речовина № 98 із зоною затримки росту  $11,3 \pm 0,42$  мм. Сполуки класу незаміщених акридонів під №№ 91, 92, 95–97, 99–102, 105, 106, 108, 110 та № 111 не справили дії на мікроорганізм, який досліджували (зона затримки росту < 6 мм).

По відношенню до *P. multocida* серед сполук класу незаміщених акридонів середньоактивними виявилися сполуки № 104 зі значенням зони затримки росту  $22,8 \pm 0,3$  мм, № 105 зі значенням зони затримки росту  $23,3 \pm 0,33$  мм та № 109 зі значенням зони затримки росту  $23,1 \pm 0,3$  мм. Слабку активність проявили речовини № 92 (зона затримки росту  $9,1 \pm 0,3$  мм), № 98 (зона затримки росту  $11,5 \pm 0,61$  мм), № 99 (зона затримки росту  $9,8 \pm 0,4$  мм), № 103 (зона затримки росту  $11,6 \pm 0,52$  мм), № 107 (зона затримки росту  $11 \pm 0,36$  мм) та № 110 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,48$  мм). Усі інші сполуки зазначеного вище класу не справляли інгібуючої дії (зона затримки росту < 6 мм).

Найактивнішими по відношенню до *S. aureus* виявилися сполуки № 103 із зоною затримки росту  $27,6 \pm 0,4$  мм та № 107 із зоною затримки  $24,1 \pm 0,31$  мм. Середню антибактеріальну активність виявили сполуки № 101 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм), № 104 (зона затримки росту  $21,2 \pm 0,4$  мм) та № 109 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм). Слабку дію на цей мікроорганізм справляли сполуки № 93 (зона затримки росту  $8,3 \pm 0,42$  мм), № 100 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,22$  мм) та № 111 (зона затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм). Хімічні речовини класу незаміщених акридонів під №№ 91, 92, 94–99, 102, 105, 106, 108 та 110 не виявили впливу на *S. aureus* (зона затримки росту < 6 мм).

Високу активність до *S. pyogenes* проявили речовини № 93 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм, № 98 із зоною затримки росту  $23,5 \pm 0,36$  мм та № 103 із зоною затримки росту  $23,8 \pm 0,31$  мм. Середньоактивними були сполуки № 99 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,31$  мм та № 107 із зоною затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм. Слабку протимікробну дію справляли сполуки № 91 (зона затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм), № 109 (зона затримки росту  $11,3 \pm 0,33$  мм) та № 110 (зона затримки росту  $8 \pm 0,36$  мм). Сполуки під №№ 92,

94–97, 100–102, 104–106, 108 та № 111 не проявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes* (зона затримки росту < 6 мм).

До спорової форми *B. anthracis* високу активність серед сполук класу незаміщених акридонів виявили речовини № 107 із зоною затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм та № 109 із зоною затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм. Середньоактивною була сполука № 105 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,3$  мм. Слабку антимікробну активність по відношенню до спорової форми *B. anthracis* виявила сполука № 92 зі значенням зони затримки росту  $9 \pm 0,48$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, були неактивними (зона затримки росту < 6 мм).

Високу протимікробну активність до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* проявили сполуки № 107 зі значенням зони затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм та № 109 зі значенням зони затримки росту  $23,3 \pm 0,21$  мм. Слабку антимікробну активність виявили сполуки № 92 (зона затримки росту  $8,6 \pm 0,21$  мм) та № 105 (зона затримки росту  $11,8 \pm 0,44$  мм). Інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили інгібуючу дію на *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 107 та № 109 (13% від усіх досліджуваних сполук класу) із зонами затримки росту від  $11 \pm 0,36$  мм до  $24 \pm 0,36$  мм. Найбільш чутливим з усього спектра мікроорганізмів, що вивчалися, виявилася *P. multocida*, протимікробну дію відносно якої проявили 42,85% досліджуваних сполук, а найменш чутливим – *B. anthracis*, активними до нього виявилися 19,04% речовин класу незаміщених акридонів.

#### **3.4.6. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених тіоксантонів**

Антимікробну активність хімічних сполук класу незаміщених тіоксантонів визначали із використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*. Серед них представники грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджені

речовини проявили як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Результати визначення МІК незаміщених тіоксантонів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
114	ОДИ-114	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
115	ОДИ-115	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
117	ОДИ-117	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
118	ОДИ-118	0,41	> 0,41	0,041	<b>0,00041</b>	0,41	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	0,41
119	ОДИ-119	0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
120	ОДИ-120	<b>0,0041</b>	0,41	0,041	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,041	> 0,41	0,41	0,41
121	ОДИ-121	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Із даних таблиці 3.16 випливає, що найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки № 121 класу незаміщених тіоксантонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та № 120 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 118 та № 119 характеризувалися низькою антимікробною активністю відносно *E. rhusiopathiae* із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 112–117 не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *E. coli* пригнічувала лише сполука № 120 із мінімальною концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки зазначеного вище класу не проявили протимікробної дії відносно *E. coli*.

Середньоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 118 та № 120 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку антибактеріальну дію проявила речовина № 115 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під №№ 112–114, 116, 117, 119 та № 121 не виявили дії на мікроорганізм, який досліджували.

Найбільшу активність по відношенню *K. pneumoniae* проявили речовини № 118 класу незаміщених тіоксантонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup> та № 120 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 115 та № 119 виявили низьку антибактеріальну активність у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 112–114, 116, 117 та № 121 не справляли дії на досліджуваний мікроорганізм.

Ріст *P. multocida* пригнічували речовини № 114, № 117 та № 118 зі значенням мінімальної концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу незаміщених тіоксантонів не проявляли антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Найвищу антибактеріальну активність по відношенню до *S. aureus* виявила сполука № 118 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Середню протимікробну дію справляла речовина № 120 у

мінімальній концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Інші речовини класу, який вивчали, не проявили дії на *S. aureus*.

На *S. pyogenes* жодна сполука класу незаміщених тіоксантонів не проявила антимікробної активності.

До спорової форми *B. anthracis* активність виявили сполуки № 118 та № 120 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, що вивчали, не справляли дії на досліджуваний мікроорганізм.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполуки № 118 та № 120 зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші речовини класу, який досліджували, не виявляли антибактеріальної активності відносно суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 118 та № 120 (20% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливими з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилися *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*, ріст яких пригнічували 40% досліджуваних речовин, а найменш чутливим – *S. pyogenes*, до якого жодна сполука не проявила активності.

Для підтвердження даних, які були отримані за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу незаміщених тіоксантонів із використанням диско-дифузійного методу. Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, які вивчалися (табл. 3.17).

Таблиця 3.17.

Результати вивчення антибактеріальних властивостей незаміщених тіоксантонів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
114	ОДИ-114	< 6	< 6	< 6	< 6	9,1±0,3	< 6	< 6	< 6	< 6
115	ОДИ-115	< 6	< 6	9,5±0,42	10±0,36	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
117	ОДИ-117	< 6	< 6	< 6	< 6	10,8±0,4	< 6	< 6	< 6	< 6
118	ОДИ-118	11±0,63	< 6	17,3±0,42	<b>27±0,36<sup>a</sup></b>	12,1±0,65	<b>29,3±0,39<sup>a</sup></b>	< 6	12±0,36	14,2±0,31
119	ОДИ-119	10,5±0,64	< 6	< 6	9,6±0,33	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
120	ОДИ-120	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	10,1±0,65	17,1±0,4	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	21,1±0,31	< 6	8,8±0,4	11,3±0,33
121	ОДИ-121	<b>28,3±0,33<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Із даних таблиці 3.17 видно, що серед сполук класу незаміщених тіоксантонів найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* були речовини № 121 із зоною затримки росту  $28,3 \pm 0,33$  мм та № 120 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм. Слабку протимікробну активність виявили сполуки № 118 (зона затримки росту  $11 \pm 0,63$  мм) та № 119 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,64$  мм). Сполуки під №№ 112–117 не справляли дії на досліджуваний мікроорганізм (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Слабку протимікробну дію по відношенню до *E. coli* проявила лише речовина № 120 із зоною затримки  $10,1 \pm 0,65$  мм. Інші сполуки класу, який досліджувався, не виявили активності відносно *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середньоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 118 із зоною затримки росту  $17,3 \pm 0,42$  мм та № 120 із зоною затримки росту  $17,1 \pm 0,4$  мм. Слабку активність до *S. typhimurium* проявила сполука № 115 (зона затримки росту  $9,5 \pm 0,42$  мм). Хімічні речовини під № 112–114, 116, 117, 119 та № 121 не впливали на мікроорганізм, який досліджували (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найактивнішими сполуками серед класу, який досліджувався, по відношенню до *K. pneumoniae* виявилися сполуки № 118 із зоною затримки росту  $27 \pm 0,6$  мм та № 120 із зоною затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм. Слабку антибактеріальну активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявили речовини № 115 (зона затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм) та № 119 (зона затримки росту  $9,6 \pm 0,33$  мм). Сполуки під №№ 112–114, 116, 117 та 121 не виявили дію на мікроорганізм, який досліджували (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу незаміщених тіоксантонів слабку активність по відношенню до *P. multocida* проявили сполуки № 114 (зона затримки росту  $9,1 \pm 0,3$  мм), № 117 (зона затримки росту  $10,8 \pm 0,4$  мм) та № 118 (зона затримки росту  $< 6$  мм).



12,1±0,65 мм). Інші сполуки цього класу не виявляли протимікробної активності (зона затримки росту < 6 мм).

Найактивнішою сполукою досліджуваного класу по відношенню до *S. aureus* виявилася речовина № 118 із зоною затримки росту 29,3±0,39 мм. Середній ступінь антимікробної активності проявила сполука № 120 із зоною затримки росту 21,1±0,31 мм. Інші речовини класу незаміщених тіоксантонів не справляли дії на *S. aureus* (зона затримки росту < 6 мм).

Серед сполук класу, який досліджувався, жодна речовина не виявила антибактеріальної активності відносно *S. pyogenes*.

Проведеними дослідженнями встановлено, що серед сполук класу незаміщених тіоксантонів слабку активність по відношенню до спорової форми *B. anthracis* проявили речовини № 118 із зоною затримки росту 12±0,36 мм та № 120 із зоною затримки росту 8,8±0,4 мм. Інші сполуки цього класу активності не виявили (зона затримки < 6 мм).

До суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* слабку активність проявили речовини № 118 із зоною затримки росту 14,2±0,31 мм та № 120 із зоною затримки росту 11,3±0,33 мм. Інші сполуки не впливали на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis* (зона затримки росту < 6 мм).

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 118 та № 120 (20 % від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням зон затримки росту від 11±0,63 мм до 29,3±0,39 мм. Найбільш чутливими з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилися *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*, антибактеріальну активність до яких виявили 40% сполук класу незаміщених тіоксантонів, а найменш чутливим – *S. pyogenes*, до якого жодна досліджувана сполука не проявила протимікробної дії.

### **3.4.7. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи незаміщених феназинів**

Групу хімічних сполук класу незаміщених феназинів досліджували із використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*, серед них були представники як грампозитивних, так і грамнегативних мікроорганізмів, а також спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджені речовини проявили як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Результати визначення МІК незаміщених феназінів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B.anthraxis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
122	ОДИ-122	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
123	ОДИ-123	<b>0,00041</b>	0,041	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
124	ОДИ-124	<b>0,00041</b>	0,041	0,41	<b>0,0041</b>	0,041	0,041	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
125	ОДИ-125	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	0,41	<b>0,0041</b>
126	ОДИ-126	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41
127	ОДИ-127	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	<b>0,0041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41
128	ОДИ-128	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41
129	ОДИ-129	<b>0,00041</b>	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
130	ОДИ-130	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,00041</b>	0,41	> 0,41	> 0,41
131	ОДИ-131	<b>0,00041</b>	<b>0,00041</b>	0,041	> 0,41	0,041	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	0,41
132	ОДИ-132	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
133	ОДИ-133	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
134	ОДИ-134	<b>0,00041</b>	0,041	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
135	ОДИ-135	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
136	ОДИ-136	<b>0,00041</b>	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41

Продовження табл. 3.18

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
137	ОДИ-137	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
138	ОДИ-138	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
139	ОДИ-139	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
140	ОДИ-140	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
141	ОДИ-141	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	<b>0,00041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
142	ОДИ-142	<b>0,00041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,041	> 0,41	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41
143	ОДИ-143	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
144	ОДИ-144	<b>0,00041</b>	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
145	ОДИ-145	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	0,41	> 0,41	0,041	<b>0,0041</b>
146	ОДИ-146	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,41
148	ОДИ-148	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
149	ОДИ-149	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,041	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
151	ОДИ-151	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітка: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлоксацин)

Із даних таблиці 3.18 випливає, що найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки класу незаміщених феназінів під №№ 122–124, 129–131, 134–139, 142, 144–146 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 125, № 126 та № 128 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 127, 132, 133, 140, 141, 143, 147–153 не справляли дії на досліджуваний мікроорганізм.

Ріст *E. coli* пригнічувала речовина № 131 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Високоактивними виявилися сполуки № 142 та № 149 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили сполуки № №123, 124, 134 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 129, № 136 та № 151 виявили активність відносно тест-мікроорганізму лише у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні сполуки під №№ 122, 125–128, 130, 132, 133, 135, 137–141, 143–148, 150, 152 та № 153 не справили протимікробної дії відносно *E. coli*.

Середню активність по відношенню до *S. typhimurium* виявила сполука № 131 з мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>. А речовини № 124 та № 144 проявили слабку антибактеріальну дію із значенням МІК 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу незаміщених феназінів не виявили дії на досліджуваний тест-мікроорганізм.

Найбільш активною по відношенню до *K. pneumoniae* була речовина № 137 класу незаміщених феназінів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 124, 126, 128, 129, 132, 135, 136 справляли інгібуючу дію на зазначений тест-мікроорганізм у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а речовини №№ 123, 134, 142, 149 – у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Сполука № 138 проявила слабку антибактеріальну активність у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні сполуки під №№ 122, 125, 127, 130, 131, 133, 139, 140, 141, 143–148, 150–153 не справляли дії на *K. pneumoniae*.

Ріст *P. multocida* пригнічували хімічні сполуки № 124, № 131, № 132 та № 136 зі значенням МІК 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини під №№ 127, 128, 133, 135, 138, 141, 143 та № 145 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини класу

незаміщених феназинів під №№ 122, 123, 125, 126, 129, 130, 134, 137, 139, 140, 142, 144, 146–153 не проявили антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Найактивнішими по відношенню до *S. aureus* були сполуки під №№ 130, 131, 141 та 142 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 126, № 127 та № 135 у концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 124 та № 125 проявили середній ступінь активності у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під №№ 128, 129, 144, 145, 148 та № 149 справляли слабку дію на *S. aureus* зі значенням МІК 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 122, 123, 132–134, 136–140, 143, 146, 147, 150–153 не впливали на досліджуваний мікроорганізм.

Високоактивними по відношенню до *S. pyogenes* виявилися хімічні сполуки № 122, № 136, № 137 та № 141 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявила сполука № 127 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під №№ 124, 129, 130 та 140 виявили низьку активність до тест-мікроорганізму, який досліджували, із мінімальною концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу незаміщених феназинів не проявили антимікробної активності до *S. pyogenes*.

До спорової форми *B. anthracis* високу активність проявили сполуки під №№ 124, 128, 144 та 146 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а речовина № 145 виявила середній ступінь дії у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку антибактеріальну дію проявили сполуки № 125 та № 131 зі значенням МІК 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки зазначеного вище класу не справляли дії на досліджуваний мікроорганізм.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполуки під №№ 124, 125, 144 та № 145 зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 128, № 131 та № 146 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки не проявили антибактеріальної активності відносно суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 124, № 131 та № 135 (9% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, антибактеріальну активність відносно якої проявили 59,37% досліджуваних речовин, а найменш чутливою – *S. typhimurium*, ріст якої пригнічували 9,37% сполук класу, що вивчали.

Для підтвердження даних, які були отримані за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу незаміщених феназінів із використанням методу дисків. Результати, які були отримані, підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, які вивчалися (табл. 3.19.).

Таблиця 3.19

Результати вивчення антибактеріальних властивостей незаміщених феназінів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
122	ОДИ-122	<b>27,6±0,66<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>23,8±0,32<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
123	ОДИ-123	<b>27,1±0,47<sup>a</sup></b>	<b>20,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	<b>20,8±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
124	ОДИ-124	<b>29±0,36<sup>a</sup></b>	<b>21,1±0,4<sup>b</sup></b>	9,1±0,3	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>20,8±0,4<sup>b</sup></b>	<b>20,5±0,34<sup>b</sup></b>	13,5±0,22	<b>24,2±0,4<sup>b</sup></b>	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>
125	ОДИ-125	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>21,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	12±0,63	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>
126	ОДИ-126	<b>24±0,44<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6
127	ОДИ-127	< 6	< 6	< 6	< 6	11,1±0,31	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	<b>20,6±0,42<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
128	ОДИ-128	<b>24,1±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	9,6±0,49	9±0,36	< 6	<b>24,3±0,35<sup>b</sup></b>	11,3±0,56
129	ОДИ-129	<b>27,3±0,49<sup>a</sup></b>	10,5±0,42	< 6	<b>23,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	12,5±0,43	10	< 6	< 6
130	ОДИ-130	<b>27,3±0,42<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>26±0,48<sup>a</sup></b>	7,6±0,33	< 6	< 6
131	ОДИ-131	<b>27±0,63<sup>a</sup></b>	<b>25,8±0,3<sup>a</sup></b>	17,1±0,32	< 6	<b>20,8±0,31<sup>b</sup></b>	<b>29±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	10±0,36	11,5±0,22
132	ОДИ-132	< 6	< 6	< 6	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	<b>21,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6
133	ОДИ-133	< 6	< 6	< 6	< 6	13,3±0,49	< 6	< 6	< 6	< 6
134	ОДИ-134	<b>27,5±0,61<sup>a</sup></b>	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	<b>20,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
135	ОДИ-135	<b>27,6±0,32<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	<b>24,6±0,21<sup>b</sup></b>	11,3±0,71	<b>22,3±0,33<sup>b</sup></b>	21,2±0,4	< 6	< 6
136	ОДИ-136	<b>28,1±0,3<sup>a</sup></b>	10,1±0,47	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6
137	ОДИ-137	<b>28,3±0,49<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	<b>28±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	21,2±0,31	< 6	< 6
138	ОДИ-138	<b>28±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	10±0,36	8±0,51	< 6	< 6	< 6	< 6



Продовження табл. 3.19										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
139	ОДИ-139	<b>26±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
140	ОДИ-140	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	8,3±0,49	< 6	< 6
141	ОДИ-141	< 6	< 6	< 6	< 6	11,8±0,47	<b>29,1±0,4<sup>a</sup></b>	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
142	ОДИ-142	<b>27,6±0,55<sup>a</sup></b>	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	<b>21,1±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	<b>27±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6
143	ОДИ-143	< 6	< 6	< 6	< 6	13,3±0,33	< 6	< 6	< 6	< 6
144	ОДИ-144	<b>27,8±0,3<sup>a</sup></b>	< 6	9,6±0,42	< 6	< 6	10,8±0,31	< 6	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>
145	ОДИ-145	<b>27±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	10,8±0,4	8,5±0,34	< 6	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	<b>24,3±0,27<sup>b</sup></b>
146	ОДИ-146	<b>28,6±0,42<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>	11,2±0,4
148	ОДИ-148	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	8,6±0,49	< 6	< 6	< 6
149	ОДИ-149	< 6	<b>23,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	<b>21±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	12,5±0,5	< 6	< 6	< 6
151	ОДИ-151	< 6	9,8±0,3	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як свідчать дані таблиці 3.19., серед сполук класу незаміщених феназинів найбільш активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* були речовини № 122 (зона затримки росту  $27,6 \pm 0,66$  мм), № 123 (зона затримки росту  $27,1 \pm 0,47$  мм), № 124 (зона затримки росту  $29 \pm 0,36$  мм), № 125 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 126 (зона затримки росту  $24 \pm 0,44$  мм), № 128 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,4$  мм), № 129 (зона затримки росту  $27,3 \pm 0,49$  мм), № 130 (зона затримки росту  $27,3 \pm 0,42$  мм), № 131 (зона затримки росту  $27 \pm 0,63$  мм), № 134 (зона затримки росту  $27,5 \pm 0,61$  мм), № 135 (зона затримки росту  $27,6 \pm 0,31$  мм), № 136 (зона затримки росту  $28,1 \pm 0,3$  мм), № 137 (зона затримки росту  $28,3 \pm 0,49$  мм), № 138 (зона затримки росту  $28 \pm 0,36$  мм), № 139 (зона затримки росту  $26 \pm 0,36$  мм), № 142 (зона затримки росту  $27,6 \pm 0,55$  мм), № 144 (зона затримки росту  $27,8 \pm 0,3$  мм), № 145 (зона затримки росту  $27 \pm 0,36$  мм) та № 146 (зона затримки росту  $28,6 \pm 0,42$  мм). Сполуки під №№ 127, 132, 133, 140, 141, 143, 147–153 не справляли дії на *E. rhusiopathiae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найактивнішими сполуками класу, який досліджувався, по відношенню до *E. coli* виявилися речовини № 131 із зоною затримки росту  $25,8 \pm 0,3$  мм та № 142 із зоною затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм. Середню активність мали сполуки № 123 із зоною затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм, № 124 із зоною затримки росту  $21,1 \pm 0,4$  мм, № 134 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм та № 149 із зоною затримки росту  $23,8 \pm 0,4$  мм. Слабку протимікробну активність проявили сполуки № 129 (зона затримки росту  $10,5 \pm 0,42$  мм), № 136 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,47$  мм) та № 151 (зона затримки росту  $9,8 \pm 0,3$  мм). Речовини під №№ 122, 125–128, 130, 132, 133, 135, 137–141, 143–148, 150, 152 та № 153 не справляли протимікробної дії відносно *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середню протимікробну дію на *S. typhimurium* виявила сполука № 131 із значенням зони затримки росту  $17,1 \pm 0,32$  мм. Слабку активність проявили речовини № 124 із зоною затримки росту  $9,1 \pm 0,3$  мм та № 144 із зоною затримки росту  $9,6 \pm 0,42$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не

характеризувалися активністю по відношенню до *S. typhimurium* (зона затримки росту < 6 мм).

Найактивнішимисполуками класу незаміщених феназинів по відношенню до *K. pneumoniae* виявилися сполуки № 137 зі значенням зони затримки росту  $28 \pm 0,36$  мм. Середню активність проявили сполуки № 123 (зона затримки росту  $20,8 \pm 0,31$  мм), № 124 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 126 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм), № 128 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 129 (зона затримки росту  $23,8 \pm 0,4$  мм), № 132 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм), № 134 (зона затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм), № 135 (зона затримки росту  $24,6 \pm 0,21$  мм), № 136 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 142 (зона затримки росту  $21,1 \pm 0,31$  мм) та № 149 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм). Слабку протимікробну активність по відношенню до *K. pneumoniae* виявила сполука № 138 із зоною затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм. Хімічні сполуки під №№ 122, 125, 127, 130, 131, 133, 139, 140, 141, 143–148, 150–153 не мали дії на *K. pneumoniae* (зона затримки росту < 6 мм).

Середній ступінь антимікробної дії на *P. multocida* виявили сполуки № 124 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,4$  мм, № 131 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,31$  мм, № 132 із зоною затримки росту  $21,5 \pm 0,22$  мм та № 136 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабку протимікробну дію проявили сполуки № 127 (зона затримки росту  $11 \pm 0,1$  мм), № 128 (зона затримки росту  $9,6 \pm 0,49$  мм), № 133 (зона затримки росту  $13,3 \pm 0,49$  мм), № 135 (зона затримки росту  $11,3 \pm 0,71$  мм), № 138 (зона затримки росту  $8 \pm 0,51$  мм), № 141 (зона затримки росту  $11,8 \pm 0,47$  мм), № 143 (зона затримки росту  $13,3 \pm 0,33$  мм) та № 145 (зона затримки росту  $10,8 \pm 0,4$  мм). Хімічні речовини класу незаміщених феназинів під №№ 122, 123, 125, 126, 129, 130, 134, 137, 139, 140, 142, 144, 146–153 антибактеріальної активності відносно *P. multocida* не виявили (зона затримки росту < 6 мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу незаміщених феназинів найбільш активними по відношенню до *S. aureus* виявилися сполуки № 126 із зоною затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм, № 127 із

зоною затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм, № 130 із зоною затримки росту  $26 \pm 0,48$  мм, № 131 із зоною затримки росту  $29 \pm 0,36$  мм, № 135 із зоною затримки росту  $22,3 \pm 0,33$  мм, № 141 із зоною затримки росту  $29,1 \pm 0,4$  мм та № 142 із зоною затримки росту  $27 \pm 0,36$  мм. Середню активність проявили сполуки № 124 (зона затримки росту  $20,5 \pm 0,34$  мм) та № 125 (зона затримки росту  $21,5 \pm 0,22$  мм). Слабку протимікробну дію на *S. aureus* справляли сполуки № 128 зі значенням зони затримки росту  $9 \pm 0,36$  мм, № 129 зі значенням зони затримки росту  $12,5 \pm 0,43$  мм, № 144 зі значенням зони затримки росту  $10,8 \pm 0,31$  мм, № 145 зі значенням зони затримки росту  $8,5 \pm 0,34$  мм, № 148 зі значенням зони затримки росту  $8,6 \pm 0,49$  мм та № 149 зі значенням зони затримки росту  $12,5 \pm 0,5$  мм. Сполуки під №№ 122, 123, 132, 133, 134, 136–140, 143, 146, 147, 150–153 не впливали на досліджуваний мікроорганізм (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високу активність по відношенню до *S. pyogenes* проявили сполуки № 122 (зона затримки  $23,8 \pm 0,32$  мм), № 135 (зона затримки  $21,2 \pm 0,4$  мм), № 137 (зона затримки  $21,2 \pm 0,31$  мм) та № 141 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм). Середньоактивною була речовина № 127 зі значенням зони затримки росту  $20,6 \pm 0,42$  мм. Слабку антибактеріальну дію виявили сполуки № 124 із зоною затримки росту  $13,5 \pm 0,22$  мм, № 129 із зоною затримки росту 10 мм, № 130 із зоною затримки росту  $7,6 \pm 0,33$  мм та № 140 із зоною затримки росту  $8,3 \pm 0,49$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності по відношенню до *S. pyogenes* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

До спорової форми *B. anthracis* високоактивними виявилися речовини № 124 із зоною затримки росту  $24,2 \pm 0,4$  мм, № 128 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,25$  мм, № 144 із зоною затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм та № 146 із зоною затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм. Середню активність проявила сполука № 145 із зоною затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм. Слабку протимікробну дію справляли сполуки № 125 (зона затримки росту  $12 \pm 0,63$  мм) та № 131 (зона затримки росту  $10 \pm 0,36$  мм). Інші сполуки класу незаміщених феназінів не впливали на мікроорганізм, який досліджували (зона затримки  $< 6$  мм).

Високий ступінь протимікробної активності по відношенню до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* проявили речовини № 124 (зона затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм), № 125 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм), № 144 (зона затримки росту  $24,3 \pm 0,33$  мм) та № 145 (зона затримки росту  $24,3 \pm 0,27$  мм). Слабку антибактеріальну дію справляли хімічні сполуки класу незаміщених феназінів № 128 зі значенням зони затримки росту  $11,3 \pm 0,56$  мм, № 131 зі значенням зони затримки росту  $11,5 \pm 0,22$  мм та № 146 зі значенням зони затримки росту  $11,2 \pm 0,4$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не виявили антибактеріальної активності до суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Таким чином, найбільш активними сполуками класу незаміщених феназінів, по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 124, № 131 та № 135 (9% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням діаметра зон затримки росту від  $10 \pm 0,36$  мм до  $24,5 \pm 0,22$  мм. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, відносно якої активність проявили 59,37% досліджуваних сполук, а найменш чутливою – *S. typhimurium*, ріст якої пригнічували 9,37% хімічних речовин класу, що вивчали.

#### **3.4.8. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи амідів пропанкарбонової кислоти**

16 хімічних сполук класу амідів пропанкарбонової кислоти досліджували з використанням 8 видів бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*, серед яких були представники як грампозитивних, так і грамнегативних мікроорганізмів, а також спорові та вегетативні форми збудника сибірки. Досліджені речовини мали як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.20).

Таблиця 3.20

Результати визначення МІК амідів пропанкарбонової кислоти із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
154	ОДИ-154	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
155	ОДИ-155	> 0,41	0,41	<b>0,00041</b>	0,041	> 0,41	<b>0,00041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
156	ОДИ-156	0,041	<b>0,00041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
159	ОДИ-159	<b>0,0041</b>	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
160	ОДИ-160	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	<b>0,00041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41
162	ОДИ-162	0,041	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
163	ОДИ-163	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
164	ОДИ-164	0,41	0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
165	ОДИ-165	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
166	ОДИ-166	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
167	ОДИ-167	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
168	ОДИ-168	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
169	ОДИ-169	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* - p&lt;0,05; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлксацин)

Із даних таблиці 3.20 випливає, що високоактивними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки під №№ 159, 160, 163, 167 та № 168 класу амідів пропанкарбонової кислоти із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили речовини під №№ 154, 156, 162, № 166 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Слабка протимікробна активність була у речовин № 164 та № 165 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 155, 157, 158, 161 та № 169 не впливали на *E. rhusiopathiae*.

Ріст *E. coli* пригнічували речовини № 156 у мінімальній концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, а також № 155 та № 164 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, що досліджували, не справляли протимікробної дії відносно *E. coli*.

Найактивнішою по відношенню до *S. typhimurium* була сполука № 155 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Слабку активність виявили речовини № 159 та № 162 із концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу амідів пропанкарбонової кислоти не справляли впливу на мікроорганізм, який досліджували.

Високу протимікробну дію по відношенню до *K. pneumoniae* проявили речовини № 160 та № 167 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середня активність була у сполук № 155, № 164 та № 168 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під №№ 154, 156–159, 161–163, 165, 166 та № 169 не виявили антибактеріальної дії на *K. pneumoniae*.

Жодна сполука класу амідів пропанкарбонової кислоти не справляла антибактеріальної дії на *P. multocida*.

Найактивнішими по відношенню до *S. aureus* були сполуки № 155 та № 160 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, який вивчали, не виявили дії на тест-мікроорганізм *S. aureus*.

До *S. pyogenes* високоактивними по відношенню виявилися хімічні сполуки № 155, № 163 та № 167 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середній ступінь активності проявила речовина № 160 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 159 та № 169 справляли слабку

протимікробну дію на досліджуваний тест-мікроорганізм зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки класу амідів пропанкарбонової кислоти під №№ 154, 156–158, 161, 162, 164–166, 168 не виявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми, а також суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*, то жодна хімічна сполука класу, який досліджувався, не справляла антибактеріальної дії на *B. anthracis*.

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 155, № 160, № 164 та № 167 (40% від усіх досліджуємих сполук класу) із значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,00041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливою з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявилася *E. rhusiopathiae*, відносно якої антибактеріальну активність виявили 68,75% сполук класу амідів пропанкарбонової кислоти, а найменш чутливими – *P. multocida* та *B. anthracis*, оскільки жодна досліджувана сполука не справила на них протимікробної дії.

З метою підтвердження даних, отриманих за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу амідів пропанкарбонової кислоти із використанням диско-дифузійного методу. Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, які вивчалися (табл. 3.21).



Таблиця 3.21

Результати вивчення антибактеріальних властивостей амідів пропанкарбонової кислоти диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
154	ОДИ-154	<b>21,6±0,48<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
155	ОДИ-155	< 6	11±0,36	<b>27,3±0,33<sup>a</sup></b>	<b>22±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	<b>29,1±0,4<sup>a</sup></b>	<b>24,2±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
156	ОДИ-156	<b>20,8±0,4<sup>b</sup></b>	<b>25±0,36<sup>a</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
159	ОДИ-159	<b>24±0,25<sup>b</sup></b>	< 6	10,6±0,55	< 6	< 6	< 6	12,5±0,5	< 6	< 6
160	ОДИ-160	<b>24,1±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>25,5±0,22<sup>b</sup></b>	< 6	<b>28,6±0,29<sup>a</sup></b>	<b>20,5±0,34<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
162	ОДИ-162	<b>20,8±0,47<sup>b</sup></b>	< 6	8,6±0,55	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
163	ОДИ-163	<b>23±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>23,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
164	ОДИ-164	9,8±0,36	9,6±0,42	< 6	<b>21,1±0,57<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
165	ОДИ-165	10±0,63	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
166	ОДИ-166	<b>20,6±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
167	ОДИ-167	<b>22,6±0,42<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>24,2±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
168	ОДИ-168	<b>23±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	<b>21,1±0,49<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
169	ОДИ-169	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	12±0,52	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

Як свідчать дані таблиці 3.21, серед сполук класу амідів пропанкарбонової кислоти високоактивними по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявилися сполуки № 159 (зона затримки росту  $24 \pm 0,25$  мм), № 160 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,4$  мм), № 163 (зона затримки росту  $23 \pm 0,36$  мм), № 167 (зона затримки росту  $22,6 \pm 0,42$  мм). Середню активність проявили речовини № 154 (зона затримки росту  $21,6 \pm 0,48$  мм), № 156 (зона затримки росту  $20,8 \pm 0,4$  мм), № 160 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,4$  мм), № 162 (зона затримки росту  $20,8 \pm 0,47$  мм), № 166 (зона затримки росту  $20,6 \pm 0,36$  мм) та № 168 (зона затримки росту  $23 \pm 0,36$  мм). Слабку протимікробну активність виявили сполуки № 164 із зоною затримки росту  $9,8 \pm 0,36$  мм та № 165 із зоною затримки росту  $10 \pm 0,63$  мм. Сполуки під №№ 155, 157, 158, 161 та № 169 не справляли дії на *E. rhusiopathiae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Найактивнішою сполукою по відношенню до *E. coli* була речовина № 156 із зоною затримки росту  $25 \pm 0,36$  мм. Слабку антибактеріальну дію справляли сполуки № 155 із зоною затримки  $11 \pm 0,36$  мм та № 164 із зоною затримки  $9,6 \pm 0,42$  мм. Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності відносно *E. coli* (зона затримки  $< 6$  мм).

До *S. typhimurium* найактивнішою виявилася речовина № 155 із зоною затримки росту  $27,3 \pm 0,33$  мм. Слабку протимікробну дію на тест-мікроорганізм, який досліджувався, справляли речовини № 159 із зоною затримки росту  $10,6 \pm 0,55$  мм та № 162 із зоною затримки росту  $8,6 \pm 0,55$  мм. Інші сполуки класу амідів пропанкарбонової кислоти не проявили активності відносно *S. typhimurium* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що найбільш активною по відношенню до *K. pneumoniae* була речовина № 160 із зоною затримки росту  $25,5 \pm 0,22$  мм. Середню антимікробну активність виявили сполуки № 155 (зона затримки росту  $22 \pm 0,36$  мм), № 164 (зона затримки росту  $21,1 \pm 0,7$  мм), № 167 (зона затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм) та № 168 (зона затримки росту  $21,1 \pm 0,49$  мм). Хімічні речовини під №№ 154, 156 – 159, 161 –

163, 165, 166 та 169 не проявили антибактеріальної дії на *K. pneumoniae* (зона затримки росту < 6 мм).

Жодна сполука класу амідів пропанкарбонової кислоти не справляла антибактеріальної дії по відношенню до *P. multocida*.

Найактивнішими по до *S. aureus* виявилися сполуки № 155 із зоною затримки росту  $29,1 \pm 0,4$  мм та № 160 із зоною затримки росту  $28,6 \pm 0,29$  мм. Усі інші сполуки зазначеного вище класу не проявили активності по відношенню до *S. aureus* (зона затримки росту < 6 мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що високу активність по відношенню до *S. pyogenes* виявили сполуки № 155 (зона затримки росту  $24,2 \pm 0,4$  мм), № 160 (зона затримки росту  $20,5 \pm 0,34$  мм), № 163 (зона затримки росту  $23,8 \pm 0,4$  мм) та № 167 (зона затримки росту  $24,2 \pm 0,4$  мм). Слабку протимікробну дію на *S. pyogenes* справляли речовини № 159 із зоною затримки росту  $12,5 \pm 0,5$  мм та № 169 із зоною затримки росту  $12 \pm 0,52$  мм. Речовини під №№ 154, 156–158, 161, 162, 164–166 та № 168 не проявили антимікробної активності відносно *S. pyogenes* (зона затримки росту < 6 мм).

Серед сполук класу амідів пропанкарбонової кислоти жодна не справила антимікробної дії ані на спорову форму, ані на суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*.

Таким чином, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 155, № 160, № 164 та № 167 (40% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації від  $0,41 \text{ мг/см}^3$  до  $0,00041 \text{ мг/см}^3$ . Найбільш чутливою із усього спектра вивчаємих мікроорганізмів, які вивчалися, виявилися *E. rhusiopathiae*, відносно якої проявили активність 68,75% досліджуваних сполук, а найменш чутливими були *P. multocida* та *B. anthracis*, до них жодна досліджувана сполука не виявила антибактеріальної активності.

### **3.4.9. Вивчення антимікробних властивостей сполук групи полізаміщених акридонів**

Антимікробну активність 15 хімічних речовин класу полізаміщених акридонів визначали із використанням 8 видів бактерій, що належать до родини *Enterobacteriaceae*, серед яких представники грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, спорова та вегетативна форми збудника сибірки. Досліджені речовини проявили як високу, так і низьку антибактеріальну активність (табл. 3.22.).

Таблиця 3.22

Результати визначення МІК полізаміщених акридонів із використанням мікроорганізмів різних груп, мг/см<sup>3</sup>, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
170	ОДИ-170	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
171	ОДИ-171	0,41	0,041	0,041	<b>0,0041</b>	0,41	0,41	0,041	0,41	0,41
172	ОДИ-172	0,41	0,041	> 0,41	0,041	0,041	> 0,41	0,041	> 0,41	> 0,41
173	ОДИ-173	> 0,41	> 0,41	0,041	0,041	0,41	0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
174	ОДИ-174	0,041	> 0,41	0,41	0,041	> 0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
175	ОДИ-175	> 0,41	0,041	0,041	0,041	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	0,041
176	ОДИ-176	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41
177	ОДИ-177	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
180	ОДИ-180	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
181	ОДИ-181	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,041	<b>0,0041</b>	0,041	> 0,41	> 0,41
182	ОДИ-182	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	<b>0,0041</b>
183	ОДИ-183	0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	0,41	> 0,41	> 0,41
184	ОДИ-184	> 0,41	> 0,41	<b>0,0041</b>	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41	> 0,41
К**		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

Примітки: 1)\* - p&gt;0,05; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин)

Із даних, наведених у таблиці 3.22, видно, що високу активність по відношенню до *E. rhusiopathiae* виявили сполуки № 176 та № 168 класу полізаміщених акридонів із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявила речовина № 174 зі значенням МІК 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 171, № 172, № 180 та № 183 справляли слабку протимікробну дію у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Речовини під №№ 170, 173, 175, 177–179, 182 та № 184 не впливали на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *E. coli* інгібували речовини № 171, № 172 та № 175 зі значенням МІК 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки досліджуваного класу не проявили протимікробної дії на *E. coli*.

Високоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 182 та № 184 з мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили речовини № 171, № 173 та № 175 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 174 та № 180 характеризувалися слабкою антибактеріальною дією зі значенням концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під №№ 170, 172, 176–179, 181 та № 183 не виявили активності відносно *S. typhimurium*.

Високу активність по відношенню до *K. pneumoniae* проявила речовина № 171 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність виявили сполуки під №№ 172–175 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки класу полізаміщених акридонів не справляли дії на мікроорганізм, який досліджували.

Ріст *P. multocida* пригнічували хімічні сполуки № 172 та № 181 зі значенням мінімальної концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовини № 171, № 173 та № 180 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 170, 174–179, 182–184 не проявили антибактеріальної активності відносно *P. multocida*.

Високоактивними по відношенню до *S. aureus* були сполуки № 174 та № 181 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Низьку

активність проявили речовини № 171 та № 173 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Інші сполуки досліджуваного класу не справляли інгібуючої дії на *S. aureus*.

До *S. pyogenes* високу активність виявили хімічні сполуки № 174 та № 176 із значенням МІК 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили речовини № 171, № 172, № 181 у концентрації 0,041 мг/см<sup>3</sup>. Речовини № 173, № 177, № 180 та № 183 справляли слабку протимікробну дію із мінімальною концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Хімічні речовини під №№ 170, 175, 178, 179, 182 та № 184 не проявляли антимікробної активності відносно *S. pyogenes*.

Стосовно спорової форми *B. anthracis* активність виявили сполуки № 170, № 175 та № 182 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також хімічна речовина № 171 із концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Усі інші сполуки класу, що досліджували, не впливали на спорову форму *B. anthracis*.

Ріст суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* пригнічували сполуки № 170 та № 182 зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, сполука № 175 із концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовина № 171 у концентрації 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки під №№ 172–174, 176–181, 183 та № 184 не проявили антибактеріальної активності відносно *B. anthracis*.

Отже, найбільш активними сполуками по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки класу полізаміщених акридонів №№ 171–174 (26% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням мінімальної інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Найбільш чутливим із усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявився *S. pyogenes*, на нього пригнічуючу дію справляли 60% досліджуваних речовин, а найменш чутливою була *E. coli*, до якої активність проявили лише 20% досліджуваних сполук класу полізаміщених акридонів.

Для підтвердження даних, які були отримані за допомогою методу серійних мікророзведень, нами були проведені дослідження речовин класу полізаміщених акридонів із використанням диско-дифузійного методу.

Отримані результати підтверджують наявність антибактеріальних властивостей у хімічних сполук, які вивчалися (табл. 3.23.).



Таблиця 3.23

Результати вивчення антибактеріальних властивостей полізаміщених акридонів диско-дифузійним методом із використанням мікроорганізмів різних груп,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

№ сполюки	Лаб. шифр речовини	Зони затримки росту, мм								
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
									спорова	спорова+ вегетат.ф.
170	ОДИ-170	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>23,5±0,22<sup>b</sup></b>	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>
171	ОДИ-171	9,8±0,47	20,5±0,42	17,8±0,27	<b>24,5±0,22<sup>b</sup></b>	10,6±0,33	9,5±0,34	21,3±0,33	13±0,36	14,6±0,21
172	ОДИ-172	10,6±0,9	21,6±0,42	< 6	20,6±0,33	17,1±0,47	< 6	20,5±0,22	< 6	< 6
173	ОДИ-173	< 6	< 6	17±0,36	21±0,36	10,8±0,48	10,6±0,33	9,3±0,33	< 6	< 6
174	ОДИ-174	20,8±0,47	< 6	10,5±0,42	20,6±0,42	< 6	<b>24,1±0,31<sup>b</sup></b>	<b>23,8±0,31<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
175	ОДИ-175	< 6	20,5±0,34	17,6±0,33	21±0,45	< 6	< 6	< 6	<b>23,6±0,33<sup>b</sup></b>	20,8±0,31
176	ОДИ-176	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>24,3±0,33<sup>b</sup></b>	< 6	< 6
177	ОДИ-177	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	8±0,36	< 6	< 6
180	ОДИ-180	10,1±0,3	< 6	10,5±0,42	< 6	11±0,57	< 6	13,1±0,31	< 6	< 6
181	ОДИ-181	<b>23±0,36<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	17,6±0,49	<b>23,1±0,4<sup>b</sup></b>	22,5±0,34	< 6	< 6
182	ОДИ-182	< 6	< 6	<b>22,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	<b>24±0,36<sup>b</sup></b>	<b>24,6±0,2<sup>b</sup></b>
183	ОДИ-183	11±0,57	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	12,5±0,5	< 6	< 6
184	ОДИ-184	< 6	< 6	<b>21,8±0,4<sup>b</sup></b>	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
К**		30,3±0,33	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4	30,3±0,33	29,5±0,22	29,5±0,22	29,5±0,22

Примітки: 1)\* -  $p < 0,05$ ; К\*\* - контроль (антибіотик Норфлоксацин); 3)<sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4)<sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

За результатами досліджень встановлено, що серед сполук класу полізаміщених акридонів по відношенню до *E. rhusiopathiae* високу активність проявили речовини № 176 із зоною затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм та № 181 зоною затримки росту  $23 \pm 0,36$  мм. Середньоактивною виявилася речовина № 174 із зоною затримки росту  $20,8 \pm 0,47$  мм. Слабку протимікробну активність відносно *E. rhusiopathiae* мали хімічні сполуки № 171 (зона затримки росту  $9,8 \pm 0,47$  мм), № 172 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,9$  мм), № 180 (зона затримки росту  $10,1 \pm 0,3$  мм) та № 183 (зона затримки росту  $11 \pm 0,57$  мм). Сполуки під №№ 170, 173, 175, 177–179, 182 та № 184 не справляли антибактеріальної дії на досліджуваний мікроорганізм (зона затримки росту  $< 6$  мм).

По відношенню до *E. coli* слабку протимікробну активність виявили сполуки № 171 зі значенням зони затримки росту  $20,5 \pm 0,42$  мм, № 172 зі значенням зони затримки росту  $21,6 \pm 0,42$  мм та № 175 зі значенням зони затримки росту  $20,5 \pm 0,34$  мм. Усі інші сполуки класу полізаміщених акридонів не проявили активності до *E. coli* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Високоактивними по відношенню до *S. typhimurium* були сполуки № 182 (зона затримки росту  $22,8 \pm 0,4$  мм) та № 184 (зона затримки росту  $21,8 \pm 0,4$  мм). Середню активність проявили речовини № 171 (зона затримки росту  $17,8 \pm 0,27$  мм), № 173 (зона затримки росту  $17 \pm 0,36$  мм), № 175 (зона затримки росту  $17,6 \pm 0,33$  мм). Слабку протимікробну дію по відношенню до тест-мікроорганізму справляли сполуки № 174 із зоною затримки росту  $10,5 \pm 0,42$  мм та № 180 із зоною затримки росту  $10,5 \pm 0,42$  мм. Хімічні речовини під №№ 170, 172, 176–179, 181 та № 183 не виявили протимікробної активності відносно *S. typhimurium* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

На *K. pneumoniae* високу протимікробну дію справила сполука № 171 із зоною затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм. Середню активність проявили речовини № 172 (зона затримки росту  $20,6 \pm 0,33$  мм), № 173 (зона затримки росту  $21 \pm 0,36$  мм), № 174 (зона затримки росту  $20,6 \pm 0,42$  мм) та № 175 (зона затримки

росту  $21 \pm 0,45$  мм). Усі інші сполуки класу, який досліджувався, не проявили активності по відношенню до *K. pneumoniae* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Середньоактивними по відношенню до *P. multocida* виявилися сполуки № 172 зі значенням зони затримки росту  $17,1 \pm 0,47$  мм та № 181 із значенням зони затримки росту  $17,6 \pm 0,49$  мм. Слабку антибактеріальну активність до зазначеного тест-мікроорганізму проявили речовини № 171 (зона затримки росту  $10,6 \pm 0,33$  мм), № 173 (зона затримки росту  $10,8 \pm 0,48$  мм) та № 180 (зона затримки росту  $11 \pm 0,57$  мм). Сполуки класу полізаміщених акридонів під №№ 170, 174–179, 182–184 не справили антибактеріальної дії на *P. multocida* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед сполук класу полізаміщених акридонів високу антимікробну активність по відношенню до *S. aureus* виявили сполуки № 174 зі значенням зони затримки росту  $24,1 \pm 0,31$  мм та № 181 зі значенням зони затримки росту  $23,1 \pm 0,4$  мм. Слабку протимікробну дію на тест-мікроорганізм, який вивчали, справили сполуки № 171 із зоною затримки росту  $9,5 \pm 0,34$  мм та № 173 із зоною затримки росту  $10,6 \pm 0,33$  мм. Усі інші сполуки зазначеного вище класу не проявили активності по відношенню до *S. aureus* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

До *S. pyogenes* високоактивними по відношенню були речовини № 171 із зоною затримки росту  $21,3 \pm 0,33$  мм та № 176 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,33$  мм. Середню активність проявили сполуки № 172 (зона затримки росту  $20,5 \pm 0,22$  мм), № 174 (зона затримки росту  $23,8 \pm 0,31$  мм) та № 181 (зона затримки росту  $23,1 \pm 0,4$  мм). Слабку антибактеріальну дію на мікроорганізм, що досліджували, справили сполуки № 173 (зона затримки росту  $9,3 \pm 0,33$  мм), № 177 (зона затримки росту  $8 \pm 0,36$  мм), № 180 (зона затримки росту  $13,1 \pm 0,31$  мм) та № 183 (зона затримки росту  $12,5 \pm 0,5$  мм). Хімічні речовини під №№ 170, 175, 178, 179, 182 та № 184 не проявляли антимікробної активності відносно *S. pyogenes* (зона затримки  $< 6$  мм).

Високу протимікробну активність по відношенню до спорової форми *B. anthracis* виявили речовини № 170 (зона затримки росту  $23,5 \pm 0,22$  мм),

№ 175 (зона затримки росту  $23,6 \pm 0,33$  мм) та № 182 (зона затримки росту  $24 \pm 0,36$  мм). Слабку антибактеріальну дію на спорову форму *B. anthracis* справила сполука № 171 із зоною затримки росту  $13 \pm 0,36$  мм. Усі інші сполуки класу полізаміщених акридонів не впливали на спорову форму *B. anthracis* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

До суміші вегетативної та спорової форм *B. anthracis* середню активність проявили речовини № 170 із зоною затримки росту  $24,5 \pm 0,22$  мм та № 182 із зоною затримки росту  $24,6 \pm 0,21$  мм. Сполука № 175 із зоною затримки  $20,8 \pm 0,31$  мм виявила середній ступінь активності. Слабоактивною до зазначеної тест-культури була сполука № 171 зі значенням зони затримки росту  $14,6 \pm 0,21$  мм. Сполуки під №№ 172–174, 176–181, 183 та № 184 не проявили антибактеріальної активності відносно суміші вегетативної та спорової форм *B. anthracis* (зона затримки росту  $< 6$  мм).

Таким чином, найбільш активними по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилися сполуки № 171–174 (26% від усіх досліджуваних сполук класу) зі значенням зон затримки росту від  $9,3 \pm 0,33$  мм до  $24,6 \pm 0,21$  мм. Найбільш чутливим з усього спектра мікроорганізмів, які вивчалися, виявився *S. pyogenes*, протимікробну активність до якого проявили 60% досліджуваних сполук, а найменш чутливою була *E. coli*, на яку антибактеріальну дію справили 20% речовин класу полізаміщених акридонів.

### **3.5. Вивчення цитотоксичної дії модифікованих поліакцепторних сполук**

Хімічні сполуки, які проявили антибактеріальну активність відносно усіх тест-культур мікроорганізмів, були досліджені на наявність цитотоксичної дії на перещеплюваних культурах клітин HeLa, Vero та ВНК (табл. 3.24).

Після внесення в підтримувальне середовище різних концентрацій речовин, що вивчалися, їх вплив оцінювали через 24, 48, 72, 96 та 120 годин культивування за температури  $+37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  при концентрації  $\text{CO}_2$ –5%. Моношар досліджували в інвертованому мікроскопі при малому збільшенні на наявність цитотоксичної дії речовини. Ефект оцінювали за порушенням цілісності

моношару, округленням чи зморщуванням клітин, появою осередків дегенерованих клітин (вакуолізація, зернистість, підвищена розпластанність). Ступінь токсичності визначали через 120 годин за 4-хрестовою системою, кожен з яких відповідав дегенерації 25% площі моношару клітин. Для статистичної вірогідності досліди робили у 6 повторностях.

Таблиця 3.24.

Результати визначення цитотоксичної дії досліджуваних речовин на культури клітин, n=6\*

№ сполуки	Лаб. шифр речовини	Концентрація	Наявність ЦПД через 120 год		
			HeLa	Vero	ВНК
24	ОДИ-24	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
45	ОДИ-45	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
58	ОДИ-58	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
109	ОДИ-109	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
124	ОДИ-124	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
171	ОДИ-171	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
Кр	ДМСО	0,041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,0041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
		0,00041 мг/см <sup>3</sup>	–	–	–
Кк			–	–	–

**Примітки:** 1)\* p<0,05; 2) Кр – контроль розчинника; 3) Кк – контроль культури; 4) – – відсутність ЦПД

У культуральних матрасах із культурою клітин HeLa та речовинами під №№ 24, 45, 58, 109, 124 та № 171, внесеними у концентраціях 0,41 мг/см<sup>3</sup>;

0,041 мг/см<sup>3</sup>; 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та 0,00041 мг/см<sup>3</sup>, через 120 годин культивування не спостерігали ознак цитотоксичного впливу на клітини.

При визначенні цитотоксичної дії сполук під №№ 24, 45, 58, 109, 124 та 171 на культурі клітин Vero у концентраціях 0,41 мг/см<sup>3</sup>; 0,041 мг/см<sup>3</sup>; 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та 0,00041 мг/см<sup>3</sup> протягом 120 годин культивування спостерігали відсутність впливу на моношар клітин.

Встановлено, що сполуки під №№ 24, 45, 58, 109, 124 та №171 у концентраціях 0,41 мг/см<sup>3</sup>; 0,041 мг/см<sup>3</sup>; 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та 0,00041 мг/см<sup>3</sup> на п'яту добу культивування не проявили цитотоксичного впливу на моношар культури клітин ВНК.

За результатами проведених досліджень ми можемо рекомендувати речовини № 24, № 45, № 58, № 109, № 124 та № 171 для доклінічних досліджень [185].

### **3.6. Визначення чутливості польових ізолятів до сполук, що мали широкий спектр антибактеріальної активності**

Для оцінки перспектив застосування у сільському господарстві 6 відібраних сполук-кандидатів, вони були досліджені на наявність антибактеріальної дії стосовно антибіотикостійких польових ізолятів із господарств, спеціалізованих на вирощуванні свиней і ВРХ. Для дослідження використовували також метод серійних мікроорозведень та диско-дифузійний метод. Досліджені сполуки проявили різний ступінь активності (табл. 3.25).

Визначення МІК відібраних сполук на польових ізолятах, n=6\*

Номер сполуки	Лаб. шифр речовини	МІК речовини, мг/см <sup>3</sup>			
		<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Pasteurella</i>
24	ОДИ-24	0,041	0,041	0,0041	0,41
45	ОДИ-45	0,041	0,041	0,041	0,0041
58	ОДИ-58	0,41	0,41	0,041	0,41
109	ОДИ-109	0,41	0,0041	0,0041	0,041
124	ОДИ-124	0,041	0,041	0,041	0,041
171	ОДИ-171	0,41	0,0041	0,0041	0,41
К		0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

**Примітки:** 1)\* -  $p < 0,05$ ; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин)

При дослідженні антибактеріальної активності сполуки проявили різну дію. По відношенню до *E. coli* найменш активними виявилися сполуки № 58, № 109 та № 171 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>, а найбільш активними – сполуки № 24, № 45 та № 124 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>.

Ріст *Streptococcus* пригнічували сполуки № 109 та № 171 із найактивнішою мінімальною концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а також речовина № 58 із найменш активною концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Сполуки № 24, № 45 та № 124 проявили активність із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>.

Високу антибактеріальну активність по відношенню до *Staphylococcus* виявили сполуки № 24, № 109 та № 171 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>. Середню протимікробні дію на цей тест-мікроорганізм проявили сполуки № 45, № 58 та № 124 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>.

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед 6 відібраних сполук найбільш активними по відношенню до *Pasteurella* виявилася сполука № 45 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а найменш активними – сполуки № 24, № 58 та № 171 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,41 мг/см<sup>3</sup>. Середню активність проявили сполуки № 109 та № 124 із мінімальною інгібуючою концентрацією 0,041 мг/см<sup>3</sup>.

Для підтвердження результатів з визначення МІК були проведені дослідження щодо встановлення зон затримки росту диско-дифузійним методом (таблиця 3.26.).

Таблиця 3.26

Результати вивчення антибактеріальних властивостей відібраних сполук диско-дифузійним методом із використанням антибіотикостійких польових ізолятів,  $M \pm m$ ,  $n=6^*$

Номер сполуки	Лаб. шифр речовини	Зона затримки росту речовини, мм			
		<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Pasteurella</i>
24	ОДИ-24	21,6±0,6	23,3±0,6	24,1±0,53	11±0,6
45	ОДИ-45	22±0,6	21,6±0,53	21,6±0,6	24,3±0,43
58	ОДИ-58	11,3±0,6	11,6±1	21,6±0,6	11±0,6
109	ОДИ-109	11±1	23,8±0,56	24,1±0,83	21,6±0,66
124	ОДИ-124	21,5±0,42	22,3±0,6	21,8±0,83	22,1±1
171	ОДИ-171	9,8±0,56	23,5±0,83	24,3±0,66	10,8±0,9
К**		26±0,66	26,1±0,83	26,1±0,83	26,1±1,1

**Примітки:** 1)\* -  $p > 0,05$ ; 2) К\*\* - контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) <sup>a</sup> – МІК дорівнює 0,00041 мг/см<sup>3</sup>; 4) <sup>b</sup> - МІК дорівнює 0,0041 мг/см<sup>3</sup>

По відношенню до *E. coli* найменш активними виявилися сполуки № 58, № 109 та № 171 із зонами затримки росту від 9,8±0,56 мм до 11,3±0,6 мм, а найбільш активними – сполуки № 24, № 45 та № 124 із зонами затримки росту від 21,5±0,42 мм до 22±0,6 мм.



Ріст *Streptococcus* пригнічували сполуки № 109 та № 171 із найбільшими зонами затримки росту від  $23,5 \pm 0,83$  мм до  $23,8 \pm 0,56$  мм, а також речовина № 58 із найменшою зоною затримки росту –  $11,6 \pm 1$  мм. Сполуки № 24, № 45 та № 124 проявили активність із зонами затримки росту  $21,6 \pm 0,53$  мм до  $23,3 \pm 0,6$  мм.

Високу антибактеріальну активність по відношенню до *Staphylococcus* виявили сполуки № 24, № 109 та № 171 із зонами затримки росту від  $24,1 \pm 0,53$  мм до  $24,3 \pm 0,66$  мм. Середню протимікробну активність на зазначений тест-мікроорганізм проявили сполуки № 45, № 58 та № 124 із зонами затримки росту від  $21,6 \pm 0,6$  мм до  $21,8 \pm 0,83$  мм.

За результатами проведених досліджень встановлено, що серед 6 відібраних сполук найбільш активною по відношенню до *Pasteurella* виявилася сполука № 45 із зоною затримки росту  $24,3 \pm 0,43$  мм, а найменш активними – сполуки № 24, № 58 та № 171 із зонами затримки росту від  $10,8 \pm 0,9$  мм до  $11 \pm 0,6$  мм. Середню активність виявили сполуки № 109 та № 124 із зоною затримки росту від  $21,6 \pm 0,66$  мм до  $22,1 \pm 1$  мм, відповідно.

Таким чином, усі 6 відібраних сполук проявили активність відносно усіх польових ізолятів, що досліджувалися.

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Формування стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів є однією із актуальних проблем сучасної гуманної та ветеринарної медицини [57, 59, 64–66, 192, 193]. Важливу роль у цьому процесі відіграє природна резистентність, яка є видовою ознакою мікроорганізмів та зумовлена відсутністю або недоступністю мішені дії для антибіотика. У такому випадку антибіотики є неефективними. Набута резистентність виникає у мікроорганізмів, які мають здатність зберігати життєдіяльність за різних концентрацій антибіотика внаслідок антибактеріальної терапії. Така особливість розвивається в результаті генетичної мутації із наступною селекцією стійких мікроорганізмів [57, 59, 64–66, 192, 193].

Проблема лікарської стійкості мікроорганізмів та пов'язане з цим зниження терапевтичної ефективності антибактеріальних лікарських засобів вимагають пошуку нових антибіотиків або комбінацій антибіотиків з іншими хіміотерапевтичними засобами, що мають виражену антимікробну дію, в тому зокрема і на резистентні штами мікроорганізмів [40, 194–197].

Одним із перспективних шляхів подолання резистентності мікроорганізмів є пошук та застосування нових антибактеріальних речовин [64, 76] або хімічна модифікація відомих антибактеріальних препаратів, що захищає їх від впливу бактеріальних ферментів, які інактивують активні центри антибіотиків або руйнують їх [32, 198–203].

Вибір класу ТГКК та їх похідних для пошуку нових біологічно активних сполук був обумовлений властивостями представників цього класу. Велика кількість похідних ТГКК є біологічно активними сполуками. Структура таких сполук дає змогу отримати похідні ТГКК як за гетероциклом, так і за карбоксильною групою. Планарна трициклічна ароматична будова центрального гетероциклу зумовлює можливість його взаємодії з нуклеїновими кислотами.

Відомим представником ТГКК, який має антибактеріальні властивості, є ФКК-1, а її похідним притаманний широкий спектр біологічної активності. Тому отримання нових похідних ФКК-1 є шляхом пошуку нових сполук із антимікробною дією. Як відомо, заміщення пері-положення різних ТГКК значно впливає як на рівень, так і на вид біологічної активності таких сполук. Тому введення різних заміників (наприклад, метильної та метоксильної груп) проводилося саме у 9-те положення (пері-положення) (рис. 4.1). Цей вибір обґрунтований ще й електронно-донорними характеристиками.

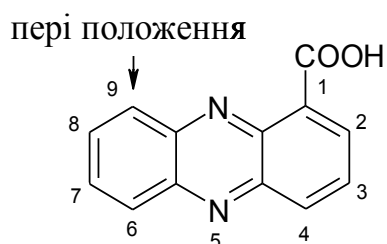


Рис.4.1. Вибір положення для введення заміників

Оскільки ариламіді незаміщеної ФКК-1 проявляють антибактеріальні властивості [94], то були синтезовані похідні 9-заміщених ФКК-1 та досліджені на наявність інгібування росту грампозитивних та грамнегативних тест-мікроорганізмів. Створення нових похідних ФКК-1 є шляхом як до підвищення активності відомих антибіотиків, так і до отримання сполук із якісно новими біологічними властивостями.

Для досліджень використовували 184 новосинтезовані хімічні сполуки 9 класів, що є похідними ФКК-1: моноциклічних триазинів, хінолонів, трициклічних триазинів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, незаміщених тіоксантонів, заміщених феназинів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів. Усі речовини були синтезовані та люб'язно надані відділом синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології та генетики НАН, м. Київ.

Дослідження нами проводились за 6 етапів.

На першому етапі проводили підбір культур мікроорганізмів та культур клітин для подальших досліджень. Підбір проводили за визначеними

критеріями. В результаті грампозитивних мікроорганізмів у дослідженнях використовували: *E. rhusiopathiae* (штам VR-2), *S. pyogenes*, *S. aureus* (штам Р 209) та *B. anthracis* (штам СБ). Серед представників грамнегативних тест-мікроорганізмів досліджували *E. coli* (штам 1257), *S. typhimurium* (штам 144) та *P. multocida* (штам № 115), *K. pneumoniae* (штам К-56N3534/51). Усі штами були отримані із Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ, м. Київ.

Серед культур клітин були відібрані: Vero (нирка африканської зеленої мавпи), HeLa (онкоклетини шийки матки) та ВНК (нирка сирійського хом'яка). Культури клітин отримували із колекції Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, м.Київ.

На другому етапі підбирали розчинник для досліджуваних сполук. Експериментальним шляхом було визначено, що сполуки розчинялись тільки у диметилсульфоксиді (ДМСО) та диметилформаміді (ДМФА). Але при визначенні токсичності обох розчинників ДМСО виявився менш токсичним. Можливо, це пов'язано із його хімічною структурою. Тому як розчинник був обраний ДМСО.

Третій етап– первинний скринінг антимікробної активності – проводили із концентрацією речовин  $0,41 \text{ мг/см}^3$ . В процесі первинного скринінгу було виключені із подальших посліджень 21 речовина, які не проявили активності до жодного досліджуваного тест-мікроорганізму.

Після цього проводили четвертий етап – визначення МІК речовин за допомогою методу десятикратних послідовних розведень та встановлення зон затримки росту диско-дифузійним методом. Ці 2 методи були обрані для підтвердження або виключення результатів, отриманих в ході досліджень.

Малоактивними вважали речовини, що повністю пригнічували ріст тест-мікроорганізмів у концентрації  $0,41 \text{ мг/см}^3$  та мали зони затримки росту 15 мм та менше. За речовини із середньою протимікробною активністю приймали сполуки, які мали значення МІК  $0,041 \text{ мг/см}^3$  та діаметр зон затримки росту від 16 мм до 22 мм. Речовинами із високим ступенем активності вважали сполуки,

що проявили свою дію по відношенню до досліджуваної бактерії у концентрації 0,00041 мг/см<sup>3</sup> і 0,0041 мг/см<sup>3</sup> та значеннями зони затримки росту від 22 мм та більше. Як агент порівняння використовували антибіотик «Норфлораксацин» із ряду фторхінолонів.

До *E. rhusiopathiae* з класу моноциклічних триазинів активними виявилися сполуки під № 1, 2 та 3 із заміником 4-бутилфеніл у 5 та 6 положенні речовин, а також речовина № 5 із заміником 4-фторфеніл у 6 положенні. Високу активність проявили сполуки № 8, № 9 та 10, які мали у положенні 6 радикали 4-амінофеніл, 4-метоксифеніл та 4-етилфеніл, відповідно.

До *E. coli* з класу моноциклічних триазинів активною виявилася сполука № 6 із радикалом 4-гідроксифеніл у положенні 6.

Також уведення різних радикалів у 6-те положення речовин класу моноциклічних триазинів (наприклад, 4-амінофенілу у речовині № 8, 3,4-диметилфенілу у речовині № 11 та 4-ізопропоксифенілу у речовині № 13) забезпечує активність цих сполук по відношенню до *S. typhimurium*.

Крім того, наявність 4-ізопропоксифенілу у сполуці № 13 та 4-трет-бутилфенілу у сполуці № 14 сприяла виявленню антибактеріальної дії цих сполук проти *K. pneumoniae*.

Для грампозитивного *S. pyogenes* заміники 4-бутилфеніл у речовині № 3, 4-фторфеніл у речовині № 5, 4-гідроксифеніл у речовині № 6, 4-метилфеніл у речовині № 7, 3,4-диметилфеніл у речовині № 11 та 4-трет-бутилфеніл у речовині № 14 обумовлювали активність цих сполук по відношенню до вивчаємого тест-мікроорганізму, який вивчали.

Уведення у сполуку № 7 радикалу 4-метилфенілу у положення 6 обумовлювало активність проти спорової та суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*. Також 4-етилфеніл у положенні 6 забезпечував активність сполуки № 10 відносно спорової форми *B. anthracis*. Для суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* наявність радикалу 4-ізопропоксифеніл сприяла виявленню антибактеріальної дії сполуки № 13.

До *E. rhusiopathiae* з класу хінолонів активними виявилися сполуки № 19 із заміником хлору у 7 положенні, № 24 із гідроксильною групою у 3 положенні та № 36 з нітрогрупою у 8 положенні.

Для грамнегативної *E. coli* активними були сполуки № 20 із радикалом хлору в 6-му положенні, № 24 із гідроксильною групою в положенні 3, № 29 із радикалом хлору в положенні 6 та № 42 із заміником 4-амінофеніл у другому положенні.

Також сполука № 24 була активною і до *S. typhimurium*, що свідчить про правильність вибору заміника та положення для нього.

Крім того, наявність у сполуках № 20 заміника хлору в положенні 6, № 24 заміника гідроксильної групи в положенні 3, № 26 заміника фтору в положенні 6 та 7, № 27 заміника хлору в положенні 6 та 8, № 37 заміника фтору в положенні 8, № 41 заміника хлору в положенні 7, гідроксильної групи в положенні 3 та № 42 заміника 4-амінофенілу в положенні 2 і гідроксильної групи в положенні 3 забезпечували активність цих сполук по відношенню до *K. pneumoniae*.

До *S. aureus* активними були сполуки № 16 із гідроксильною групою в положенні 3 та метильною групою в положенні 2, № 22 із гідроксильною групою в положенні 3, метильною групою в положенні 2 та карбоксильною групою в положенні 7, № 23 із гідроксильною групою в положенні 3 та фенілом у положенні 2, № 24 із гідроксильною групою в положенні 3, № № 36, 39 із нітрогрупою в положенні 8, карбоксильною групою в положенні 2.

Активність низки сполук до грампозитивного *S. pyogenes* забезпечили заміники хлор у 7 положенні, гідроксильна група у положенні 3 та метил в положенні 2 сполуки № 19; гідроксильна група в положенні 3 сполуки № 24; фтор у положенні 6 та 8, гідроксильна група в положенні 6 та феніл в положенні 2 сполуки № 26; хлор в положенні 7, гідроксильна група в положенні 3 та феніл в положенні 2 сполуки № 28; хлор в положенні 6, гідроксильна група в положенні 3 та феніл у положенні 2 сполуки № 29; гідроксильна група в положенні 3, феніл у положенні 2 та бензольне кільце в

положенні 1, 10 сполуки № 34; нітрогрупа в положенні 8, карбоксильна група в положенні 2 сполуки № 36; фтор в положенні 9, карбоксильна група в положенні 6 сполуки № 39; хлор у положенні 7, гідроксильна група в положенні 3 та індол у положенні 2 сполуки № 43 забезпечували.

Активність сполук по відношенню до спорової форми та суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* обумовило введення радикалу хлору в положення 7, гідроксильної групи в положення 3, метильної групи в положення 2 у сполуку № 19; хлору в положення 6, гідроксильної групи в положення 3, метильної групи в положення 2 у сполуку № 20; гідроксильної групи в положення 3 сполуки № 24; хлору в положення 6, гідроксильної групи в положення 3, фенілу в положенні 2 сполуки № 29; гідроксильної групи в положення 3, фенілу в положенні 2, морфоліну в положенні 7 сполуки № 31; гідроксильної групи в положенні 5, бензольного кільця в положенні 6 сполуки № 33; карбоксильної групи в положенні 6 сполуки № 39.

Сполука № 44 із класу трициклічних триазинів із карбоксильною групою в положенні 7, киснем у положенні 3 була активною по відношенню до *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*. Водночас ця сполука виявилася неактивною по відношенню до усіх інших досліджуваних тест-мікроорганізмів. Речовина № 45 із радикалами метилу в положенні 7, киснем в положенні 3 та карбоксильною групою в положенні 9 виявилася активною по відношенню до усіх 8 культур мікроорганізмів, які досліджувалися, що робить її дуже перспективною для подальшого дослідження.

Сполука № 46 із заміниками кисню в положенні 2 та 4, карбоксильною групою в положенні 7, сіркою в положенні 1, була активною по відношенню до *E. rhusiopathiae*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*, *S. aureus* та водночас неактивною до усіх інших тест-мікроорганізмів.

Сполука № 47 із заміниками кисню в положенні 2 та 4, карбоксильною групою в положенні 7, сіркою в положенні 10 проявила антибактеріальну дію тільки на *S. pyogenes*.

Сполука № 48 із заміником диметиламіном в 3-му положенні, карбоксильною групою в положенні 8 виявилася активною лише до *K. pneumoniae*. Сполуки № 49 із заміниками кисню в положенні 3, N-фенілу також в положенні 3 та № 50 із заміниками кисню в положенні 3, N-фенілу, фторметилу також у положенні 3 виявилися активними тільки по відношенню до *E. rhusiopathiae*. А введення кисню та N-фенілу в положенні 3, а також фторметилу в положенні 4 забезпечувало активність сполуки № 51 по відношенню до *E. rhusiopathiae*, *E. coli* та *K. pneumoniae* та відсутність активності до усіх інших досліджуваних тест-мікроорганізмів.

Сполука № 52 із заміниками кисню в положенні 3, карбоксильною групою в положенні 7 та бутилфенілу в положенні 4, а також сполука № 54 із заміниками метилу в положенні 7, кисню та N-фенілу в положенні 3, карбоксильною групою в положенні 9 виявилися активними лише до *E. rhusiopathiae*. Сполуки № 56 із радикалами метилу в положенні 7, кисню в положенні 3, N-[3-(трифторметил) у положенні 3 та карбоксильною групою в положенні 9 та № 57 із радикалами метилу в положенні 7, кисню в положенні 3, N-[4-(трифторметил) у положенні 3 та карбоксильною групою в положенні 9 були активними по відношенню до *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae* і неактивними до усіх інших мікроорганізмів, що досліджувалися.

Уведення радикалів метилу в сьоме положення, кисню в третє положення, карбоксильної групи в дев'яте положення та N-піридин-2-илу в положення 3 сполуки № 58 забезпечувало активність цієї сполуки по відношенню до усіх 8 досліджуваних тест-мікроорганізмів. Це робить сполуку № 58 перспективною для подальших досліджень. Сполука № 60 з такими самими заміниками і в таких же положеннях, що у сполуки № 58, але додатковим радикалом азоту в положенні 5 проявила антибактеріальну дію лише на *E. rhusiopathiae*, *S. typhimurium* та *S. pyogenes*.

До цих самих мікроорганізмів проявила активність сполука № 64 класу заміщених акридонів із заміниками фтору в положенні 5, кисню в положенні 9



та *N*-(4-бутилфеніл) у положенні 9. Речовина № 65 із радикалами фтору в положенні 5, кисню в положенні 9 та *N*-піридин-2-ил в положенні 9 проявила активність по відношенню тільки до *E. rhusiopathiae*.

Сполука № 67, яка відрізнялася від сполуки № 65 лише заміником *N*-піридин-4-ил в дев'ятому положенні була активною відносно *E. rhusiopathiae* та *E. coli*. Сполука № 71 із радикалами фтору у 2 та 7 положенні, киснем в 9 положенні, *N*-(4-бутилфеніл) у 5 положенні виявилась активною відносно *E. coli* та *K. pneumoniae*. Речовина № 73, що відрізнялася від сполуки № 71 заміником *N*-піридин-3-ил у положенні 9 проявила активність виключно до *K. pneumoniae*.

Речовина № 74, яка відрізнялася від сполуки № 73 радикалом *N*-піридин-4-ил в положенні 9 мала антибактеріальну дію на *S. typhimurium* та *S. pyogenes*. Сполука № 75, що справляла карбоксильну групу в положенні 4, хлор у положенні 2 та фтор в положенні 5 проявила активність відносно *S. pyogenes*.

Сполука № 76, яка відрізнялася від сполуки № 75 заміником *N*-[4-(трифторметил)феніл] у положенні 9 виявила антибактеріальну дію відносно *E. rhusiopathiae* та *S. aureus*. Речовина № 77, що відрізнялася від сполуки № 76 заміником *N*-(4-трет-бутилфеніл) у положенні 9 виявилась активною проти *S. pyogenes*. Сполука № 78, яка відрізнялась від речовини № 77 заміником *N*-(4-бутилфеніл) в положенні 9 проявляла активність відносно *E. rhusiopathiae* та *E. coli*. Виключно на *E. rhusiopathiae* справила дію сполука № 79 із заміниками хлору в положенні 2, фтору в положенні 5, кисню в положенні 9 та *N*-піридин-4-ил в положенні 9.

Сполука № 80 із заміниками хлору у 2 та 7 положеннях, кисню в положенні 9, карбоксильної групи в положенні 4 була активною відносно *S. aureus* та спорової форми *B. anthracis*. Сполука № 81, що відрізнялася від сполуки № 80 заміником *N*-[4-(трифторметил)феніл] у положенні 9 проявила антибактеріальну дію відносно *S. pyogenes*. Сполуки № 84 із заміником хлору в положенні 2 та 7, кисню в положенні 9 та карбоксаміду в положенні 4 та № 85 із заміником фтору в положенні 2 та 5, кисню в положенні 9 та карбоксильної

групи в положенні 4 виявили активність проти *E. rhusiopathiae*. Також сполука № 84 справляла антибактеріальну дію на *P. multocida*, а сполука № 85 – на *P. multocida* та *S. aureus*.

Сполука № 90 із замінниками фтору в положенні 2 та 5, кисню в положенні 9, *N*-піридин-4-ил в положенні 9 та карбоксаміду в положенні 4 проявила антибактеріальну дію на *P. multocida*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, але не впливала на інші досліджувані тест-мікроорганізми.

Сполуки № 91 та № 92, які відрізнялися від сполуки № 93 відсутністю замінників та радикалами *N*-(2-метилфеніл) в 9 положенні не проявили активності до жодного досліджуваного мікроорганізму. Наявність радикалу *N*-3-метилфенілу в положенні 9, а також кисню в положенні 9 у сполуки № 93 обумовила її активність проти *S. pyogenes* та *K. pneumoniae*. А введення замінника *N*-4-метилфенілу в положення 9 сполуки № 94 обумовило її активність лише до *K. pneumoniae*. Замінники у дев'ятому положенні *N*-(4-бутилфеніл) у сполуці № 95, *N*-(4-трет-бутилфеніл) у сполуці 96 та *N*-[4-(трифторметокси)феніл] у сполуці № 97 не справляли впливу, тому ці сполуки не проявили активності до жодного тест-мікроорганізму.

Сполуки № 98 із радикалом *N*-4-йодфеніл в положенні 9 та № 99 із радикалом *N*-4-хлорфеніл в положенні 9 проявили активність лише проти *S. pyogenes* із усього спектра досліджуваних мікроорганізмів. Радикали *N*-(4-фторфеніл) в дев'ятому положенні сполуки № 100 та *N*-1-нафтил в дев'ятому положенні сполуки № 102 не зумовили активності цих сполук проти тест-мікроорганізмів. Сполука № 103 із радикалом метил-2 та 4-ил-карбоніл у положенні 9 була активною проти *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. pyogenes*. Також активність до *S. aureus* виявила сполука № 101 із радикалом *N*-4-(трифторметил)феніл у положенні 9.

Заміна радикалу метил-2 на метил-3 у сполуці № 104 обумовила активність цієї сполуки відносно *E. rhusiopathiae*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. multocida*, *S. aureus*. А заміна метил-2 на метил-4 у сполуці № 105 сприяла прояву активності цієї сполуки відносно *S. typhimurium*,

*P. multocida* та спорової форми *B. anthracis*. Замінники *N*-піридин-2-ил та кисню в положенні 9 сполуки № 106 забезпечили активність цієї сполуки лише відносно *E. rhusiopathiae*, а введення в це ж положення замінника *N*-(піридин-3-илметил) взагалі не забезпечило активності проти жодного мікроорганізму.

Уведення радикалу *N*-піридин-3-илу та кисню в положення 9 сполуки № 107 та 6-метилпіридин-2-илу та кисню сполуки № 109 обумовило активність цих сполук по відношенню до *E. rhusiopathiae*, *E. coli*, *P. multocida*, *S. aureus*, спорової та суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis*. До того ж сполука № 107 виявилася активною ще й до *S. pyogenes*, а речовина № 109 – до *K. pneumoniae*.

Уведення замінників кисню та *N*-піридин-2-илу в положення 9 речовини № 118 класу незаміщених тіоксантонів забезпечило активність цієї сполуки до *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*. Наявність замінників *N*-4-метилпіридин-2-илу та кисню в положенні 9 сполуки № 120 обумовило її активність відносно *E. rhusiopathiae*, *S. typhimurium*, *P. multocida* та *S. aureus*. А заміна радикалів *N*-4-метилпіридин-2-илу в положенні 9 на *N*-(піридин-3-илметил) в цьому ж положенні забезпечила активність цієї сполуки лише відносно *E. rhusiopathiae*.

Наявність замінника метоксифеназину в положенні 9 сполуки № 122 забезпечила її активність проти *E. rhusiopathiae* та *S. pyogenes*. Заміна радикалу метоксифеназину на радикал метокси-*N*-фенілфеназин у сполуці № 123 обумовила активність цієї сполуки відносно *E. rhusiopathiae*, *E. coli* та *K. pneumoniae*, а на радикал метокси-*N*-2-метилфеніл, як у сполуці № 124, сприяла активності цієї речовини відносно *E. rhusiopathiae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. multocida*, *S. aureus* та спорової форми та суміші спорової й вегетативної форм *B. anthracis*.

Сполука № 125 із радикалом метокси-*N*-(3-метилфеніл)феназин у положенні 9 виявилася активною проти *E. rhusiopathiae*, *S. aureus* та суміші спорової і вегетативної форм *B. anthracis*, а сполука № 126, що відрізнялась від сполуки № 125 замінником метокси-*N*-(4-метилфеніл)феназин в положенні 9,

була активною відносно *E. rhusiopathiae*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*. Також проти *S. aureus* та *S. pyogenes* проявила активність сполука № 127 із радикалами *N*-2,4-диметилфеніл та метоксифеназин в положенні 9. Сполуки № 128 та № 129, що відрізнялися між собою та сполукою № 127 заміниками *N*-3,4-диметилфенілом та метоксифеназином у положенні 9 та *N*-3,5-дихлорфенілом та метоксифеназином відповідно, справляли протимікробну дію на *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*. Також сполука № 128 виявилася активною проти спорової форми *B. anthracis*.

Речовини № 130 та № 131, що відрізнялися між собою та сполукою № 133 радикалами *N*-5-хлор-2-метилфенілом та метоксифеназином в положенні 9 та метокси-*N*-[2-(трифторметил)феніл]феназином в положенні 9 відповідно, проявили активність до *E. rhusiopathiae* та *S. aureus*. Також сполука № 131 була активною проти *E. coli*, *S. typhimurium* та *P. multocida*. Сполука № 132 із радикалом метокси-*N*-[3-(трифторметил)феніл]феназин у положенні 9 виявилася активною відносно *K. pneumoniae* та *P. multocida*.

Речовини № 135, № 136 та № 137, що різнилися радикалами метилфеназин, метил-*N*-фенілфеназин та метил-*N*-(2-метилфеніл)феназин, відповідно, у положенні 9 виявили антибактеріальну дію проти *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*. Крім того, сполука № 135 була активною ще й відносно *S. aureus* та *S. pyogenes*, а сполука № 136 – відносно *S. pyogenes*. Сполуки № 138 та № 139, що відрізнялись між собою заміниками метил-*N*-(3-метилфеніл)феназином та метил-*N*-(4-метилфеніл)феназином в положенні 9, відповідно, виявили антибактеріальну дію лише на *E. rhusiopathiae*.

Сполуки № 141 та № 142, які різнилися радикалами *N*-2,4-диметилфенілом та *N*-3,5-диметилфеніл у положенні 9, відповідно, справляли антибактеріальну дію лише на *S. aureus*. Але сполука № 142 була активною ще й проти *E. rhusiopathiae*, *E. coli* та *K. pneumoniae*, а сполука № 141 – проти *S. pyogenes*. Наявність заміника *N*-(2,5-диметилфеніл) в положенні 9 сполуки № 143 не справляло впливу на активність цієї сполуки відносно досліджуваних тест-мікроорганізмів. Натомість заміник *N*-(2,6-диметилфеніл) у положенні 9

сполуки № 144 забезпечив її активну дію на *E. rhusiopathiae* та на спорову і суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*. Також активною до *E. rhusiopathiae* та до спорової та суміші спорової та вегетативної форм *B. anthracis* виявилась сполука № 145, яка мала в своєму складі радикал *N*-4-бутилфеніл у положенні 9. Замінник метил-*N*-[2-(трифторметил)феніл]феназин у положенні 9 сполуки № 146 забезпечив її антибактеріальну дію на *E. rhusiopathiae* та на спорову і суміш спорової та вегетативної форм *B. anthracis*, а радикал метил-*N*-[4-(трифторметил)феніл]феназин у сполуці № 147 також в дев'ятому положенні не справлял впливу на її активність по відношенню до тест-мікроорганізмів, які вивчали. А заміна метил-*N*-[4-(трифторметил)феніл]феназину на метил-*N*-(4-метилпіридин-2-ил)феназин у сполуці № 149 забезпечила активність цієї сполуки по відношенню до *E. coli* та *K. pneumoniae*.

Сполуки № 155 та № 156, що відрізнялись між собою радикалами *N*-2,5-діметилфеніл та *N*-3,5-діметилфеніл, відповідно, проявили активність до різних мікроорганізмів. Речовина № 155 була активною до *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. pyogenes*, а речовина № 156 – до *E. rhusiopathiae* та *E. coli*. А замінник *N*-(2,4-діметилфеніл) не впливав на активність сполуки № 157, яка не справила дії на жоден мікроорганізм. Сполуки № 154 із замінником *N*-феніл та № 159 із замінником *N*-4-метоксифеніл проявили антибактеріальну дію лише на *E. rhusiopathiae*. Заміна *N*-4-метоксифенілу на *N*-4-(трифторметокси)феніл у сполуці № 160 сприяла прояву активності цієї сполуки відносно *E. rhusiopathiae*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. pyogenes*.

Сполуки № 162, № 164, та № 165, які різнилися радикалами *N*-(3-хлор-4-метилфеніл), *N*-(2,3-діхлорфеніл) та *N*-(2,5-діхлорфеніл), відповідно, проявили різну активність. Сполука № 162 була активною лише до *E. rhusiopathiae*, сполука № 164 – до *K. pneumoniae*, а речовина № 165 взагалі не проявила активності до жодного тест-мікроорганізму. Сполука № 163 із замінником *N*-3-фторфеніл виявила активність лише до *E. rhusiopathiae*. До *E. rhusiopathiae* була активною і сполука № 166 із радикалом *N*-3,5-діхлорфеніл у положенні 3.

Сполуки № 167 та № 168, які містили радикали *N*-піридин-2-ил та *N*-піридин-3-ил, відповідно, в положенні 3, проявили антибактеріальну дію на *E. rhusiopathiae* та *K. pneumoniae*. Крім того, сполука № 167 виявила активність ще й до *S. pyogenes*.

Сполука № 170 класу полізаміщених акридонів із заміником фенілу в положенні 9 була активною лише до спорової та суміші спорової і вегетативної форм *B. anthracis*. Водночас сполука № 171 із заміником (3,4-діметилфеніл)амін у положенні 9 проявила активність до *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*. Сполуки № 172 та № 173, що різнилися заміниками (2,4-діметилфеніл)аміно та 2,5-діметилфеніл)аміно, відповідно, в положенні 9, справляли антибактеріальну дію на *K. pneumoniae*. Крім того, сполука № 172 виявили активність до *E. coli*, *P. multocida* та *S. pyogenes*, а сполука № 173 – до *S. typhimurium*. Сполуки № 174 та № 175, що відрізнялись заміниками хлор-*N*-фенілакридин та хлор-*N*-(4-метилфеніл)акридин у дев'ятому положенні, відповідно, були активними до *K. pneumoniae*. Крім того, сполука № 174 проявила активність ще й до *E. rhusiopathiae*, *S. aureus* та *S. pyogenes*, а сполука № 175 – до *E. coli*, *S. typhimurium* та до спорової та суміші спорової і вегетативної форм *B. anthracis*.

Речовина № 181, що мала в своєму складі замітник изонікотинілфеназин у положенні 1 виявила активність по відношенню до *E. rhusiopathiae*, *P. multocida*, *S. aureus* та *S. pyogenes*. Сполуки № 182 та № 184, які різнилися заміниками метилгліцинатом та (N-1,1-діметил)етиламіногліцинат в положенні 9 справляли антибактеріальну дію на *S. typhimurium*. Більше того, сполука № 182 проявила активність ще й по відношенню до спорової та суміші спорової і вегетативної форм *B. anthracis*.

З усіх 9 класів, які були досліджені, найбільш активними виявилися класи незаміщених та полізаміщених акридонів, а також незаміщених феназинів.

З усіх 8 культур мікроорганізмів найбільш чутливою до хімічних сполук виявилася *E. rhusiopathiae*, а найменш чутливою – *B. anthracis*. Це підтверджує

результати дослідників про ефективне пригнічення ряду патогенних бактеріальних культур, а саме *Micrococcus spp.*, *E. rhusiopathiae*, *S. aureus*.

Таблиця 4.1.

**Кількісна характеристика визначення антибактеріальних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук відносно грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів**

Група речовин	Загальна кількість, шт	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. anthracis</i> (спорова форма)	<i>B. anthracis</i> (суміш спорової та вегетативної форм)
Моноциклічні триазини	15	6%	13%	73%	46%	20%	33%	13%	27%	27%
Хінолони	28	50%	71%	18%	11%	32%	39%	18%	36%	36%
Трициклічні триазини	17	30%	53%	71%	24%	64%	53%	17%	12%	12%
Заміщені акридони	30	46%	40%	43%	26%	13%	33%	20%	3%	3%
Незаміщені акридони	21	38%	38%	38%	38%	33%	43%	24%	19%	19%
Незаміщені тіоксанти	10	20%	0%	40%	30%	50%	30%	10%	20%	20%
Заміщені феназини	32	47%	28%	59%	19%	41%	37%	28%	22%	22%
Аміди триазинпропан-карбонової кислоти	16	12%	37%	69%	29%	31%	0%	19%	0%	0%
Полізаміщені акридони	15	26%	60%	46%	46%	33%	33%	20%	26%	26%



Аналізуючи антибактеріальну активність речовин, ми зробили припущення, що дію однієї і тої ж речовини на різні мікроорганізми можна пояснити ураженням їхніх функціонально ідентичних клітинних мішеней, наприклад, комплексів, задіяних у синтезі ДНК та РНК [204].

Також нами були підтверджені дані про антибактеріальну активність похідних 1,3-тіазину [148] та дані літератури про широкий спектр біологічних властивостей 1,2,4-тріазинів [108, 120, 121, 123], оскільки тріазини були досить активним класом по відношенню до усіх 8 культур мікроорганізмів, що використовувалися в процесі досліджень.

На п'ятому етапі визначали цитотоксичну дію речовин, які виявили активність по відношенню до усіх 8 видів мікроорганізмів. Для цього досліджували речовини під №№ 24, 45, 58, 109, 124 та 171 на культурах клітин Vero (нирка африканської зеленої мавпи), HeLa (онкоклетини шийки матки) та ВНК (нирка сирійського хом'яка). Усі речовини, які досліджували на культурах клітин, не проявили цитотоксичної дії.

Метод культури клітин є найбільш перспективним при вивченні необхідній тривалості дії препаратів та відновлення клітин, а також у розробці методів кількісної оцінки дії препаратів. Моношарова культура потребує найменшої кількості клітин і, відповідно, незамінна при дослідженні методом мікророзведень, який забезпечує дослідження великої кількості препаратів у широкому діапазоні концентрацій. Крім того, це полегшує автоматизацію досліджень. Якщо кількість клітин невелика, то є змога культивувати клітини дотого часу, доти не буде необхідної кількості. Як правило, 2–3 пасажування клітин навіть рекомендовані, оскільки це знижує варіабельність результатів між паралельними культурами [205].

У тестах на цитотоксичність визначають індуковані дослідженими препаратами зміни у метаболічних шляхах чи структурній цілісності, які можуть впливати на загибель клітин. Теоретично єдиним вірогідним показником виживання проліферувальних клітин є їхня здатність до

подальшого розмноження. Показником виживання можуть слугувати і метаболічні ознаки.

Дослідження гострої цитотоксичної дії дозволяють безпосередньо дослідити ріст клітин, що розмножуються, шляхом визначення ефективності росту у моношарі. Результати росту клітин у моношарі можуть бути використані як показник репродукційної цілісності.

На шостому етапі визначали дію 6 відібраних сполук на польові ізоляти. За допомогою цих досліджень ми можемо обґрунтувати доцільність використання відібраних сполук для сільськогосподарських тварин та ветеринарної медицини. Відібрані сполуки проявили різний ступінь активності на різних ізолятах. Грампозитивні ізоляти виявилися більш чутливими до досліджуваних сполук. Ми припускаємо, що ця чутливість пов'язана не тільки із хімічною будовою 6 відібраних сполук, але й з особливостями структури клітинної стінки грампозитивних мікроорганізмів. Крім того, факт наявності антибактеріальної дії по відношенню до польових ізолятів, а не лише до тест-мікроорганізмів Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів робить ці 6 сполук перспективними та актуальними для подальших досліджень.

Результати досліджень дають змогу твердити про великі перспективи для створення препаратів на основі досліджуваних нами гетероциклічних поліакцепторних сполук, що аргументує актуальність запропонованих нами досліджень.

Підсумовуючи проведену науково-дослідну роботу можна сказати, що була здійснена значна пошукова та науково-дослідницька робота з новосинтезованими гетероциклічними сполуками з метою визначення їхніх властивостей і дії на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми, а також на культури клітин. До того ж, ця робота мала позитивний результат, оскільки були знайдені речовини із широким спектром антибактеріальної дії, які відібрані для подальшого їх вивчення.

Отже, завдяки дослідженням за темою дисертаційної роботи нами були вирішені передбачені планом основні завдання, а саме: підібрано тестові моделі для досліджень та розчинник для хімічних сполук, проведено первинний скринінг та визначені антибактеріальні властивості, а також наявність цитотоксичної дії хімічних сполук, які вивчалися. Це дало змогу відібрати із 184 хімічних сполук 6 речовин, які є перспективними для подальшого дослідження.

Рекомендовано для практики ветеринарної та гуманної медицини України спосіб визначення антимікробної активності антибіотичних речовин (патент № 104386, який зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.01.2016 р.).

### **Перспективи подальших досліджень**

На основі позитивних результатів досліджень 6 речовин на грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмах та на культурах клітин, можлива розробка сучасних антибактеріальних препаратів широкого спектра дії із використанням відібраних сполук як основної діючої речовини. Це дасть змогу поліпшити ситуацію із антибіотикорезистентністю мікроорганізмів, що є важливою проблемою сьогодні і в гуманній, і в ветеринарній медицині.

Враховуючи вищевикладене, можна констатувати, що пошук та створення високоефективних комбінованих антибактеріальних препаратів є актуальним практичним та соціальним завданням, оскільки це удосконалив стратегію антибактеріальної терапії із урахуванням динаміки утворення резистентності.

## ВИСНОВКИ

1. Визначено біотехнологічні основи відбору речовин для створення препаратів із антибактеріальною активністю серед сполук класів моноциклічних триазинів, хінолонів, трициклічних триазинів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, незаміщених тіоксантонів, заміщених феназинів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів.

2. У дисертації зроблено теоретичне узагальнення і висвітлено нове вирішення наукової проблеми щодо використання біотехнологічних основ для підбору речовин з антибактеріальною активністю, що впливає із результатів проведених досліджень із вивчення антимікробних властивостей гетероциклічних сполук по відношенню до тестових мікроорганізмів різних таксономічних груп. За допомогою порівняльного аналізу встановлено оптимальний метод визначення антибактеріальних властивостей модифікованих гетероциклічних сполук. Вивчена токсична дія хімічних сполук на культурах клітин.

3. За результатами порівняльного вивчення 18 тестових мікроорганізмів встановлено, що 8 грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а саме: *E. rhusiopathiae* VR-2, *S. aureus* P 209, *S. pyogenes* та *B. anthracis* СБ, *E. coli* 1257, *S. typhimurium* 144, *K. pneumoniae* K-56N 3534/51, *P. multocida* № 115 є оптимальними тест-культурами, оскільки накопичуються в кількості 0,5 за McFarland, при температурі +35° С протягом 24–32 годин.

4. Із 8 досліджених розчинників визначено оптимальний для 184 нових гетероциклічних сполук, яким виявилася речовина диметилсульфоксид (ДМСО). Він проявив високу ефективність щодо розчинення хімічних речовин, забезпечував стерильність отриманих розчинів, мав низьку цитотоксичність – 1,89 % та невисоку вартість.

Визначена робоча концентрація ДМСО для досліджень з цитотоксичності сполук для культур клітин, що дорівнює 1 %.

5. У результаті проведення первинного скринінгу антибактеріальних властивостей 184 новосинтезованих гетероциклічних хімічних сполук, які належать до 9 класів, на 8 видах культур тестових мікроорганізмів (*E. rhusiopathiae*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. multocida*, *S. aureus*, *S. pyogenes* та *B. anthracis*) встановлено, що 163 речовини проявляли активність до культур і використовувалися у подальших дослідженнях.

6. Найбільшу антибактеріальну активність досліджувані сполуки виявляли до грампозитивних культур *E. rhusiopathiae* та *S. pyogenes* – 48,36 % та 43,47 % відповідно. Найменшу активність ці речовини проявили до грамнегативної культури *E. coli* та грампозитивної *B. anthracis* – 20,1 % та 17,9 % відповідно.

7. У результаті дослідження антибактеріальних властивостей 184 модифікованих поліакцепторних речовин підбрано 6 речовин-кандидатів: серед класів хінолонів (№ 24), трициклічних триазинів (№ 45 та № 58), незаміщених акридонів (№ 109), незаміщених феназінів (№ 124) та полізаміщених акридонів (№ 171), які використані у подальших дослідженнях, як основна діюча речовина у складі антибактеріальних препаратів широкого спектра дії.

8. За результатами досліджень встановлено, що найвищу антибактеріальну активність виявила хімічна сполука із класу хінолонів 3-гідрокси-8-нітро-2-фенілхінолін-4(1*H*)-он, мінімальна інгібуюча концентрація якої дорівнювала: 0,41 мг/см<sup>3</sup> для *P. multocida*; 0,041 мг/см<sup>3</sup> для *S. typhimurium* та 0,0041 мг/см<sup>3</sup> для *E. rhusiopathiae*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae* та *B. anthracis* у споровій і вегетативній формах.

9. За вивчення цитотоксичних властивостей новосинтезованих гетероциклічних сполук виявлено слабкий токсичний вплив хімічних речовин на культури клітин Vero, ВНК, HeLa, а також відсутність цитотоксичної дії на ці культури речовин у концентраціях 0,41–0,00041 мг/см<sup>3</sup>.

10. Усі 6 відібраних сполук проявили антибактеріальну активність до польових ізолятів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від

0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,0041 мг/см<sup>3</sup>, а зони затримки росту мали значення від 9,8±0,56 мм до 24,3±0,43 мм. Найбільш активною до польових ізолятів виявилася сполука № 45 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,041 мг/см<sup>3</sup> до 0,041 мг/см<sup>3</sup> та зонами затримки росту від 21,6±0,53 мм до 24,3±0,43 мм, а найменш активною – сполука № 58 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,41 мг/см<sup>3</sup> до 0,041 мг/см<sup>3</sup> та зонами затримки росту від 11±0,6 мм до 21,6±0,6 мм.

## **ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. В умовах ветеринарних лабораторій пропонуємо використовувати адаптовану біотехнологічну схему для відбору антибактеріальних препаратів на основі модифікованих поліакцепторних сполук.

2. Для відбору речовин із антибактеріальними властивостями серед модифікованих поліакцепторних сполук пропонуємо використовувати «Методичні рекомендації для визначення антибактеріальних властивостей модифікованих поліакцепторних сполук», які затверджені вченою радою Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) (протокол № 6 від 10.10.2014) та науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 25.12.2014).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Покровский В. И. Медицинская микробиология / В. И. Покровский. – М. : ГЭОТАРМЕД, 2002. – 768 с.
2. Жукова Е. В. Сучасний стан проблеми антибіотикорезистентності та епідеміологічний нагляд за стійкістю мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів / Е. В. Жукова // Поліклініка, Інфекційні хвороби. – 2015. – Спецвипуск №1.
3. Свіжак В. К. Антибіотикорезистентність: багатогранність проблеми / В. К. Свіжак, С. Є. Дейнека // Клінічна та експериментальна патологія. – 2014. – Т.13, № 2 (48). – С. 222–224.
4. Бондарчук І. Національна стратегія боротьби з резистентністю до антибіотиків в Україні [Електронний ресурс] / І. Бондарчук // Електронний журнал «Аптека.online.ua». Режим доступу: <http://www.apteka.ua/#1061>. – Назва з екрану.
5. Гуменюк М. І. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи вирішення / М. І. Гуменюк, О. С. Денисов, Ю. І. Фещенко // Український хімотерапевтичний журнал. – 2010. – № 1–2 (23). – С.4–10.
6. Бриан Л. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам / пер. с англ. А.Я. Ивлевой. – М: Медицина. – 1984. – 270 с.
7. Вирина А. М. Действие полиеновых антибиотиков на клетки и клеточные мембраны чувствительного и устойчивых штаммов *Candida albicans* [Текст] : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук / А.М. Вирина . – Л.; 1980. – 24 с.
8. Гацура В. Н. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. Н. Гацура. – М. : Медицина, 1976. – С. 5–16.
9. Hare R. The Scientific Activities of Alexander Fleming, Other Than the Discovery of Penicillin / R. Hare // Medical History. – 1983. – № 27. – P. 347–372.



10. Visek W. J. The Mode of Growth Promotion by Antibiotics / W. J. Visek // *J. Anim. Sci.* – 1978. – № 46. – P. 1447–1469.
11. ООН позвала весь мир на борьбу с устойчивостью к антибиотикам [Электронный ресурс] / О.Лещук // *Электронный журнал.* – Режим доступа: <https://nplus1.ru/news/2016/09/22/at-last>. – Заглавие с экрана.
12. Prescott J. F. Aminoglycosides and aminocyclitols / J. F. Prescott, J. D. Baggot. // *Antimicrobial therapy in veterinary medicine.* 2nd ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press. – 1993. – P. 144–178.
13. In vitro and in vivo activities of azithromycin, a new azalide antibiotic, against chlamydia / Y. Niki, M. Kimura, N. Miyashita [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemo.* – 1994. – № 38 (10). – P. 2296–2299.
14. Антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны в ветеринарии / В. Ф. Ковалёв, И. Б. Волков, Б. В. Виолин [и др.] – М. : Агропромиздат, 1988. – 223 с.
15. Симонов С. С. Разумное применение антибиотиков: от громких заголовков к клинической практике / С. С. Симонов // *Український медичний часопис.* – 2014. – № 4. – С. 23–26.
16. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків : підручник: у 2 т. / ред. І. М. Перцев, І. А. Зупанець. – Х. : Укр ФА, 1999. – 464 с.
17. Основы микробиологии, вирусологии, иммунологии / ред. А. А. Воробьёв, Ю. С. Кривошеин. – М. : Высш. шк., 2001. – 306 с.
18. Towner K. J. The problem of resistance / K. J. Towner // *Antimicrobial chemotherapy.* – 2001. – № 48. – P. 137–144.
19. Авакьянц Б. Лекарственные растения в ветеринарной медицине / Б. Авакьянц. — М. : Аквариум, 2001. – 334 с.
20. Коцюмбас І. Я. Проблема віддалених наслідків дії препаратів у ветеринарній медицині / І. Я. Коцюмбас, І. П. Патерега, О. Г. Малик // *Досягнення сучасної фармації та перспективи розвитку у новому тисячолітті : матеріали 5-го Нац. з'їзду фармацевтів України.* –Х., 1999. – С. 387–388.

21. Авдєєва Л. В. Проблема резистентності мікроорганізмів до антибіотиків / Л. В. Авдєєва // Лабораторна діагностика. – 1998. – № 3 (5). – С. 35–38.
22. Ноллед Л. Європа проти антибіотиків / Л. Ноллед // Тваринництво України. – 2006. – № 5. – С. 19–20.
23. On measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing [Electronic resource]: Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996. – Mode of access [www.fve.org/veterinary/pdf/.../directive\\_96\\_23\\_ec.pdf](http://www.fve.org/veterinary/pdf/.../directive_96_23_ec.pdf). – Title from the screen.
24. Новожицька Ю. Проблеми та шляхи виконання національних планів моніторингу / Ю. Новожицька // Ветеринарна медицина України. – 2008. – № 1. – С. 6–8.
25. Малик О. Г. Перспективи створення екологічно безпечних лікарських засобів / О. Г. Малик // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2001. – № 9. – С. 354–356. – (Серія «Біологія»).
26. Малик О. Г. Фітопрепарати у ветеринарній медицині України / О. Г. Малик, І. П. Патерега, М. І. Лунь // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 2. – С. 30–32.
27. Заика Л. А. Противовирусные, противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства лечебного препарата изатизон : монография / Л. А. Заика, О. И. Болсунова, А. И. Потопальский. – К. : Колообиг, 2010. – 212 с.
28. Immunological and clinical study on therapeutic efficiency of inosine pranobex / M. Golebiowska-Wawrzyniak, K. Markiewicz, A. Kozar [et al.] // Pol. Mercuriusc. Lek. – 2005. – Vol. 19. – P. 379–382.
29. Антибиотики и антибиоз в сельском хозяйстве / ред. Н. Полин. – М. : Колос, 1981. – С. 29–103.
30. Антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны в ветеринарии / В. Ф. Ковалев, И. Б. Волков, Б. В. Виолин [и др.] – М. : Агропромиздат, 1988. – 223 с.

31. Музыка В. П. Антибиотикорезистентность в ветеринарной медицине / В. П. Музыка, Т. И. Стецко, М. В. Пашковская // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии: материалы V Международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов (Витебск. 26–30 мая 2015 г.). – Витебск, 2015. – С. 20–26.
32. Антибіотики в кормах: за і проти / М. В. Косенко, Ю. М. Косенко, В. П. Музыка [та ін.] // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Вет. медицина». – 2013. – №. 1–2 (13–14). – С. 178–182.
33. Антибіотик [Електронний ресурс]: – Режим доступу [ru.wikipedia.org/wiki](http://ru.wikipedia.org/wiki). – Назва з екрану.
34. Антибиотики. Классификация антибиотиков [Електронний ресурс]: – Режим доступу [www.antibiotic.in.ua](http://www.antibiotic.in.ua) – Назва з екрана.
35. Антибактериальная терапия: практическое руководство / ред. Л. С. Страчунский, Ю. Б. Белоусов, С. Н. Козлов. – М. : Медицина, 2000. – 207 с.
36. Залюбовська О. І. Клінічна фармакологія: підручник / О. І. Залюбовська, С. Н. Коваль, О. М. Литвинова. – Х. : ВД «ІНЖЕК», 2003. – 687 с.
37. Компендиум 2003 – Лекарственные препараты / ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторов, М. Ю. Титов, И. А. Зупанец. – К. : Морион, 2003. – 1388 с.
38. Машковский М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей: в 2 т. / М. Д. Машковский. – 14-е изд., перераб. и доп. – М. : Новая волна, 2003.
39. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках: учебник для студ. биол. спец. ун. / Н. С. Егоров. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Высшая школа, 1986. – 448 с.
40. Навашин С. М. Рациональная антибиотикотерапия / С. М. Навашин, И. П. Фомина. – М. : Медицина, 1982. – 496 с.

41. Регистр лекарственных средств России: энциклопедия лекарств / ред. Г. Л. Вышковский. – М. : ЛРС, 2003. – 1440 с.
42. Словник з мікробіології, вірусології, імунології та інфекційних захворювань / ред. Г.Г. Палій. – Вінниця. – 1995. – 109 с.
43. Черномордик А. Б. Применение антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов / А. Б. Черномордик. – К. : Вища школа, 1988. – 320 с.
44. Скакун М. П. Основы фармакологии с рецептурой: підручник. – 2-ге вид., перероб. та допов. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 604 с.
45. Roberts M. C. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide and oxazolidinone resistance genes / M. C. Roberts // FEMS Microbiol. Letter. – 2008. – № 282. – P.147–159.
46. Нековаль І. В. Фармакологія / І. В. Нековаль, Т. В. Казанюк. – 4-те вид, доповн. та виправ. – К. : ВСВ «Медицина», 2011. – 520 с.
47. Казанюк Т. В. Основы фармакологии та загальної рецептури: підручник для студ. вищих мед. навч. заклад. I–II рівнів акредитації / Т. В. Казанюк, І. В. Нековаль. – К. : Здоров'я, 2003. – 240 с.
48. Музика В. П. Антибіотикотерапія ензоотичної пневмонії свиней / В. П. Музика, Т. І. Стецько, Н. В. Остапів // Наук.-техн. бюл. Наук.-дослід. центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – Дніпропетровськ, 2014. – Т. 2, № 3. – С. 55–63.
49. Експериментальне вивчення впливу анальбену, кофеїну та їх композиції на емоційно-поведінкові реакції щурів в умовах формалінового набряку / Т. В. Звягінцева, Л. Т. Киричок, Г. О. Сидорова [та ін.] // Фармакологія та токсикологія. – 2008. – № 1. – С. 12–15.
50. Ковалець М. І. Антибіотики – бомба уповільненої дії / М. І. Ковалець // Лабораторна діагностика. – 2002. – № 3. – С. 29–31.
51. Berge A.C. Assessing the effect of a single dose florfenicol treatment in feedlot cattle on the antimicrobial resistance patterns in faecal *Escherichia coli* /

A. C. Berge, W. B. Epperson, R. H. Pritchard // *Vet. Res.* – 2005. – Vol. 36. – P. 723–734.

52. Визначення чутливості *E.coli*, виділеної від птиці, до антибіотиків різних груп / В. П. Музика, І. К. Авдосьєва, І. Л. Мельничук [та ін.] // *Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.* – Львів, 2008. – Вип. 9, № 3. – С. 196–200.

53. Кречикова О. И. Антимикробная резистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae*: автореф. а соискание ученой степени дис. канд. мед. наук спец. : 14.00.31. / О.И. Кречикова – Москва, 2000. – 21 с.

54. Лепяхин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия / В. К. Лепяхин. – М.: Медицина, 1997. – С. 24–42

55. Butaye P. Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria / P. Butaye, A. Cloeckaert, S. Schwarz // *Int. J. Antimicrob.* – 2003. – № 22. – P. 205–210.

56. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: метод. указания. – М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

57. Мацелюх А. Б. Стрептоміцети – продуценти антибіотиків / А. Б. Мацелюх // *Мікробіолог. журнал.* – 2003. – № 65 (1–2). – С. 168–181.

58. Bredy J. Bioactive microbial metabolites / J. Bredy // *Journal of Antibiotics.* – 2005. – № 58 (1). – P. 1–26.

59. Demain A. L. Microbial drug discovery: 80 years of progress / A. L. Demain, S. Sanches // *Journal of Antibiotics.* – 2009. – № 62. – P. 1–12.

60. Donadio S. Antibiotic discovery in the twenty-first century: current trends and future perspectives / S. Donadio, S. Mafiolli, P. Monciardini // *Journal of Antibiotics.* – 2010. – № 63 – P. 423–430.

61. American Society for Microbiology. – Mode of access <http://www.asm.org/ASM/files/CCPAGECONTENT/DOCFILENAME/0000005962/antibiot%5B1%>. – Title of the screen.

62. Яковлев В. П. Перспективы создания и внедрения новых антимикробных препаратов / В. П. Яковлев, С. В. Яковлев // Инф. и антимикроб. терапия. – 2002. – № 2. – С. 24–30.
63. Devasahayam G. Newer antibacterial drugs for a new century / G. Devasahayam, W. M. Scheld, P. S. Hoffman // Expert Opin. Investig. Drugs. – 2010. – № 19. – P. 215–234.
64. Miyaki K. Antibacterial properties of 2- and 2,3-disubstituted 1,4-naphthoquinolones / K. Miyaki, N. Ikedia, D. Mizuno // J. Pharm. Soc. Japan. – 1953. – Vol.73. – P. 961–969.
65. Ambrogi V. Studies on the antibacterial and antifungal properties of 1,4-naphthoquinolones / V. Ambrogi, D. Artini, I. de Carneri // Brit. J. Pharmacol. – 1970. – Vol. 40. – P. 871–878.
66. Экспериментальное исследование антимикробных и противоопухолевых свойств соединений различных классов / Д. Г. Затула, И. Ф. Владимирцев, В. И. Черкасов, И. М. Редько, С. Р. Резник // Физиолог. актив. вещества. – 1974. – № 6. – С. 30–32.
67. Литвиненко С. Н. Защита нефтепродуктов от действия микроорганизмов / С. Н. Литвиненко. – М. : Химия, 1977. – 142 с.
68. Ryu C. K. The synthesis of 6-(N-Arylanino)-7-chloro-5,8-quinolinedione derivatives for evaluation of antifungal activities / C. K. Ryu, H. J. Kim // Arch. Pharm. Res. – 1994. – Vol. 17. – P. 139–145.
69. Synthesis and antifungal activity of 6,7-bis-[S-(aryl)thio]-5,8-quinolinediones / C. K. Ryu, Y. J. Sun, J. Y. Shim, H. J. You, K. U. Choi, H. Lee // Arch. Pharm. Res. – 2002. – Vol. 25. – P. 784–791.
70. Справочник по пестицидам / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, С. Р. Велан, Т. Н. Пылова. – М. : Химия, 1985. – 255 с.
71. Fesen M. R. Inhibitors of human immynodeficiency virus integrase / M. R. Fesen, K. W. Kohn, F. Leteurte // Proc. Natl. Acad.Sci. USA. – 1993. – Vol. 90. – P. 2399–2406.

72. Оэриу И. Отношение между строением и антитуберкулезным действием некоторых производных  $\alpha$ -нафтохинона.  $\alpha$ -нафтохинонамины. / И. Оэриу, М. Крэча // Журн. общ. химии. – 1963. – Т. 33, № 4–6. – С. 1127–1130.
73. Kowalik R. The antibiotic activity of 2-substituted 1,4-naphthoquinones of 2-substituted 1,4-naphthoquinolones on a few fungi; the fungicidal effects of several dithiocarbamates / R. Kowalik // Prace Glown. Inst. Chem Przemsl. – 1951. – Vol. 2. – P. 51–57.
74. Fieser L. F. Naphthoquinone Antimalarials. I. General Survey / L. F. Fieser, E. Berliner, F. J. Bondhus // J. Am. Chem. Soc. – 1948. – Vol. 70. – P. 3151–3162.
75. Эмануэль Н. Н. Пути синтеза и изысканий противоопухолевых препаратов / Н.Н. Эмануэль. – М. : Медгиз, 1962. – 233 с.
76. Takano K. Anti-cancer effects of naphthoquinone derivatives tested by a screening with ehrlich ascites cell in mice / K. Takano, M. Yamada, Y. Hirokawa // Japan. J. Med. Sci. E. Biol. – 1959. – Vol. 12. – P. 473–478.
77. Experimental Production of Labial and Lingual Carcinoma by Local Application of 4-Nitroquinolone N-oxide / S. Sakai, K. Minoda, G. Saito, F. Fukuoka // Gann. – 1955. – Vol. 46. – P. 59–68.
78. Webb J. S. The Structures of Mitomycins A, B and C and Porfiromycin. Part I. / J. S. Webb, D. B. Cjulich, J. H. Mowat // J. Am. Chem. Soc. – 1962. – Vol. 84. – P. 3185–3191.
79. Sygyrch J. The molecular structure of naphthyridinomycin – a broad spectrum antibiotic / J. Sygyrch, F. Brisse, S. Hanessain // Tetrahedron Lett. – 1974. – Vol. 25. – P. 4021–4027.
80. Козлов С. Н. Современная антимикробная химиотерапия: руководство для врачей / С. Н. Козлов. – М. : МИА, 2009. – 448 с.
81. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / ред. Л.С. Страчунский, Ю.Б. Белоусов, С.Н. Козлов. – М. : Боргес, 2002. – 384 с.

82. Навашин С. М. Рациональная антибиотикотерапия / С. М. Навашин, И. П. Фомина. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1982. – 496 с.
83. Labro M. T. Antibacterial agents – phagocytes: new concept for old in immunomodulation / M. T. Labro // *Int. J. Antimicrobial Agent.* – 1998. – № 10. – P. 11–21.
84. Labro M. T. Experimental evaluation of antibiotics as immunomodulators / M. T. Labro // *J. Chemother.* – 1994. – № 6 (5). – P. 10–14.
85. Kohanski M. A. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks / M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, J. J. Collins // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2010. – № 8. – P. 423–424.
86. Cross M. Pharmacology of novel heteroatomic polycycle antibacterials / M. Cross, R. Burli, P. Jones // *Antimicrob. Agents and Chemotherapy.* – 2003. – № 11. – P. 3448–2457.
87. Livermore D. M. The Need for new antibiotics / D. M. Livermore // *Clinical microbiology & infection.* – 2004. – № 10. – P. 1–9.
88. Timing of antimicrobial prophylaxis and the risk of surgical site infections: results from the trial reduce antimicrobial prophylaxis errors / J. P. Streinberg, B. I. Braun, W. C. Hellinger, L. Kusek, M. R. Bozikis, A. J. Bush // *Ann Surg.* – 2009. – № 250 (1). – P. 6–10.
89. Мазур И. К вопросу создания препаратов нейропрофилактического действия / И. Мазур, И. Белиничев // *Вісник фармакол. та фарм.* – 2006. – № 4. – С. 28–31.
90. Cornaglia G. Report from the European Conference on the role of research in combating antibiotic resistance / G. Cornaglia, A. Lonnoth, M. Struelens // *Clin. Microbiol. Infect.* – № 10 (5). – 2003 – P. 473–497.
91. Rewcastle G. W. Potential antitumor agents. 51. Synthesis and antitumor activity of substituted phenazine-1-carboxamides / G. W. Rewcastle, W. A. Denny, B. C. Baguley // *J. Med. Chem.* – № 30 (5). – 1987 – P. 843–851.
92. Dicationic bis(9-methylphenazine-1-carboxamides): relationships between biological activity and linker chain structure for a series of potent



topoisomerase targeted anticancer drugs / S. A. Gamage, J. A. Spicer, G. J. Finlay, A. J. Stewart, P. Charlton, B. C. Baguley [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2001. – № 44 (9). – P. 1407–1415.

93. Bis(phenazine-1-carboxamides): structure-activity relationships for a new class of dual topoisomerase I/II-directed anticancer drugs / J. A. Spicer, S. A. Gamage, G. W. Rewcastle, G. J. Finlay, D. J. Bridewell, B. C. Baguley [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2000. – № 43 (7). – P. 1350–1358.

94. . Нові аміди феназин-1-карбонової кислоти: антимікробна дія та дослідження взаємозв'язку структура – функція / Л. Г. Пальчиковська, І. В. Алексєєва, В. Г. Костіна, М. О. Платонов, В. В. Негруцька, О. М. Дерябін, О. А. Тарасов, А. Д. Швед // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – № 3. – С. 140–147.

95. Novel N-aryl- and N-heteryl phenazine-1-carboxamides as potential agents for the treatment of infections sustained by drug-resistant and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / A. De Logu, L. H. Palchykovska, V. H. Kostina, A. Sanna, R. Meleddu, L. Chisu [et al.] // *J. Antimicrob. Agents.* – 2009. – № 33 (3). – P. 223–229.

96. Electron-deficient DNA-intercalating agents as antitumor drugs: aza analogues of the experimental clinical agent N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide / Q. Chen, L. W. Deady, B. C. Baguley, W. A. Denny // *J. Med. Chem.* – 1994. – № 37 (5). – P. 593–597.

97. Wakelin L. P. Kinetic studies of the binding of acridinecarboxamide topoisomerase poisons to DNA: implications for mode of binding of ligands with uncharged chromophores / L. P. Wakelin, A. Adams, W. A. Denny // *J. Med. Chem.* – 2002. – № 45 (4). – P. 894–901.

98. Potential antitumor agents. 54. Chromophore requirements for in vivo antitumor activity among the general class of linear tricyclic carboxamides / B. D. Palmer, G. W. Rewcastle, G. J. Atwell, B. C. Baguley, W. A. Denny // *J. Med. Chem.* – 1988. – № 31 (4). – P. 707–712.

99. Synthesis and activity against multidrug resistance in Chinese hamster ovary cells of new acridone-4-carboxamide / N. Dodic, B. Dumaitre, A. Daugan, P. Pianetti // *J. Med. Chem.* – 1995. – № 38 (13). – P. 2418–2428.

100. New acridone-4-carboxylic acid derivatives as potential inhibitors of hepatitis C virus infection / A. Stankiewicz-Drogon, L. G. Palchykovska, V. G. Kostina, I. V. Alexeeva, A. D. Shved, A. M. Boguszevska-Chachulska // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – № 16 (19). – P. 8846–8852.

101. Synthesis of new acridone derivatives, inhibitors of NS3 helicase, which efficiently and specifically inhibit subgenomic HCV replication / A. Stankiewicz-Drogon, B. Dörner, T. Erker, A. M. Boguszevska-Chachulska // *J. Med. Chem.* – 2010. – № 53 (8). – P. 3117–3126.

102. Henry D. Structure-antitumor activity relationships of 9-anilinoacridines using pattern recognition / D. Henry, P. Jurs, W. Denny // *J. Med. Chem.* – 1982. – Vol. 25, № 8. – P. 889–908.

103. Electron-deficient DNA-intercalating agents as antitumor drugs: aza analogues of the experimental clinical agent N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide / Q. Chen, L. Deady, B. Baguley, W. Denny // *J. Med. Chem.* – 1994. – Vol. 37, № 5. – P. 593–597.

104. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 5-нітропохідних акридину / С. Г. Ісаєв, В. Д. Яременко, М. М. Сулейман, Д. О. Мамедова, Н. Д. Кабакова, О. А. Бризницький, Н. Ю. Шевельова // *Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів (Харків, 15–17 верес. 2010 р.)*. – м. Харків: НФаУ, 2010. – Т.1. – 600 с.

105. Антринілати 9-аміноакридинію: синтез, будова та протигрибкова, протимікробна активність, їх використання в якості барвника текстильних виробів / С. Г. Ісаєв, О. А. Близнюк, Н. В. Кругленко, О. П. Сумська, Н. Д. Кабакова, Г. К. Палій, А. В. Крижановська // *Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів (Харків, 15–17 верес. 2010 р.)*. – Харків: НФаУ, 2010. – Т.1. – 600 с.

106. Зубков В. О. Деякі особливості сульфохлорування похідних 1,2-дигідрохінолін-2-ону / В. О. Зубков, Т. О. Цапко, І. С. Гриценко // Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів (Харків, 15–17 верес. 2010 р.). – Харків: НФаУ, 2010. – Т.1. – 600 с.

107. Євсюкова В. Ю. Формування стійкості мікроорганізмів до похідних 2Н-пірано[2,3-с]піридинів / В. Ю. Євсюкова, І. О. Журавель, І. Д. Андрєєва, В. В. Казмірчук, Н. М. Шульга, Н. О. Волянська // Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів (Харків, 15–17 верес.2010 р.). – Харків: НФаУ, 2010. – Т.1. – 600 с.

108. Брицун М. В. Антимікробні властивості 2-арил-2,3-дигідро-4н-[1,3]тіазино[3,2- $\alpha$ ]бензімідазол-4-іонів та їх похідних / М. В. Брицун, О. І. Майборода // Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів. (Харків, 15–17 верес.2010 р.). – Харків: НФаУ, 2010. – Т.1. – 600 с.

109. Neunhoeffer H. 1,2,4-Triazines in The Chemistry of 1,2,3-Triazines and 1,2,4-Triazines, Tetrazines and Pentazines / H. Neunhoeffer // The Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 1978. – № 3. – P. 189.

110. Neunhoeffer H. 1,2,4-Triazines and their benzo derivatives / H. Neunhoeffer // Comprehensive Heterocyclic Chemistry. – 1984. – № 3. – P. 189.

111. Charushin V. N. Reactions of Azines Bifunctional Nucleophiles; Cyclizations and Ring Transformations / V. N. Charushin, O. N. Chupakhin, van der Plas // Advanced in Heterocyclic Chemistry – 1988. – № 43. – P. 301–353.

112. Behavior of monocyclic 1,2,4-Triazines in reactions with C-, N-, O-, and S-nucleophiles / V. N. Charushin, S. G. Alekseev, O. N. Chupakhin, H. C. van der Plas // Advanced in Heterocyclic Chemistry. – 1989. – № 46. – P. 72–141.

113. Condensed 1,2,4-triazines. 1. Fused to heterocycles with 3-membered, 4-membered, and 5-membered rings / Esh. Elashry, N. Rashed, M. Tasha, E. Ramadan // Advanced in Heterocyclic Chemistry. – 1994. – № 59. – P. 39–177.

114. Elashry Esh. Condensed 1,2,4-triazines. 2. Fused to heterocycles with 6-membered and 7-membered rings and fused to 2 heterocyclic rings / Esh. Elashry,

A. Mousaad, E. Ramadan // *Advanced in Heterocyclic Chemistry*. – 1994. – № 61. – P. 207–328.

115. Recent advanced in the chemistry of as-triazinum salts. / O. N. Chupakhin, S. G. Alekseev, V. N. Rudakov, V. N. Charushin // *Heterocycles*. – 1992. – Vol. 33, № 2. – P. 931–972.

116. Neunhoeffer H. 1,2,4-Triazines and their benzo derivatives / H. Neunhoeffer // *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. – 1996. – № 6. – P. 507.

117. Carmen O. Six-membered rings systems: triazines and fused ring polyaza systems / O. Carmen, C. Pilar // *Progress in Heterocyclic Chemistry*. – 2002. – № 14. – P. 310–331.

118. Чупахин О. Н. Нуклеофильная атака на незамещенный атом углерода азинов и нитроаренов – эффективная методология построения гетероциклических систем / О. Н. Чупахин, Д. Н. Берсенев // *Успехи химии*. – 2002. – № 71 (9). – С. 803–818.

119. Kozhevnikov D. N. 1,2,4,-triazine N-Oxides / D. N. Kozhevnikov, V. L. Rusinov, O. N. Chupakhin // *Advances in heterocyclic chemistry*. – 2002. – № 82. – P. 261–305.

120. Synthesis of thiazolotriazine derivatives and their antinociceptive effects in mice / V. Issartel, P. Coudert, C. Rubat, S. Nhaminas, J. Couquelet // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 50, № 6. – P. 575–582.

121. Sanemitsu Y. A synthetic approach to novel S,N-heterocycles with biological activites / Y. Sanemitsu, M. Mizutani, Y. Nakayama // *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* – 1992. – Vol. 50, № 10. – P. 875–886.

122. New 5H-[1,3]thiazolo[3,2-a]pyrido[3,2-e]pyrimidine derivatives as diuretics / A. Monge, V. Martinezmerino, C. Sanmartin, M. C. Ochoa, E. Fernandezalvarez // *Arzneimittel-Forschung*. – 1990. – № 40 (12). – P. 1349 – 1352.

123. Synthesis of heterobicyclic nitrogen systems bearing the 1,2,4-triazine moiety as anti-HIV and anticancer drugs: part I. / R. M. Abdel-Rahaman, J. M. Morsy, F. Hanafy, H. A. Amene // *Pharmazine*. – 1999. – № 54. – P. 347–351.

124. Медицинская микробиология / глав. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. – 1200 с.
125. Харіна А.В. Хіміотерапія вірусних інфекцій / Харіна А. В., Будзанівська І. Г., Поліщук П. В. – К.: Вид-во КНУ ім. Т. Шевченко, 2003. – 123 с.
126. Музика В.П. Фармакодинаміка та фармакокінетика нового комбінованого антибактеріального препарату на основі флуорфеніколу та флуніксину меглуміну: дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.04 / Віктор Павлович Музика. – Львів, 2016. – 415 с.
127. Ташута В.С. Противірусні властивості нових індол-вмісних конденсованих тетрациклічних сполук: дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Віктор Сергійович Ташута. – Київ, 2015. – 167 с.
128. Чижев Н. П. Схема первичного отбора противовирусных препаратов / Н. П. Чижев, Ф. С. Носков // Молекулярная биология вирусов, химиотерапия и химиопрофилактика вирусных инфекций. – Минск, 1974. – С. 217–219.
129. Pillay D. Emergence and control of resistance to antiviral drugs in resistance in herpes viruses, hepatitis B virus, and HIV / D. Pillay // Communicable Disease and Public Health. – 1998. – V.1. – P. 5–13.
130. Pirrolo 2,1-c[1,2,4]thiazines from 2-diazopirroles:synthesis and antiproliferative activity / P. Diana, P. Barraja, A. Lauria, A. Montablano, A. M. Almerico, J. Datollo, G. Cirrincone // Eur. J .Med. Chem. – 2002. – Vol. 37, № 3. – P. 267–272.
131. 2-Diazoindoles: building blocks for the synthesis of antineoplastic agents / P. Barraja, P. Diana, A. Lauria, A. M. Almerico, J. Datollo, G. Cirrincone // Farmaco. – 2002. – №57 (2). – P. 97–100.
132. Циклизация азиниевых катионов с бифункциональными нуклеофилами / С. Г. Алексеев, В. Н. Чарушин, О. Н. Чупахин, Г. Г. Александров, С. В. Шоршнев, А. И. Чернышев // Изв. Ан.Сер. Хим. – 1989. – № 7 – P. 1637.

133. Roberts M. C. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide and oxazolidinone resistance genes / M. C. Roberts // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – № 282. – P. 147–159.
134. Українська радянська енциклопедія / ред. М. Бажан – 2-ге вид. – К. : Гол.ред. УРЕ. – 1974–1978.
135. Машковский М. Д. Производные нафтиридина. Хинолоны. Фторхинолоны / М. Д. Машковский // *Лекарственные средства.* – 15-е изд. – М. : Новая волна, 2005. – С. 842.
136. Производные хинолона [Электронный ресурс] – Режим доступа [farmakologija.ru/antibiotiki/proizvodnye-khinolona.html](http://farmakologija.ru/antibiotiki/proizvodnye-khinolona.html). – Название с экрана.
137. Heddle J. Quinolone-binding pocket of DNA gyrase: role of Gyr B. / J. Heddle, A. Maxwell // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2002. – № 46. – P. 1805 – 1815.
138. Dengue 1 virus binding to human hepatoma HepG2 and simian Vero cell surfaces differs / P. Marianneau, F. Mégret, R. Olivier, D. M. Morens, V. Deubel // *J. Gen. Virol.* – 1996. – № 77 (10). – P. 2547–2554.
139. Catabolite repression of the adhesion of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* of serogroups 0157 and 0111 / Y. Nishikawa, S. M. Scotland, H. R. Smith, G. A. Willshaw, B. Rowe // *Microb Pathog.* – 1995. – № 18 (3). – P. 223–229.
140. Replication of influenza A viruses in a green monkey kidney continuous cell line (Vero) / E. A. Govorkova, N. V. Kaverin, L. V. Gubareva, B. Meignier, R. G. Webster // *J. Infect. Dis.* – 1995. – № 172 (1). – P. 250–253.
141. van Staden V. Expression of nonstructural protein NS3 of African horsesickness virus (AHSV): evidence for a cytotoxic effect of NS3 in insect cells, and characterization of the gene products in AHSV infected Vero cells / V. van Staden, M. A. Stoltz, H. Huisman // *Arch. Virol.* – 1995. – № 140 (2). – P. 289–306.
142. Localization of O-glycan initiation, sphingomyelin synthesis, and glucosylceramide synthesis in Vero cells with respect to the endoplasmic reticulum-

Golgi intermediate compartment / A. Schweizer, H. Clausen, G. van Meer, H. P. Hauri // *J. Biol. Chem.* – 1994. – № 269 (6). – P. 4035–4041.

143. Sreenivasan V. Brefeldin A affects West Nile virus replication in Vero cells but not C6/36 cells / V. Sreenivasan, K. L. Ng, M. L. Ng // *J. Virol. Methods.* – 1993. – № 45 (1). – P. 1–17.

144. Adaptation of transmissible gastroenteritis virus to growth in non-permissive Vero cells / H. Ishii, I. Watanabe, M. Mukamoto, Y. Kobayashi, Y. Kodama // *Arch. Virol.* – 1992. – № 22 (1–2). – P. 201–206.

145. Polyvinyl formal surface promotes continuous growth of Vero cells in protein-free medium / J. Jr. Cinatl, J. Cinatl, H. Rabenau, H. W. Doerr // *Biologicals.* – 1992. – № 20 (1). – P. 59–65.

146. A novel Vero cell line for use as a mammalian host-vector system in serum-free medium / T. Ohno, X. Wang, J. Kurashima, K. Saijo-Kurita, M. Hirono // *Cytotechnology.* – 1991. – № 7 (3). – P. 165–172.

147. Desprès P. Characterization of yellow fever virus proteins E and NS1 expressed in Vero and *Spodoptera frugiperda* cells / P. Desprès, M. Girard, M. Bouloy // *J Gen Virol.* – 1991. – № 72 (6). – P. 1331–1342

148. Different antiviral potencies of BV-araU and related nucleoside analogues against herpes simplex virus type 1 in human cell lines and Vero cells / H. Machida, M. Nishitani, T. Suzutani, K. Hayashi // *Microbiol Immunol.* – 1991. – № 35 (11). – P. 963–973.

149. Enhancement of gene expression by matic hybridization with primary cells: high-level synthesis of the hepatitis B surface antigen in monkey Vero cells by fusion with primary hepatocytes / N. Chenciner, F. Delpeyroux, N. Israel, M. Lambert, A. Lim, R. E. Streeck, J. F. Houssais // *Biotechnology.* – 1990. – № 8 (9). – P. 858–862.

150. A karyotype study of the Vero cell line cultured long term in a monolayer by static and roller methods / A. A. Tsareva, A. A. Isaenko, M. A. Urmanova, N. D. Iurchenko, E. G. Balzovskaia, O. M. Ridonova // *Tsitologiya.* – 1990. – № 32 (7). – P. 741–748.

151. Gunzburg S. T. HEp-2 cell adherence and Vero cell cytotoxin production by EPEC strains isolated from children with diarrhoea in New Zealand / S. T. Gunzburg, V. Burke, K. A. Bettelheim // FEMS Microbiol. Lett. – 1990. – № 57 (1–2). – P. 181–185.
152. Propagation of hepatitis A virus in hybrid cell lines derived from marmoset liver and Vero cells / M. Ashida, H. Hara, H. Kojima, T. Kamimura, F. Kamimura, F. Ichida, C. Hamada // J. Gen. Virol. – 1989. – № 70 (9). – P. 2487–2494.
153. Development of Vero cell miniculture assay for detection of heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* and its significance / M. A. Choudhry, J. N. Yadava, B. S. Negi, M. P. Yadava // J. Trop. Med. Hyg. – 1989. – № 92 (6). – P. 79–82.
154. Barrow P. A. Invasion of Vero cells by *Salmonella* species / P. A. Barrow, M. A. Lovell // J. Med. Microbiol. – 1989. – № 28 (1). – P. 59–67.
155. Rönnerberg B. J. Monoclonal antibodies against Vero cells that protect against diphtheria toxin / B. J. Rönnerberg, B. C. Lidgerding, J. L. Middlebrook // Toxicon. – 1989. – № 27 (10). – P. 1095–1104.
156. Detection of the bunyavirus Germiston in VERO and Aedes albopictus C6/36 cells by in situ hybridization using cDNA and asymmetric RNA probes / B. Delord, J. D. Poveda, T. Astier-Gin, S. Gerbaud, H. J. Fleury // J. Virol. Methods. – 1989. – № 24 (3). – P. 253–264.
157. Lindsay J. A. The effect of a *Clostridium perfringens* 8-6 enterotoxin on viability and macromolecular synthesis in Vero cells / J. A. Lindsay // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1988. – № 151 (3). – P. 1371–1377.
158. Schaefer E. M. Binding of diphtheria toxin to CHO-K1 and Vero cells is dependent on cell density / E. M. Schaefer, J. M. Moehring, T. J. Moehring // J. Cell Physiol. – 1988. – № 135 (3). – P. 407–415.
159. Archer L. M. Survival of Vero, myeloma and hybridoma cells during cold storage / L. M. Archer, D. G. Dusanic // Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health. – 1988. – № 19 (1). – P. 95–100.



160. Moskaug J. O. Low pH-induced release of diphtheria toxin A-fragment in Vero cells. Biochemical evidence for transfer to the cytosol / J. O. Moskaug, K. Sandvig, S. Olsnes // *J. Biol. Chem.* – 1988. – № 263 (5). – P. 2518–2525.

161. Beckwith D. G. Comparison of the Ortho Cultureset (Vero cells) and Difco Cellmatics system (mink lung and primary rabbit kidney cells) for the detection of herpes simplex virus from clinical specimens / D. G. Beckwith, D. C. Halstead, C. H. Beckwith // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 1987. – № 6 (2). – P. 145–149.

162. Cieplak W. Diphtheria toxin receptor. Identification of specific diphtheria toxin-binding proteins on the surface of Vero and BS-C-1 cells / W. Cieplak, H. M. Gaudin, L. Eidels // *J Biol Chem.* – 1987. – № 262 (27). – P. 13246–13253.

163. Isolation and characterization of toxoplasma exo-antigens from in vitro culture in MRC5 and Vero cells / B. Chumpitazi, P. Ambroise-Thomas, M. Cagnard, J. M. Autheman // *Int. J. Parasitol.* – 1987. – № 17 (3). – P. 829–834.

164. Stenberg K. Metabolism and mode of action of (R)-9-(3,4-dihydroxybutyl)guanine in herpes simplex virus-infected vero cells / K. Stenberg, A. Larsson, R. Datema // *J. Biol. Chem.* – 1986. – № 261 (5). – P. 2134–2139.

165. Sandvig K. Interactions between diphtheria toxin entry and anion transport in Vero cells. IV. Evidence that entry of diphtheria toxin is dependent on efficient anion transport / K. Sandvig, S. Olsnes // *J. Biol. Chem.* – 1986. – № 261 (4). – P. 1570–1675.

166. Lambe C. U. The biosynthesis of deoxyguanosine triphosphate in herpes simplex type-1 infected Vero cells treated with acyclovir and hydroxyurea / C. U. Lambe, D. J. Nelson, P. A. Furman // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1986. – № 195 (B). – P. 151–156.

167. Peran S. Unidirectional flux of phenylalanine into Vero cells. Measurement using paired tracers in perfused cultures / S. Peran, M. P. McGee // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1986. – № 856 (2). – P. 231–236.

168. Olsnes S. Interactions between diphtheria toxin entry and anion transport in vero cells. III. Effect on toxin binding and anion transport of tumor-promoting phorbol esters, vanadate, fluoride, and salicylate / S. Olsnes, E. Carvajal, K. Sandvig // *J. Biol. Chem.* – 1986. – № 261 (4). – P. 1562–1569.

169. Purified Vero cell rabies vaccine and human diploid cell strain vaccine: comparison of neutralizing antibody responses to post-exposure regimens / P. Suntharasamai, P. Chanthavanich, M. J. Warrell, S. Looareesuwan, J. Karbwang, W. Supanaranond [et al] // *J. Hyg. (Lond).* – 1986. – № 96 (3). – P. 483–489.

170. Nahapetian A. T. Optimization of environment for high density Vero cell culture: effect of dissolved oxygen and nutrient supply on cell growth and changes in metabolites / A. T. Nahapetian, J. N. Thomas, W. G. Thilly // *J. Cell. Sci.* – 1986. – № 81. – P. 65–103.

171. Effect of interferon on Vero cells persistently infected with SSPE virus and lytically infected with measles virus / M. Crespi, M. N. Chiu, B. D. Schoub, S. F. Lyons // *Arch. Virol.* – 1986. – № 90 (1–2). – P. 87–96.

172. Young P. R. Regulation of Pichinde virus replication in Vero and BHK-21 cells / P. R. Young, S. R. Lee, C. R. Howard // *Med. Microbiol. Immunol. (Berl).* – 1986. – № 175 (2–3). – P. 63–66.

173. Carvalho Z. G. African swine fever virus gene expression in infected Vero cells / Z. G. Carvalho, C. Rodrigues-Pousada // *J. Gen. Virol.* – 1986. – № 67 (7). – P. 1343–1350.

174. Salas J. Establishment of a Vero cell line persistently infected with African swine fever virus / J. Salas, E. Viñuela // *J. Virol.* – 1986. – 58 (2). – P. 676–679.

175. Olsnes S. Interactions between diphtheria toxin entry and anion transport in Vero cells. I. Anion antiport in Vero cells / S. Olsnes, K. Sandvig // *J Biol Chem.* – 1986. – № 261 (4). – P. 1542–1552.

176. Receptor-mediated endocytosis of a ricin-colloidal gold conjugate in vero cells. Intracellular routing to vacuolar and tubulo-vesicular portions of the

endosomal system / B. van Deurs, L. R. Pedersen, A. Sundan, S. Olsnes, K. Sandvig // *Exp. Cell. Res.* – 1985. – № 159 (2). – P. 287–304.

177. Sandvig K. Effect of the chaotropic anions thiocyanate and perchlorate on the entry of ricin into Vero cells / K. Sandvig, S. Olsnes // *Biochem. J.* – 1985. – № 228 (2). – P. 521–523.

178. Ultrastructure of the asexual multiplication of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) in Vero- and CRFK-cell cultures / E. Göbel, R. Widauer, M. Reimann, E. Munz // *Zentralbl. Veterinarmed [B]*. – 1985. – № 32 (3). – P. 202–212.

179. Kanoe M. Adherence of *Fusobacterium necrophorum* to Vero cells / M. Kanoe, S. Nagai, M. Toda // *Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. [A]*. – 1985. – № 260 (1). – P. 100–107.

180. Isolation and purification of amastigotes of *Trypanosoma cruzi* from cultured vero cells / F. Gamarro, A. Osuna, S. Castanys, M. I. Pérez-López, L. M. Ruiz-Pérez // *Z. Parasitenkd.* – 1985. – № 71 (1). – P. 15–17.

181. Trusal L. R. Morphological changes in CHO and VERO cells treated with T-2 mycotoxin. Correlation with inhibition of protein synthesis / L. R. Trusal // *Cell Biochem. Funct.* – 1985. – № 3 (3). – P. 205–216.

182. Receptor-mediated entry of diphtheria toxin into monkey kidney (Vero) cells: electron microscopic evaluation / R. E. Morris, A. S. Gerstein, P. F. Bonventre, C. B. Saelinger // *Infect. Immun.* – 1985 – № 50 (3). – P. 721–727.

183. Evidence that membrane phospholipids and protein are required for binding of diphtheria toxin in Vero cells / S. Olsnes, E. Carvajal, A. Sundan, K. Sandvig // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1985. – № 846 (3). – P. 334–341.

184. Grenier D. Cytotoxic effects of culture supernatants of oral bacteria and various organic acids on Vero cells / D. Grenier, D. Mayrand // *Can. J. Microbiol.* – 1985. – 31 (3). – P. 302–304.

185. Takayama S. Scanning electron microscopic examination of the secondary constriction of vero cells / S. Takayama, T. Taniguchi, H. Kitasumi // *Exp. Cell. Res.* – 1985. – № 157 (2). – P. 556–560.

186. Smith G. W. Synthesis of proteins and glycoproteins in dengue type 2 virus-infected vero and *Aedes albopictus* cells / G. W. Smith, P. J. Wright // *J. Gen. Virol.* – 1985. – № 66 (3). – P. 559–571.
187. *Fundamental Techniques in Cell Culture.* – London, 2010. – 67 p.
188. Старокадомская А. Бессмертные клетки HeLa / А. Старокадомская // *Популярная механика.* – 2014. – № 4.
189. Мамаева С. Е. Атлас хромосом постоянных клеточных линий человека и животных / С. Е. Мамаева. – М. : Научный мир, 2002. – 236 с.
190. Сергеев В. А. Вирусные вакцины / В. А. Сергеев. – К. : Урожай, 1993. – 268 с.
191. Каталог коллекции клеточных культур ВНИИВВиМ / Г. С. Юрков, В. В. Зуев, С. И. Сидоров, С. Д. Кушнир, Н. Ю. Смыслова, Н. С. Неверовская [и др]. – Покров. : Россельхозакадемия. – 2000. – 78 с.
192. Bennet J. Bacterial resistance and antibiotic use in the emergency department / J. Bennet, J. W. Geme // *Pediatr. Clin. North. Am.* – 1999. – № 46. – P. 1125–1143.
193. Neu H. C. The crisis in antibiotic resistance / H. C. Neu // *Science.* – 1992. – № 257. – P. 1064–1143.
194. Музика В. П. Оцінка небезпеки розвитку антибіотикорезистентності як складова аналізу ризику для людини / В. П. Музика // *Ветеринарна медицина: міжвід. тем. наук. зб..* – 2014. – № 99. – С. 60–70.
195. Навашин С. М. Некоторые аспекты химиотерапии бактериальных инфекций / С. М. Навашин // *Микробиология, эпидемиология и иммунология.* – 1984. – № 7. – С. 37–45.
196. Отримання антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів: метод. вказівки. – Львів, 2013. – 12 с.
197. Сучасний стан і перспективи біотехнологічного виробництва антибіотиків / С. Т. Годосійчук, Т. І. Іздебська, О. М. Громико, В. О. Федоренко // *Біологічні студії.* – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 159–172.

198. Абрамов В. Е. Эффективность нового препарата азитронит при гастроэнтерите телят / В. Е. Абрамов, М. Н. Осянина, А. В. Балышев // Ветеринария. – 2015. – № 2. – С. 7–12.

199. Анохин Б. М. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных / Б. М. Анохин, В. М. Данилевский, Л. Г. Замарин; ред. В. М. Данилевский. – М.: Агропромиздат, 1991. – 575 с.

200. Антимикробные препараты при респираторных болезнях телят / А. Жамантаев, Г. П. Кулавский, Г. А. Евнин, Б. Г. Соколов // Ветеринария. – 1980. – № 10. – С. 48–49.

201. Апатенко В. А. Підвищення збереженості поросят / В. А. Апатенко, В. А. Самохін // Ветеринарна медицина України. – 1997. – № 4. – С. 20.

202. Апатенко В. М. Смешанные инфекции сельскохозяйственных животных / В. М. Апатенко. – К. : Урожай, 1990. – 172 с.

203. Авраменко Н. О. Асоційовані респіраторні хвороби свиней (клініко-епізоотологічні особливості, система терапії та профілактики): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.08 / Н.О.Авраменко – Х., 2002. – 16 с.

204. An attempt to unify the structure of polymerases / M. Delarue, N. Tordo, D. Moras, P. Argos // Protein. Eng. – 1990. – Vol. 3, № 6. – P. 461–467.

205. Дзюблик И. В. Химиотерапия вирусных инфекций / И. В. Дзюблик // Український хіміотерапевтичний журнал. – 1999. – № 3 (3). – С. 68–72.