

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

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

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Біла Церква – 2018

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України

Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН
Головко Анатолій Миколайович,
Державний науково-контрольний інститут біотехнології
і штамів мікроорганізмів, директор

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор
Постоєнко Володимир Олексійович,
ННЦ «Інститут бджільництва ім. П.І. Прокоповича»,
заступник директора з наукової та інноваційної
роботи;

доктор сільськогосподарських наук, професор,
академік Академії наук вищої освіти України
Данчук В'ячеслав Володимирович,
Українська лабораторія якості і безпеки
продукції АПК НУБіП України, заступник
директора з наукової та навчальної роботи

Захист дисертації відбудеться «5» липня 2018 р о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 27.821.01 у Білоцерківському національному аграрному університеті за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, пл. Соборна, 8/1, конференц-зала.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Білоцерківського національного аграрного університету за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, пл. Соборна, 8/1.

Автореферат розісланий «1» червня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

М.М. Сломчинський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

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 (Головко А. М., 2009). 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 (Ушкалов В. О., Данчук В. В., Волощук Н. М., 2017). 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 дає змогу отримати позитивний ефект стосовно резистентних штамів мікроорганізмів (Пальчиковська Л. Г., Васильченко О. В., 2012).

Синтезується та досліджується велике різноманіття 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 завдання 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 феназінів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- провести підбір тестових мікроорганізмів та культур клітин для оцінки активності сполук, що використовували;
- 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 щодо 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) та науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 25.12.2014).

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 вирішення поставлених задач, проведено експериментальні дослідження, проаналізовано та узагальнено одержані результати, виконано їх статистичну обробку. Підготовлено до публікації статті і тези наукових доповідей роботи. Аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків та пропозицій за матеріалами дисертаційної роботи здійснено за участю наукового керівника.

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 року, м. Львів); на «VIII Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів» (16–19 квітня 2013 року, 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 (Львівській національний університет ім. І. Франка, 16–19 квітня 2013 року, м. Львів); на Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (4–5.11.2012, Інститут біології тварин, м. Львів), на науково-практичній конференції молодих учених «Сучасний стан з вивчення інфекційних хвороб тварин (прогнозування, діагностика, профілактика)» (18 жовтня 2016 року, 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 науково-метричної 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, 31 таблицю та 2 схеми.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконувалась упродовж 2011–2014 рр. у Державному науково-контрольному інституті біотехнології та штамів мікроорганізмів Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України.

Матеріали. В роботі використано наступні матеріали:

- *хімічні сполуки*: гетероциклічні речовини класів моноциклічних триазинів, хінолонів, трициклічних триазинів, заміщених акридонів, незаміщених акридонів, незаміщених тіоксантонів, заміщених феназінів, амідів триазинпропанкарбонової кислоти та полізаміщених акридонів. Хімічні сполуки були отримані від відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології та генетики НАН;

- *штами мікроорганізмів*: грампозитивні – *Erysipelothrix rhusiopathiae* VR-2, *Staphylococcus aureus* P 209, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus anthracis* СБ, *Micrococcus lysodeikticus*, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus cereus* var *anthracoides* 96, *Erysipelothrix rhusiopathiae* ATCC 19414, *Streptococcus thermophilus* 96, *Staphylococcus epidermidis* 14990, *Bacillus megaterium*; грамнегативні – *E. coli* 1257, *Salmonella typhimurium* 144, *Klebsiella pneumoniae* K-56N 3534/51, *Corynebacterium. xerosis* 1911, *Salmonella enteritidis* SS/15, *Escherichia coli* 055K59 № 3912/41 та *Pasteurella multocida* № 115. Штами були отримані із колекції Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів;

- *польові ізоляти мікроорганізмів*: *Escherichia coli*, *Staphylococcus* (Харківська обл., с. Андріївка), *Streptococcus*, *Pasteurella* (Сумська обл., смт. Миколаївка). Отримані від ТОВ «СмартБіоЛаб»;

- *перещеплювані культури клітин тварин*: культури клітин Vero, ВНК, HeLa, РК-15, РК-13, CV, СПЕВ – отримані із колекції Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів;

- *розчинники*: вода дистильована (ДНКІБШМ), етиловий спирт, 95°, (ТОВ «ВФК «БІО-ФАРМА ЛТД»); хлороформ, ЧДА (ООО «ННП «УКРОРГСИНТЕЗ»); ацетон, ЧДА, (ООО «Компанія «Хімком»); діоксан, («SkyLab»); етилацетат, ХЧ («ООО «Флюгер»); ДМФА («Sigma-Aldrich»); ДМСО («Sigma») та ДМСО («Calbiochem»).

Методи. У процесі виконання експериментальних досліджень були використані наступні методи:

Підбір культур мікроорганізмів проводили за наступними 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 (рис.1).

Підбір культур клітин проводили за такими критеріями:

- культура клітин була не контамінована бактеріальною, грибовою, 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 (рис.1).

Підбір оптимального розчинника проводили за критеріями:

- повна розчинність сполук у розчиннику;
- відсутність токсичної дії на перещеплювані культури клітин;
- низька вартість розчинника;
- універсальність (рис.1).

Розчинення сполук проводили в асептичних умовах. Наважку сполуки у кількості 0,5 мг розчиняли у 0,05 см³ розчинника. Наважку сполук та їх розчинення проводили за 12–15 годин до дослідів.

Первинний скринінг проводили з використанням 96-лункових культуральних плоскодонних планшетів. Досліджувана концентрація хімічних сполук у лунці становила 0,41 мг/см³. Послідовні десятикратні розведення хімічних речовин додавали по 10 мкл на лунку з мікроорганізмами (2 лунки на розведення) та інкубували 24 години (рис.1).

Встановлення антибактеріальної дії сполук з визначенням мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Для цього робили 4 послідовні десятикратні розведення речовин, тобто концентрація становила: 0,41 мг/см³; 0,041 мг/см³; 0,0041 мг/см³ та 0,00041 мг/см³. Визначення МІК проводили методом серійних розведень у 96-лункових планшетах та диско-дифузійним методом. У процесі визначення МІК сполук використовували той самий спектр тест-мікроорганізмів, що і за первинного скринінгу. Для культивування мікроорганізмів використовували бульйон Мюллера-Хінтона (МХБ). Для досліджень використовували бульйон та агар Мюллера-Хінтона (МХБ та МХА). Оцінку результатів здійснювали візуально за наявністю або відсутністю росту мікроорганізмів у лунках планшета (рис.1).

Цитотоксичну дію досліджуваних сполук визначали за їх дією на сформований моношар клітин у 96-лункових культуральних плоскодонних планшетах. Послідовні десятикратні розведення хімічних речовин додавали по 10 мкл на лунку з клітинами (2 лунки на розведення) та інкубували

24 години. Досліджувана концентрація модифікованих гетероциклічних сполук у лунці становила: 0,41 мг/см³; 0,041 мг/см³; 0,0041 мг/см³; 0,00041 мг/см³. Зважування хімічних сполук проводили з дотриманням правил асептики за допомогою аналітичних лабораторних вагів «Techniprot», що мали клас точності I і дискретність 0,0001 г. Параметри токсичності хімічних речовин встановлювали за наявністю порушення моношару культур клітин у концентраціях, що досліджували (рис.1).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стюдента (Снедекор, 1961) та за допомогою програмного забезпечення McExcel.

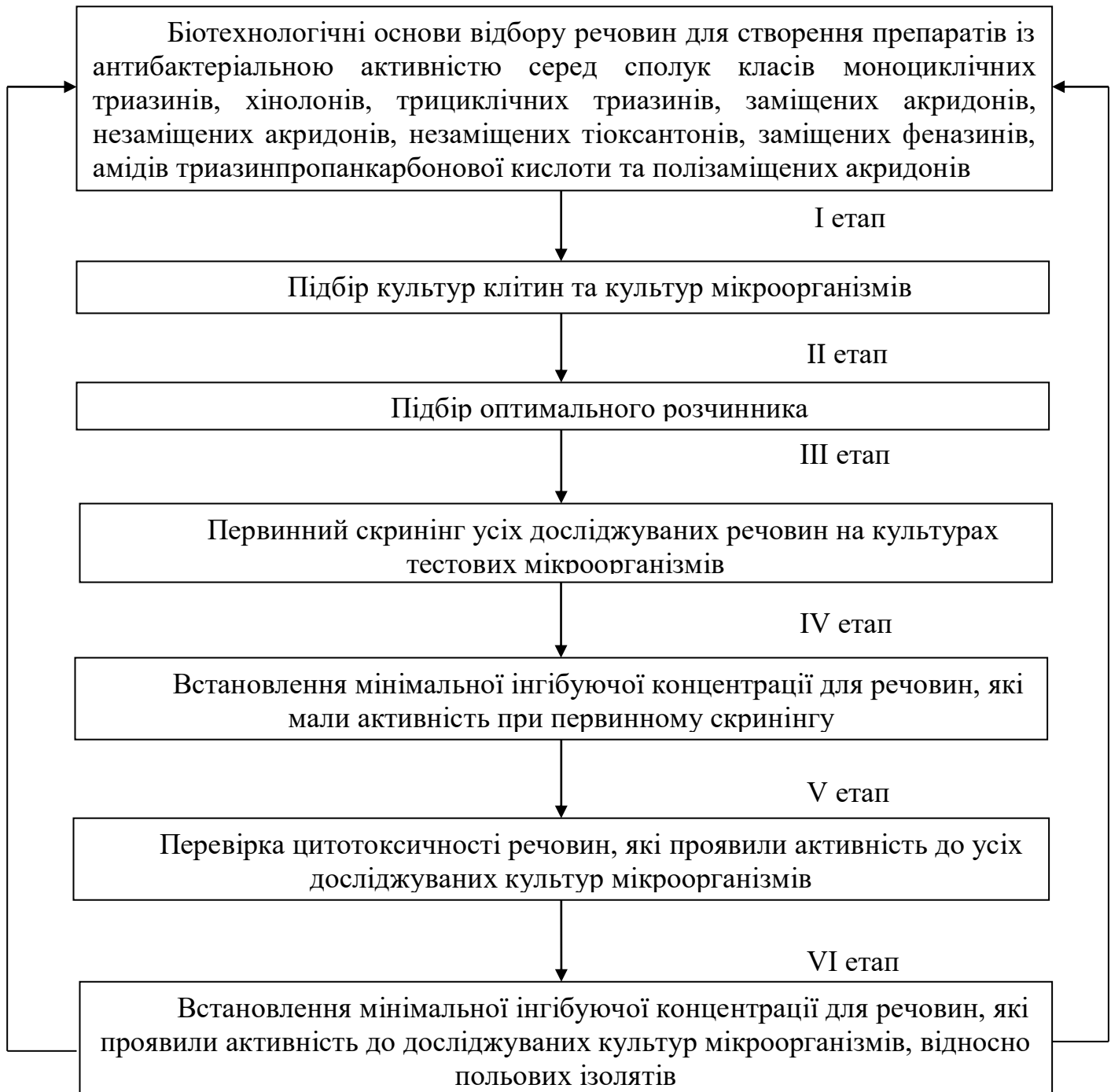


Рис. 1. Загальна схема дисертаційних досліджень

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Підбір культур клітин та культур мікроорганізмів. За визначеними критеріями були відібрані наступні мікроорганізми: грамнегативні культури *E. coli* штам 1257, *S. typhimurium* штам 144, *P. multocida* штам № 115, *K. pneumoniae* штам К-56N 3534/51 та грампозитивні – *E. rhusiopathiae* штам VR-2, *S. pyogenes*, *S. aureus* штам Р 209 та *B. anthracis* штам СБ.

Серед культур клітин для досліджень були відібрані культури клітин: Vero, ВНК та HeLa.

Визначення оптимального розчинника для сполук. Із досліджених речовин такі розчинники, як вода дистильована, етиловий спирт, хлороформ, ацетон, діоксан, етилацетат були відкинуті відразу, оскільки вони не розчиняли речовин, які досліджувались. Ці речовини розчинялися лише у ДМФА та ДМСО. Але при визначенні токсичності розчинників ДМФА виявив у два рази більшу токсичну дію, ніж ДМСО. Тому оптимальним розчинником для сполук був визначений ДМСО (табл.1).

Таблиця 1

**Результати вибору розчинника для новосинтезованих
поліакцепторних сполук**

Розчинник	Розчинність
Вода дистильована	—
Етиловий спирт 95°, ФК «БІО-ФАРМА ЛТД»	—
Хлороформ, ЧДА, «ННП «УКРОРГСИНТЕЗ»	—
Ацетон, ЧДА, ООО «Компанія «Хімком»	—
Диоксан, «SkyLab»	—
Етилацетат, ХЧ, «ООО «Флюгер»	—
ДМФА, «Sigma-Aldrich»	+
ДМСО «Sigma»	+
ДМСО «Calbiochem»	+

Примітки: – - сполуки не розчинялись; + - сполуки розчинялись.

Проведення первинного скринінгу. В результаті проведеного первинного скринінгу у концентрації 0,41 мг/см³ із 184 сполук, що досліджували, 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* – 64 сполуки, а ріст *S. pyogenes* – 75 із 184 досліджуваних сполук. До *S. aureus* активність виявили 65 сполук, а до *B. anthracis* (спорової та поєднання спорової і вегетативних форм) – лише 34 речовини із 184 сполук, що досліджували. До жодного тест-мікроорганізму не проявила активності у концентрації 0,41 мг/см³ 21 речовина. Ці речовини ми не використовували в подальших дослідженнях.

Визначення МІК речовин, що проявили антибактеріальну активність. Після проведення первинного скринінгу необхідно було встановити мінімальну інгібуючу концентрацію 163 речовин.

Встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація у речовин різних класів має різну антибактеріальну активність відносно досліджуваних тест-мікроорганізмів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від 0,41 мг/см³ до 0,00041 мг/см³, а зони затримки росту мали значення від до 7,5±0,22 мм до 29,3±0,39 мм (табл. 2, 3).

Із 184 сполук, що досліджували, активність до усіх 8 мікроорганізмів, які були використані, проявили речовини класів хінолонів (сполука № 24 – 3-гідрокси-8-нітро-2-фенілхінолін-4(1*H*)-он), трициклічних триазинів (сполуки № 45 – 7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1*H*-[1,2,4]триазино-[5,6-*b*][1,4]бензотіазин-9-карбонова кислота та № 58 – 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), незаміщених акридонів (сполука № 109 – *N*-(6-метилпіридин-2-ил)-9-оксо-9,10-дигідроакридин-4-карбоксамід), заміщених феназінів (сполука № 124 – 9-метокси-*N*-(2-метилфеніл)феназин-1-карбоксамід), амідів триазинпропан-карбонової кислоти (сполука № 171 – 9-[(3,4-диметилфеніл)аміно]-*N*-феніл-акридин-4-карбоксамід).

Результати досліджень з визначення мінімальної інгібуючої концентрації та зон затримки росту 6 відібраних сполук представлені в таблицях 2–5.

Таблиця 2

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації для грампозитивних мікроорганізмів, n=6*

Номер сполуки	Лаб. шифр речовини	МІК речовини, мг/см ³				
		<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
					сп	сп+вег
24	ОДИ-24	0,0041	0,0041	0,0041	0,0041	0,041
45	ОДИ-45	0,41	0,041	0,0041	0,041	0,0041
58	ОДИ-58	0,041	0,41	0,041	0,041	0,041
109	ОДИ-109	0,041	0,041	0,041	0,0041	0,0041
124	ОДИ-124	0,0041	0,041	0,41	0,0041	0,0041
171	ОДИ-171	0,41	0,41	0,041	0,41	0,41
К	–	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

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

Як видно із таблиці 2, при дослідженні 6 відібраних сполук для грампозитивних мікроорганізмів найбільш активною виявилася сполука № 24 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,041 мг/см³ до 0,0041 мг/см³, а найменш активною – сполука № 171 із значенням інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см³ до 0,041 мг/см³.

Таблиця 3

Визначення зон затримки росту грампозитивних мікроорганізмів, $M \pm m$, n=6*

Номер	Лаб. шифр	Зона затримки росту речовини, мм
-------	-----------	----------------------------------

сполуки	речовини	<i>E. rhusiopathiae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>B. anthracis</i>	
					сп	сп+вег
24	ОДИ-24	22,3±0,42 ^b	24,1±0,31 ^b	24±0,36 ^b	24±0,36 ^b	21,5±0,22
45	ОДИ-45	11,6±0,42	21,2±0,31	23,6±0,21 ^b	20,8±0,4	24,2±0,31 ^b
58	ОДИ-58	18,5±0,57	12,5±0,43	21±0,36	20,8±0,3	20,3±0,21
109	ОДИ-109	22±0,36	21±0,36	11,3±0,33	23,5±0,22 ^b	23,3±0,21 ^b
124	ОДИ-124	29±0,36 ^a	20,5±0,34	13,5±0,22	24,2±0,4 ^b	24,2±0,4 ^b
171	ОДИ-171	9,8±0,47	9,5±0,34	21,3±0,33	13±0,36	14,6±0,21
К	—	30,3±0,33	30,3±0,33	30,3±0,33	30,3±0,33	30,3±0,33

Примітки: 1)* - $p < 0,05$; 2) К - контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) ^a – МІК дорівнює 0,00041 мг/см³; 4) ^b - МІК дорівнює 0,0041 мг/см³.

Результати, які наведені в таблиці 3, свідчать, що для грампозитивних мікроорганізмів найбільш активною виявилася сполука № 24 із значенням зон затримки росту від 21,5±0,22 мм до 24,1±0,31 мм, а найменш активною – сполука № 171 із діаметром зон затримки росту від 9,5±0,34 мм до 21,3±0,33 мм.

Таблиця 4

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації для грамнегативних мікроорганізмів, n=6*

Номер сполуки	Лаб. шифр речовини	МІК речовини, мг/см ³			
		<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>
24	ОДИ-24	0,041	0,041	0,0041	0,41
45	ОДИ-45	0,0041	0,0041	0,0041	0,00041
58	ОДИ-58	0,0041	0,41	0,41	0,41
109	ОДИ-109	0,041	0,41	0,0041	0,0041
124	ОДИ-124	0,041	0,41	0,0041	0,041
171	ОДИ-171	0,041	0,041	0,0041	0,41
К	—	0,00041	0,00041	0,00041	0,00041

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

Як видно із таблиці 4, при дослідженні 6 відібраних сполук для грамнегативних мікроорганізмів найбільш активною виявилася сполука № 45 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,0041 мг/см³ до 0,00041 мг/см³, а найменш активними – сполуки № 24 та № 171 із значенням інгібуючої концентрації від 0,41 мг/см³ до 0,0041 мг/см³.

Таблиця 5

Визначення зон затримки росту грамнегативних мікроорганізмів, $M \pm m$, n=6*

Номер	Лаб. шифр	Зона затримки росту речовини, мм
-------	-----------	----------------------------------

сполуки	речовини	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>
24	ОДИ-24	21±0,36	20,6±0,33	24,5±0,22 ^b	12,1±0,47
45	ОДИ-45	23,8±0,45 ^b	23,3±0,21 ^b	24±0,36 ^b	27,3±0,33 ^a
58	ОДИ-58	23,6±0,49 ^b	10,1±0,47	10±0,36	10,6±0,33
109	ОДИ-109	21±0,36	10,5±0,52	24±0,36 ^b	23,1±0,3 ^b
124	ОДИ-124	21,1±0,4	10,5±0,52	24±0,36 ^b	20,8±0,4
171	ОДИ-171	20,5±0,42	17,8±0,27	24,5±0,22 ^b	10,6±0,33
К	—	25,5±0,22	26,6±0,46	28±0,36	28±0,4

Примітки: 1) * - $p < 0,05$; 2) К - контроль (антибіотик Норфлоксацин); 3) ^a – МІК дорівнює 0,00041 мг/см³; 4) ^b - МІК дорівнює 0,0041 мг/см³

За результатами, наведеними в таблиці 5 встановлено, що для грамнегативних мікроорганізмів найбільш активною виявилася сполука № 45 із значенням зон затримки росту від 23,3±0,21 мм до 27,3±0,33 мм, а найменш активними – сполуки № 24 та № 171 із значенням зон затримки росту від 10,6±0,33 мм до 27,3±0,33 мм.

Отже, як свідчать наведені вище в таблицях результати, відібрані сполуки проявили різну антибактеріальну активність відносно різних мікроорганізмів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від 0,41 мг/см³ до 0,00041 мг/см³, а зони затримки мали значення від 10±0,36 мм до 27,3±0,33 мм.

Визначення цитотоксичної дії. Відібрані 6 речовин були досліджені на наявність цитотоксичної дії на перещеплюваних культурах клітин HeLa, Vero та ВНК у концентраціях 0,41 мг/см³; 0,041 мг/см³; 0,0041 мг/см³ та 0,00041 мг/см³.

Таблиця 6

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 ³	—	—	—
45	ОДИ-45	0,041 мг/см ³	—	—	—
58	ОДИ-58	0,041 мг/см ³	—	—	—
109	ОДИ-109	0,041 мг/см ³	—	—	—
124	ОДИ-124	0,041 мг/см ³	—	—	—
171	ОДИ-171	0,041 мг/см ³	—	—	—
Кр	ДМСО	0,041 мг/см ³	—	—	—
Кк	—	—	—	—	—

Примітка: 1) * - $p < 0,05$; 2) Кр - контроль розчинника; 3) Кк – контроль культури; 4) — - відсутність ЦПД

У результаті досліджень визначено, що ці речовини в найвищих концентраціях не справили токсичної дії на моношар перещеплюваних культур HeLa, Vero та ВНК (таблиця 6).

Визначення чутливості польових ізолятів до 6 відібраних сполук. При дослідженні польових ізолятів, виділених із патологічного матеріалу, який було отримано від ВРХ, із 6 відібраними речовинами-лідерами встановлено, що всі сполуки виявили різний ступінь антибактеріальної активності в діапазоні 0,41–0,0041 мг/см³, а зони затримки мали значення від 9,8±0,56 мм до 24,3±0,43 мм.

Результати досліджень із визначення антибактеріальної активності 6 відібраних сполук відносно польових ізолятів наведено у таблицях 7 та 8.

Таблиця 7

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації відібраних сполук на польових ізолятах, n=6*

Номер сполуки	Лаб. шифр речовини	МІК речовини, мг/см ³			
		<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)

Таблиця 8

Визначення зон затримки росту відібраних сполук на польових ізолятах, $M \pm m$, 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 ^b	11±0,6
45	ОДИ-45	22±0,6	21,6±0,53	21,6±0,6	24,3±0,43 ^b
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 ^b	24,1±0,83 ^b	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 ^b	24,3±0,66 ^b	10,8±0,9
К**	—	26±0,66	26,1±0,83	26,1±0,83	26,1±1,1

Примітка: 1)* - $p < 0,05$; 2) К – контроль (антибіотик Норфлуксацин); 3) ^a – МІК дорівнює 0,00041 мг/см³; 4) ^b - МІК дорівнює 0,0041 мг/см³

Найбільш активною до польових ізолятів виявилася сполука № 45 із мінімальною інгібуючою концентрацією від 0,041 мг/см³ до 0,041 мг/см³ 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/см³ до 0,041 мг/см³ та зонами затримки росту від 11±0,6 мм до 21,6±0,6 мм.

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/см³ для *P. multocida*; 0,041 мг/см³ для *S. typhimurium* та 0,0041 мг/см³ 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/см³.

10. Усі 6 відібраних сполук проявили антибактеріальну активність до польових ізолятів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від 0,41 мг/см³ до 0,0041 мг/см³, 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/см³ до 0,041 мг/см³ 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/см³ до 0,041 мг/см³.

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-метричною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 25.12.2014).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України

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). – Р. 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 науково-практичної конференції молодих вчених, 4 грудня 2012 року. – 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 Т7 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 науково-практичної конференції «ІХ Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів», 16–19 квітня 2013 року. – 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. – № u 201507437; заявл. 24.07.2015; опубл. 25.01. 2016; 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).*

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.

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

Проведена експериментальна робота по підбору культур клітин, культур мікроорганізмів, оптимального розчинника для сполук, що досліджували.

При проведенні первинного скринінгу у концентрації $0,41 \text{ мг/см}^3$ із 184 сполук було відібрано 163 сполуки, які проявили активність.

Визначена мінімальна інгібуюча концентрація речовин. Сполуки різних класів виявили різну антибактеріальну активність відносно тест-мікроорганізмів, що досліджували. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від $0,41 \text{ мг/см}^3$ до $0,00041 \text{ мг/см}^3$, а зони затримки росту визначалися в межах від $7,5 \pm 0,22 \text{ мм}$ до $29,3 \pm 0,39 \text{ мм}$.

При визначенні МІК відібрано 6 речовин, які виявили активність до усіх 8 тест-мікроорганізмів – №–№ 24, 45, 58, 109, 124. Відібрані хімічні сполуки належать до різних класів, мають різну хімічну формулу та різні замінники у різних положеннях.

Відібрані 6 речовин були досліджені на наявність цитотоксичної дії на перещеплюваних культурах клітин. Ці речовини не виявили токсичної дії.

Шість відібраних сполук були досліджені на наявність антибактеріальної активності до польових ізолятів. Мінімальна інгібуюча концентрація становила від $0,41 \text{ мг/см}^3$ до $0,0041 \text{ мг/см}^3$, а зони затримки росту мали значення від $9,8 \pm 0,56 \text{ мм}$ до $24,3 \pm 0,43 \text{ мм}$.

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

АННОТАЦИЯ

Бабкина М.М. Биотехнологические основы создания препаратов с бактерицидной активностью на основе модифицированных полиакцепторных соединений. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук (доктора философии) по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Белоцерковский национальный аграрный университет МОН Украины, Белая Церковь, 2018.

Диссертация посвящена определению антибактериальной активности новосинтезированных модифицированных гетероциклических соединений и определению их минимальной ингибирующей концентрации.

Проведена экспериментальная работа по подбору культур клеток, культур микроорганизмов, оптимального растворителя для исследуемых соединений.

Отобраны для исследований культуры микроорганизмов: грамотрицательные культуры *Escherichia coli* штамм 1257, *Salmonella typhimurium* штамм 144, *Pasteurella multocida* штамм № 115, *Klebsiella pneumoniae* штамм K-56N 3534/51 и грамположительные *Erysipelothrix*

rhusiopathiae штамм VR-2, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* штамм Р 209 та *Bacillus anthracis* штамм СБ.

Также для проведения исследований были отобраны культуры клеток Vero, ВНК и HeLa.

В ходе исследований установлено, что оптимальным растворителем для новосинтезированных модифицированных гетероциклических соединений является диметилсульфоксид, поскольку он проявил меньшую токсичность, способность к полному растворению модифицированных гетероциклических соединений и обеспечивал стерильность раствора.

При проведении первичного скрининга в концентрации 0,41 мг/см³ из 184 соединений были отобраны 163 вещества, которые проявили активность. К *E. rhusiopathiae* активность проявили 90 веществ, а к *S. pyogenes* – 75 веществ. Рост *S. aureus* угнетали 65 соединений, а *P. multocida* – 64 вещества. К микроорганизмам *K. pneumoniae* антибактериальное действие проявили 62 соединения, а к *S. typhimurium* – проявили 46 веществ. Ингибирующее действие к *E. coli* проявили 37 соединений, а к *B. anthracis* (споровой и смеси споровой и вегетативной форм) – только 34 вещества из 184 исследуемых соединений, которые исследовали. В концентрации 0,41 мг/см³ не проявили активности ни к одному тест-микроорганизму 21 вещество. Они были исключены из дальнейших исследований.

Определена минимальная ингибирующая концентрация веществ. Соединения разных классов проявили разную антибактериальную активность относительно исследуемых тест-микроорганизмов. Минимальная ингибирующая концентрация имела значения от 0,41 мг/см³ до 0,00041 мг/см³, а зоны задержки роста определялись в пределах от 7,5±0,22 мм до 29,3±0,39 мм.

При определении МИК отобраны 6 веществ, которые проявили активность ко всем 8 тест-микроорганизмам – № 24 из класса хинолонов (3-гидрокси-8-нитро-2-фенил-хинолин-4(1H)-он); вещество № 45, относящееся к классу трициклических триазинов (7-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1H-[1,2,4]триазино-[5,6-b][1,4]бензотиазин-9-карбоновая кислота); соединение № 58 из класса трициклических триазинов (7-метил-3-оксо-N-пиридин-2-ил-2,3-дигидро-1H-[1,2,4]триазино-[5,6-b][1,4]-бензотиазин-9-карбоксамид); вещество № 109 из класса незамещенных акридонов (N-(6-метилпиридин-2-ил)-9-оксо-9,10-дигидроакридин-4-карбоксамид), вещество № 124, относящееся к классу незамещенных феназинов (9-метокси-N-(2-метилфенил)феназин-1-карбоксамид); соединение № 171 из класса амидов триазинпропанкарбоновой кислоты (9-[(3,4-диметилфенил)амино]-N-фенил-акридин-4-карбоксамид). Отобранные химические соединения относятся к разным классам, имеют разную химическую формулу и разные заместители в разных положениях.

Эти отобранные 6 веществ были исследованы на наличие цитотоксического действия на перевиваемых культурах клеток HeLa, Vero и ВНК в концентрациях 0,41 мг/см³; 0,041 мг/см³; 0,0041 мг/см³ та 0,00041 мг/см³. Установлено, что эти вещества не проявили токсического действия на монослой перевиваемых культур HeLa, Vero и ВНК.

Шесть отобранных соединений были исследованы на наличие антибактериальной активности к полевым изолятам. Минимальная ингибирующая концентрация составляла от 0,41 мг/см³ до 0,0041 мг/см³, а зоны задержки роста определялись в пределах от 9,8±0,56 мм до 24,3±0,43 мм. Наиболее активным по отношению к полевым изолятам оказалось соединение № 45 с минимальной ингибирующей концентрацией от 0,41 мг/см³ до 0,041 мг/см³ и зонами задержки роста от 11±0,6 мм до 21,6±0,6 мм.

Ключевые слова: модифицированные полиакцепторные соединения, культура микроорганизмов, культура клеток, минимальная ингибирующая концентрация, антибактериальное действие.

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 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.

During the initial screening with a concentration of 0,41 mg/cm³ from 184 ones 163 compounds that exhibited activity were selected.

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/cm³ to 0,00041 mg/cm³, and 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 MIC, which had antimicrobial activity for all 8 test microorganisms – №–№ 24, 45, 58, 109, 124 and 171.

It was selected 6 substances, which were tested for cytotoxicity in per-massive cell lines. It has been determined that these substances did not reveal any toxic effects.

Six selected compounds were tested for antibacterial activity towards to field isolates. The minimum inhibitory concentration varied from 0,41 mg/cm³ to 0,0041 mg/cm³, and the inhibition zones had sizes between 9,8±0,56 mm to 24,3±0,43 mm.

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