

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

На правах рукописи

Рогачева Елизавета Владимировна

**Антибактериальные свойства новых химических соединений
природного и синтетического происхождения
в отношении бактерий группы ESKAPE**

1.5.11. Микробиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук
Краева Людмила Александровна

Москва – 2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	12
1.1. Характеристика бактерий группы ESKAPE (распространенность, резистентность к антибиотикам).....	12
1.2. Характеристика соединений с антибактериальной активностью (успехи и неудачи использования).....	16
1.2.1. Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты.....	16
1.2.2. Соединения кремния (Si) и селена (Se).....	17
1.2.3. Соединения титана (Ti) и серебра (Ag).....	18
1.2.4. Биоцидная латунь (Cu-Zn).....	20
1.2.5. Нитрофураны.....	22
1.2.6. Азирины.....	23
1.2.7. Аминоиндолы.....	26
1.2.8. Пиримидины.....	27
1.2.9. Амидины. Производные 5-амино-1,2,4-тиадиола.....	28
1.2.10. Производные ципрофлоксацина.....	29
1.2.11. Пиперидины с уреанами.....	30
1.3. Синергизм препаратов с антибактериальными свойствами.....	31
1.4. Биологические модели для исследования антибактериальной активности синтезированных соединений <i>in vivo</i>	33
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1. Материалы исследования.....	35
2.1.1. Бактериальные штаммы.....	35
2.1.2. Вещества с потенциальным антибактериальным действием.....	38
2.2. Методы исследования.....	40
2.2.1. Бактериологические методы.....	40
2.2.2. Микроскопические методы.....	42
2.2.3. Молекулярно-генетические методы.....	42
2.2.4. Биологическая модель <i>in vivo</i>	43
2.2.5. Статистические методы.....	43

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
ГЛАВА III. ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ.....	45
ГЛАВА IV. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE.....	64
4.1. Вещества растительного происхождения.....	64
4.1.1. Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты.....	64
4.2. Соединения на основе минералов.....	69
4.2.1. Соединения кремния (Si) и селена (Se).....	69
4.2.2. Соединения титана (Ti) и серебра (Ag).....	72
4.2.3. Бицидная латунь (Cu-Zn).....	75
4.3. Вещества полусинтетического и синтетического происхождения.....	80
4.3.1. Нитрофураны.....	80
4.3.2. Азирины.....	84
4.3.3. Аминоиндолы.....	90
4.3.4. Пиримидины.....	91
4.3.5. Амидины. Производные 5-амино-1,2,4-тидиазола.....	96
4.3.6. Производные ципрофлоксацина.....	99
4.3.7. Пиперидины с уреанами.....	102
4.4. Синергизм препаратов с антибактериальными свойствами.....	105
ГЛАВА V. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ IN VIVO В МОДЕЛЬНЫХ ОПЫТАХ НА БЕЛЫХ МЫШАХ.....	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	114
ВЫВОДЫ	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	120
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	121
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема антибиотикорезистентности стала особенно актуальной в XXI веке. Устойчивость к антибиотикам прогнозируется как одна из самых больших угроз здоровью человека в будущем. Ежегодно в мире регистрируется около 700 тыс. смертей, обусловленных резистентными к антибиотикам штаммами микроорганизмов. По расчетам британского исследования Review on Antimicrobial Resistance, если ситуация не изменится коренным образом, то смертность по этой причине может возрасти к 2050 г. до 10 млн человек в год [211]. При этом бактерии с высокой скоростью приобретают и используют механизмы резистентности к антибиотикам. Так, если их устойчивость к пенициллину развивалась в течение 20 лет использования препарата, к эритромицину – в течение 15 лет, то к фторхинолонам и цефалоспорином, даже пятого поколения, она появилась после первого года использования антибиотика [18].

Поэтому разработка новых антибиотиков в последние годы оказалась очень затруднительной. Если в 1980-1985 гг. было предложено 15 новых антибиотиков, то в последующие годы количество зарегистрированных препаратов уменьшалось каждые 5 лет в два раза и закончилось разработкой всего 1 препарата в 2015 году.

В 2017 г. всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала список самых устойчивых к антибиотикам “приоритетных патогенов”, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека и для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков. Это группа ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*. Они часто обладают множественной устойчивостью к антибиотикам. По некоторым данным доля резистентных штаммов может достигать 95%, а то и 100%.

По данным AMRmap – Российской онлайн платформы анализа данных резистентности к антимикробным препаратам, бактерии группы ESKAPE входят в пятерку самых распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций в России, Северо-Западном регионе России и Санкт-Петербурге [52]. А резистентность российских штаммов бактерий группы ESKAPE является одной из самых высоких в мире. По данным постоянно обновляемого регистра CDDEP – американского центра по слежению за динамикой заболеваемости, по этому показателю Россия входит в тройку «лидеров» наряду с Индией и странами Южной Африки [122, 141, 211].

В этой связи Международный Координационный Совет по антибиотикорезистентности в своем обращении к Генеральному Секретарю ООН в апреле 2019 г. представил ситуацию в мире об угрозе, связанной с резистентностью микробов к антибиотикам и предложил несколько путей решения этой проблемы, одним из которых является разработка новых средств лечения, эффективных против инфекций с множественной лекарственной устойчивостью.

Степень разработанности темы исследования.

Одно из основных современных направлений при разработке противомикробных соединений состоит в синтезе аналогов или производных уже известных и изученных препаратов. В настоящее время разработаны миллиарды молекул химических соединений, которые выделены из природных источников и получены химическим синтезом. Пятнадцать миллионов из них показали противомикробную активность, но лишь десятки соответствуют требованиям, предъявляемым по противомикробному действию и биологической безопасности [115]. Поэтому так важны исследования, которые основаны на фундаментальном принципе преодоления резистентности микроорганизмов, заключающемся в поиске новых соединений с антимикробной активностью и, возможно, с иным механизмом действия [1].

Существует несколько подходов к получению новых антибактериальных лекарственных средств: *сплошной и направленный скрининг веществ*, вновь синтезированных или выделенных из природных источников; *анализ генома патогенных бактерий* с целью выявления потенциальных мишеней для антибиотиков, а также анализ генома и вторичных метаболитов продуцентов антибиотиков. Скрининг веществ, вновь синтезированных или выделенных из природных источников, широко используется, в том числе и российскими учеными.

Сплошной скрининг, хотя и является очень трудоемким, имеет ряд преимуществ: возможность изучения широкого круга соединений, простота используемых методик, возможность быстрого получения результата. Вторым подходом является направленный скрининг - поиск химически стабильных молекул, называемых «соединениями-лидерами», которые могут быть синтезированы и должны обладать требуемой активностью. Для направленного скрининга используются такие методы, как ядерный магнитный резонанс, фармакофорный анализ и виртуальный скрининг с использованием различных компьютерных технологий [41].

Анализ генома патогенных бактерий позволяет выявить потенциальные мишени для антибиотиков. В мире определены 160 наиболее важных белков, блокирование которых вызывает гибель бактериальной клетки. Таким образом, получена информация, необходимая для проведения направленного синтеза веществ с антибактериальным действием [55].

Известен целый ряд веществ с антибактериальным действием: природного происхождения (растительные, животные, минеральные, микробные), синтетического происхождения (большинство антибиотиков) [36]. Однако многие из них оказались уже малоэффективными для борьбы с нозокомиальными штаммами группы ESKAPE, как большинство антибиотиков, или дорогими, со сложной технологией получения и высокой токсичностью, как многие пептиды. Поэтому для решения глобальной

проблемы антибиотикорезистентности бактерий необходима разработка новых соединений антибактериальной направленности (преантибиотиков).

Цель исследования: изучить антибактериальные свойства новых химических соединений синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE.

Задачи исследования:

1. Изучить фенотипические и генотипические маркеры антибиотикорезистентности бактерий группы ESKAPE, выделенных при различных инфекционных процессах.
2. Исследовать антибактериальную активность различных групп химических соединений в отношении штаммов бактерий группы ESKAPE.
3. Изучить возможность потенцирующего действия сульфонамидов с препаратами группы карбапенемов в отношении бактерий группы ESKAPE.
4. Исследовать антибактериальное действие соединений-лидеров *in vivo* в модельных опытах на лабораторных животных.

Научная новизна исследования

- Впервые выявлены антибактериальные свойства нановолокон на основе куркумина и гиалуроновой кислоты в отношении бактерий из группы ESKAPE (МИК 90 мг/мл).
- Установлено снижение количества бактерий *S. aureus* в $1 \cdot 10^5$ раз под воздействием комплекса «титан (Ti) и серебро (Ag)».
- Определена антибактериальная активность азиринов из группы полусинтетического и синтетического происхождения (МИК для *S. aureus* 4,5 мкг/мл, МИК для *P. aeruginosa* и *E. aerogenes* – 9 мкг/мл).
- Определен механизм биоцидной активности сплава Cu-Zn, полученного путем сонохимической обработки, основанный на комплексе факторов, воздействующих на бактериальную клетку.
- Изучено потенцирование действия меропенема в отношении бактерий группы ESKAPE с помощью синтезированных соединений сульфонамидов со снижением МИК в 66 и 133 раза.

- Показано антибактериальное действие соединений-лидеров на модели экспериментальных животных.

Теоретическая и практическая значимость исследования:

- Выявление соединений-лидеров в группах растительной, минеральной природы и искусственно синтезированных с описанным механизмом антибактериального действия расширяет представление о возможностях конструирования новых образцов для борьбы с возбудителями нозокомиальных инфекций.
- Доказанная экспериментальным путем эффективность синергетического антибактериального действия новых химических соединений и официальных антибиотиков позволит разработать комплексный лекарственный препарат с низкой концентрацией ингредиентов и антибактериальной эффективностью.
- В опытах *in vitro* и *in vivo* определены действующие концентрации соединений-лидеров из разных групп (растительной, минеральной природы и искусственно синтезированных), которые могут быть использованы при проведении доклинических испытаний полученных соединений.

Положения, выносимые на защиту:

1. Среди выделенных штаммов бактерий группы ESKAPE 55% имеют выраженный гено-и фенотип резистентности к антибиотикам различных классов. В то же время они поддаются антибактериальному воздействию синтезированных соединений на основе растительных комплексов, минералов и синтезированных искусственным путем химических соединений. Наилучшим антибактериальным эффектом обладают соединения катионного типа с низкой молекулярной массой на основе 2Н-азирин-2-карбоновых кислот. МИК этих соединений соответствует МИК антибиотиков, используемых в медицинской практике, к которым развилась резистентность бактерий группы ESKAPE.

2. Явление синергизма между синтезированными соединениями и официальными антибиотиками с утраченной эффективностью позволяет конструировать комплексы с высокой антибактериальной активностью.
3. Результаты исследований *in vivo* антибактериального действия соединения из группы 2Н-азириин-2-карбоновых кислот могут быть использованы при программируемом синтезе антибактериальных соединений, а сам препарат может быть передан для дальнейших доклинических испытаний.

Соответствие паспорту специальности:

Диссертационное исследование, включающее вопросы изучения антибактериальных свойств различных химических соединений, соответствует паспорту специальности 1.5.11 Микробиология (Биологические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 1, 2, 3, 6, 7 паспорта специальности.

Внедрение результатов исследования в практику:

- Создана рабочая коллекция штаммов бактерий группы ESKAPE (120 шт.), охарактеризованная по их отношению к антибиотикам выбора для этиотропной терапии инфекционного процесса, вызванного каждым представителем группы.
- Созданы и зарегистрированы базы данных: База данных резистентных к антибиотикам фенотипов бактерий группы ESKAPE (№2021621695), База данных чувствительных к антибиотикам фенотипов бактерий группы ESKAPE (№ 2021 622085), База данных фенотипа чувствительности к антибиотикам и бактериофагам и генотипа антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных при нозокомиальных инфекциях (№ 2023621897), База данных генотипа и фенотипа вирулентности и антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных COVID-19 (№ 2023621900).
- Разработан дизайн исследования антибактериальных свойств соединений растительной, минеральной природы и искусственно синтезированных,

который может быть использован для оценки других разрабатываемых групп соединений антибактериального назначения.

- Полученные данные могут использоваться в процессе преподавания биологии, микробиологии и фармакологии в соответствующих высших учебных заведениях, на курсах повышения квалификации врачей, при проведении научно-практических семинаров.

Методология и методы исследования:

Методологическая основа диссертационного исследования была спланирована на основании поставленной цели и включает применение методов научного познания с целью решения поставленных задач. Применялись следующие методы исследования: классические бактериологические, молекулярно-генетические, масс-спектрометрические, фенотипические методы определения устойчивости к антибиотикам согласно МУК 4.12.1890-04, Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам» (2021), рекомендациям EUCAST (версия 13.0).

Организация и проведение диссертационного исследования одобрены Локальным Комитетом по этике ФБУН НИИЭМ имени Пастера Роспотребнадзора (выписка из протокола заседания № 57 от 24.12.2019 г.).

Степень достоверности результатов исследования:

Достоверность полученных результатов исследования определяется достаточным объемом проведенных наблюдений, репрезентативностью материала. Дизайн исследования, анализ данных, статистическая обработка результатов соответствуют требованиям, цели и задачам исследования. Основные положения работы, выводы и практические рекомендации аргументированы с позиций доказательной медицины, логически вытекают из результатов исследований и подтверждены фактическим материалом. Достоверность полученных результатов и выводов обеспечена использованием адекватных методов исследования, методик проведения расчетов, достаточным объемом анализируемых материалов, апробацией

результатов и положений в рецензируемых журналах.

Апробация результатов исследования:

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на 5 Российских, в том числе с международным участием, и 3 зарубежных научно-практических конференциях.

Личный вклад автора:

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования: изучении литературы по теме исследования, написании плана работы, постановке экспериментов, исследовании проб и выделенных штаммов, анализе полученных результатов, написании публикаций, подготовки докладов, патентов, баз данных, оформлении диссертации.

Молекулярно-генетические исследования проведены совместно с Полевым Д.Е. - руководителем группы метагеномных исследований и Саитовой А.Т. - лаборантом-исследователем группы метагеномных исследований ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.

Публикации результатов исследования:

По материалам диссертационной работы опубликовано 24 научных работы, из них 2 статьи – в научных рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК, 22 – в изданиях, входящих в библиографические базы данных Scopus и Web of Science.

Объем и структура диссертации:

Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав (обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования и обсуждения полученных результатов), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложений. Диссертация изложена на 180 страницах машинописного текста, иллюстрирована 26 таблицами, 8 рисунками. Список литературы содержит 8 отечественных и 232 зарубежных источников.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Характеристика бактерий группы ESKAPE (распространенность, резистентность к антибиотикам)

Последние 10 лет характеризуются широким распространением бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). В то же время количество новых разрабатываемых антибиотиков с каждым годом снижается, а резистентность бактерий ко вновь введенным в терапию антибиотическим препаратам (АБП) развивается уже в течение 12-24 месяцев после введения лекарственного средства в использование [194]. Американский центр по контролю и профилактике инфекционных заболеваний (CDC) и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) классифицируют устойчивые к противомикробным препаратам патогены как надвигающуюся угрозу здоровью человека [20]. В 2019 году CDC опубликовал доклад, в котором говорится, что мы вступили в пост-антибиотическую эру, когда антибиотики перестанут действовать на те бактерии, с которыми здравоохранение успешно справлялось не один десяток лет [18].

Среди всех бактерий наиболее выраженной резистентностью к антибиотикам характеризуются представители следующих родов и видов: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. (бактерии группы ESKAPE). Они являются причиной более 15% случаев инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [140].

Наибольшая летальность среди пациентов реанимационных отделений отмечается вследствие заражения бактериями группы ESKAPE [68].

Хотя обычно патогены ESKAPE связывают с внутрибольничными инфекциями, устойчивость к антибиотикам также распространяется в ветеринарии и экологии [48]. Частой причиной такого развития событий является неправильное использование антибиотиков: избыточное назначение

препаратов или выбор субтерапевтических доз, особенно в сочетании с укороченными курсами антибиотикотерапии [156].

Пандемия COVID-19 усугубила и без того тяжелую проблему распространения резистентных штаммов. Вторичная бактериальная инфекция является распространенным осложнением у пациентов с вирусной пневмонией [82]. Поэтому с самого начала пандемии врачи, лечащие пациентов с COVID-19, были вынуждены эмпирически назначать антибиотики при поступлении пациента в стационар [9]. Таким образом, до 56-92% госпитализированных пациентов с COVID-19 получали антибиотики на протяжении всего курса лечения, хотя необходимости в этом не было [111, 126, 217]. Ретроспективное исследование, проведенное в больнице Wuhan Union Hospital, показало, что у большинства пациентов со вторичными бактериальными инфекциями были обнаружены бактерии, устойчивые к антимикробным препаратам (карбапенем-устойчивые *K. pneumoniae*, *A. baumannii*; метициллин-устойчивый *S. aureus*) [111].

В настоящее время не существует систематического международного наблюдения за антимикробной резистентностью, но имеющиеся отчеты указывают на то, что в Соединенных Штатах ежегодно происходит более 2 миллионов случаев инфицирования нозокомиальными патогенами (в том числе 29 000 с летальным исходом), с расходами на медицинское обслуживание более 4,7 миллиарда долларов [18]. В Европе более 33 000 смертей и 874 000 случаев с инвалидизирующими последствиями ежегодно связаны с инфицированием нозокомиальными инфекциями, приобретенными в стационарах и амбулаторных отделениях медицинских учреждений. При этом затраты на лечение нозокомиальных инфекций в Европе составляют 1,5 миллиарда долларов прямых и косвенных затрат [36, 224].

По имеющимся данным, в Европе порядка 2 млн случаев заболеваний связано с антибиотикорезистентностью, при этом более 25 тыс. случаев из них ежегодно заканчивается летальным исходом. Это ложится достаточно серьезным бременем на систему здравоохранения любой страны. По данным

исследований ряда авторов, более 2,5 млн дополнительных койко-дней обусловлены случаями, связанными с антибиотикорезистентностью, а для государства — это более 900 млн долларов дополнительных госпитальных затрат, и более 1,5 млрд долларов дополнительных затрат в целом на систему здравоохранения. По данным AMRmap на декабрь 2022 года основными группами микроорганизмов, проявляющих высокую устойчивость к антибиотикам в Российской Федерации, являются микроорганизмы, представленные в таблице 1.1 [7].

Таблица 1.1

Распространенность в Российской Федерации бактерий с высоким уровнем резистентности к антибиотикам

Группа микроорганизмов	Количество изолятов	Доля представителей в общей группе (%)
<i>Enterobacterales</i>	22021	41.57
<i>Staphylococcus spp.</i>	7725	14.58
<i>Pseudomonas spp.</i>	7054	13.32
<i>Acinetobacter spp.</i>	4832	9.12
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3260	6.15
<i>Streptococcus group A, B, C, G</i>	2711	5.12
<i>Enterococcus spp.</i>	2673	5.05
<i>Haemophilus spp.</i>	1264	2.39
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	841	1.59
<i>Helicobacter spp.</i>	276	0.52

Основные представители бактерии с МЛУ указаны в таблице 1.2.

Таблица 1.2

Распространенность бактериальных штаммов с МЛУ в Российской Федерации

Микроорганизмы	Количество изолятов	Доля представителей в общей группе (%)
<i>Escherichia coli</i>	8995	16.98
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8230	15.54
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6965	13.15
<i>Staphylococcus aureus</i>	6865	12.96
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4597	8.68
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3260	6.15
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2674	5.05
<i>Enterococcus faecalis</i>	1656	3.13
<i>Haemophilus influenzae</i>	1263	2.38
<i>Proteus mirabilis</i>	1203	2.27

В развивающихся странах, где оценки экономических потерь недоступны по ряду причин, инфекционные заболевания, вызванные бактериальными патогенами, остаются основной причиной летальных исходов, и в настоящее время эта проблема усугубляется появляющимися и вновь возникающими инфекционными заболеваниями [99, 171, 212]. Поэтому актуальность исследований возможных способов борьбы с бактериями группы ESKAPE выходит на первый план для всего мирового сообщества.

1.2 Характеристика соединений с антибактериальной активностью (успехи и неудачи использования)

1.2.1. Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты

С момента идентификации куркумина как основного компонента травянистого растения куркумы было проведено множество исследований, посвященных оценке фармакологических свойств этого вещества. По данным базы данных Pubmed, с 2015 года количество статей, посвященных свойствам куркумина, стремительно растет. По сравнению с периодом 2000 - 2005 гг. количество публикаций увеличилось в 16 раз, что свидетельствует о значительном интересе мирового научного сообщества к куркумину на основе природных соединений с лечебными свойствами.

Исследования ряда авторов показали, что наряду или в комбинации с другими препаратами, куркумин может усиливать антибактериальное, противогрибковое и противоопухолевое действие. Недавно была доказана антимикробная активность куркумина в отношении штаммов *S. aureus*, устойчивых к метициллину (MRSA) и *P. aeruginosa*, устойчивых к карбапенемам, а также подтверждена способность куркумина усиливать действие ципрофлоксацина при совместном использовании [94].

Ряд исследователей показали потенциальную возможность использования куркумина в качестве дополнительного компонента в комплексе лекарственных препаратов, облегчающих симптомы гастрита, вызванного бактерией *Helicobacter pylori*. Кроме того, анализ противогрибковой активности продемонстрировал значительный фунгицидный эффект куркумина в отношении грибов родов *Candida* и *Paracoccidioides brasiliensis* [137].

Химическая структура куркумина позволяет ингибировать рост бактерий путем образования продуктов антиокисления. Он также подавляет образование бактериальной биопленки и факторов вирулентности бактерий, предотвращая их адгезию к рецепторам хозяина [234]. Один из тестов *in vitro* показал особую активность против определенных видов и штаммов

Streptococcus pyogenes, *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus*, *Acinetobacter lwoffii*, некоторых штаммов *Enterococcus faecalis* и *P. aeruginosa*. Однако эффективность этого вещества достаточно избирательна и часто зависит не только от вида, но и штамма микроорганизмов [10].

Растворимость куркумина в воде ограничена (0,6 мкг/мл), что является серьезной проблемой из-за низкой биодоступности при лечении заболеваний человека. В последние годы было предложено несколько подходов для увеличения биодоступности куркумина без потери его стабильности. Например, доставка его с помощью наночастиц из куркумина [42]. Также есть исследования, показавшие результативность использования для сшивки частиц куркумина гиалуроновой кислоты, которая усиливает антибактериальное и противовоспалительное действие [49]. Гидрогели на основе комбинации куркумина и гиалуроновой кислоты показали хорошую эффективность при лечении инфицированных ран [222].

Недавно был продемонстрирован синергизм куркумина с антибиотиками против *S. aureus* [209]. Потенцирование бактерицидного действия антимикробных препаратов было показано в следующем исследовании [94, 137].

Поэтому были разработаны наноструктуры куркумина на основе сшитых полимеров гиалуроновой кислоты, которые повышали стабильность препарата, увеличивали его растворимость и тем самым улучшали фармакокинетику [39, 122, 172]. Однако неясным оставался вопрос об антибактериальной активности разработанных полимеров в отношении всех представителей группы ESKAPE.

1.2.2. Соединения кремния (Si) и селена (Se)

Микроэлемент селен известен в медицине как антиоксидант, защищающий клетки человека от свободных радикалов. Кремний играет большую роль в сохранении структуры и функций костной ткани человека. Оба элемента используются в медицине как пищевая добавка (Se) или

энтеросорбент (Si). Однако ряд исследований последних лет говорит о наличии у них антибактериальных свойств [61, 116]. В основе механизма действия селена и кремния на бактериальные клетки лежит разрушение клеточной мембраны под действием синглетного кислорода, который образуется на структурированных наночастицах этих элементов [4]. При лазерной абляции селена и кремния ряд авторов получали коллоидные растворы, которые обладали антибактериальным действием *in vitro* и *in vivo* в отношении *Escherichia coli* и *S. aureus* [144].

Наилучшие результаты были продемонстрированы при загрузке наночастиц селена и кремния внутрь и на поверхность мезопористого кремнезема. Размер частиц селена достигал 120 нм, а кремния – 210 нм. Использование растворов наночастиц на основе фосфатно-солевого буфера показало антибактериальные свойства *in vitro* в отношении бактерий *E. coli* [41].

Причем, благодаря своей высокой биосовместимости и биоразлагаемости селен и кремний очень перспективны для различных биомедицинских применений.

1.2.3. Соединения титана (Ti) и серебра (Ag)

В последние годы в хирургической практике с успехом используется титан, который обладает рядом неоспоримых достоинств: он инертен по отношению к тканям человека, имеет высокую механическую прочность и коррозионную стойкость. Биосовместимость титановых имплантатов обусловлена наличием стабильного и нетоксичного оксида на их поверхности. Имеется ряд работ, в которых показано, что кристаллический оксид титана стимулирует адгезию к нему клеток костной ткани, их пролиферацию и кристаллизацию, что в итоге способствует быстрой остеоинтеграции [70, 76, 78, 225]. Поэтому применение кристаллических покрытий из оксида титана является простым и в то же время современным и эффективным способом улучшения остеоинтеграции материала.

Значительный прогресс достигнут в улучшении механических свойств титановых имплантатов. Разработка новых титановых сплавов и производство наноструктурированного титана позволили достичь высокой прочности и износостойкости этого материала [217, 236]. В результате модуль упругости полученных соединений позволяет приблизить их к свойствам костной ткани и тем самым улучшает его биосовместимость. Вместе с тем, немаловажное значение, кроме благоприятных механических свойств, улучшенной биосовместимости и остеоинтеграции, имеют антибактериальные свойства имплантатов на основе титана и отсутствие у него цитотоксичности. Известно, что биосовместимость титановых пластин повышается путем изменения поверхности материала с помощью различных физических и химических методов [199].

Однако наиболее сложной задачей является достижение антибактериального эффекта поверхности имплантата в сочетании с положительной клеточной реакцией и ускоренной остеоинтеграцией. Проблема большого количества отторжений имплантатов существует и в настоящее время. Так, исследование в течение 5 лет (2015–2019 гг.) 6113 зубных имплантатов показало, что частота отторжений составляет около 1,2% [228]. Большинство из этих случаев были обусловлены бактериальной инфекцией. Также известно, что глубокие инфекционные процессы с последующим некрозом и отторжением обычно происходят у 1-2% пациентов с артропластиками тазобедренного сустава [75]. В таких случаях требуется удаление имплантатов и реимплантация, что сопряжено с дополнительными неудобствами и хирургическими вмешательствами, а также значительными финансовыми расходами для пациентов. Поэтому основной подход к решению этой проблемы состоит в разработке биоактивных покрытий с антибактериальным действием.

Проблема множественной устойчивости бактерий к антибиотикам не позволяет отказаться от использования таких классических антибактериальных материалов, как серебро. Наночастицы серебра доказали

свою эффективность в медицинских имплантатах благодаря своей большой площади поверхности и антибактериальным свойствам, причем, против грамотрицательных и грамположительных бактерий [133]. Антибактериальное действие серебряных наночастиц достигается несколькими путями: прямым уничтожением бактерий в результате механического контакта с серебряной частицей; воздействием окислительных ионов, выделяемых из частиц серебра; в результате образования активных форм кислорода, а также с помощью инактивации дыхательных ферментов бактерий при реакции с сульфгидрильными группами на их поверхности [166].

Однако, несмотря на все положительные достоинства, практическое использование серебра в качестве антибактериального материала связано с плохой воспроизводимостью антибактериальной активности [195]. Кроме того, при использовании серебряных покрытий и частиц толщиной более 1 мкм наблюдается значительный долгосрочный цитотоксический эффект. Поэтому вопрос о балансе антибактериальных свойств, биосовместимости и остеоиндуктивности при использовании серебряных наночастиц остается не до конца выясненным.

1.2.4. Биоцидная латунь (Cu-Zn)

Ультразвуковая обработка для доставки лекарств все чаще находит свое применение в медицине наряду с использованием в машиностроении и приборостроении или «зеленой» химии [34, 43, 93]. Благодаря эффекту кавитации сонохимическая модификация, т.е. синтез нанопорошков под действием микроволнового излучения, позволяет формировать морфологические изменения на поверхности создаваемого соединения. Ультразвуковая обработка сплава Al-Ni в свое время была исследована Черепановым и др. [43]. Они сообщили о фундаментальной связи между кавитационным эффектом и окислительно-восстановительными процессами на поверхности, а также составом поверхности: ее площадью и размерами частиц получаемого соединения. Подобным образом сонохимическая

обработка привела к значительной трансформации частиц и образованию нескольких фракций [155].

После сонохимической обработки металлические частицы Al были разделены на три фракции: переоисленные образцы, монодисперсные пористые металлические частицы, покрытые тонким слоем оксида металлов, и совершенно немодифицированные. Полученные фазы могут быть легко разделены с помощью седиментации. Поскольку полученные фракции имеют разный удельный вес, то они могут дифференцироваться как три самостоятельные фазы.

В настоящее время сплав Cu-Zn является хорошо изученным материалом, который используется в различных отраслях народного хозяйства в качестве высокоэффективного катализатора [114]. Некоторые экспериментальные исследования латунных и медных поверхностей показали ингибирование роста бактерий на своей поверхности. Однако до сих пор мало данных об их биомедицинском применении, и тем более, о влиянии на штаммы бактерий, выделенных при нозокомиальных исследованиях [89].

В связи с этим, перед разработчиками биоцидной латуни и микробиологами стоит задача в виде разработки метода изготовления материалов с повышенной антибактериальной активностью и изучение их антибактериальных свойств. При разработке латуни используется ультразвуковая обработка. Известно, что она позволяет получать пористые оксидные слои, на основе которых могут быть созданы различные по функциональным свойствам поверхности. Так, например, последующая модификация таких поверхностей с помощью рН-чувствительных полиэлектролитов позволяет использовать метаболизм бактерий для защиты биосовместимых поверхностей [67]. В недавней работе было показано, что сонохимическая модификация помогает раскрыть основной механизм антибактериального действия исследуемых материалов и может быть использована для получения антибактериальных материалов [215].

1.2.5. Нитрофураны

Нитрофураны (наряду с нитроимидазолами, к которым относится деламанид) являются биоредуцируемыми соединениями, которые продемонстрировали высокую эффективность при лечении различных инфекционных заболеваний, обусловленных бактериальными патогенами [69]. Считается, что механизм их действия заключается в восстановлении ферментом клеточной стенки бактерий нитрогруппы с образованием свободных радикалов, которые могут вступать в реакцию с биомолекулами бактерий и, следовательно, являются смертельными для микроорганизма. Основная проблема, связанная с нитрофуранами, это их токсичность. Именно поэтому продвижение нитрофурановых препаратов замедленно в последние годы. С момента появления нитрофуразона в 1940-х годах, а также других, в основном местных, соединений нифуроксазида и нитрофурантоина нитрофурановых соединений, которые находятся в активной стадии доклинической разработки, остается мало [37]. Однако, недавний успех нитроимидазолов деламанида и претоманида, находящегося в настоящее время в фазе III клинического исследования, привел к убеждению, что класс нитрофурановых препаратов наряду с антибактериальным также может обеспечить эффективное и нетоксичное противовирусное действие [201].

В последнее время ученые находят новые соединения и сочетания их с другими антибактериальными препаратами, позволяющие свести к минимуму побочные эффекты. Так в исследовании были протестированы 5-нитрофураны в совокупности с дезоксихолатом натрия и ванкомицином в отношении 20 штаммов бактерий. Причем, эти микроорганизмы были резистентны к дезоксихолату натрия и ванкомицину вследствие непроницаемости наружной мембраны. Полученные результаты показали чувствительность 15 из 20 штаммов грамотрицательных бактерий к препарату. Это свидетельствует о перспективе использования 5-нитрофуранов для производства новых поколений антибактериальных препаратов [153]. В то же время усилия исследователей направлены на разработку новых ферментов для повышения

биодоступности лекарственных препаратов. Так, новый фермент AhpF, разработанный для 5-нитрофурана, позволил активировать данное соединение в отношении грамотрицательной бактерии *E. coli*. Поэтому разработка аналогов 5-нитрофурана с большим сродством к новому ферменту, возможно, позволит получить новые лекарственные средства.

1.2.6. Азирины

2Н-азирины являются самыми малыми ненасыщенными азотистыми гетероциклическими соединениями и проявляют различные виды биологической активности, включая антибактериальную и противогрибковую. Кроме того, в недавних исследованиях было показано, что 2Н-азирины могут быть использованы в качестве новых реагентов для биоконъюгации. Важным характерным свойством азиринов является их способность подвергаться селективному раскрытию бензольного кольца, в результате чего происходит циклизация с переходом в более крупные гетероциклические соединения. Такие возможности позволяют переносить различные функциональные группы от производного азирина к целевой гетероциклической молекуле. Однако существующее разнообразие функционализированных азиринов ограничено наличием простых функциональных групп, таких как эфир, амид, кетон, фосфорильная группа.

В 1971 году азириномицин (3-метил-2Н-азирин-2-карбоновая кислота), первый вариант азирин-2-карбоновой кислоты, был выделен из почвенного бактериального штамма *Streptomyces aureus*. Было показано, что азириномицин обладает антибактериальной активностью *in vitro* в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Однако исследования *in vivo* на мышах показали довольно высокую токсичность азириномицина, выделенного из натурального сырья. Поскольку азириномицин является очень нестабильным соединением, не была установлена причина его токсичности: то ли она связана с самим азириномицином, то ли его продуктами разложения, то ли примесями, присутствующими в образце.

В том же году Miller и соавторы установили строение азириномицина на основании данных его метилового эфира, полученного метилированием диазометаном, и продукта восстановления, а Stapley и соавторы охарактеризовали антибактериальные свойства азириномицина, используя его разбавленный экстракт [80, 134]. Как азириномицин, так и его метиловый эфир проявляли антибактериальную активность в отношении широкого круга бактерий: *Escherichia coli*, *Bacillus spp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Alcaligenes faecalis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Salmonella gallinarum*, *Vibrio percolans*, *Xanthomonas vesicatoria*. Сам азириномицин показал высокую активность против *S. aureus* и *E. faecalis*, в то же время метиловый эфир азириномицина проявил в отношении них самую низкую активность. Перекрестная резистентность азириномицина и его метилового эфира была изучена на ряде штаммов *E. coli*, резистентных *in vitro* к различным антибиотикам. Оказалось, что оба соединения в целом показали активность против всех протестированных штаммов.

Второй представитель природных 2*H*-азиринов – метиловый эфир 3-(пентадец-1-ен-1-ил)-2*H*-азириин-2-карбоновой кислоты (*R,E*)-2 ((*R,E*)-дисидазирин) – был выделен в 1988 году с помощью метанольной экстракции из морской губки *Dysidia fragilis* [139]. Как сам экстракт, так и выделенный (*R,E*)-дисидазирин, обладали цитотоксичностью по отношению к клеткам лейкемии L1210. В то же время они подавляли рост нескольких микроорганизмов. (*R,E*)-Однако цитотоксичность дисидазирина была показана при концентрации 0.27 мкг/мл, в то время как минимальная ингибирующая концентрация (МИК) в капельном методе как для грамотрицательных бактерий (*P. aeruginosa*), так и дрожжей (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) составила 4 мкг/диск. Тем самым использование на практике этого соединения не представлялось возможным.

Дальнейшие исследования экстракта губки *Siliquariaspongia sp.* привели к некоторому успеху. Так, Bewley и соавторы в 2009 г. провели анализ

экстракта и в результате выделили длинноцепочечную азириин-2-карбоновую кислоту 4 (Мотуалевую кислоту F) и ее метиловый эфир (R,E)-3 ((R,E)-антазириин) [100]. Эти соединения были активны против *S. aureus*, в том числе метициллинрезистентных штаммов. Анализ антимикробной активности азиринов (R, E)-3 и 4 показал, что именно кислота 4 обуславливает активность экстракта. Кислота 4 подавляла рост MRSA и обычного *S. aureus* при концентрации 5 и 2 мкг/диск соответственно, в то время как эфир (R,E)-3 в концентрации 50 мкг/диск не проявил активности в отношении данных штаммов [100]. Аналогичные результаты были получены при исследовании минимальной ингибирующей концентрации (МИК для кислоты 4 составили 1.2 и 3.9 мкг/мл для *S. aureus* и MRSA соответственно).

В 2008 году из губок *Dysidia fragilis* были выделены азирины 5–7 [187]. Соединения (S, Z)-3, (S, E)-3 и 5–7 проявляли умеренную цитотоксическую активность *in vitro* на клетках рака толстой кишки HCT-116. Хотя, как отмечалось выше, в 1988 году было показано, что азириин (R,E)-2 обладает значительной активностью по отношению к *C. albicans*, Skepper и Molinski не обнаружили активности у азиринов (S,Z)-3, (S,E)-3 и 5–7 по отношению к этим микроорганизмам (*C. albicans* ATCC 14503, *C. albicans* UCD-FR1, *C. albicans* 96-489), а также к другим дрожжам (*C. glabrata*, *C. krusei*, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* и *Cryptococcus neoformans* var. *gatti*) [139].

Поэтому Skepper и Molinski предположили, что противогрибковая активность азиринов в значительной степени зависит от заместителей на конце алкенильной цепи, длины этой цепи или же обоих этих параметров. Для проверки этой гипотезы они синтезировали азирины (R,Z)-2 ((R,Z)-дисазириин) и (R,Z)-8 (рис. 5) [189]. Азирины (R,Z)-2 и (R,Z)-8 были исследованы на противогрибковую активность против видов рода *Candida* и *Cryptococcus*. Синтезированный (R,Z)-дисазириин ((R,Z)-2) показал высокую активность в отношении всех штаммов, за исключением *C. krusei* в то время как азириин (R,Z)-8, содержащий объемную *трет*-бутильную группу, оказался практически неактивным против перечисленных штаммов.

В последующем была синтезирована серия азиринов 9–12 с различной длиной боковой цепи и исследована их противогрибковая активность [188]. Среди азиринов 2,8–12 (*E*)- и (*Z*)-изомеры (*R*)-дисидазирина показали наибольшую активность против всех исследованных штаммов: МИК в диапазоне 2–8 мкг/мл. Поэтому дальнейшие поиски вариантов синтеза иных соединений с различными радикалами и их исследование на антибактериальную активность должны продолжаться.

1.2.7. Аминоиндолы

Порядка 20 лет назад внимание химиков и микробиологов привлекли производные аминоиндолов. Было показано, что ароматический гетероциклический каркас индола выполняет важные функции и участвует в появлении противовирусных и противомикробных свойств [33]. Результаты проведенных исследований показали, что полученные соединения могут подавлять рост метициллинрезистентных стафилококков и ванкомицинрезистентных энтерококков при значениях МИК 1-4 мкг/мл. Впоследствии был показан не только бактериостатический, но и бактерицидный эффект.

В исследованиях авторов убедительно доказано бактериостатическое действие в отношении микобактерий туберкулеза. Также высказано предположение о том, что механизм действия исследуемых соединений основан на их воздействии на ДНК микробной клетки [8].

В последующем была уточнена и доказана активность соединений аминоиндолов в отношении ДНК-гиразы. Полученные новые синтезированные соединения исследованы на антибактериальную активность в отношении *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella*. Также была исследована активность этих соединений в отношении внутрибольничных штаммов. Оказалось, что некоторые из них проявляли антибактериальную активность в отношении резистентных штаммов *E. coli*. На модели молекулярного докинга было показано, что эти соединения могут хорошо

связываться с ДНК-гиразой путем взаимодействия с различными аминокислотными остатками [117].

Исследователи из другой группы получили новые производные аминоиндола на основе изатина и монотиомалондиамида, а впоследствии испытали их на штаммах *P. aeruginosa* и получили убедительные данные об антибактериальном действии разработанных соединений [55].

Результаты проведенных исследований показывают перспективность дальнейших исследований в этом направлении с целью разработки все более активных соединений на основе аминоиндолов.

1.2.8. Пиримидины

Производные пиримидина участвуют во многих важных биологических процессах. Они входят в состав нуклеотидов, некоторых витаминов группы В, в частности В1, коферментов и антибиотиков. Некоторые производные, такие как N-Арил-С-нитроазолы, нашли применение в качестве пестицидного препарата, гербицидов, фунгицидов [90, 223]. Некоторые производные пиримидинов, например, 5-Chloro-4-nitro-1H-benzotriazole и 5-azido-4,6-dinitro-1H-benzotriazole используют при производстве высокоэнергетических материалов [59, 107, 196]. В то же время, соединения, принадлежащие к этому химическому классу, недостаточно представлены в литературе по медицинской химии [45]. Возможно, это связано с тем, что нитрогетероароматические соединения в целом имеют окислительно-восстановительные свойства, которые теоретически могут проявлять неспецифическую токсичность и мутагенность [152]. Тем не менее, в последние годы показано, что токсическое воздействие нитрогетероароматических соединений на человека может быть ослаблено, в то время как антибактериальное - сохранено или даже усилено с помощью тщательной оптимизации молекулярной периферии вокруг нитрогетероароматического ядра. Доказательством это является одобрение противотуберкулезных нитроимидазольных препаратов, в частности, деламанид и претоманид [128,

201]. Эти препараты действуют как метаболически активированные пролекарства. Прогресс в этой области, достоинства и недостатки разрабатываемых групп соединений всесторонне обобщены в недавнем обзоре [147]. Основным выводом имеющейся литературы является понимание необходимости вести дальнейшую работу по поиску перспективных соединений, которые обладают антибактериальной активностью, но лишены токсичных и мутагенных свойств.

1.2.9. Амидины. Производные 5-амино-1,2,4-тиадиола

Производные тиadiaзолов представляют собой семейство гетероциклических соединений, потенциал которых раскрыт лишь в последние годы [112]. Например, соединения из этой группы были признаны нейропротекторами для лечения нейродегенеративных заболеваний, включая синдром Альцгеймера [121, 219]. Они показали хорошие результаты при лечении онкологических больных, лиц с метаболическими нарушениями, а также при купировании болевых симптомов [79, 102, 107].

Кроме того, производные амидинов продемонстрировали противовирусную активность [101].

Однако наибольший интерес для нас представляет антибактериальное действие таких соединений. Известно, что четыре антибиотика из группы цефалоспоринов, содержащие 5-амино-1,2,4-тиадиазольный фрагмент, уже используются в клинической практике при лечении инфекций мочевыводящих путей и тяжелых форм пневмонии [197].

Кроме того, сообщается о многих производных 1,2,4-тиадиола с положительной антимикробной активностью [53, 169].

В связи с вышеизложенным рекомендуется продолжать работу, направленную на разработку пятичленных гетероциклов с потенциальными антибактериальными свойствами.

1.2.10. Производные ципрофлоксацина

Ципрофлоксацин, фторхинолон 2-го поколения, более 30 лет используется в медицине в качестве антибактериального средства, обладающего относительно небольшим списком побочных эффектов. Однако в последние года проблема с резистентностью штаммов бактерий к антибиотикам коснулась и его. На данный момент, ципрофлоксацин имеет сравнительно низкие показатели антибактериальной активности. По данным исследования, в отношении таких бактерий, как *E. coli* и *Klebsiella* sp. ципрофлоксацин имеет показатель действия 66%, тогда как популярные в настоящее время антибиотики (стрептомицин, клотримазол, оксациллин и колистин) имеют показатели от 84% до 98% [23].

Новые синтезированные соединения на основе ципрофлоксацина отличаются направленностью своего действия в отношении разных классов микроорганизмов [72].

Новые соединения в данной группе показали высокую антибактериальную активность в отношении штаммов *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *E. coli* и *K. pneumoniae*. Однако для дальнейшего исследования производных ципрофлоксацина требуется понимание влияния замены функциональных групп в соединениях на биодоступность вещества [13].

В последние годы все чаще для потенцирования действия ципрофлоксацина стали применять его соединения с различными химическими группами: азидом, азолом, азолидином, хинолоном, бисфосфонатом, макроцидом, пиримидином, синтезировать металлокомплексы ципрофлоксацина [72].

Поэтому синтез новых соединений на основе ципрофлоксацина должен продолжаться, равно как и последующее исследование полученных молекул на их антибактериальную активность.

1.2.11. Пиперидины с уреанами

Пиперидин, выделенный еще 100 лет назад из перца, и его производные, используются в медицине в качестве нейротропных и анальгетических средств. Однако в период утраты многими антибиотиками своей эффективности исследователи направили свои усилия на изучение антибактериальной активности у производных пиперидина. С помощью направленной химической реакции был получен катионный блок-сополиэфир, проявлял высокую антибактериальную активность в отношении грамотрицательной *E. coli* и грамположительного *S. aureus*. При этом соединение проявляло низкую токсичность в отношении соматических клеток линии NIH-3T3 [230].

Ряд исследователей пошли по пути разработки комплексов из антибиотика и производных пиперидина. Так, после включения гентамицина в липосомальный гентамицин и липосомальную комбинацию значения эффективности комплекса с пиперидином возросла в 16 - 32 раза [104].

Синтез соединений с включением в химическую структуру дополнительных радикалов способствовал повышению антибактериальной активности в отношении клинически изолированных резистентных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Например, было обнаружено, что соединение, имеющее экзоцианэтилиденную группу в 4-положении пиперидинового кольца, оказалось в два-три раза эффективнее линезолида в отношении пенициллинрезистентного *S. pneumoniae* и *S. agalactiae* [165, 186].

Глубокие исследования на молекулярном уровне показали, что пиперидиновые производные могут не только эффективно проникать через мембрану резистентных бактерий, таких как *A. baumannii*, но и внедряться в их ДНК с образованием связанных комплексов. Такое взаимодействие с бактериальной ДНК-гиразой В было обусловлено водородными связями [95].

Таким образом, многочисленными исследователями из разных стран мира проводится синтез новых химических соединений в моноварианте и в

комплектации с другими молекулами, изучаются свойства полученных веществ в отношении антибактериальной направленности. Включение разных механизмов действия этих соединений на бактериальную клетку позволяет надеяться на получение оптимистичных результатов хотя бы на одном из выбранных направлений.

1.3. Синергизм препаратов с антибактериальными свойствами

В настоящее время все шире распространяются устойчивые к антибиотикам штаммы микроорганизмов: метициллин- и ванкомицин-устойчивый *S. aureus*; группа микробов, имеющих бета-лактамазу (семейство *Enterobacteriaceae* и др.); мультирезистентная *P. aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida*; карбапенем-устойчивые *Acinetobacter* и *Klebsiella*, ванкомицин-устойчивые *Enterococcus*; *Streptococcus* группы А, устойчивый к эритромицину и другим препаратам [207]. Огромный социальный и материальный ущерб, причиняемый резистентными штаммами бактерий, наблюдается во всех странах [146]. Доступность, широкое и зачастую необоснованное применение антибиотиков привело к тому, что антибиотикорезистентность стала глобальной проблемой, которая указывает на необходимость разработки новых препаратов, активных в отношении резистентных микроорганизмов, или мониторинга уже известных на наличие синергетических антибактериальных эффектов.

В последние годы наблюдается настоящая пандемия устойчивости к антибиотикам, которая усиливается из-за повсеместного использования антибиотиков при терапии пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Группой исследователей подсчитано, что в 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн смертей, связанных с устойчивостью к антибактериальным препаратам [19]. При этом шесть возбудителей были ответственны за более чем 250 000 смертей, связанных с устойчивостью к антибиотикам: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*

cloacae. Распространение резистентных к антибиотикам штаммов наблюдается повсеместно. Однако наибольшую обеспокоенность вызывает распространение в Российской Федерации штаммов *A. baumannii* и *K. pneumoniae*. При осложненных формах COVID-19 в 30-50% случаев у пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии, выделяются штаммы *A. baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью (MDR-AB), которые практически не поддаются лечению [175]. В среднем 10,6% пациентов умирают в результате инфекций, вызванных MDR-AB [108]. Наиболее часто для лечения инфекции, обусловленной *A. baumannii*, используют карбапенемы, в частности – антибиотик меропенем. Однако в последнее время штаммы *A. baumannii* все чаще приобретают устойчивость и к этой группе препаратов. В таких случаях приходится прибегать к использованию комбинаций антибактериальных препаратов [218].

При этом определяющую роль играет эффективность препаратов с наименьшей концентрацией, которая будет минимизировать побочные действия химиотерапевтического средства.

Известно, что комбинации антибактериальных средств могут повысить эффективность антибиотиков и снизить устойчивость к антибактериальным препаратам за счет независимых, синергических эффектов [239].

Механизмы достижения синергии антибактериальных препаратов различны и включают в себя [3]:

- 1) фармакокинетические или физико-химические эффекты, связанные с улучшением растворимости, скоростью резорбции и повышением их биодоступности [58];
- 2) достижение синергии через многоцелевые эффекты [6];
- 3) устранение или нейтрализация неблагоприятных воздействий, содержащихся в препарате или добавленных к нему веществ в целях повышения его эффективности [96];
- 4) блокирование механизмов резистентности бактерий [157].

Однако в настоящее время существует множество примеров синергетического взаимодействия веществ, механизмы действия которых пока еще научно не обоснованы. Изучение их природы требует проведения научных исследований [5].

1.4. Биологические модели для исследования антибактериальной активности синтезированных соединений *in vivo*

После получения достоверных результатов исследований антибактериального действия тех или иных соединений *in vitro* обычно переходят к экспериментам *in vivo*. С этой целью используют животных, у которых можно вызвать соответствующий инфекционный процесс. Выбор вида животных при этом условии основан на принципе: чем меньше по размерам и чем дешевле будет обходиться приобретение и содержание животных, тем лучше. При этом обязательным условием является одобрение проведения исследования биоэтической комиссией и содержание животных в соответствии с международными стандартами [234].

При изучении антибактериальных свойств соединений часто используют поверхностный разрез — модель инородного тела [15]. Инфекции в месте хирургического вмешательства считаются инфекциями с низким содержанием инокулята, и поэтому не очень тяжелыми для животных. Идеальная животная модель должна иметь следующие характеристики: низкий уровень инокуляции микроорганизмов, которые должны вызывать инфекцию, процесс заражения поддается модификации с помощью профилактических противомикробных препаратов, а конечная точка воздействия соответствует клиническому определению инфекции (наличие гнойного отделяемого, выделяющего жизнеспособные бактерии) [91].

McRipley и Whitney разработали модель инородного тела путем создания разрезов на спинах мышей с последующей инокуляцией микроорганизмов в сформированные разрезы [129]. Рядом авторов была

использована другая модификация этой модели с получением достоверных результатов [170].

В целом существует ряд моделей для исследования антибактериальной активности соединений в зависимости от цели задач исследования [50].

Исследования на модели животных позволяют экстраполировать результаты, полученные в эксперименте, на возможное использование успешных соединений в будущем для человека.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выполнения работы была разработана схема проведения исследования.



Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

2.1. Материалы исследования

Работа выполнена на базе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера с 2018 по 2023 гг.

2.1.1. Бактериальные штаммы

В качестве контрольных объектов использовали типовые коллекционные штаммы микроорганизмов, полученные в Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection). Использование эталонных штаммов проводилось в рамках первичного скрининга химических соединений в отношении антимикробного действия капельным методом.

Также в работе использованы клинические изоляты бактерий группы ESKAPE, выделенные из биологического материала больных в различных

медицинских учреждениях г. Санкт-Петербурга. За период выполнения работы было собрано 119 единиц биологического материала от амбулаторных и стационарных больных в рамках рутинных микробиологических исследований (29 образцов мокроты, 8 образцов крови, 11 - мочи, 19 мазков из зева, 14 - из носа, 6 - из наружного слухового прохода, 7 - из женского уrogenитального тракта, 4 - из мужского уrogenитального тракта, 21 образец раневого отделяемого). Сбор биоматериала проводился на базе следующих учреждений: НИИЭМ им. Пастера (18 объектов), НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе (17 объектов), Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (11 объектов), Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина (26 объектов), Городская больница № 14 (22 объекта), СЗГМУ им. И.И. Мечникова (14 объектов), Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова (11 объектов).

Работа со штаммами осуществлялась согласно следующим нормативным документам: СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» от 01.09.2021, СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Использованные в работе штаммы приведены в Таблице 2.1.

Таблица 2.1.

Материалы и объем проведенных исследований

Род бактерий	Источник получения штаммов	Количество полученных штаммов	Количество проведенных исследований с антибиотиками	Количество проведенных исследований с химическими соединениями
<i>Enterobacter cloacae</i>	АТСС 13047	1	2	250
	клинические штаммы	19	570	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	АТСС 29213	1	2	250
	клинические штаммы	20	600	9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	АТСС 13883	1	2	250
	клинические штаммы	20	600	18
<i>Acinetobacter baumannii</i>	АТСС 19606	1	2	250
	клинические штаммы	20	600	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	АТСС 27853	1	2	250
	клинические штаммы	20	600	9
	АТСС 29212	1	2	250

<i>Enterococcus faecalis</i>	клинические штаммы	20	600	9
Итого проведено исследований			3582	1572

2.1.2. Вещества с потенциальным антибактериальным действием

Химические соединения для исследований получены из ряда научно-исследовательских и научно-образовательных учреждений РФ (см. в соответствующих главах). В данной работе исследовано 250 соединений из 20 групп различного происхождения (природные, минеральные, синтетические) в 1572 экспериментах, 18 из которых являлись соединениями-лидерами и были отобраны для дальнейшей оптимизации, 1 вещество рекомендовано для исследований *in vivo* на биологических моделях (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Химические соединения, использованные в исследованиях

Учреждение	Группа веществ	Количество исследованных соединений
Вещества растительного происхождения		
Центр химической инженерии Национального университета ИТМО	Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты	8
Соединения на основе минералов		
Национальном университете ИТМО (Санкт-Петербург)	Соединения кремния (Si) и селена (Se)	5

Санкт-Петербургский государственный университет	Соединения титана (Ti) и серебра (Ag)	5
Национальный университет ИТМО	Биоцидная латунь (Cu- Zn)	5
Вещества полусинтетического и синтетического происхождения		
Санкт-Петербургский государственный университет	Спироциклические аналоги нитрофуранов	13
Санкт-Петербургский государственный университет	Азирины	20
Санкт-Петербургский государственный университет	Аминоиндолы	12
Санкт-Петербургский государственный университет	Пиримидины	38
ЦТФТ им. М.В. Дорогова	Амидины. Производные 5-амино- 1,2,4-тидиазола	28
МГУ	Производные ципрофлоксацина	36
МГУ	Пиперидины с уреанами	20

2.2. Методы исследования

2.2.1. Бактериологические методы

Бактериологическое исследование проводили с использованием классических методов работы со штаммами: выращивание, пересев, получение «чистой» культуры, световая микроскопия с окраской по методу Грама, поддержание жизнеспособности штамма, длительное хранение в условиях глубокой заморозки (-80°C). Для выращивания бактерий *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и определения их чувствительности к антибиотикам использовали агар и бульон Мюллера-Хинтона (МХА, МХБ) (Biovitrum), для бактерий *E. faecalis* - МХА с добавлением 5% дефибринированной лошадиной крови и 20 мг/л β -НАД (Biovitrum).

Дополнительную идентификацию полученных изолятов осуществляли с помощью масс-спектрометрического исследования на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия). Анализ спектров и идентификацию микроорганизмов выполняли с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics). Заключение о таксономической принадлежности микроорганизма осуществлялось на основании значения индекса совпадения (параметр score value, SV). Значение $SV > 2,3$ соответствовало достоверной идентификации до вида; $SV < 2,299$, но более 2,000 – достоверной идентификации до рода, вероятной идентификации до вида; значение SV в диапазоне 1,7–1,999 рассматривалось как вероятная идентификация до рода, и менее 1,7 – как недостоверный результат.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводилось капельным методом согласно МУК 4.12.1890-04 и EUCAST v.10.0. с использованием дисков, произведенных в Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Для исследования минимальной ингибирующей концентрации (МИК) антибиотика использовали М.И.С.Е. полоски производства «Biovitrum».

Изучение чувствительности бактерий каждого вида группы ESKAPE осуществляли с использованием антибиотиков, предусмотренных Рекомендациями МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (2021).

Так, для исследования устойчивости штаммов *E. cloacae* использовали амикацин, амоксиклав, амоксициллин, ампициллин, меропенем, имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин, цефепим, цефиксим.

Для исследования чувствительности штаммов *K. pneumoniae* – амикацин, амоксиклав, амоксициллин, ампициллин, имипенем, левофлоксацин, меропенем, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефепим, цефиксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин, цефалексин, цефотаксим.

Для исследования чувствительности штаммов *S. aureus* – амикацин, амоксиклав, ампициллин, линезолид, норфлоксацин, тетрациклин, цефокситин, эритромицин, ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим.

Для исследования чувствительности штаммов *A. baumannii* – амикацин, гентамицин, имипенем, левофлоксацин, меропенем, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

Для исследования чувствительности штаммов *P. aeruginosa* – амикацин, имипенем, меропенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефепим, цефтазидим, цефалексин, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

Для исследования чувствительности штаммов *E. faecalis* – амоксиклав, амоксициллин, ампициллин, ампициллин/сульбактам, ванкомицин, доксициклин, левофлоксацин, линезолид, меропенем, моксифлоксацин,

офлоксацин, фурагин, фурадонин, рокситромицин, цефазолин, цефокситин, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

Первичный скрининг химических соединений в отношении антимикробного действия на бактерии группы ESKAPE осуществляли капельным методом согласно EUCAST v.10.0. Определение МИК химических соединений проводили методом серийных разведений согласно МУК 4.12.1890-04.

Методология пробоподготовки при исследовании антибактериального действия каждой группы химических соединений будет описана в соответствующих разделах.

2.2.2. Микроскопические методы

В работе использована обычная световая и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). После получения чистой культуры бактериального штамма делали мазки, окрашивали по Граму, рассматривали под микроскопом Axio Scope A1 (производства «Zeiss») при увеличении в 1000 раз.

Сканирующая электронная микроскопия осуществлялась на микроскопе Tescan Vega3 (TESCAN ORSAY HOLDING, Чехия).

2.2.3. Молекулярно-генетические методы

В качестве молекулярно-биологического метода использовано полногеномное секвенирование геномов 52 штаммов *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*.

Для секвенирования геномов брали по 500 нг ДНК бактерий, фрагментировали их на приборе Covaris M220. Экстрагирование ДНК осуществляли с помощью набора diaGene для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток (diaGene, Россия) и QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с прилагаемой инструкцией. С помощью набора TruSeq DNA Nano (Illumina, США) готовили библиотеки ДНК. Секвенирование подготовленных библиотек осуществляли на приборе MiSeq,

используя набор MiSeq Reagent Kit v3. Чтение проводили с двух сторон по 300 п.н. Прочтения подготовили к сборке с помощью Trim Galore (version 0.6.7), качество прочтений проверяли программой FastQC (version 0.11.9). Сборку геномов de novo осуществляли с помощью программы SPAdes (version 3.15.5). Качество сборки проверяли с помощью QUAST (version 5.2.0).

2.2.4. Биологическая модель in vivo

Эксперимент на животных одобрен биоэтической комиссией Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург. Мыши содержались в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского Союза по защите животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 г.

Исследование антибактериального действия соединения производили при создании инфицированной раневой поверхности на спинке животного. Использовали самок белых аутбредных мышей весом 19-22 грамма (подробное описание см. в главе V).

2.2.5. Статистические методы

Для обработки полученных данных были использованы следующие статистические методы: вариационной статистики и корреляционного анализа с использованием коммерческих пакетов стандартизированных программ Statistica 12.6, SPSS Statistics для Windows 7.0». Для первичной подготовки таблиц использован программный пакет Excel.

Статистический анализ количественных признаков проводился «с использованием параметрических методов: расчет среднего арифметического – \bar{x} , ошибки среднего – Sx , среднеквадратичного отклонения – σ , критерий Фишера – сравнений дисперсий двух независимых выборок.

Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$ (где M – среднее арифметическое, m – среднеквадратичное отклонение).

Отличия между выборками, распределенными по нормальному закону, оценивались по параметрическому критерию Стьюдента:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}; \quad (1)$$

где \bar{x}_1, \bar{x}_2 – среднее арифметическое выборок;

s_1, s_2 – стандартные отклонения выборок;

n_1, n_2 – объем первой и второй выборки соответственно.

Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ согласно таблице критических значений t-критерия Стьюдента.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА III. ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Первым этапом выполнения исследований являлся выбор панели и количества микроорганизмов. Она состояла из референтных (эталонных) штаммов Американской коллекции ATCC (6) и клинических изолятов (120) с разным профилем чувствительности к антибиотикам бактерий группы ESKAPE.

За 2018-2021 гг. были получены пробы от пациентов, женщин (59 %) и мужчин (41 %), возрастом от 3 месяцев до 89 лет, с такими диагнозами, как сепсис, муковисцидоз, пневмония, бронхит, тонзиллит, отит, термический ожог, дерматит, цистит, нефрит. В лабораторию поступали следующие виды материала: соскобы из зева, носа, кожи, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), мокрота, кровь, ликвор, раневое отделяемое, отделяемое женского и мужского уrogenитального тракта, моча, кал, соскобы из наружного слухового прохода.

По результатам предварительного изучения изолятов были отобраны 120 штаммов бактерий группы ESKAPE для изучения профиля антибиотикочувствительности, а также для изучения чувствительности к новым антимикробным препаратам.

При поступлении в лабораторию все полученные изоляты бактерий регистрировали в лабораторном журнале и засеивали на плотные и жидкие питательные среды (см. гл. 2), инкубировали в термостате при +36°C в течение 18-24 часов. На следующий день проверяли чистоту культуры при увеличении в 20 раз. Если штамм вызывал сомнения, то производили пересев на плотную питательную среду путем откола единичных колоний под бинокулярной лупой с освещением и увеличением в 20 раз и посева секторами. При получении «чистой» культуры делали мазки на предметном стекле и окрашивали по Граму. Если микроорганизм при микроскопии соответствовал

описательным характеристикам указанного вида, то далее проводили масс-спектрометрическое исследование. При получении результата с высоким коэффициентом достоверности этот штамм подлежал дальнейшему исследованию.

В результате исследования чувствительности бактерий к антибиотикам все изоляты были разделены на 2 группы: 1) проявили чувствительность не менее, чем к 80% антибиотикам (чувствительные) и 2) имели устойчивость к 91% препаратов и более (резистентные). Обе группы были охарактеризованы и представлены в виде Баз данных Чувствительных (S) штаммов и Резистентных (R) по 60 представителей в каждой. Базы данных включали в себя следующие характеристики: номер штамма в рабочей коллекции; пол, возраст человека, от которого был выделен; исследуемый биологический материал; дата выделения; питательная среда, на которой выращивали бактерии; вид микроорганизма после масс-спектрометрического исследования; результаты определения чувствительности к антибиотикам капельным методом и МИК.

Обе Базы данных зарегистрированы в Федеральной службе по интеллектуальной собственности: RU № 2021621695 и RU № 2021621613.

Индекс множественной лекарственной устойчивости (multi-antibiotic resistance, MAR) рассчитывали, используя формулу $MAR = a/b$, где a - количество антибиотиков, к которым штамм проявляет устойчивость, b - общее количество использованных антибиотиков.

В результате полногеномного секвенирования ДНК 52 штаммов представителей бактерий группы ESKAPE было установлено:

– Геном штаммов *S. aureus* из группы резистентных включал в себя 10 генов резистентности: *blaZ*, *erm(C)*, *cat(pC221)*, *aac(6')-aph(2'')*, *mecA*, *tet(K)*, *erm(T)*, *vga(C)*, *vga(E)*, *amp(A)*.

– Геном штаммов *K. pneumoniae* из группы резистентных включал в себя следующие гены (37) резистентности: *armA*, *aadA1*, *aac(6')-lb3*, *aph(3')-VI*, *blaSHV-182*, *blaNDM-1*, *blaOXA-9*, *blaCTX-M-15*, *blaOXA-1*, *blaTEM-1A*, *fosA*,

msr(E), mph(E), mph(A), catA1, catB3, OqxB, OqxА, qnrS1, sul2, sul1, tet(A), dfrA1, dfrA5, rmtF, aac(6')-Ib-Hangzhou, blaSHV-89, blaSHV-85, blaSHV-79, blaSHV-56, blaSHV-40, blaSHV-182, blaDHA-24, blaDHA-7, catA2, qnrB9, dfrA14.

Нами была предпринята попытка соотнести генетические маркеры и фенотипические характеристики резистентности бактерий к антибиотикам (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Генетическая и фенотипическая характеристика резистентности штаммов к антибиотикам

Штамм	Генотип резистентности	Фенотип резистентности
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 0068	<i>armA</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин), <i>aadA1</i> (стрептомицин), <i>aac(6')-Ib3</i> (амикацин, тобрамицин), <i>aph(3')-VI</i> (амикацин), <i>blaSHV-182, blaNDM-1, blaOXA-9, blaCTX-M-15, blaOXA-1, blaTEM-1A</i> (ампициллин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>msr(E)</i> (эритромицин и азитромицин), <i>mph(E), mph(A), catA1, catB3</i> (хлорамфеникол), <i>OqxB, OqxА</i> (хлорамфеникол и налидиксовая кислота), <i>qnrS1</i> (ципрофлоксацин), <i>sul2</i> (сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i> (доксикалин и тетрациклин), <i>dfrA1</i> (триметоприм)	имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.
<i>Klebsiella</i>	<i>aph(3')-VI</i> (амикацин), <i>aac(6')-Ib-cr</i>	имипенем,

<i>pneumoniae</i> 0081	(ципрофлоксацин, тобрамицин, амикацин), <i>armA</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин), <i>aac(6')-Ib-Hangzhou</i> (амикацин, тобрамицин), <i>aph(2'')-If</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин, канамицин), <i>blaSHV-89</i> (амоксициллин, ампициллин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaSHV-85</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaSHV-79</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaSHV-56</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, пиперациллин + тазобактам, тикарциллин), <i>blaSHV-40</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaCTX-M-15</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaNDM-1</i>	левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.
------------------------	--	---

	<p>(амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+газобактам, темоциллин), <i>blaOXA-1</i></p> <p>(амоксициллин, ампициллин, амоксиклав, цефепим, пиперациллин, тикарциллин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>msr(E)</i></p> <p>(эритромицин, азитромицин), <i>mph(E)</i> (эритромицин), <i>mph(A)</i></p> <p>(эритромицин, азитромицин), <i>catB3</i> (хлорамфеникол), <i>OqxB</i></p> <p>(хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i></p> <p>(хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>qnrS1</i></p> <p>(ципрофлоксацин), <i>qnrB1</i></p> <p>(ципрофлоксацин), <i>ARR-2</i></p> <p>(рифампицин), <i>sul2</i></p> <p>(сульфаметоксазол), <i>sul1</i></p> <p>(сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i></p> <p>(доксциклин, тетрамицин), <i>dfrA5</i></p> <p>(триметоприм), <i>dfrA14</i></p> <p>(триметоприм).</p>	
--	--	--

<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> 0245</p>	<p><i>aac(3)-IIId</i> (гентамицин, тобрамицин), <i>rmtC</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин, канамицин), <i>aac(6')-Ib-cr</i> (тобрамицин, амикацин, нетилмицин, ципрофлоксацин,), <i>blaNDM-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+газобактам), <i>blaDHA-24</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам, тикарциллин), <i>blaDHA-7</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам, тикарциллин), <i>blaDHA-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин,</p>	<p>имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
--	--	--

	<p>пиперациллин+тазобактам, тикарциллин), <i>blaCTX-M-15</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaOXA-1</i> (амоксилав, ампициллин, цефепим, пиперациллин, пиперациллин+тазобактам), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>mph(A)</i> (эритромицин, азитромицин), <i>catB3</i> (хлорамфеникол), <i>catA2</i> (хлорамфеникол), <i>OqxB</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>qnrB9</i> (ципрофлоксацин), <i>sul1</i> (сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i> (доксидиклин, тетраамицин), <i>dfrA14</i> (триметоприм).</p>	
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> 0274</p>	<p><i>aadA2</i> (стрептомицин), <i>aph(6)-Id</i> (стрептомицин), <i>aph(3'')-Ib</i> (стрептомицин), <i>aph(3')-Ia</i> (неомицин, канамицин), <i>blaSHV-27</i> (амоксициллин, ампициллин,</p>	<p>имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин,</p>

	<p>азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>mph(A)</i> (эритромицин, азитромицин), <i>OqxV</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, триметоприм), <i>qnrS1</i> (ципрофлоксацин), <i>sul1</i> (сульфаметоксазол), <i>sul2</i> (сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i> (доксициклин, тетрациклин), <i>dfrA12</i> (триметоприм).</p>	<p>фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> 0322</p>	<p><i>aph(3')-VI</i> (амикацин), <i>armA</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин), <i>blaSHV-1</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaCTX-M-15</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaNDM-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим,</p>	<p>имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>

	<p>цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+тазобактам), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>msr(E)</i> (эритромицин, азитромицин), <i>mph(E)</i> (эритромицин), <i>OqxB</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>qnrS1</i> (ципрофлоксацин), <i>sul2</i> (сульфаметоксазол), <i>sul1</i> (сульфаметоксазол), <i>dfrA5</i> (триметоприм).</p>	
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> 0993</p>	<p><i>aadA1</i> (стрептомицин), <i>aac(6')-Ib</i> (амикацин, тобрамицин, канамицин), <i>aac(3)-IIa</i> (гентамицин, тобрамицин), <i>blaCTX-M-15</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaSHV-106</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим,</p>	<p>имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим,</p>

	цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaOXA-9</i> (амоксициллин, ампициллин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>aac(6')-Ib-cr</i> (тобрамицин, амикацин, ципрофлоксацин).	ципрофлоксацин.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2150	<i>aph(3')-VI</i> (амикацин), <i>armA</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин), <i>blaNDM-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+тазобактам), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>msr(E)</i> (эритромицин, азитромицин), <i>mph(A)</i> (эритромицин), <i>OqxB</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, триметоприм), <i>qnrS1</i> (ципрофлоксацин), <i>sul2</i> (сульфаметоксазол), <i>sul1</i> (сульфаметоксазол), <i>dfrA5</i>	имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

	(триметоприм).	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2512	<p><i>aph(6)-Id</i> (стрептомицин), <i>aph(3'')</i>-<i>Ib</i> (стрептомицин), <i>aac(3)-IIId</i> (гентамицин, тобрамицин), <i>blaSHV-61</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaCTX-M-14</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaLAP-2</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaTEM-1B</i> (амоксициллин, ампициллин, цефалотин, пиперациллин, тикарциллин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>catA2</i> (хлорамфеникол), <i>OqxB</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>OqxA</i> (хлорамфеникол, налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, триметоприм), <i>qnrS1</i> (ципрофлоксацин), <i>sul1</i> (сульфаметоксазол), <i>sul2</i> (сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i></p>	<p>имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>

	(доксциклин, тетрациклин), <i>dfrA1</i> (триметоприм).	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 6725-5	<i>aph(6)-Id</i> (стрептомицин), <i>aph(3'')-Ib</i> (стрептомицин), <i>aac(3)-IIId</i> (гентамицин, тобрамицин), <i>aadA1</i> (стрептомицин), <i>aac(6')-Ib-cr</i> (тобрамицин, амикацин, нетилмицин, цiproфлоксацин), <i>rmtC</i> (амикацин, гентамицин, тобрамицин, канамицин), <i>blaNDM-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+газобактам), <i>blaDHA-24</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам, тикарциллин, тикарциллин+клавулановая кислота), <i>blaDHA-7</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам,	имипенем, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефалексин, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

	<p>тикарциллин, тикарциллин+клавулановая кислота), <i>blaDHA-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам, тикарциллин, тикарциллин+клавулановая кислота), <i>blaCTX-M-15</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>blaOXA-9</i> (амоксициллин, ампициллин), <i>blaOXA-1</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, пиперациллин, пиперациллин+газобактам), <i>blaSHV-106</i> (амоксициллин, ампициллин, азтреонам, цефепим, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, пиперациллин, тикарциллин), <i>fosA6</i> (фосфомицин), <i>fosA</i> (фосфомицин), <i>mph(A)</i> (эритромицин, азитромицин), <i>catB3</i> (хлорамфеникол), <i>catA2</i> (хлорамфеникол), <i>qnrB9</i></p>	
--	---	--

	<p>(ципрофлоксацин), <i>qnrS1</i></p> <p>(ципрофлоксацин), <i>OqxA</i></p> <p>(хлорамфеникол, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, триметоприм), <i>sul2</i></p> <p>(сульфаметоксазол), <i>sul1</i></p> <p>(сульфаметоксазол), <i>tet(A)</i></p> <p>(доксидиклин, тетрациклин), <i>dfrA14</i></p> <p>(триметоприм), <i>dfrA5</i></p> <p>(триметоприм).</p>	
<i>Staphylococcus aureus</i> 1509	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин),</p> <p><i>erm(C)</i> (эритромицин, линкомицин, клиндамицин)</p>	<p>ванкомицин,</p> <p>доксидиклин,</p> <p>клиндамицин,</p> <p>левофлоксацин,</p> <p>меропенем,</p> <p>оксациллин,</p> <p>офлоксацин,</p> <p>рокситромицин,</p> <p>цефазолин,</p> <p>цефтазидим,</p> <p>цефтриаксон,</p> <p>цефуроксим,</p> <p>ципрофлоксацин.</p>
<i>Staphylococcus aureus</i> 1516	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин),</p> <p><i>cat(pC221)</i> (хлорамфеникол)</p>	<p>ванкомицин,</p> <p>доксидиклин,</p> <p>клиндамицин,</p> <p>левофлоксацин,</p> <p>меропенем,</p>

		<p>оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> 2808</p>	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин)</p>	<p>ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> 4601</p>	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин)</p>	<p>ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин,</p>

		рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.
<i>Staphylococcus aureus</i> 4624	<i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин)	ванкомицин, доксциклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.
<i>Staphylococcus aureus</i> 4687	<i>aac(6')-aph(2'')</i> (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, канамицин, амикацин, стрептомицин), <i>tesA</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин,	ванкомицин, доксциклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин,

	<p>пиперациллин+тазобактам), <i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин), <i>tet(K)</i> (доксциклин, тетрациклин)</p>	<p>цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> 4688</p>	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин), <i>erm(C)</i> (эритромицин, линкомицин, клиндамицин)</p>	<p>ванкомицин, доксциклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> 4724-5</p>	<p><i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин)</p>	<p>ванкомицин, доксциклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон,</p>

		цефуроксим, ципрофлоксацин.
<i>Staphylococcus aureus</i> 4750	<i>mecA</i> (амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, цефепим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+тазобактам), <i>erm(C)</i> (эритромицин, линкомицин, клиндамицин), <i>tet(K)</i> (доксициклин, тетрациклин)	ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.
<i>Staphylococcus aureus</i> 4844	<i>blaZ</i> (амоксициллин, ампициллин, пенициллин, пиперациллин), <i>erm(T)</i> (эритромицин, линкомицин, клиндамицин)	ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, меропенем, оксациллин, офлоксацин, рокситромицин, цефазолин, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин.

Как видно из полученных данных, штаммы *K. pneumoniae* и *S. aureus* обладают большим набором генов антибиотикорезистентности и проявляют ее в фенотипических тестах. Поэтому необходимы поиски альтернативных соединений для борьбы с резистентными штаммами.

ГЛАВА IV. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE

4.1. Вещества растительного происхождения.

4.1.1. Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты

Нановолокна на основе куркумина и гиалуроновой кислоты синтезированы в Центре химической инженерии Национального университета ИТМО (Санкт-Петербург). Были отобраны образцы в количестве 3 штук, а также контрольные образцы, в четырех концентрациях (гиалуроновая кислота и куркумин соответственно): 1:0, 25:1, 15:1, 5:1. Потенциальное использование образцов предполагается в качестве наружных повязок для хирургии и травматологии. Исходя из этого была собрана панель микроорганизмов.

Подготовкам к экспериментам. Совместно с сотрудниками Центра химической инженерии готовили образцы натриевой соль гиалуроновой кислоты (ГК) из *Streptococcus equi*, которая была приобретена у компании Bloomage Freda Biopharm Corporation Limited (Цзинань, Китай). Диметилсульфоксид (ДМСО, 99,5% ACS, MW = 78,13 г/моль) был получен от ОАО «ЭКОС-1» (Москва, Россия). Порошок куркумина из *Curcuma longa* (куркума) (MW = 368,38 г/моль, процентное содержание 95,0%), фосфодиэтилсульфоксид (ACS) (99,0%). процент 95,0%), фосфатно-буференный физраствор (PBS, pH 7,4) и этанол были получены от Sigma-Aldrich (Сент-Луис, МО, США). Все химические вещества использовались без дополнительной очистки. Дистиллированную воду получали с помощью дистилляционного аппарата. Натриевая соль гиалуроновой кислоты (ГК) была выбрана в качестве полимерной основы для нетканых нановолокнистых материалов, полученных методом электропрядения. В качестве соразтворителя использовали ДМСО. В качестве биологически активного агента был использован куркумин природного происхождения. Спанлейс (вискоза с полиэфиром в соотношении 1:1) была получена от ООО «Элегрин»

(Санкт-Петербург, Россия) и использована в качестве подложки для нановолокон.

Натриевую соль гиалуроновой кислоты растворяли в бинарной смеси растворителей (дистиллированная вода/ДМСО) для получения раствора с концентрацией полимера, равной 19,0 мг/мл [17]. Образующиеся полимерные растворы перемешивали при комнатных условиях, применяя магнитную мешалку. Нановолокнистые мембраны получали методом электроспиннинга с помощью NANON-01A (MECC CO., LTD., Фукуока, Япония). Методика получения нановолокон методом электроспиннинга и принципиальная схема этого процесса подробно рассмотрены в предыдущей публикации [18]. Технологические параметры электроспиннинга приведены в таблице X.

Исследование волокон проводили на основе нативной гиалуроновой кислоты, куркумина и усниновой кислоты со средним диаметром 298 нм. Нестабильный и гидрофобный куркумин и усниновую кислоту загружали в матрицу гидрофильной гиалуроновой кислоты без использования активирующих (катализирующих) агентов, что приводило к образованию раствора, пригодного для электропрядения. В качестве растворителя использовалась только бинарная смесь деионизированная вода и диметилсульфоксид (50:50).

Составы прядильных растворов, из которых методом электроформования были получены волокна, вид и шифры образцов приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1.

Состав прядильных растворов, из которых получены нановолокна для образцов из куркумина

Состав раствора, из которого методом электроформования получены нановолокна	Вид и шифр образцов	
	С подложкой «Спанлейс»	Без подложки
Гиалуроновая кислота 1,9%, дист. вода:ДМСО 1:1 Без добавления куркумина	ГК_0П	ГК_0
Гиалуроновая кислота 1,9%, дист. вода:ДМСО 1:1 + куркумин; ГК:кур = 25:1 (по массе)	ГК_25П	ГК_25
Гиалуроновая кислота 1,9%, дист. вода:ДМСО 1:1 + куркумин; ГК:кур = 15:1 (по массе)	ГК_15П	ГК_15
Гиалуроновая кислота 1,9%, дист. вода:ДМСО 1:1 + куркумин; ГК:кур = 5:1 (по массе)	ГК_5П	ГК_5

Нановолокна проявили антибактериальную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий группы ESKAPE, преимущественно подавив рост 4 из 6 видов микроорганизмов. Зоны задержки роста для грамположительных бактерий составляли от 9,0 до 19,0 мм, а для грамотрицательных – от 6,0 до 14,0 мм. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) были определены для четырех нановолокон. Причем, подавление грамотрицательных бактерий под действием куркумина было продемонстрировано нами впервые (рис. 4.2).

Таблица 4.2

Зона задержки роста полирезистентных бактерий группы ESKAPE (мм)

Шифр образца	Объекты воздействия					
	<i>E. cloacae</i> (M±m)	<i>S. aureus</i> (M±m)	<i>K. pneumoniae</i> (M±m)	<i>A. baumannii</i> (M±m)	<i>P. aeruginosa</i> (M±m)	<i>E. faecalis</i> (M±m)
ГК_0П	0±0,3	0±0,5	0±0,6	0±0,6	6±0,6	0±0,6
ГК_0	0±0,6	0±0,5	0±0,5	0±0,3	6±0,3	0±0,3
ГК_25П	0±0,6	9±1,6	0±0,3	0±0,5	6±1	0±0,6
ГК_25	6±0,6	19±1,3	0±0,6	6±0,3	9±0,3	0±0,3
ГК_15П	6±0,3	13±1,6	0±0,5	0±0,6	11±1,3	9±1,3
ГК_15	13±1,6	10	0±0,3	0±0,5	13±1,6	10±0,6
ГК_5П	9±1,3	15±0,6	0±0,5	6±0,3	14±1,6	13±1,3
ГК_5	7±1,3	11	0±0,3	0±0,3	11±0,3	10±0,6

Таблица 4.3

МИК соединений по отношению к штаммам группы ESKAPE

Образец	Изоляты					
	<i>E. cloacae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>
НА_15п	360 (3×)	90 (2×), 180	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	90, 180 (2×)	90 (3×)
НА_15	90 (3×)	90 (3×)	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	90 (3×)
НА_5п	90 (3×)	90 (3×)	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	90 (3×)
НА_5	90 (3×)	90 (2×), 180	180, 360 (2×)	180, 360 (2×)	90, 180 (2×)	90 (3×)
К- 20% ДМСО	-	-	-	-	-	-

Медиана	360	90	360	360	180	90
Примечание: расширение “п” означает наличие подложки “Spunlace”						

По результатам исследований было выявлено, что присутствие небольших количеств диметилсульфоксида в волокнистых материалах придало им антисептическое действие. Исследование волокон на основе чистой гиалуроновой кислоты без дополнительных полимеров и с активными фармацевтическими ингредиентами послужило основой для разработки высокоэффективных повязок на раны и новых каркасов для доставки лекарств.

Поскольку в развитии раневых инфекций этиологическим фактором часто выступают госпитальные штаммы, обладающие множественной резистентностью к антибиотикам, то в исследование, кроме референтных штаммов, были включены полирезистентные бактерии, выделенные из раневого отделяемого стационарных больных.

Результаты определения антибактериальной активности разработанных волокон приведены в Таблице 4.1.

По результатам проведенных исследований установлено, что синтезированные соединения ГК_15П, ГК_15, ГК_5П и ГК_5 оказались наиболее эффективными в отношении бактерий *S. aureus* и *P. aeruginosa*, которые часто являются возбудителями длительно незаживающих ран. Поэтому легкие и гигроскопичные покрытия, содержащие куркумин и гиалуроновую кислоту, могут быть использованы в ожоговых центрах и хирургических отделениях как альтернатива антибиотикам в случае выделения у больного соответствующих микроорганизмов.

Таким образом, созданы предпосылки, в том числе, для создания высокоэффективных антибиотиков на основе природных БАВ, имеющих минимальные побочные эффекты.

4.2. Соединения на основе минералов

4.2.1. Соединения кремния (Si) и селена (Se)

Соединения, содержащие наночастицы кремния и селена, были синтезированы в Национальном университете ИТМО (Санкт-Петербург). Препараты представляют собой коллоидные растворы, содержащие различные концентрации наночастиц кремния, и растворы, содержащие различные концентрации наночастиц селена (рис. 4.1).

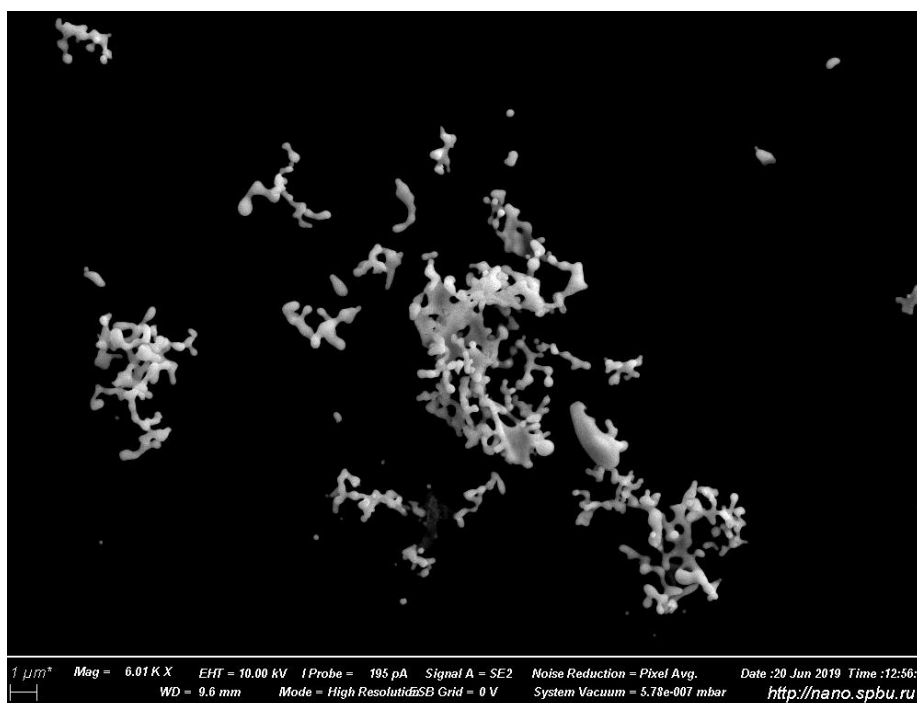


Рисунок 4.1 – Наноструктуры частиц селена под электронным микроскопом (10000X)

На первом этапе проводили скрининг антибактериальной активности соединений капельным методом на плотной питательной среде, инокулированной бактериальными взвесями 0,5 MF (рис. 4.2).

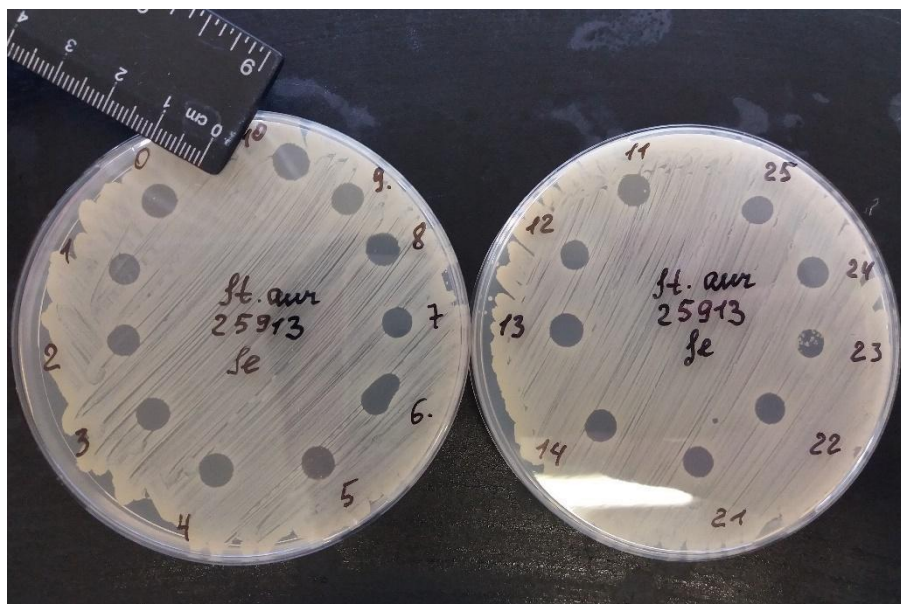


Рисунок 4.2 – Результаты скрининга антибактериальной активности селена в отношении референтного штамма *S. aureus*

После получения положительных результатов отбирали соединения для дальнейшего их исследования в отношении бактерий группы ESKAPE. Для этого соединяли в соотношении 1:1 коллоидный раствор наночастиц селена или кремния и физиологического раствора, содержащего $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл бактерий группы ESKAPE. По 100 мкл взвеси сразу высевали на МПА и в пробирку с 5 мл МПБ. Оставшуюся взвесь использовали для посева через час совместной экспозиции. Из нее по 100 мкл также высевали на МПА и МПБ. Чашки и пробирки с посевами помещали на 24 часа в термостат при температуре $+37^\circ\text{C}$. На следующий день из пробирок производили высев на МПА, чашки инкубировали при температуре $+37^\circ\text{C}$ 24 часа. Параллельно выращивали контрольные чашки и пробирки с бактериями без соединений селена и кремния. В конце эксперимента отмечали антибактериальный эффект в сравнении с контрольными чашками и пробирками (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Исследование антибактериального действия коллоидных растворов
наночастиц селена и кремния

№ п/п	Соединен ие	Рост <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> на МПА (экспозиция : 0', 60')	Рост <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> на МПБ	Рост <i>S.</i> <i>aureus</i> на МПА (экспозици я: 0', 60')	Рост <i>S.</i> <i>aureus</i> на МПБ	Рост <i>K.</i> <i>pneumo</i> <i>niae</i> на МПА ч/з 24 ч	Рост <i>S.</i> <i>aureus</i> на МПА ч/з 24 ч
		1	Si-1	XX; X	отсутствует	XXX; XX	XX
2	Si-2	XX; ед. колонии	отсутствует	XXX; XX	XX	нет роста	XXX
3	Si-3	XXX; ед. колонии	отсутствует	XX; XX	XXX	XX	XXX
4	Se-1	XX; ед. колонии	отсутствует	XX; XX	XXX	нет роста	XXX
5	Se-2	XX; ед. колонии	отсутствует	XXX; XX	X	XX	XXX
6	Se-3	XX; ед. колонии	отсутствует	XXX; XX	X	нет роста	XXX

Примечание:

0 – отсутствие бактерицидного эффекта

x – слабый бактерицидный эффект

xx – бактерицидный эффект средней степени

xxx – выраженный бактерицидный эффект

По результатам наших исследований мы выявили, что присутствие небольших количеств минералов в растворах показало антибактериальный эффект в отношении бактерий группы ESKAPE. Исследование наночастиц с содержанием металлов в разных временных интервалах заложило для нас основу по исследованию лучшего времени активации препаратов. Так, с

увеличением времени контакта бактерий и частиц растворов улучшался антибактериальный эффект. Поэтому коллоидные растворы на основе наночастиц селена и кремния могут в перспективе быть использованы для наружного применения или в качестве ополаскивателей.

4.2.2. Соединения титана (Ti) и серебра (Ag)

Сочетание нанопленок титана и наночастиц серебра используется для покрытий титановых имплантатов в стоматологии. Титановые пластины с напылением из частиц серебра разработаны в Санкт-Петербургском государственном университете.

Для изучения антибактериальных свойств *in vitro* были подготовлены следующие четыре типа образцов:

- полированный титан (Ti);
- титан с ALD серебряными NPs (Ti-Ag);
- титан с ALD нанопокрывтием из оксида титана (Ti-TiO₂);
- титан с ALD нанопокрывтиями оксида титана и серебряных НП (Ti-TiO₂-Ag).

Покрывтия представляют собой поликристаллическую структуру (рис. X). Морфология образцов для экспериментов *in vitro* была изучена с помощью сканирующей электронной микроскопии. Исходная поверхность полированного титана гладкая, без каких-либо частиц или дефектов. Для образцов Ti-Ag характерна поверхность с серебряными наночастицами средним диаметром около 16-22 нм (рис. 4.3).

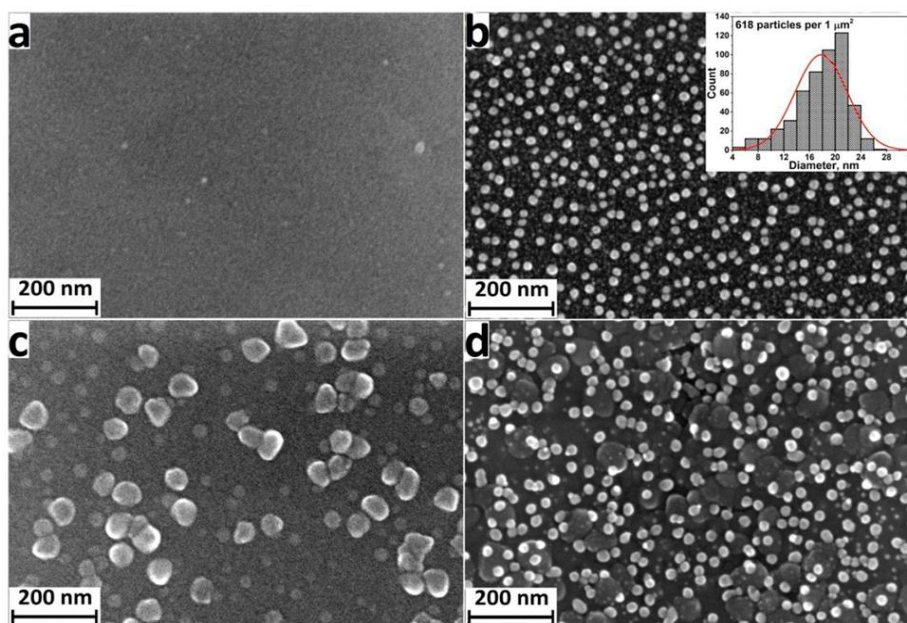


Рисунок 4.3 – Поверхность титановой пластины с напылением наночастиц серебра. СЭМ (300 000X).

Поверхность образцов Ti-TiO₂ характеризуется непрерывным слоем оксида титана с крупными (более 50 нм) и мелкими (20-30 нм) частицами. На поверхности образцов Ti-TiO₂-Ag наблюдаются как крупные частицы оксида титана, так и мелкие наночастицы серебра. Состав покрытий был подтвержден с помощью элементного анализа SEM-EDS.

Для оценки гидрофильности исследуемых образцов разработчиками пластин были измерены контактные углы с водой и диiodметаном. На основании полученных данных были проведены расчеты общей поверхностной свободной энергии и ее полярной и дисперсной составляющих. Поверхность полированного титана является слабо гидрофильной. Примечательно, что автоклавирование, используемое для дезинфекции материала перед исследованием *in vitro*, привело к увеличению гидрофильности поверхности для титана и титана с нанослоем TiO₂. В то же время, для образцов, содержащих серебро, автоклавирование уменьшило количество свободной энергии и гидрофильность.

Оценка антибактериальных свойств проводилась в соответствии со стандартом ISO 22196:2011 (измерение антибактериальной активности на пластмассах и других непористых поверхностях). Анализ проводился в пяти

экспериментах для каждого образца. Образцы титана были автоклавированы в водяных парах при 121°C и давлении 1,1 атмосферы. Мюллер Хинтон Агар (МНА) стерилизовали автоклавированием при 121°C и давлении 1,1 атмосферы в течение 30 мин. 20 мл теплой среды разливали в чашки Петри (Nuns, Дания) и давали остыть при температуре окружающей среды. Затем штамм *S. aureus* ATCC 25923 культивировали в говяжьем экстракте-пептоне (БЕР) при 37°C в течение 24 ч и довели до концентрации 10^7 и 10^6 КОЕ/мл. Затем 0,4 мл суспензии *S. aureus* инокулировали на образцы и накрывали квадратом из пленки парафильма (4 см × 4 см). Чашки Петри с инокулированными образцами (по три образца каждого типа) инкубировали при 37°C в течение 24 ч. После этого кусочки пленки были перенесены с исследуемых образцов в стерильные пробирки, содержащие 9 мл 0,9% NaCl на 1 ч. После экспозиции 1 мл физраствора переносили в питательную среду и инкубировали при 37°C в течение 24 ч. После чего производили подсчет количества КОЕ. Дизайн эксперимента представлен на рис. 4.4.

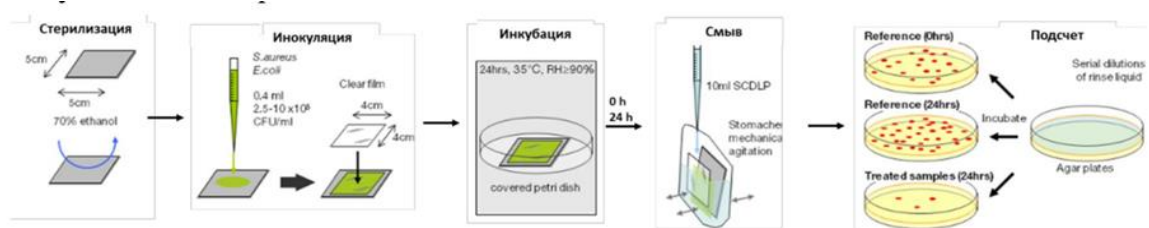


Рисунок 4.4 – Схема постановки эксперимента с титановыми пластинами

Значительная бактерицидная способность была обнаружена для образцов со слоем TiO_2 , который снижал исходное количество КОЕ на 4-5 порядков. Образцы Ti-Ag с серебряными наночастицами показали более высокую антибактериальную активность. Это объясняется тем, что высвобождающиеся ионы Ag^+ проявляют мощное бактерицидное действие. В свою очередь Ti обладает высокой биосовместимостью и стабильностью. Поэтому образцы серии Ti- TiO_2 -Ag продемонстрировали наилучшую антибактериальную активность против *S. aureus*, который является одной из основных причин отторжения ортопедических имплантатов (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Зависимость антибактериальной активности титановых пластин в отношении *S. aureus* в зависимости от их химического состава

Образец	Исходное количество бактерий (КОЕ/мл)	Количество бактерий после контакта с пластиной (КОЕ/мл)
Ti	10 ⁵	10 ⁴
Ti-TiO ₂	280	150
Ti-Ag	140	80
Ti-TiO ₂ -Ag	85	42

В связи с этим материал с комбинацией покрытий TiO₂ и Ag имеет большие перспективы для предотвращения бактериальной адгезии и образования биопленки, которая может стать причиной инфекции, связанной с ортопедическими имплантатами после операции.

4.2.3. Биоцидная латунь (Cu-Zn)

Более того, значительный синергетический антибактериальный эффект ионов Zn и Cu против *S. aureus* был выявлен после сонохимической обработки частиц латуни [173].

Сплав Cu-Zn был разработан и изготовлен на базе Национального университета ИТМО. Для этого 5 г сплава Cu-Zn были рассеяны в 100 мл 0,5 М NaOH. Раствор был соникирован с использованием ультразвуковой системы UIP1000hd (Hielscher Ultrasonics, Германия) в течение 30 минут и различной амплитудой 30%, 70%, 90% А. Образцы соникировали с амплитудой 30 ÷ 90%, что соответствует интенсивности 52 ÷ 200 Вт см⁻². После этого порошок Cu-Zn был разделен на две фракции (серую и желтую). Все образцы трижды промывали дистиллированной водой и высушивали на

воздухе при температуре 120 °С в течение 24 часов. Морфология образцов изучалась с помощью полевого сканирующего электронного микроскопа.

Гипотеза заключалась в изучении биоцидной активности образцов, которые одновременно выделяют ионы меди и цинка. Один образец был выбран для микробиологического эксперимента. В наших предыдущих исследованиях было показано, что наночастицы меди продемонстрировали антибактериальный механизм, основанный на токсическом эффекте, зависящем от способности обмениваться степенью окисления между Cu^+ и Cu^{2+} благодаря тому, что медь генерирует активные формы кислорода на поверхности, повреждающие бактериальную клетку. Одновременное высвобождение ионов меди и цинка должно представлять собой синергетический биоцидный эффект. Кроме того, очень перспективным способом контроля роста бактерий является использование материалов с градиентными функциями. В зависимости от режима ультразвукового воздействия мы можем получить фракции, способные высвободить различное количество ионов меди или цинка. В частности, фракция А преимущественно высвобождает ионы меди, в то время как фракция В высвобождает ионы цинка. Известный штамм бактерий *E. coli*, был выбран для тестирования фракции сплава Cu-Zn.

Биоцидная активность модифицированных частиц изучалась с использованием культуры бактерий *Escherichia coli* (ATCC 25922). Каплю раствора частиц объемом 5 мкл инкубировали в течение 24 часов при 37 °С на выращенном бактериальном газоне, был измерен диаметр зоны ингибирования. Разница зон ингибирования коррелировала с различными содержащими ионы меди. Все эксперименты проводились в трех повторностях. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 4.5.

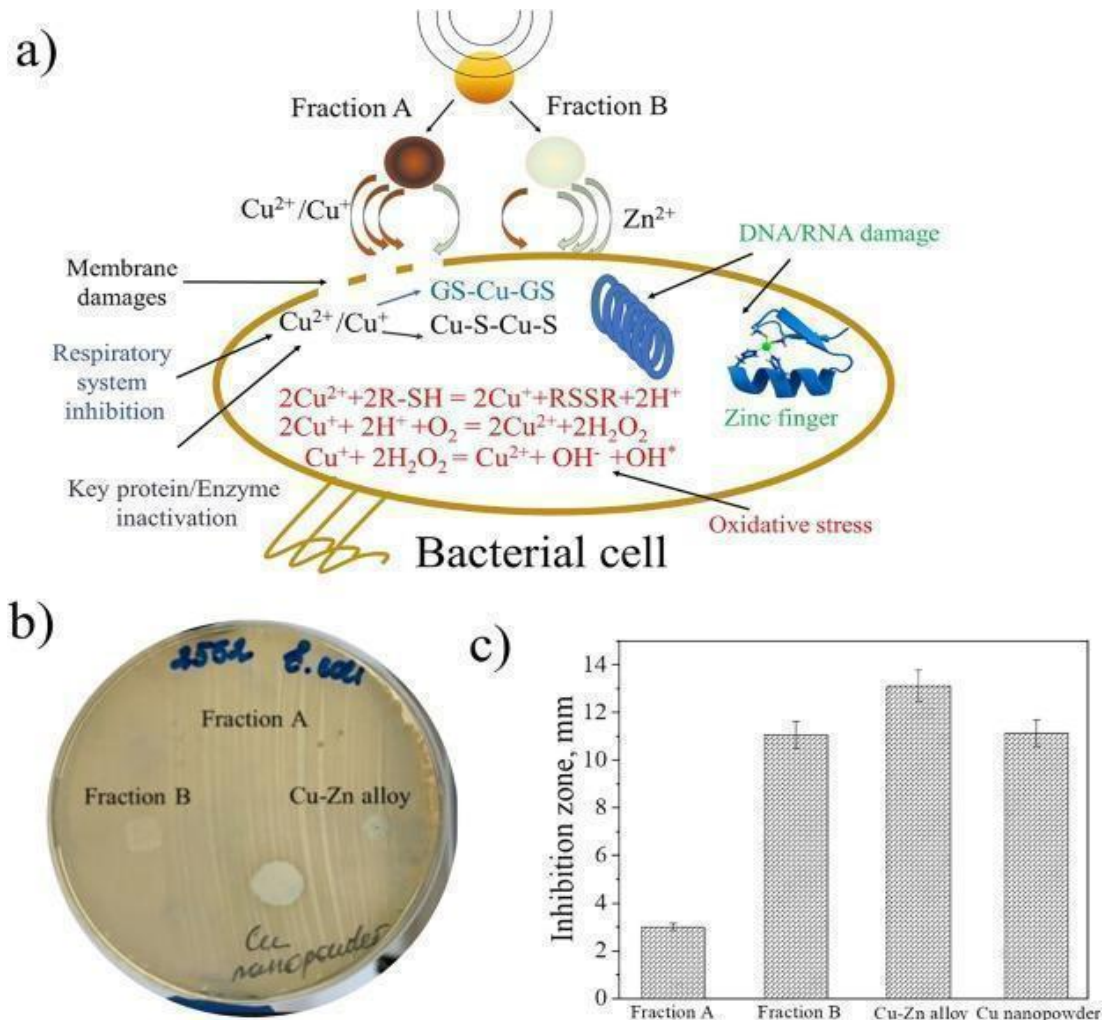


Рисунок 4.5 – Результаты антибактериальной активности биоцидной латуни.

а) Предполагаемые механизмы, участвующие в уничтожении бактерий: прямое разрушение мембраны $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ (черный путь); взаимодействие между ионами меди и глутатионом в анаэробных условиях (синий путь) и смещение железа из железо-серных кластеров (темно-синий путь), генерация реактивных видов кислорода путем формирования перекиси водорода в присутствии $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$, инактивация ключевых белков/ферментов, среди которых участвуют в дыхательной системе, а также повреждения РНК и ДНК.

б) Биоцидная активность наноструктурированного сплава Cu-Zn (образец 2) была оценена с использованием *E. coli*. в) Диаметр зоны ингибирования подготовленных частиц Cu-Zn.



Рис 4.6. Зоны ингибирования подготовленных частиц Cu-Zn.

Таблица 4.6

Антибактериальная активность частиц Cu-Zn

Образец	Зона задержки роста, мм ($M \pm m$)
Фракция А	3 ± 1
Фракция Б	$11 \pm 0,6$
Cu-Zn	$13 \pm 1,6$
Порошок Cu	$11 \pm 0,3$

Как видно на рисунке 4.6 и в таблице 4.6, биоцидная активность фракции Б намного выше, чем у фракции А. Этот эффект может быть обусловлен различным фазовым составом полученных образцов и, следовательно, высвобождением различных ионов. В частности, установлено, что фракция А преимущественно высвобождает ионы меди. Напротив, фракция Б

преимущественно высвобождает ионы цинка, а концентрация ионов меди примерно в два раза ниже концентрации ионов меди, выделяемых из фракции А. Частицы меди использовались в качестве еще одного контрольного образца. Зона ингибирования фракции А, которая преимущественно высвобождает ионы меди, примерно в четыре раза меньше зоны ингибирования чистых частиц меди. Этот эффект может быть обусловлен более низким содержанием меди в латуни. Однако, что еще более важно, является биоцидная активность фракции В, которая значительно выше, чем биоцидная активность фракции А, и почти сопоставима с биоцидной активностью частиц меди. Для сравнения, концентрация высвобождаемых ионов меди намного ниже, чем концентрация ионов меди, выделяемых фракцией А. Этот эффект может быть вызван синергетическим действием ионов меди и цинка.

Известно несколько механизмов бактерицидной активности ионов меди. Первый, ионы меди, выделяющиеся из частиц меди, может попасть в строительный блок клеточной мембраны (белок или жирная кислота). Кроме того, Cu^+ и Cu^{2+} могут привести к истощению тиола и глутатиона в анаэробных условиях (синий путь) и вытеснению железа из железо-серных кластеров (темно-синий путь). Известно также, что ионы меди производят активные виды кислорода. Таким образом, один из способов производства H_2O_2 в реакциях приводит к истощению сульфгидрильных групп (R-SH) через цикл между ионами Cu^+ и Cu^{2+} . Все эти эффекты приводят к инактивации ключевых белков и ферментов, которые участвуют в дыхательной системе, а окислительный стресс и повреждение ДНК приводят к гибели бактериальных клеток. Антибактериальный механизм ионов цинка может быть связан с взаимодействием между ионами цинка и молекулами белка. Спонтанное связывание этих белков может нарушить бактериальный метаболизм и синтез ДНК.

Таким образом, в настоящем исследовании мы продемонстрировали концепцию изготовления материалов с градиентной биоцидной активностью.

Антибактериальный механизм сплава Cu-Zn может быть легко изменен путем сонохимической обработки с образованием фракций. В свою очередь, такой сплав может быть использован при изготовлении имплантантов и частей медицинского оборудования.

4.3. Вещества полусинтетического и синтетического происхождения

4.3.1. Нитрофураны

Спироциклические аналоги нитрофуранов (12 соединений) были синтезированы в Санкт-Петербургском государственном университете.

Тестирование антибактериальной активности препаратов в отношении бактерий группы ESKAPE начинали со скринингового метода, описанного ранее. Для этого соединения (1 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (10 мл) и разбавляли до объема 1 мл деионизированной водой. В чашку Петри, содержащую Мюллер-Хилтон агар, инокулированный бактериальной суспензией (ОД МакФарланда 0,5) добавляли 5 мл раствора, содержащего 5 мг соединения. После высыхания раствора соединения чашку Петри инкубировали при 37°C в течение 18 ч. Восприимчивость к препарату оценивали путем измерения диаметра зоны ингибирования роста бактерий вокруг диска с ципрофлоксацином в сравнении с диаметром зоны задержки роста под каплей соединения. Изучено антибактериальное действие 24 образцов.

Пять соединений (9a-b, 9d, 10d и 10e), показавших самые низкие значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК), были проанализированы на предмет критических характеристик, определяющих лекарственную привлекательность и перспективы достаточно высокой пероральной биодоступности. Примечательной особенностью пяти наиболее активных соединений, исследованных в данной работе, является узкий диапазон рассчитанной общей площади полярной поверхности, в который попадают эти соединения. Это согласуется со значимостью данной характеристики для проницаемости клеточной стенки бактерий.

Наибольшая антибактериальная активность была отмечена против трех патогенов ESKAPE (*S. aureus*, *A. baumannii* и *E. cloacae*), хотя она была ниже, чем активность ципрофлоксацина (использованного в качестве положительного контроля). (таб. 4.7).

Таблица 4.7

Результаты первичного скрининга соединения-лидера из кандидатов среди спироциклических аналогов нитрофуранов.

Вещество	<i>E. faecium</i> (M±m)	<i>S. aureus</i> (M±m)	<i>K. pneumoniae</i> (M±m)	<i>A. baumannii</i> (M±m)	<i>P. aeruginosa</i> (M±m)	<i>E. aerogenes</i> (M±m)
9d	0±0,3	15±1,6	0±0,6	25±1,3	0±0,3	19±1,6
Ципрофлоксацин	25	27	26	31	25	26

Нитрофураны 4a-м были протестированы на грамположительных (*S. aureus* и *E. faecium*) и грамотрицательных (*E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*) бактериях группы ESKAPE. Два нитрофурановых антибиотика — нитрофурантоин и фуразидин, а также фторхинолиновый антибиотик широкого спектра действия ципрофлоксацин были использованы в качестве контроля для сравнения антибактериального действия. Соединения были первоначально протестированы в одной концентрации для определения диаметра зоны ингибирования роста бактерий (табл. 4.8).

Для удобства в дальнейшем обозначения в таблицах вместо названий видов исследуемых бактерий группы ESKAPE (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*) будут использованы обозначения: E1, S, K, A, P, K2.

Таблица 4.8

Результаты определения антибактериальной активности соединений

4а-м в отношении бактерий группы ESKAPE

(капельный метод (КМ), мм и МИК, мкг/мл)

Вещество	E1 (M±m)		S (M±m)		K (M±m)		A (M±m)		P (M±m)		E2 (M±m)	
	КМ	МИК	КМ	МИК	КМ	МИК	КМ	МИК	КМ	МИК	КМ	МИК
4а	17 ±1,6	0,25 ±0,03	17 ±0,6	0,06 ±0,003	7 ±1	0,25 ±0,01	0 ±0,6	-	0 ±0,6	-	9 ±1,3	0,25 ±0,3
4b	0 ±0,3	-	0 ±0,5	-	0 ±0,3	-	0 ±0,6	-	0 ±0,5	-	0 ±0,6	-
4с	0 ±0,6	-	0 ±0,5	-	0 ±0,6	-	0 ±0,6	-	0 ±0,3	-	0 ±0,3	-
4d	0 ±0,6	-	10 ±1	0,43 ±0,3	6 ±1,3	1,75 ±0,6	0 ±0,6	-	0 ±0,5	-	0 ±0,5	-
4е	14 ±1,6	0,45 ±0,3	15 ±1,3	0,23 ±0,03	7 ±1,6	0,45 ±0,3	0 ±0,3	-	0 ±0,6	-	0 ±0,3	-
4f	11 ±2,3	0,78 ±0,3	11 ±0,6	1,55 ±0,3	0 ±0,6	-	0 ±0,5	-	0 ±0,3	-	13 ±1,3	1,55 ±0,3
4g	10 ±0,6	1 ±0,6	17 ±1	0,5 ±0,3	8 ±1,6	0,5 ±0,3	0 ±0,5	-	0 ±0,6	-	13 ±0,6	0,5 ±0,3
4h	0 ±0,6	-	9 ±0,6	0,43 ±0,03	7 ±0,3	0,43 ±0,6	0 ±0,5	-	0 ±0,5	-	0 ±0,3	-
4i	0 ±0,3	-	16 ±1,6	0,39 ±0,3	6 ±1,6	0,78 ±0,3	0 ±0,3	-	0 ±0,3	-	9 ±1,6	1,55 ±0,3
4j	12 ±1,6	2 ±0,3	19 ±1,6	0,53 ±0,3	6 ±0,3	2,1 ±0,3	0 ±0,6	-	0 ±0,3	-	13 ±0,6	1,05 ±0,3
4k	0 ±0,3	-	18 ±1,3	0,6± 0,03	9 ±1,3	0,83 ±0,03	0 ±0,5	-	0 ±0,5	-	15 ±2,3	0,66 ±0,3
4l	15	0,93	9 ±0,6	0,93	5	1,85	0	-	0	-	0	-

	±1,6	±0,3		±0,3	±1,3	±0,3	±0,5		±0,6		±0,3	
4m	7 ±1,0	0,61 ±0,1	11 ±1,6	0,61 ±0,03	9 ±1,3	2,45 ±0,3	0 ±0,5	-	0 ±0,6	-	0 ±0,6	-
Фузидин	13	32	23	8	14	32	0	-	0	-	21	2
Нитрофурантоин	15	8	21	4	12	64	0	-	0	-	24	4
Ципрофлоксацин	-	1,25	-	1,25	-	0,6	-	2,5	-	0,6	-	0,3

Как видно из данных, обобщенных в таблице 4,8, все соединения 4a-m демонстрировали отчетливо «нитрофурановый» профиль, поскольку подобно нитрофурантоину и фузидину ни одно из этих соединений не проявляло никакой активности по отношению к *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Другим очевидным и несколько удивительным итогом является полное отсутствие антибактериальной активности соединений 4b и 4c на всей панели ESKAPE. Помимо этих пустот в профиле активности и нескольких других случаев отсутствия активности (см. 4c-d, 4h-I и 4k против *E. cloacae*; 4f против *K. pneumoniae*; 4d-e и 4l-m против *E. faecalis*). С точки зрения общего профиля активности против всех четырех патогенов (*E. cloacae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *E. faecalis*) соединение 4a проявило себя как убедительный лидер, демонстрируя низкие значения МИК против этих бактерий.

Важно отметить, что помимо отчетливо простого одноэтапного синтеза этого соединения из легкодоступных коммерческих прекурсоров, это вещество привлекательно с точки зрения дальнейшего развития, учитывая

низкую стоимость и удобство синтеза большого количества этого соединения для последующей оценки эффективности *in vivo*.

После учета результатов вещества были оптимизированы и исследованы повторно. Так же как антибиотики фуразидин и нитрофурантоин, вновь синтезированные вещества не проявили активности в отношении *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Однако в отношении остальных четырех патогенов уровень активности значительно превышал таковой у фуразидина и нитрофурантоина и не уступал антибактериальному потенциалу ципрофлоксацина. Единственное заметное исключение составили два соединения, содержащие липофильные (хлор- или трифторметильные) заместители в положении 6 имидазо[1,2-а]пиридинового ядра. Эти два соединения не проявили активности ни против одного из возбудителей ESKAPE.

В итоге был выделен новый антибактериальный агент N-циклогексил-2-(5-нитрофуран-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридин-3-амин (соединение 4a), который показал отличный антибактериальный профиль против *E. cloacae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *E. faecalis* (МИК 0,25, 0,06, 0,25 и 0,25 мкг/мл, соответственно). Высокая активность, а также практичность синтеза вещества из коммерчески доступных прекурсоров, безусловно, являются основанием для его дальнейшего доклинического изучения. Кроме того, учитывая низкую площадь полярной поверхности у изученных соединений, можно сказать, что они являются перспективными соединениями в плане их высокой способности к проникновению внутрь бактериальной клетки.

4.3.2. Азирины

Соединения из группы азиринов были синтезированы в Санкт-Петербургском государственном университете на кафедре органической химии. Азириноимидазолы были получены двумя способами. Первый основан на фотохимической димеризации 2Н-азиринов, генерируемых *in situ* из соответствующих винилазидов. Другим подходом к азириноимидазолам

является реакция изоцианоацетатов (или тозилметилизоцианида) с 2Н-азиринами в основной среде.

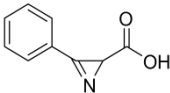
Полученные кислоты стабильны при длительном хранении при -20°C , но подвергаются декарбоксилированию при плавлении. Они могут быть легко переведены в соответствующие калиевые соли с высоким выходом, что является полезным для длительного хранения азиринов-2-карбоновых кислот.

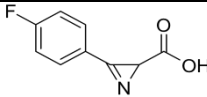
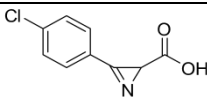
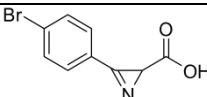
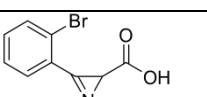
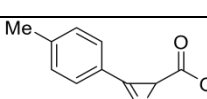
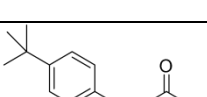
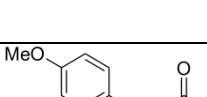
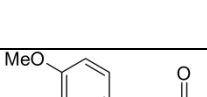

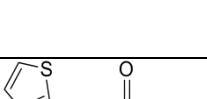
Мы получили первичные данные об антибактериальной активности неестественных 2Н-азиринов-2-карбоновых кислот. Скрининг антибактериальной активности 2Н-азиринов-2-карбоновых кислот против патогенов ESKAPE первоначально проводился методом капельной диффузии.

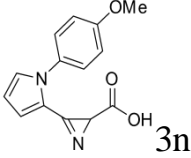
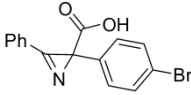
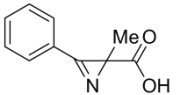
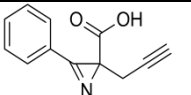
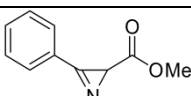
Использовались диски, содержащие 5 мкг сульфаметоксазола. Испытуемое соединение (1 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (10 мкл) и разбавляли деионизированной водой до объема 1 мл. В чашку Петри, содержащую агар Мюллера-Хинтона, инокулированный бактериальной суспензией ($\text{OD McFarland} = 0,5$), добавляли 5 мкл этого раствора. После сушки раствора соединения чашку Петри инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Восприимчивость к лекарственному средству оценивали путем измерения диаметра зоны подавления роста бактерий вокруг диска с помощью сульфаметоксазола или круглого пятна высушенного раствора тестируемого соединения (табл. 4.9).

Таблица 4.9

Зоны задержки роста бактерий группы ESKAPE (мм) для соединений азиринов

Соединение	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
 3a	17±1,6	18±1,6	14±1,3	18±1,6	19±1,6	8±1,3

 3b	11±1,6	0±0,3	0±0,3	8±1	13±1,3	0±0,6
 3c	0±0,3	0±0,5	0±0,5	7±0,6	7±1,3	0±0,3
 3d	0±0,3	0±0,3	0±0,5	10±1,3	15±1,3	0±0,6
 3e	5±1	0±0,6	0±0,3	10±1	15±1,3	0±0,3
 3f	0±0,5	5±1,3	0±0,5	7±0,6	7±1	0±0,5
 3g	5±0,6	0±0,3	6±1	7±0,6	9±0,6	6±1
 3i	7±1,3	5±0,5	0±0,3	7±1,3	5±0,6	0±0,3
 3k	0±0,5	0±0,6	6±0,6	7±1,3	5±0,5	9±1,6
 3l	0±0,3	0±0,6	12±1,3	5±1,3	10±1,3	5±0,6
 3m	21±1,6	0±0,3	12±1,6	18±2,3	18±1,3	16±1,6

 3n	6±1,3	0±0,6	5±0,6	3±0,6	6±1,3	8±0,6
 3p	9±1,3	0±0,3	4±0,5	6±0,6	5±1,3	7±1,3
 3s	0±0,6	0±0,6	0±0,6	7±1,3	0±0,3	0±0,5
 3t	8±0,6	0±0,6	0±0,3	0±0,6	5±1,3	0±0,5
 3a'	0±0,3	0±0,6	0±0,6	7±1,3	0±0,6	0±0,3

Впоследствии для соединений-лидеров антибактериальная активность 3a, b, d, e, m оценивалась путем определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и сравнения с сульфаметоксазолом, используемым в качестве положительного контроля. Тест проводился в соответствии со Стандартной операционной процедурой Европейского комитета по тестированию антимикробной чувствительности (EUCAST версия) в конечном объеме 0,2 мл в 96-луночном стерильном иммунологическом планшете со стерильными крышками. Питательной средой для этого метода является среда Мюллера-Хинтона. Стандартную микробную суспензию, эквивалентную 0,5 по стандарту Макфарланда, разбавленную в 100 раз на питательном бульоне использовали для инокуляции, после чего концентрация микроорганизма в нем составляла приблизительно 10^6 КОЕ/мл.

Рабочий раствор соединения антибиотика готовили из основного раствора с использованием жидкой питательной среды. Первая концентрация

была максимальной. Во все лунки планшета помещали 100 мкл питательной среды. Затем 100 мкл раствора с максимальной концентрацией соединения помещали в первую лунку горизонтального ряда планшета. Содержимое лунки перемешивали и 100 мкл из первой лунки первого горизонтального ряда переносили во вторую лунку первого горизонтального ряда. Так продолжалось до лунки № 10, из которой 100 мкл содержимого были удалены после смешивания. Таким образом, был получен ряд лунок с раствором антибактериального соединения, концентрации которых в соседних пробирках отличались в 2 раза. Затем в первые 10 лунок помещали 100 мкл приготовленной суспензии бактерий. Лунки 11 и 12 были контрольными. Лунка 11 была контрольной для бактерий, она содержала 100 мкл питательной среды и 100 мкл суспензии бактерий, которую использовали в первом горизонтальном ряду. Лунка 12 представляла собой контрольный бульон, он содержал 200 мкл питательной среды.

Каждый горизонтальный ряд планшета соответствовал отдельному антибактериальному соединению или отдельному микроорганизму. Один или два ряда планшета использовали для установления контроля соответствующих антибиотиков, выбранных в качестве эталона для исследуемого соединения с каждым микроорганизмом.

Планшеты инкубировали при +37°C в термостате в течение 18–24 часов. Результаты оценивали визуально, сравнивая рост микроорганизмов в присутствии антибактериального соединения с ростом культуры в клетке без него. Минимальная концентрация, обеспечивающая полное подавление видимого роста исследуемого штамма, была использована для значения МИК.

Во многих случаях МИК 2Н-азирин-2-карбоновых кислот по отношению к патогенам ESKAPE были аналогичны МИК сульфаметоксазола. Кроме того, соединения 3a, 3b, 3d, 3e ингибировали рост *S. aureus* в концентрациях даже ниже, чем сульфаметоксазол (табл. X).

Примечательно, что метиловый эфир кислоты 3a (состав 3a') проявлял активность только против *K. pneumoniae*. Этот факт указывает на то, что

свободная карбоновая группа необходима для проявления антибактериальной активности азиринов-2-карбоновых кислот.

Таблица 4.10

Антимикробная активность соединений азиринов по отношению к возбудителям группы ESKAPE (МИК).

Кислота	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
3a	9±1,3	9±0,3	37±1,6	75±1,3	9±1,3	9±0,6
3b	9±0,6	9±0,3	37±1,6	150±5,3	150±4,3	150±3,6
3d	75±1,6	4,5±0,3	18±1,3	150±3,6	150±3,3	75±2,3
3e	37±2,3	9±1	18±1,3	150±4,3	150±2,3	150±2,6
3f	75±2,6	18±0,6	37±3,3	150±4,6	75±3,3	150±4,3
3g	150±3,3	75±2,6	37±1,3	37±1,3	37±2,6	150±3,3
3i	18±1,6	18±1,3	37±1	75±2,6	75±2,3	150±4,3
3k	>150	150±1,6	150±2,6	75±1,6	150±1,3	150±2,6
3l	18±0,6	75±1	37±1,3	150±3,3	75±1,6	75±2,6
3m	>150	150±3,6	150±3,3	37±2,6	9±0,6	>150
3n	150±3,6	150±4,6	150±2,6	37±1,3	150±1,3	150±2,6
3p	75±2,3	150±2,6	75±3,3	150±2,6	>150	75±1,6
Сульфаметокса зол	4	16	16	32	8	8

^a Значения МИК указаны в мкг/мл

Учитывая первоначально документированную токсичность азириномицина, данные *in vitro* о цитотоксичности синтетических азиринов-2-карбоновых кислот 3 представляют очевидный интерес. Соединения 3a, b, d, e, m были протестированы при концентрациях 1–100 мкм на их способность влиять на жизнеспособность клеточной культуры нераковой эпителиальной клеточной линии человека ARPE-19 и эпителиальной клеточной линии человека HEK293. Как следует из данных анализа, изученные соединения не проявляли очевидной цитотоксичности в диапазоне концентраций,

испытанных на обеих клеточных линиях. Схема жизнеспособности клеток в присутствии тестируемых соединений была практически аналогичной в клеточных линиях ARPE-19 и HEK293. Общая клеточная линия HEK293 была менее чувствительна к цитотоксическому воздействию тестируемых соединений по сравнению с клеточной линией ARPE-19. Самая низкая жизнеспособность клеток была обнаружена для соединений 3b, d при концентрациях 100 мкм в клеточной линии ARPE-19. Эти данные нами будут учтены при планировании экспериментальной части исследования на модели животных.

Таким образом, некоторые соединения из группы азиринов проявляют высокую антибактериальную активность в отношении патогенов группы ESKAPE, сравнимую с таковой для применяющегося препарата сульфаметоксазола. Некоторые полученные соединения ингибируют рост *S. aureus* в концентрациях даже более низких, чем Сульфаметоксазол.

4.3.3. Аминоиндолы

Антибактериальные соединения из группы аминоиндолов в количестве 12 штук синтезированы в Санкт-Петербургском государственном университете. Предполагается, что реакция протекает через первоначальное межмолекулярное гидроаминирование пропаргильного мотива. Одностадийная процедура позволила синтезировать несколько биоредуцируемых нитрофуранов, наделенных антибактериальной активностью, которая была оценена против группы госпитальных патогенов ESKAPE (табл. 4.11).

Таблица 4.11

Минимальные ингибирующие концентрации лидирующих соединений из группы аминоиндолов против бактерий группы ESKAPE (мкг/мл)

Соединение	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)

2a	150±2,3	75±1,6	150±2,6	75±2,3	75±3,3	32±1,3
2b	75±1,3	16±1,6	75±3,3	150±1,3	150±3,6	>150
2d	150±4,3	150±2,6	>150	8±0,6	8±1	>150
2e	16±1,3	16±0,6	150±1,3	75±2,6	150±2,6	150±2,3
Ципрофлоксацин	250	5	6,3	62,5	3,1	0,04

Проведенные эксперименты показали, что выбранные нитрофураны (2a-b и 2d-e) обладают селективной антибактериальной активностью против отдельных микроорганизмов, принадлежащих к панели патогенов ESKAPE, т.е. двух грамположительных и четырех грамотрицательных бактерий, наиболее склонных к развитию лекарственной устойчивости.

4.3.4. Пиримидины

Азотные гетероароматические соединения, содержащие биовоспроизводимую нитрогруппу, были синтезированы в Санкт-Петербургском государственном университете. Исследованы 2 взаимно изомерные серии (19 и 19 образцов соответственно) новых упрощенных аналогов, 2- и 4-(3-нитро-1,2,4-триазолил) пиримидинов, несущих различные боковые аминокцепи.

Тестирование на антибактериальную активность в отношении бактерий группы ESKAPE осуществляли с соединениями 1a-s, 2a-s и 4. В качестве контроля служил препарат ципрофлоксацин. Были приготовлены растворы соединений 1a-s, 2a-s и 4 в диметилсульфоксиде (1 мг/10 мл) и разбавлены до объема 1 мл деионизированной водой. Аликвоты полученных растворов (5 мл) добавляли в чашку Петри с агаром Мюллера-Хилтона, инокулированным бактериальной суспензией (ОД МакФарланда 0,5). После высушивания раствора соединения чашку Петри инкубировали при 37°C в течение 18 ч. Измеряя диаметр зоны ингибирования роста бактерий вокруг диска с

ципрофлоксацином или кругового пятна высушенного раствора соединения, оценивали восприимчивость к препарату. Кроме того, минимальные ингибирующие концентрации (МИК, мкг/мл) определяли с помощью серийных бульонных разведений. Результаты представлены в таблице 4.12.

Таблица 4.12

Результаты определения МИК различных соединений из группы пиримидинов в отношении бактерий группы ESKAPE

Вещество	МИК (мкг/мл)					
	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
1a	16±1,3	>100	>100	16±0,3	>100	>100
2a	8±0,6	63±2,3	8±1,6	>100	>100	63±2,6
1b	8±1,3	>100	>100	4±0,6	>100	>100
2b	8±1	>100	2±0,6	2±0,3	>100	8±0,6
1c	16±0,3	>100	>100	4±0,6	>100	>100
2c	63±4,6	>100	>100	8±1,3	>100	>100
1d	8±1	16±2,6	32±0,6	>100	>100	63±2,3
2d	8±0,3	63±2,3	16±1	>100	>100	63±1
1e	4±0,3	>100	63±1,3	>100	>100	>100
2e	8±1,3	8±1,3	>100	4±0,3	>100	63±2,6
1f	4±1,3	>100	>100	8±0,6	>100	>100
2f	8±1,3	63±2,6	8±1	32±1,3	>100	16±1

1g	4±0,6	>100	>100	32±0,6	>100	>100
2g	32±1,3	>100	>100	8±0,3	>100	63±2,6
1h	16±0,3	>100	>100	32±0,3	>100	>100
2h	4±0,3	16±1	>100	63±3,3	>100	>100
1i	2±1,3	4±0,6	32±2,6	32±1,3	>100	32±3,3
2i	2±0,6	>100	>100	>100	>100	>100
1j	4±0,6	>100	>100	4±0,3	>100	>100
2j	8±0,3	>100	>100	63±1,3	>100	>100
1k	2±0,3	63±1,6	>100	>100	>100	>100
2k	>100	>100	>100	4±0,3	>100	>100
1l	63±5,3	>100	>100	4±1	>100	>100
2l	16±0,6	16±1	>100	8±1,3	>100	>100
1m	8±1	8±0,6	32±3,6	2±0,3	>100	16±2,3
2m	16±1,6	>100	>100	8±0,6	>100	>100
1n	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2n	4±0,6	32±0,6	>100	63±3,3	>100	>100
1o	2±0,3	4±0,3	16±1,3	32±1,3	>100	32±2,3
2o	>100	>100	>100	8±0,6	>100	>100
1p	32±1,3	>100	>100	8±1,6	>100	>100
2p	4±1	>100	>100	8±0,6	>100	>100

1q	16±1,3	>100	>100	4±0,6	>100	>100
2q	32±0,6	63±1,3	>100	16±1,3	>100	>100
1r	16±1	>100	>100	8±1,3	>100	63±4,6
2r	16±0,6	63±2,6	>100	>100	>100	>100
1s	16±0,6	63±0,6	63±1,3	>100	>100	>100
2s	2±0,3	>100	>100	4±1	>100	>100
4	32±0,6	>100	>100	>100	>100	>100
Ципрофлоксацин	0.3	1.25	0.6	2.5	0.6	1.25

Общепризнано, что антибактериальная активность биоредукционных нитро-гетероароматических соединений по отношению к конкретному бактериальному виду, среди прочих факторов, будет зависеть от их способности метаболически активироваться мембранным ферментом нитратредуктазы этого вида, а также от способности результирующего реактивного химического вещества пересекать бактериальную мембрану и повреждать ДНК патогена.

Другие примечательные особенности профиля биоактивности соединений 1a-s и 2a-s включают полное отсутствие активности против *P. aeruginosa* и явную восприимчивость *A. baumannii* ко многим соединениям в исследуемом наборе. Фактически, некоторые соединения (см. 1b, 1c, 1j, 1l, 1m, 1q, 2b, 2e, 2k, 2s) отображали значения MIC, сопоставимые или даже ниже, чем те, которые отображаются ципрофлоксацином по отношению к этому конкретному патогену. Другим патогеном, который продемонстрировал восприимчивость к ряду протестированных соединений, является *E. faecium*. Однако лучшие значения MIC, достигнутые в этом случае (2 мкг/мл), в шесть раз ниже соответствующего значения для ципрофлоксацина. В то же время

активность соединений 1i и 1o только в три раза ниже по отношению к *S. aureus*, чем у препарата-компаратора. Соединение 2b, безусловно, лидирует с точки зрения однозначной активности мкг/мл, отображаемой по всей панели, сильно ингибируя рост *E. faecium*, *K. pneumonia*, *A. baumannii* и *E. aerogenes*. Напротив, соединения 2c, 2k, 1l и 2o кажутся отчетливо избирательными по отношению к *A. baumannii*, что является характерной тенденцией всего множества. Полное отсутствие активности на панели ESKAPE, отображаемое соединением 1n, свидетельствует о многофакторном характере наблюдаемых моделей биоактивности.

Учитывая очевидное различие в тенденциях активности против различных патогенов панели ESKAPE, мы сосредоточились на активности против одного конкретного патогена, *E. faecium*. Как следует из данных, представленных в таблице X, нет очевидной корреляции между активностью, отображаемой девятью соединениями, исследованными против *E. faecium*, и их редукционным потенциалом. Краткий обзор данных об активности по отношению к остальным пяти патогенам показал, что нет никакой корреляции с потенциалом восстановления. Это убедительно свидетельствует о том, что существуют и другие факторы, которые определяют наблюдаемую антибактериальную активность.

Данные соединения продемонстрировали обратную биоактивность, не проявляя активности в отношении *M. tuberculosis*, но подавляя рост всех возбудителей ESKAPE (с разной интенсивностью), за исключением грамотрицательной *P. aeruginosa*. Наблюдаемые закономерности задержки роста патогенов позволили сделать некоторые обобщения. В частности, отмечена частая потеря антибактериальной активности при переходе от серии 2 к серии 1 с теми же заместителями (хотя реже наблюдалась и обратная тенденция). Измерение потенциалов восстановления (E1/2) методом циклической вольтамперометрии для соединений, отобранных по активности в отношении *E. faecium*, показало, что все исследованные соединения проявляют обратимое одноэлектронное восстановление, причем значения

E1/2 плотно группируются в диапазоне -1,3--1,1 В. Очевидной корреляции между значениями E1/2 и минимальными ингибирующими концентрациями ESKAPE не установлено, что свидетельствует о возможной значимости других факторов, помимо восстановительного потенциала соединений, определяющих наблюдаемую антибактериальную активность.

4.3.5. Амидины. Производные 5-амино-1,2,4-тиадиола

Соединения в количестве 28 образцов амидинов были синтезированы в отделе химической разработки ЦТФТ им. М.В. Дорогова.

Продемонстрировано взаимодействие N-хлорамидинов с изотиоцианатами, которое привело к образованию замещенных 5-амино-1,2,4-тиадиола при отсутствии каких-либо дополнительных внешних окислителей. Согласно этой процедуре, серия гетероциклов была получена в умеренных и достаточных количествах. Сперва соединения были оценены на их антибактериальные свойства против патогенных штаммов ESKAPE в первичном скрининге капельным методом (таб. 4.13).

Таблица 4.13

Зоны задержки роста бактерий группы ESKAPE (мм) для производных 5-амино-1,2,4-тиадиола.

№ п/п	Вещество	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
1	5aa	0±0,3	0±0,3	0±0,3	0±0,5	0±0,5	0±0,5
2	5ab	0±0,3	0±0,5	0±0,5	0±0,5	0±0,4	0±0,3
3	5ac	0±0,5	0±0,5	0±0,3	0±0,6	0±0,3	0±0,5
4	5ad	0±0,6	0±0,3	0±0,4	0±0,5	0±0,3	0±0,6
5	5ae	0±0,5	0±0,6	0±0,5	0±0,3	0±0,4	0±0,3

6	5af	0±0,3	0±0,6	0±0,3	0±0,5	0±0,4	0±0,5
7	5ba	0±0,4	10±1,6	0±0,4	0±0,3	13±1	0±0,6
8	5bb	18±3,6	24±2,3	17±2,6	0±0,3	0±0,4	0±0,5
9	5bc	0±0,3	0±0,6	0±0,4	0±0,3	0±0,3	0±0,5
10	5bd	0±0,5	11±1	0±0,5	0±0,6	8±1,3	0±0,3
11	5ca	0±0,6	0±0,3	0±0,4	0±0,5	0±0,6	0±0,6
12	5cb	0±0,5	0±0,5	0±0,3	0±0,4	0±0,3	0±0,4
13	5 cc	0±0,5	0±0,4	0±0,5	0±0,5	0±0,3	0±0,5
14	5 cd	0±0,3	11±2,6	0±0,3	0±0,3	0±0,3	0±0,3
15	5da	0±0,6	0±0,3	0±0,6	0±0,5	0±0,5	0±0,3
16	5db	0±0,5	0±0,3	0±0,3	0±0,3	0±0,3	0±0,3
17	5dd	0±0,5	0±0,6	0±0,3	0±0,5	0±0,3	0±0,4
18	5dc	0±0,3	0±0,3	0±0,3	0±0,5	0±0,3	0±0,5
19	5dg	0±0,5	0±0,5	0±0,3	0±0,6	0±0,3	0±0,6
20	5de	0±0,5	0±0,3	0±0,5	0±0,3	0±0,5	0±0,3
21	5eb	7±1,6	0±0,6	0±0,4	0±0,5	0±0,3	0±0,5
22	5ec	0±0,4	0±0,5	0±0,3	0±0,3	0±0,5	0±0,5
23	5ed	0±0,3	0±0,3	0±0,5	0±0,6	0±0,5	0±0,3
24	6a	0±0,6	14±3,6	0±0,3	0±0,5	0±0,3	0±0,3
25	6b	0±0,3	0±0,5	0±0,6	0±0,4	0±0,6	0±0,5

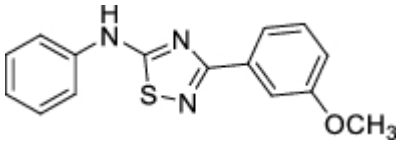
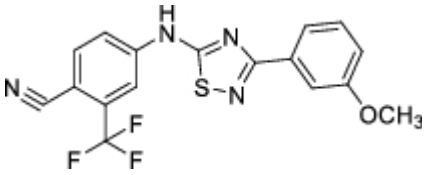
26	6c	0±0,3	11±1,3	7±0,6	0±0,5	12±3,3	9±2,6
27	6d	11±1,6	13±1,6	0±0,4	11±1,3	0±0,5	7±0,6
28	6e	0±0,3	0±0,3	0±0,5	0±0,3	0±0,6	0±0,4
-	Пефлоксацин	19	27	35	29	24	22

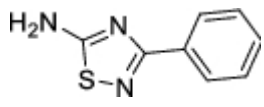
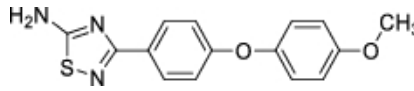
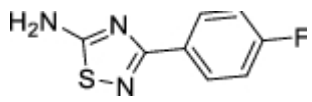
Некоторые различия в биологических данных, полученных двумя методами определения антибактериальной активности для соединений 5ba, 5bd, 6a, 6c, 6d, можно объяснить недостаточной растворимостью 1,2,4-тиадиазолов в плотной питательной среде.

Наибольшая антибактериальная активность (МИК составляет 0,09 мкг/мл) была обнаружена в отношении *E. faecium* (соединения 6a, 6c), *S. aureus* (соединение 6c) и *A. baumannii* (соединение 5ba). Эти соединения подавляли рост патогенов в концентрации, значительно меньшей, чем контрольные антибиотики (стрептомицин и пефлоксацин, см. табл. 4.14).

Таблица 4.14

Результаты изучения минимальных подавляющих концентраций соединений 5aa-6e.

Вещество	Формула вещества	МИК (мкг/мл)					
		E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
5ba		0,75 ±0,1	1,5 ±0,01	0,75 ±0,25	0,09 ±0,03	0,19 ±0,01	0,19 ±0,05
5bd		0,75 ±0,25	1,5 ±0,05	0,75 ±0,25	0,75 ±0,15	0,75 ±0,1	0,75 ±0,25

ба		0,09 ±0,05	0,09 ±0,01	0,38 ±0,03	0,38 ±0,1	0,38 ±0,06	0,38 ±0,1
бс		0,09 ±0,05	0,09 ±0,01	0,09 ±0,01	0,75 ±0,25	0,19 ±0,05	0,19 ±0,03
бd		0,75 ±0,25	0,75 ±0,1	1,5 ±0,01	1,5 ±0,05	0,38 ±0,05	0,38 ±0,05
-	Пефлоксацин	4	4	4	4	4	8
-	Стрептомицин	32	8	2	8	8	4

Анализ полученного набора данных показал, что антибактериальная активность в большей степени зависит от заместителей в арильном кольце в 3-положении 1,2,4-тиадиазола, чем от заместителей в аминогруппе. Несмотря на необходимость дальнейшей оптимизации структуры, эти соединения являются перспективной отправной точкой для разработки новых антимикробных агентов.

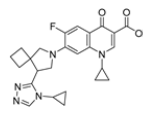
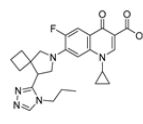
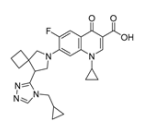
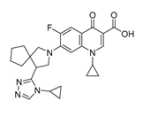
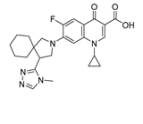
4.3.6. Производные ципрофлоксацина

Соединения на основе ципрофлоксацина были синтезированы в Московском государственном университете.

Антибактериальная активность соединений была чувствительна к структуре спироцикальной периферии. Соединения с их спироциклическим компонентом, превышающим пятичленный, не проявляли ингибирования роста бактерий в первоначальном тесте. Более компактная спироцикальная периферия привела к мощным антибактериальным препаратам с активностью против некоторых патогенов ESKAPE, которые были сопоставимы с ципрофлоксацином (табл. 4.15).

Таблица 4.15

Значения МИК производных ципрофлоксацина в отношении бактерий
группы ESKAPE

Вещество	Формула	МИК (мкг/мл)					
		E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2 (M±m)
6a		3,0 ±0,3	1,5 ±0,3	2,5 ±0,5	6,0 ±1,0	750±3,6	3,0 ±0,3
6b		6,0 ±0,5	1,5 ±0,3	>750	100 ±1,6	>750	6,0 ±0,3
6c		3,0 ±0,3	1,5 ±0,5	12,0± 0,3	12,0 ±0,3	750±3,6	3,0 ±0,1
6d		3,0 ±0,3	1,5 ±0,3	190 ±2,6	12,0 ±1,0	>750	1,5 ±0,3
6e		3,0 ±0,5	1,5 ±0,1	190 ± 5,3	6,0 ±1,3	750±4,3	1,5 ±0,3
6f		-	-	-	-	-	-

6g		-	-	-	-	-	-
6h		-	-	-	-	-	-
6i		-	-	-	-	-	-
6j		-	-	-	-	-	-
6k		-	-	-	-	-	-
3w		-	-	-	0,15±0,05	-	-
Ципроф локсаци н		1,25	1,25	0,6	2,5	0,6	0,3

Однако спектр активности соединений ба-е отличался от спектра активности клинически используемого антибиотика. В то время как активность против *E. cloacae*, *S. aureus* и *E. faecalis* находилась в однозначном диапазоне мг/мл, эти соединения практически не проявляли никакой активности против *P. aeruginosa*. В то же время активность против *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, хотя и проявляется некоторыми соединениями, оказалась особенно чувствительной к периферии соединения. Например, только циклопропансодержащие азаспироктаны ба и бс были достаточно активны против *K. pneumoniae*. В то время как большинство соединений в активной группе были перспективны против *A. baumannii* (хотя и умеренно), *n*-пропил 1.2.4-триазольное соединение бв показало только слабую активность.

Судя по широте спектра антибактериальной активности и его уровню, сопоставимому с уровнем ципрофлоксацина, соединение ба, которое несет азаспироктановую периферию, однозначно проявилось как активное соединение против пяти из шести патогенов (т.е. всех, кроме *P. aeruginosa*) панели ESKAPE.

В целом, новые производные ципрофлоксацина проявили выраженную активность в отношении двух из пяти штаммов: *Acinetobacter baumannii* 987 и *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. В отношении этих двух штаммов большая группа соединений проявила равную или более высокую эффективность, чем ципрофлоксацин. Полученные результаты существенно расширяют возможности использования спироциклических веществ в дизайне лекарственных препаратов и подтверждают привилегированный характер спироциклов.

4.3.7. Пиперидины с уреанами

Соединения были синтезированы в Московском государственном университете.

Восемь соединений (2а, 3а, б, 3г, 3и, 3л, 3о и 3q), которые ингибировали более одного штамма бактерий (табл. 4.16), были протестированы далее для

определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК, мг/мл). Как следует из данных, представленных в табл. 4.17, активность восьми соединений была подтверждена значениями МИК в диапазоне от 19 до 150 мг/мл.

Таблица 4.16

Зоны задержки роста бактерий группы ESKAPE (мм) в первичном скрининге пиперидинов капельным методом.

Вещество	Капельный метод (мм)					
	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2(M±m)
2a	8 ± 2	0 ± 0,6	10 ± 0,6	0 ± 0,3	0 ± 0,5	0 ± 0,6
2b	0 ± 0,3	0 ± 0,4	0 ± 0,5	0 ± 0,4	0 ± 0,3	0 ± 0,3
2c	0 ± 0,5	0 ± 0,5	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,4	0 ± 0,5
3a	9 ± 1,3	11 ± 1,6	11 ± 0,6	9 ± 0,3	0 ± 0,4	9 ± 1,6
3b	9 ± 1	0 ± 0,6	0 ± 0,6	11 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,4
3c	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,5	0 ± 0,3	0 ± 0,5
3d	0 ± 0,6	0 ± 0,5	0 ± 0,5	0 ± 0,6	0 ± 0,4	0 ± 0,3
3e	0 ± 0,5	0 ± 0,3	0 ± 0,4	0 ± 0,3	0 ± 0,5	0 ± 0,6
3f	0 ± 0,3	0 ± 0,5	0 ± 0,6	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,5
3g	0 ± 0,6	0 ± 0,3	10 ± 0,3	9 ± 0,6	11 ± 1,3	0 ± 0,6
3h	0 ± 0,3	0 ± 0,5	0 ± 0,5	0 ± 0,5	0 ± 0,6	0 ± 0,3
3i	10 ± 1,6	0 ± 0,4	12 ± 1,3	11 ± 1,6	0 ± 0,5	0 ± 0,6
3j	0 ± 0,4	0 ± 0,3	0 ± 0,4	9 ± 0,6	0 ± 0,5	0 ± 0,3
3k	0 ± 0,4	0 ± 0,5	8 ± 0,6	0 ± 0,5	0 ± 0,3	0 ± 0,4
3l	0 ± 0,5	0 ± 0,3	11 ± 1,3	11 ± 2,6	0 ± 0,5	0 ± 0,5
3m	0 ± 0,6	0 ± 0,5	0 ± 0,5	8 ± 0,6	0 ± 0,5	0 ± 0,6
3n	0 ± 0,3	0 ± 0,4	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,6	0 ± 0,3

3o	12 ± 1	0 ± 0,6	0 ± 0,6	9 ± 1,3	0 ± 0,3	0 ± 0,5
3p	0 ± 0,3	0 ± 0,3	0 ± 0,5	9 ± 0,6	0 ± 0,4	0 ± 0,5
3q	0 ± 0,4	0 ± 0,5	10 ± 1,6	9 ± 1,6	0 ± 0,3	0 ± 0,6

Таблица 4.17

Значения МИК пиперидинов с уреанами в отношении
бактерий группы ESKAPE

Вещество	МИК (мкг/мл)					
	E1 (M±m)	S (M±m)	K (M±m)	A (M±m)	P (M±m)	E2(M±m)
2a	75 ± 1,6	>150	38 ± 0,6	>150	>150	>150
3a	38 ± 1,0	19 ± 0,3	19 ± 0,6	38 ± 0,3	150 ± 0,6	38 ± 2,3
3b	38 ± 2,3	>150	>150	38 ± 3	>150	>150
3g	>150	>150	38 ± 1,3	38 ± 4,3	19 ± 1,3	>150
3i	38 ± 2	150 ± 1,3	19 ± 2,3	19 ± 3,6	150 ± 1,3	>150
3l	>150	>150	19 ± 1,3	19 ± 2,3	>150	>150
3o	19 ± 1,6	>150	>150	38 ± 3,6	>150	>150
3q	>150	150 ± 0,6	38 ± 2,6	38 ± 2,3	>150	>150
Ципрофлоксацин	2.0	0.5	0.03	0.25	0.125	0.03

Хотя этот уровень антибактериальной активности ниже, чем у эталонного антибиотика широкого спектра действия ципрофлоксацина (МИК 0,3 мг/мл), специфическая антибактериальная активность, выявленная для до сих пор не описанного химического типа спироциклической мочевины, очевидна и будет предметом дальнейшей оптимизации у авторов соединений.

4.4. Синергизм препаратов с антибактериальными свойствами

Соединения сульфонамидов в количестве 59 шт. были синтезированы в Санкт-Петербургском государственном университете.

Для исследования синергизма синтезированных соединений с официальными антибиотиками использовали метод «шахматной доски» (Т. В. Артюх. Изучение синергии антибактериальных препаратов с использованием метода «шахматной доски» и анализа «времени уничтожения» Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2022, vol. 67, no. 3, pp. 332–342). На первом этапе были задействованы референтные штаммы группы ESKAPE и комбинация соединений со следующими антибиотиками: амикацин, ампициллин, меропенем, цефепим, ципрофлоксацин. Наилучшие результаты были получены при сочетании антибиотика меропенема и четырех соединений группы сульфонамидов (табл. 4.18).

Таблица 4.18

Результаты сочетания меропенема и соединений группы сульфонамидов

МИК (мкг/мл)									
	МПН	TAS22 2	МПН х TAS22 2	TAS23 9	МПН х TAS23 9	TAS27 4	МПН х TAS274	TAS28 8	МПН х TAS288
E1	2,5	1,54	0,015 + 0,77	1,54	0,03 + 0,77	1,54	0,06 + 0,77	1,54	0,06 + 0,77
S	0,3	1,54	0,06 + 0,77	1,54	0,03 + 0,39	1,54	0,06 + 0,77	1,54	0,06 + 0,77
K	0,015	1,54	0,0006 + 0,77	1,54	0,0006 + 0,39	1,54	0,015 + 0,77	1,54	0,003 + 0,77
A	0,6	1,54	0,015 + 0,77	1,54	0,015 + 1,54	1,54	0,03 + 1,54	1,54	0,03 + 0,77
P	0,6	1,54	0,03 + 0,39	1,54	0,03 + 0,77	1,54	0,06 + 0,77	1,54	0,06 + 1,54

E2	0,3	1,54	0,03 + 1,54	1,54	0,03 + 1,54	1,54	0,015 + 1,54	1,54	0,015 + 1,54
----	-----	------	----------------	------	----------------	------	-----------------	------	-----------------

При совместном использовании синтезированных соединений удалось достигнуть снижения концентрации меропенема в 5-100 раз, а сульфонамидов в 2-4 раза.

После получения убедительных результатов с четырьмя соединениями перешли к постановке экспериментов, взяв в работу штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенные от стационарных больных при нозокомиальных инфекциях (табл. 4.19).

Таблица 4.19

Результаты сочетания меропенема и штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*

МИК (мкг/мл)									
	МП Н	TAS22 2	МПН х TAS22 2	TAS23 9	МПН х TAS23 9	TAS27 4	МПН х TAS27 4	TAS28 8	МПН х TAS28 8
<i>A. baumannii</i>	40	1,9	0,3 + 0,39	2,1	0,3 + 0,43	2,1	0,6 + 0,42	1,8	0,6 + 0,35
<i>K. pneumoniae</i>	20	1,9	0,3 + 0,39	2,1	0,3 + 0,43	2,1	0,3 + 0,42	1,8	0,3 + 0,35

Штаммы обладали резистентностью ко всем классам антибиотиков. *K. pneumoniae* изначально была резистентна к меропенему (МИК меропенема = 20 мкг/мл). В комбинации с соединениями сульфонамидов МИК меропенема снизилась до 0,3 мкг/мл, что соответствует критерию чувствительности к этому антибиотику. Подобная тенденция отмечена и для штамма *A. baumannii*, который был резистентен к меропенему (МИК меропенема = 40 мкг/мл). В комбинации с соединениями МИК меропенема снизилась до 0,3 и 0,6 мкг/мл, что соответствует критерию чувствительности к этому антибиотику.

Таким образом, было установлено, что синтезированная группа соединений сульфонамидов проявляет синергизм с меропенемом. При этом удалось восстановить чувствительность штаммов, относящихся к наиболее актуальным видам возбудителей нозокомиальных инфекций: *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

ГЛАВА V. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ IN VIVO В МОДЕЛЬНЫХ ОПЫТАХ НА БЕЛЫХ МЫШАХ

В качестве экспериментальных животных использовались нелинейные белые мыши обоего пола (массой 19-22 г). Животных содержали на обычном рационе вивария в неограниченном количестве в отдельном помещении и раздельных клетках. Температура окружающей среды 18-20 °С.

На первом этапе исследований была изучена возможность воспроизведения на лабораторных животных острой формы локального инфекционного процесса при раневом заражении сублетальными дозами микроорганизма. В этих условиях происходит быстрая и интенсивная диссеминация микробов, которые, минуя естественные защитные барьеры, практически в неизменном количестве попадают в прилегающие ткани и захватываются тканевыми макрофагами. Кроме того, изучение активности химиопрепаратов в условиях быстро развивающейся остросептической формы экспериментального инфекционного процесса без формирования сенсibilизации организма позволяет осуществить количественную оценку непосредственно антимикробного действия антибиотиков и антибактериальных соединений без влияния на их активность других патогенетических механизмов заболевания.

Для воспроизведения инфекционного процесса in vivo была взята культура референтного штамма *K. pneumoniae* ATCC 13883. Для накопления культуры *K. pneumoniae* в пробирках и на чашках Петри использовали агар и бульон Мюллера-Хинтона (МХА, МХБ) (Biovitrum). Общую концентрацию микробных клеток в суспензиях определяли с помощью стандартного образца мутности. Плотность инокулюма была 0,5 по стандарту Мак-Фарланда. Инокулюм использовали в течение 15 мин после его приготовления.

В опыте использовали антибиотик в пределах установленных сроков годности: ко-тримоксазол (Россия, Курск, ОАО «Фармстандарт-

Лексредства»). В качестве альтернативы использовали 3-фенил-2Н-азириин-2-карбоновой кислоты.

Непосредственно перед заражением животным были сделаны поверхностные хирургические раны на спинах посредством продольного срединного разреза $2,0 \pm 0,2$ см в длину. Кожа с обеих сторон разреза была разведена, и раны были заражены прямым посевом. После инокуляции микроорганизма раны были временно закрыты пластырными полосками, чтобы гарантировать, что раны остаются закрытыми в течение первых 24 часов после инфицирования. Рана составляла ≈ 6 % общей поверхности тела мыши. У животных развивался раневой клебсиеллез.

Все мыши были разделены на 3 группы по 10 в каждой:

- группа контроля, которой не проводилось лечение,
- группа применения антибиотика (ко-тримоксазол согласно инструкции к препарату и перерасчете на вес животного)
- группа применения соединения (3-фенил-2Н-азириин-2-карбоновой кислоты в концентрации $МИК \times 2 = МТК$ (минимальная терапевтическая концентрация)).

Терапия инфицированных ран проводилась следующим образом. Исследуемые соединения и препараты сравнения наносили через 24 ч после инфицирования каждый день в одно и то же время в течение 9 суток. Перед нанесением антибактериальных веществ из ран отбирали поверхностные смывы, производили посев на плотную питательную среду в чашках Петри, инкубировали в течение 24-48 часов при 37 °С после чего проводился подсчет колоний (КОЕ/мл).

Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента, доверительный интервал определяли для вероятности 95 %.

Таблица 5.1

Результаты бактериологических посевов из раневой поверхности мышей
(КОЕ *K. pneumoniae* /мл), \bar{X}

День исследования	Контроль (без лечения)	Антибиотик	Соединение
1-й	1353	1426	1408
3-й	15650	1147	1225
5-й	23782	638	622
7-й	31180	305	327
9-й	20094	65	73
11-й	1218	0	0
13-й	325	0	0

Все данные были проверены на нормальность визуальным критерием. До 5-го дня включительно распределения походили на нормальные, использованы параметрические критерии описания и тесты (рис. 5.1, табл. 5.2).

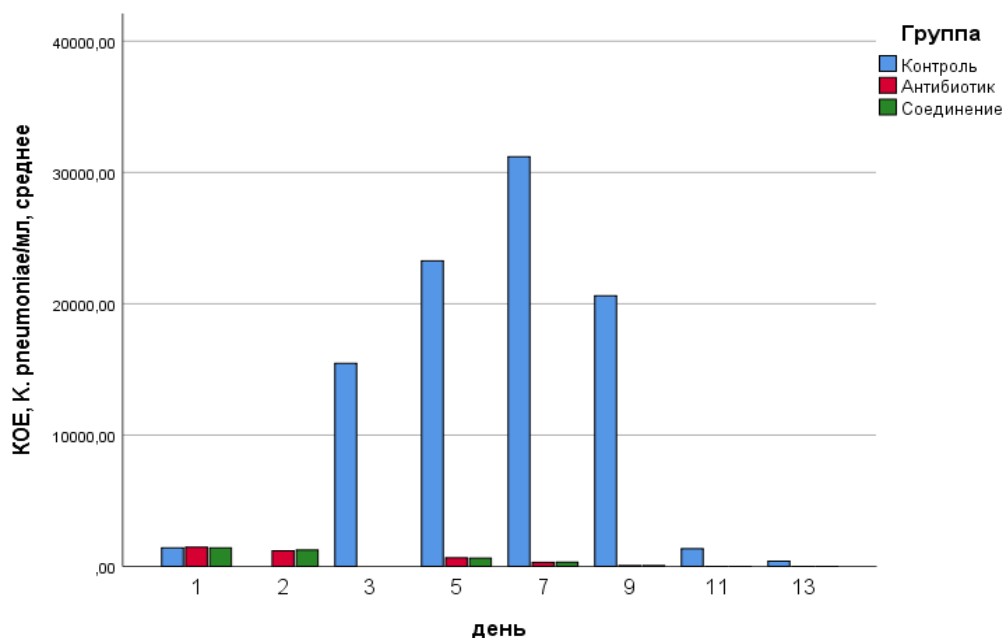


Рисунок 5.1 – Изменение количества высеваемых бактерий из раны в динамике инфекционного процесса

Таблица 5.2

Количество КОЕ в каждой из групп экспериментальных животных в зависимости от дня эксперимента

Среднее \pm стандартное отклонение (95% ДИ)

День	Контроль (группа 1)	Антибиотик (группа 2)	Соединение (группа 3)	Р(Однофакторный дисперсионный анализ с последующими парными сравнениям с поправкой Геймса-Хоуэлла)
1	1407 \pm 62 (1362 - 1451)	1465 \pm 57 (1424 - 1505)	1409 \pm 16 (1398 - 1421)	0,023* $p_{12} = 0,104$ $p_{13} = 0,992$ $p_{23} = 0,035^*$

3	15467±770 (14916 - 16018)	1193±86 (1132 - 1255)	1255±54 (1216 - 1294)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,169
5	23262±820 (22675 - 23849)	662±96 (593 - 730)	626±20 (612 - 640)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,518
7	31200±318 (30972 - 31427)	310±49 (275 - 345)	322±19 (309 - 336)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,752
9	20613±588 (20192 - 21034)	63±15 (52 - 73)	67±13 (58 - 77)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,747
11	1347±211 (1196 - 1497)	0±0 (0 - 0)	1±4 (-2 - 4)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,595
13	390±124 (301 - 479)	0±0 (0 - 0)	0±0 (0 - 0)	<0,001* p ₁₂ < 0,001* p ₁₃ < 0,001* p ₂₃ = 0,545

Как в группе использования антибиотика, так и в группе использования соединения, наблюдается более резкое снижение высеваемых

микроорганизмов по сравнению с контролем. Различия в количестве бактерий видны уже через 3 дня эксперимента. К 11 дню эксперимента количество бактерий в группе антибиотика и соединения падает практически до нуля.

В первый день значимые различия обнаружены только в группах антибиотик -соединение, но их можно считать клинически не значимыми, так как это был начальный этап развития инфекционного процесса. В дальнейшем убедительно доказана эффективность применяемого соединения (3-фенил-2Н-азирин-2-карбоновой кислоты) при лечении раневой инфекции, обусловленной штаммом *K. pneumoniae*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С каждым годом проблема антибиотикорезистентности становится все более актуальной. Избыточное и нерациональное использование антибиотиков в различных сферах народного хозяйства приводит ко все более широкому распространению резистентных штаммов. Этот процесс наблюдается не только в госпитальной среде, но и за ее пределами. Молекулярные механизмы передачи факторов резистентности к антибиотикам позволяют передавать необходимую для бактерий информацию не только в пределах одного вида, но и между представителями разных видов и родов. В то же время скорость разработки новых антибиотиков значительно отстает от скорости роста количества и разнообразия факторов резистентности у бактерий. Поэтому наблюдаемое явление представляет угрозу для здоровья человека в планетарном масштабе.

В 2017 г. всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала список самых устойчивых к антибиотикам “приоритетных патогенов”, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков. Это группа ESKAPE, включающая 6 представителей: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*. Представители этой группы отличаются наибольшей долей резистентных штаммов и часто обладают множественной и панрезистентностью. Причем, штаммы, выделенные на территории РФ, характеризуются наиболее высокой устойчивостью к антибиотикам. Именно глобальность существующей ситуации позволила Международному Координационному Совету по антибиотикорезистентности в своем обращении к Генеральному Секретарю ООН в апреле 2019 г. предложить несколько путей решения этой проблемы, одним из которых является разработка новых средств лечения, эффективных против инфекций с множественной лекарственной устойчивостью.

Исследователи в разных странах выбирают для себя различные подходы к получению новых антибактериальных лекарственных средств. Однако их

можно объединить в две большие группы: *сплошной и направленный скрининг веществ*, вновь синтезированных или выделенных из природных источников; *анализ генома патогенных бактерий* с целью выявления потенциальных мишеней для антибиотиков, а также анализ генома и вторичных метаболитов продуцентов антибиотиков. Необходимо отметить, что к настоящему времени разработаны миллиарды молекул химических соединений, которые выделены из природных источников и получены химическим синтезом, но лишь десятки соответствуют требованиям, предъявляемым по противомикробному действию и биологической безопасности. Поэтому для решения глобальной проблемы антибиотикорезистентности бактерий необходима разработка новых соединений антибактериальной направленности, и, возможно, с ранее неизвестным механизмом действия.

В связи с вышеизложенным, целью нашего исследования стало изучение антибактериальных свойств новых синтезированных химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE.

На первом этапе исследования были изучены штаммы бактерий группы ESKAPE, выделенные из различного клинического материала при воспалительных процессах разной локализации. Оказалось, что 66,5% штаммов обладают генетическими и фенотипическими факторами антибиотикорезистентности. В процессе исследования удалось сформировать, наполнить и зарегистрировать в Роспатенте 2 базы данных: резистентных и чувствительных штаммов бактерий группы ESKAPE (всего 120 штаммов). Установлено, что наибольшим набором генов антибиотикорезистентности обладают штаммы *K. pneumoniae* (37 генов) и *S. aureus* (10 генов). Доля мультирезистентных штаммов среди бактерий *K. pneumoniae* составила 60%, среди бактерий *S. aureus* – 40%.

В дальнейшем нами были изучены вещества растительного происхождения, соединения на основе минералов, вещества

полусинтетического и синтетического происхождения на предмет их возможного антибактериального действия.

Природные компоненты растительного и минерального происхождения с помощью современных методов обработки подвергались конструированию, в результате чего были получены совершенно новые формы соединений. Так, например, куркумин природного происхождения был импрегнирован с гиалуроновой кислотой в нановолокнистые мембраны, полученные методом электроспиннинга. Полученный материал обладает значительными преимуществами перед обычным куркумином благодаря новым физическим и химическим свойствам новой структуры разработанного комплекса. Использование покрытий на основе куркумина для раневых поверхностей будет препятствовать развитию бактериальных осложнений, обусловленных *S. aureus* и *P. aeruginosa*, в отделениях хирургического профиля.

При разработке новых соединений на основе минералов руководствовались ранее полученными данными об антибактериальной активности отдельных металлов и микроэлементов. Получение наноструктурных частиц кремния и селена позволило достичь бактерицидного эффекта в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Причем, чем меньше были размеры наночастиц, тем быстрее достигался антибактериальный эффект. Эти соединения после соответствующих клинических испытаний могут быть использованы в виде различных лекарственных форм.

Набирающая обороты технология имплантирования различных конструкций в организм человека сопряжена с возможностью контаминирования операционной раны различными бактериями, в том числе госпитальными, резистентными ко многим антибиотикам. Нами получены обнадеживающие результаты по наличию антибактериальных свойств у нанопленок титана, содержащих наночастицы серебра. Наибольший эффект был зарегистрирован для штаммов *S. aureus*, в том числе с множественной устойчивостью к антибиотикам.

Полученная в результате сонохимической обработки латунь, состоящая из меди и цинка, выделяет ионы металлов, которые генерируют активные формы кислорода на своей поверхности, повреждающие бактериальную клетку. Синергетический эффект двух компонентов сплава способствовал усилению бактерицидного эффекта в отношении грамотрицательных бактерий. Полученные результаты говорят о возможности использования таких соединений при конструировании различных покрытий с антибактериальными свойствами.

В ряду соединений полусинтетического и синтетического происхождения были исследованы: нитрофураны, азирины, аминокиндоны, пиримидины, амидины, производные ципрофлоксацина, пиперидины с уреанами. Наилучшие антибактериальные свойства в отношении бактерий группы ESKAPE выявлены у азиринов (МИК для *S. aureus* 4,5 мкг/мл, МИК для *P. aeruginosa* и *E. aerogenes* – 9 мкг/мл). Эти значения МИК сопоставимы с МИК антибиотика сравнения – сульфаметоксазола, и даже ниже таковых.

Для усиления антимикробного действия в настоящее время исследователями изучается вопрос синергизма антибиотиков. В своей работе мы исследовали явление синергии между синтезированным соединением группы сульфонамидов и официальным антибиотиком из группы карбапенемов (меропенем). При совместном использовании синтезированных соединений удалось достигнуть снижения концентрации меропенема в 5-100 раз, а сульфонамидов в 2-4 раза в отношении всех референтных штаммов группы ESKAPE. Обнадеживающие результаты были получены в эксперименте со штаммами *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, выделенными от стационарных больных при нозокомиальных инфекциях, резистентными ко всем классам антибиотиков. В комбинации с соединениями сульфонамидов МИК меропенема снизилась до 0,3 мкг/мл, что соответствует критерию чувствительности к этому антибиотику. Подобная тенденция отмечена и для штамма *A. baumannii*, который был резистентен к меропенему (МИК меропенема = 40 мкг/мл). В комбинации с соединениями МИК меропенема

снизилась до 0,3 и 0,6 мкг/мл, что соответствует критерию чувствительности к этому антибиотику. Таким образом, было установлено, что синтезированная группа соединений сульфонамидов проявляет синергизм с меропенемом. При этом удалось восстановить чувствительность штаммов, относящихся к наиболее актуальным видам возбудителей нозокомиальных инфекций: *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

Для подтверждения полученных результатов антибактериальной активности соединения 3-фенил-2Н-азирин-2-карбоновой кислоты были проведены исследования на модели мышей. При лечении раневой инфекции, обусловленной штаммом *K. pneumoniae*, синтезированным соединением наблюдалось резкое снижение высеваемых из ран микроорганизмов по сравнению с контролем. Полное заживление ран наступило на 4 дня раньше, чем в группе контроля. Поэтому соединение 3-фенил-2Н-азирин-2-карбоновой кислоты может быть передано для дальнейших клинических испытаний и использования в программируемом синтезе других антибактериальных соединений.

ВЫВОДЫ

1. Изучены фенотипические и генотипические маркеры антибиотикорезистентности 120 штаммов бактерий группы ESKAPE, выделенных при различных инфекционных процессах. Наибольшим набором генов антибиотикорезистентности обладают штаммы *K. pneumoniae* (37 генов) и *S. aureus* (10 генов). Доля мультирезистентных штаммов среди бактерий *K. pneumoniae* составила 60%, среди бактерий *S. aureus* – 40%.

2. Наилучшие антибактериальные свойства в отношении бактерий группы ESKAPE выявлены среди веществ растительного происхождения у нановолокон на основе куркумина и гиалуроновой кислоты (МИК 90 мг/мл), среди соединений на основе минералов – у комплекса «титан (Ti) и серебро (Ag)» (снижение количества бактерий *S. aureus* в $1 \cdot 10^5$ раз), среди веществ полусинтетического и синтетического происхождения – у азиринов (МИК для *S. aureus* 4,5 мкг/мл, МИК для *P. aeruginosa* и *E. aerogenes* – 9 мкг/мл).

3. Синтезированные соединения сульфонамидов потенцируют действие меропенема в отношении бактерий группы ESKAPE: в комбинации с соединениями сульфонамидов МИК меропенема для резистентного штамма *K. pneumoniae* снизилась с 20 мкг/мл до 0,3 мкг/мл, для резистентного штамма *A. baumannii* – с 40 мкг/мл до 0,3 мкг/мл, что соответствует критерию чувствительности к этому антибиотику.

4. В эксперименте на белых беспородных мышах доказана антибактериальная эффективность соединения 3-фенил-2Н-азиринов-2-карбоновой кислоты при лечении раневой инфекции, обусловленной штаммом *K. pneumoniae*: наблюдалось значительное снижение (в 40 раз) числа возбудителей в ране по сравнению с контролем, приводящее к полному заживлению ран на 4 дня раньше, чем в группе контроля.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В результате проведенных исследований установлен фенотип резистентности к антибиотикам у штаммов группы ESKAPE, выделенных из различного клинического материала и при различных заболеваниях. У этих же штаммов определена чувствительность к новым синтезированным соединениям с предполагаемым антибактериальным эффектом. Оказалось, что штаммы бактерий группы ESKAPE, резистентные к антибиотикам, подвергались антибактериальному воздействию с помощью синтезированных соединений. Причем, МИК некоторых соединений ниже таковой у официального препарата сравнения.

Полученная в ходе исследования информация позволяет на основе понимания изученных причинно-следственных связей предугадывать отношение выделенных бактерий к препаратам растительного, минерального или искусственного происхождения. Так, можно предположить, что при выделении резистентных к антибиотикам штаммов *S. aureus* с высокой долей вероятности будут эффективны препараты на основе серебра, экстракта пихты, депсипептидов. В отношении бактерий *K. pneumoniae* и *A. baumannii* можно ожидать антибактериальный эффект с использованием препаратов на основе куркумина и азиринов. Таким образом, полученные данные позволяют прогнозировать возможность применения альтернативных препаратов в случае выделения резистентных к антибиотикам штаммов бактерий.

Определение МИК у соединений-лидеров может быть использована для назначения лечебной дозы соответствующих препаратов антимикробной направленности.

Информация о спектре и уровне устойчивости бактерий группы ESKAPE должна служить основой для выбора рациональной схемы этиотропной терапии бактериальных инфекций, что позволит снизить риск развития устойчивости и возникновения новых механизмов резистентности.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В связи с тем, что рассматриваемая тема исследования, несомненно, будет актуальна в ближайшее время, следует продолжать пополнять имеющуюся коллекцию изолятов для дальнейшего мониторинга антибиотикорезистентности выделяемых штаммов с выявлением механизмов резистентности к антибактериальным препаратам.

Также необходимо последующее изучение МИК в отношении конкретного препарата, исследование механизма действия вещества с целью его химической и медицинской оптимизации, а также отслеживания генотипической характеристики в отношении резистентности не только к известным антибиотикам, но и к новым препаратам. Полученная информация позволит конструировать антибактериальные препараты природного и/или синтетического происхождения с учетом их воздействия на локус, определяющий резистентность.

Полученные оптимистичные результаты по использованию явления синергии между антибиотиком, утратившим свою эффективность в рекомендуемой дозировке, и синтезированным низкомолекулярным соединением нацеливают на продолжение исследований в этом направлении с другими препаратами.

Все положительные результаты, полученные *in vitro* и подкрепленные на моделях экспериментальных животных *in vivo*, после исследования на отсутствие цитотоксичности могут быть предложены для дальнейших клинических испытаний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- DMSO, ДМСО — Dimethylsulfoxid — диметилсульфоксид
- DMF, ДМФА — Dimethylformamide — диметилформамид
- АБП — антибактериальные препараты
- БЛ — бета-лактамазы
- БЛРС — бета-лактамазы расширенного спектра
- ВОЗ — всемирная организация здравоохранения
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДДМ — диско-диффузионный метод
- КОЕ — колониеобразующая единица
- КЧ — коэффициент чувствительности
- МБЛ — металло-бета-лактамазы
- МГЭ — мобильные генетические элементы
- МИК — минимальная ингибирующая концентрация
- МЛУ — множественная лекарственная устойчивость
- НЧ — наночастицы
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- УК — усниновая кислота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «Об утверждении Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» // «Собрание законодательства РФ», 09.10.2017, № 41, ст.5990.
2. Артюх, Т.В.. Изучение синергии антибактериальных препаратов с использованием метода «шахматной доски» и анализа «времени уничтожения» Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2022, vol. 67, no. 3, pp. 332–342
3. Вагнер, Х. Исследование синергии: создание нового поколения фитопрепаратов / Х. Вагнер, Г. Ульрих-Мерцених // Рус. мед. журн. Мед. обозрение. – 2016. – Т. 24, № 3. – С. 183–189.
4. Донцов, В.И.. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении /В.Н. Крутько, Б.М. Мрикаев, С.В. Уханов// *Труды ИСА РАН*. 2006, № 19, С.50-69.
5. Кононова Л.И. [и др.] Синергидное действие катионного пептида хомина и нового дезинфектанта на основе изохинолина на образование биопленок полирезистентных стафилококков. *Антибиотики и химиотерапия*. 2020, Т. 65, № 5–6, С. 11–18.
6. Король, Л. А. Иберогаст – эффективная фитотерапия функциональных заболеваний желудочнокишечного тракта / Л. А. Король, С. А. Скатков // *Терапия*. – 2016. – № 5. – С. 88–95.
7. Кузьменков, А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В., Авраменко А.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021, Т.23, №2. С. 198-204.– DOI: 10.36488/смас.2021.2.198-204.

8. Степаненко, И. С. Противотуберкулезная активность некоторых производных аминоиндола и пирролохинолинов / И. С. Степаненко [и др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2016. – Т. 18. – № 2. – С. 116.
9. Abelenda-Alonso G., Padulles A., Rombauts A., Gudiol C., Pujol M., Alvarez-Pouso C., et al. (2020). Antibiotic prescription during the COVID-19 pandemic: a biphasic pattern. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2020, 41, pp. 1371–1372. – DOI: 10.1017/ice.2020.381
10. Adamczak, A.; Ożarowski, M.; Karpiński, T.M. Curcumin, a Natural Antimicrobial Agent with Strain-Specific Activity. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020, 13(7), 153. – DOI:10.3390/ph13070153.
11. Ahmad M., Khan A.U. Global economic impact of antibiotic resistance: A review // *J Glob Antimicrob Resist.* 2019, 19, pp. 313–316. – DOI: 10.1016/j.jgar.2019.05.024.
12. Akritopoulou-Zanze, I.; Wakefield, B. D.; Gasiiecki, A.; Kalvin, D.; Johnson, E. F.; Kovar, P.; Djuric, S. W. Scaffold oriented synthesis. Part 4: design, synthesis and biological evaluation of novel 5-substituted indazoles as potent and selective kinase inhibitors employing heterocycle forming and multicomponent reactions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, pp. 1480–1483. – DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.01.001.
13. Allaka T.R., Kummari B., Polkam N., Kuntala N., Chepuri K., Anireddy JS. Novel heterocyclic 1,3,4-oxadiazole derivatives of fluoroquinolones as a potent antibacterial agent: Synthesis and computational molecular modeling. *Molecular Diversity*. 2022, 26, pp. 1581 – 1596. – DOI: 10.1007/s11030-021-10287-3.
14. Al-Tel, T. H.; Al-Qawasmeh, R. A.; Zaarour, R. Design, synthesis and in vitro antimicrobial evaluation of novel Imidazo[1,2-a]pyridine and imidazo[2,1-b][1,3]benzothiazole motifs. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, pp. 1874–1881. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.02.051.
15. Amsterdam D. Antibiotics in Laboratory Medicine. New York : Lippincott Williams, 2014, Editions 6, pp. 807

16. Amusan, A.A.; Kalkofen, B.; Gargouri, H.; Wandel, K.; Pinnow, C.; Lisker, M.; Burte, E.P. Ag films grown by remote plasma enhanced atomic layer deposition on different substrates. *J. Vac. Sci. Technol. A* 2016, 34, 01A126. – DOI: 10.1116/1.4936221.
17. Angamma, C.J.; Jayaram, S.H. Analysis of the Effects of Solution Conductivity on Electrospinning Process and Fiber Morphology. *IEEE Transactions on Industry Applications*. 2011, 47(3), pp. 1109–1117. – DOI: 10.1109/TIA.2011.2127431.
18. Antibiotic Resistance Threats In The United States 2019. *Centers for Disease Control and Prevention*. 2019 – DOI: 10.15620/cdc:82532.
19. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022, 399(10325), pp. 629-655. – DOI:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
20. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization. 2014. [Internet] URL: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/surveillancereport/en/> (accessed on June 29, 2019).
21. Apaydin S., Torok M. Sulfonamide derivatives as multi-target agents for complex diseases // *Bioorg Med Chem Lett*. 2019, 29(16), pp. 2042–2050. – DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.06.041.
22. Ardizzoni, A.; Neglia, R.G.; Baschieri, M.C.; Cermelli, C.; Caratozzolo, M.; Righi, E.; Palmieri, B.; Blasi, E. Influence of hyaluronic acid on bacterial and fungal species, including clinically relevant opportunistic pathogens. *J Mater Sci Mater Med*. 2011, 22(10), pp. 2329–2338. – DOI: 10.1007/s10856-011-4408-2.
23. Ayandele A.A., Oladipo E.K., Oyebisi O., Kaka M.O. Prevalence of Multi-Antibiotic Resistant Escherichia coli and Klebsiella species obtained from a Tertiary Medical Institution in Oyo State, Nigeria. *Qatar Med J*. 2020, 1, pp. 9. – DOI: 10.5339/qmj.2020.9.

24. Bardavio, J.; Miserachs, N.; Fava, P.; Olle, M.; Rodriguez, Y. Estudio del crecimiento bacteriano in vitro en sustancias viscoelásticas. *Annals d'Oftalmologia*. 2003, 11, pp. 239–244.
25. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 1966, 45, pp. 493–496.
26. Bhat, B.; Viswanathan, P.; Chandanala, S.; Prasanna, S.J.; Seetharam, R.N. Expansion and characterization of bone marrow derived human mesenchymal stromal cells in serum-free conditions. *Sci. Rep.* 2021, 11, pp. 3403. – DOI: 10.1038/s41598-021-83088-1.
27. Bienaymé, H.; Bouzid, K. A new heterocyclic multicomponent reaction for the combinatorial synthesis of fused 3-aminoimidazoles. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, pp. 2234–2237. – DOI: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16.
28. Blackburn, C.; Guan, B.; Fleming, P.; Shiosaki, K.; Tsai, S. Parallel synthesis of 3-aminoimidazo[1,2-a]pyridines and pyrazines by a new three-component condensation. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, pp. 3635–3638. – DOI: 10.1016/S0040-4039(98)00653-4.
29. Bodunov, V. A.; Galenko, E. E.; Galenko, A. V.; Novikov, M. S.; Khlebnikov, A. F. Synthesis of Substituted Indole-3-carboxylates by Iron(II)-Catalyzed Domino Isomerization of 3-Alkyl/aryl-4-aryl-5-methoxyisoxazoles. *Synthesis* 2018, 50, pp. 2784–2798.
30. Boltjes, A.; Dömling, A. The Groebke-Blackburn-Bienaymé Reaction. *Eur. J. Org. Chem.* 2019, pp. 7007-7049. – DOI: 10.1002/ejoc.201901124.
31. Boot, W.; Vogely, H.C.; Nikkels, P.G.J.; Pouran, B.; van Rijen, M.; Dhert, W.J.A.; Gawlitta, D. Local prophylaxis of implant-related infections using a hydrogel as carrier. *European Cells and Materials*. 2015, 30(2), pp. 19.
32. Cai N., Liu C., Feng Z., Li X., Qi Z., Ji M., Qin P., Ahmed W., Cui Z. Design, synthesis, and SAR of novel 2-glycinamide cyclohexyl sulfonamide derivatives against *Botrytis cinerea* // *Molecules*, 2018(4), 23, pp. 740. – DOI: 10.3390/molecules23040740.

33. Cai S., Yuan W., Li Y., Huang X., Guo Q., Tang Z., Fang Z., Lin H., Wong W., Wong K., Lu Y., Sun N. Antibacterial activity of indolyl-quinolinium derivatives and study their mode of action. *Bioorg Med Chem.* 2019, 27(7), pp. 1274-1282. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.02.024.
34. Canavese G., Ancona A., Racca L., Canta M., Dumontel B., Barbaresco F., Limongi T., Cauda V. Nanoparticle-assisted ultrasound: A special focus on sonodynamic therapy against cancer. *Chem. Eng. J.* 2018, 340, pp. 155–172. – DOI: 10.1016/j.cej.2018.01.060.
35. Carlson, G.A.; Dragoo, J.L.; Samimi. B.; Bruckner, D.A.; Bernard, G.W.; Hedrick, M.; Benhaim. P. Bacteriostatic properties of biomatrices against common orthopaedic pathogens. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004, 321, pp. 472–478.
36. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, Colomb-Cotinat M, Kretzschmar ME, Devleeschauwer B, Cecchini M, Ouakrim DA, Oliveira TC, Struelens MJ, Suetens C, Monnet DL, Strauss R, Mertens K, Struyf T, Catry B, Latour K, Ivanov IN, Dobрева EG, Tambic Andrašević A, Soprek S, Budimir A, Paphitou N, Žemlicková H, Schytte Olsen S, Wolff Sönksen U, Märting P, Ivanova M, Lyytikäinen O, Jalava J, Coignard B, Eckmanns T, Abu Sin M, Haller S, Daikos GL, Gikas A, Tsiodras S, Kontopidou F, Tóth Á, Hajdu Á, Guólaugsson Ó, Kristinsson KG, Murchan S, Burns K, Pezzotti P, Gagliotti C, Dumpis U, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis.* 2019, 19, pp. 56–66. – DOI: 10.1016/S1473-099(18)30605-4.
37. Chamberlain R.E., *J. Antimicrob. Ther.* 1976, 2, pp. 325–336.
38. Chan, W.-W.; Yeung, S.-H.; Zhou, Z.; Chan, A. S. C.; Yu, W.-Y. Ruthenium Catalyzed Directing Group-Free C2-Selective Carbenoid Functionalization of Indoles by α -Aryldiazoesters. *Org. Lett.* 2010, 12, pp. 604–607.
39. Charan, T.R; Bhutto, M.A.; Bhutto, M.A.; Tunio, A.A.; Khuhro, G.M.; Khaskheli, S.A.; Mughal, A.A. «Nanomaterials of curcumin-hyaluronic acid»: their

various methods of formulations, clinical and therapeutic applications, present gap, and future directions. *Futur. J. Pharm. Sci.* 2021, 7, pp. 126. – DOI: 10.1186/s43094-021-00281-9.

40. Chatakun, P.; Nunez-Toldra, R.; Diaz Lopez, E.J.; Gil-Recio, C.; Martinez-Sarra, E.; Hernandez-Alfaro, F.; Ferres-Padro, E.; Giner-Tarrida, L.; Atari, M. The effect of five proteins on stem cells used for osteoblast differentiation and proliferation: A current review of the literature. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014, 71, pp.113–142. – DOI: 10.1007/s00018-013-1326-0.

41. Chen J, Wei Y, Yang X, Ni S, Hong F, Ni S. Construction of selenium-embedded mesoporous silica with improved antibacterial activity. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020, 190, 110910. – DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.110910.

42. Chen, Y.; Lu, Y.; Lee, R.J.; Xiang, G. Nano Encapsulated Curcumin: And Its Potential for Biomedical Applications. *Int J Nanomedicine.* 2020, 15, pp. 3099-3120. – DOI: 10.2147/IJN.S210320.

43. Cherepanov P.V., Ashokkumar M., Andreeva D.V. Ultrasound assisted formation of Al-Ni electrocatalyst for hydrogen evolution. *Ultrason. Sonochem.* 2015, 23, pp. 142–147. – DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.10.012.

44. Chuang, Y.-C.; Wang, L.; Feng, K.-C.; Subramanian, A.; Chang, C.-C.; Simon, M.; Nam, C.-Y.; Rafailovich, M. The Role of Titania Surface Coating by Atomic Layer Deposition in Improving Osteogenic Differentiation and Hard Tissue Formation of Dental Pulp Stem Cells. *Adv. Eng. Mater.* 2021, 23, 2100097. – DOI: 10.1002/adem.202100097.

45. Chuprun S.S., Kantin G., Krasavin M. Synthesis and Medicinal Applications of N-Aryl-C-nitroazoles. *Mini Rev. Med. Chem.* 2018, 18, p. 1733. doi: 10.2174/1389557518666180831101841.

46. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard. 11th ed. Volume 32. Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, NJ, USA: 2012. – ISBN 1-56238-782-0.

47. Costagliola, C.; Del Prete, A.; Winkler, N.R.; Carpineto, P.; Ciancaglini, M.; Piccolomini, R.; Mastropasqua, L. The ability of bacteria to use Na-hyaluronate as a nutrient. *Acta Ophthalmol Scand.* 1996, 74, pp. 566–568.
48. Dafale N.A., Srivastava S, Purohit HJ. Zoonosis: An Emerging Link to Antibiotic Resistance Under «One Health Approach». *Indian Journal of Microbiology.* 2020, 60 (2), pp. 139–152. – DOI:10.1007/s12088-020-00860-z.
49. Dahiya P, Kamal R. Hyaluronic Acid: a boon in periodontal therapy. *N Am J Med Sci.* 2013, 5(5) pp. 309-315. – DOI:10.4103/1947-2714.112473.
50. Dai T., Kharkwal G.B., Tanaka M., Huang Y.Y., Bil de Arce V.J., Hamblin M.R. Animal models of external traumatic wound infections. *Virulence.* 2011, 2(4), pp. 296-315. DOI: 10.4161/viru.2.4.16840.
51. Denissen J., Reyneke B., Waso-Reyneke M., Havenga B., Barnard T., Khan S., Khan W. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health // *Int J Hyg Environ Health*, 2022, pp. 244. – DOI: 10.1016/j.ijheh.2022.114006.
52. Dessinioti, C.; Katsambas, A. Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne. *Clin Dermatol.* 2017, 35(2), pp.163-167. – DOI: 10.1016/j.clindermatol.2016.10.008.
53. Doğan H., Doğan Ş., Gündüz M., Krishna V., Lherbet C., Sriram D., Sahin O., Sarıpinar E., Discovery of hydrazone containing thiadiazoles as Mycobacterium tuberculosis growth and enoyl acyl carrier protein reductase (InhA) inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2020, 188, 112035. DOI: 10. 1016/j. ejmech. 2020. 112035.
54. Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. OLEX2: a Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program. *J. Appl. Cryst.* 2009, 42, pp. 339–341.
55. Dotsenko V.V., Jassim N.T., Temerdashev A.Z., Abdul-Hussein Z.R., Aksenov N.A., Aksenova I.V. New 6'-Amino-5'-cyano-2-oxo-1,2-dihydro-1'H-spiro[indole-3,4'-pyridine]-3'-carboxamides: Synthesis, Reactions, Molecular

Docking Studies and Biological Activity. *Molecules*. 2023, 28(7), 3161. DOI: 10.3390/molecules28073161.

56. Drago, L.; Boot, W.; Dimas, K.; Malizos, K.; Hänsch, G.M.; Stuyck, J.; Gawlitta, D.; Romanò, C.L. Does implant coating with antibacterial-loaded hydrogel reduce bacterial colonization and biofilm formation in vitro ? *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2014, 472(11), pp. 3311-3323.

57. Drago, L.; Cappelletti, L.; De Vecchi, E.; Pignataro, L.; Torretta, S.; Mattina, R. Antiadhesive and antibiofilm activity of hyaluronic acid against bacteria responsible for respiratory tract infections. *APMIS*. 2014, 122(10), pp.1013–1019. – DOI: 10.1111/apm.12254.

58. Duarte, F. Gastric-resistant isoniazid pellets reduced degradation of rifampicin in acidic medium. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2014, Vol. 50, 4., pp. 749–755. – DOI: 10.1590/S1984-82502014000400010.

59. Duddu R., Dave P.R., Damavarapu R., Surapaneni R., Parrish D. Nucleophilic Substitution Reactions of 1-Methyl-2,4,5-trinitroimidazole (MTNI). *Synth. Commun.* 2009, 39, 4282. DOI: 10.1080/00397910902898635.

60. EUCAST. MIC Determination of Non-Fastidious and Fastidious Organisms. [Internet] URL: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/mic_determination?no_cache=1 (accessed on April 03, 2022).

61. Fahim H. Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives. *Science of the Total Environment*. 2014, 466-467, pp.1047-1059. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.009

62. Faralli, A.; Shekarforoush, E.; Ajalloueian, F.; Mendes, A.C.; Chronakis I.S. In vitro permeability enhancement of curcumin across Caco-2 cells monolayers using electrospun xanthan-chitosan nanofibers. *Carbohydr. Polym.* 2019, 206, pp. 38–47. – DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.10.073.

63. Founou, R.C.; Founou, L.L.; Essack, S.Y. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and

meta-analysis. *PLoS One*. 2017, 12(12), e0189621. – DOI: 10.1371/journal.pone.0189621.

64. Funt, L. D.; Krivolapova, Y. V.; Khoroshilova, O. V.; Novikov, M. S.; Khlebnikov, A. F. 2*H*-Azirine-2-carbonyl Azides: Preparation and Use as N-Heterocyclic Building Blocks. *J. Org. Chem.* 2020, 85, pp. 4182–4194.

65. Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. *Nat. Commun.* 2010, 1, pp. 80. – DOI:10.1038/ncomms1081.

66. Ganem, B. Strategies for Innovation in Multicomponent Reaction Design. *Acc. Chem. Res.* 2009, 42, pp. 463-472. – DOI: 10.1021/ar800214s.

67. Gensel J., Borke T., Pérez N.P., Fery A., Andreeva D.V., Betthausen E., Müller A.H.E., Möhwald H., Skorb E. V. Cavitation engineered 3D sponge networks and their application in active surface construction. *Adv. Mater.* 2012, 24, pp. 985–989. – DOI: 10.1002/adma.201103786.

68. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization. 2017. [Internet] URL: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1 (accessed on May 03, 2023).

69. Goldman, R.C. *Future Med. Chem.* 2010, 2, pp. 1253-1271.

70. Grigal, I.P.; Markeev, A.M.; Gudkova, S.A.; Chernikova, A.G.; Mityaev, A.S.; Alekhin, A.P. Correlation between bioactivity and structural properties of titanium dioxide coatings grown by atomic layer deposition. *Appl. Surf. Sci.* 2012, 258, pp. 3415–3419. – DOI: 10.1016/j.apsusc.2011.11.082.

71. Groebke, K.; Weber, L.; Mehlin, F. Synthesis of imidazo[1,2-*a*]annulated pyridines, pyrazines and pyrimidines by a novel threecomponent condensation. *Synlett.* 1998, 6, pp. 661–663. – DOI: 10.1055/s-1998-1721.

72. Gui-Fu Z., Xiaofeng L., Shu Z., Baofeng P., Ming-Liang L. Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2018, 146, pp. 599-612. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.01.078.

73. Gunes, H.; Gulen, D.; Mutlu, R.; Gumus, A.; Tas, T.; Topkaya, A.E. Antibacterial effects of curcumin: An in vitro minimum inhibitory concentration study. *Toxicol Ind Health*. 2016, 32(2), pp. 246-250. – DOI: 10.1177/0748233713498458.
74. Gupta, B.; Hossain, M.A.; Riaz, A.; Sharma, A.; Zhang, D.; Tan, H.H.; Jagadish, C.; Catchpole, K.; Hoex, B.; Karuturi, S. Recent Advances in Materials Design Using Atomic Layer Deposition for Energy Applications. *Adv. Funct. Mater.* 2021, 32, pp. 2109105. – DOI:10.1002/adfm.202109105.
75. Hamilton, H.; Jamieson, J. Deep infection in total hip arthroplasty. *Can. J. Surg.* 2008, 51, pp. 111–117.
76. He, J.; Zhou, W.; Zhou, X.; Zhong, X.; Zhang, X.; Wan, P.; Zhu, B.; Chen, W. The anatase phase of nanotopography titania plays an important role on osteoblast cell morphology and proliferation. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2008, 19, pp. 3465–3472. – DOI: 10.1007/s10856-008-3505-3.
77. Hernando-Amado S, Coque T.M., Baquero F., Martinez J.L. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nat Microbiol.* 2019, 4(9), pp. 1432–1442. – DOI: 10.1038/s41564-019-0503-9.
78. Hertz, A.; Bruce, I.J. Inorganic materials for bone repair or replacement applications. *Nanomedicine* 2007, 2, pp. 899–918. – DOI: 10.2217/17435889.2.6.899.
79. Hinklin R., Baer B., Boyd S., Chicarelli M., Condroski K., DeWolf W. J., Fischer J., Frank M., Hingorani G., Lee P., Neitzel N., Pratt S., Singh A., Sullivan F., Turner T., Voegtli W., Wallace E., Williams L, Aicher T. Discovery and preclinical development of AR453588 as an anti-diabetic glucokinase activator. *Bioorg Med Chem.* 2020, 28(1), 115232. – DOI: 10. 1016/j.
80. Hoeplich PD, Finn P.D. Influence of culture media on the antistaphylococcal activity of fosfomycin. *Appl Microbiol.* 1971, 22(5), pp. 781–783. – DOI: 10.1128/am.22.5.781-783.1971.

81. Huletsky A., Knox J.R., Levesque R.C. Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type β -lactamases probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *J Biol Chem.* 1993, V. 268. – pp. 3690–3697.
82. Hussein, R. R., Rabie, A. S. I., Bin Shaman, M., Shaaban, A. H., Fahmy, A. M., Sofy, M. R., Lattyak, E. A., Abuelhana, A., Naguib, I. A., Ashour, A. M., & Aldeyab, M. A. Antibiotic consumption in hospitals during COVID-19 pandemic: a comparative study. *Journal of Infection in Developing Countries.* 2022, 16(11), pp. 1679-1686. – DOI: 10.3855/jidc.17148.
83. Huttner B. D., Catho G., Pano-Pardo J. R., Pulcini C., Schouten J. COVID-19: don't neglect antimicrobial stewardship principles! *Clin. Microbiol. Infect.* 2020, 26, pp. 808–810. – DOI: 10.1016/j.cmi.2020.04.024.
84. Ibrahim H.R., Tatsumoto S., Ono H., Van Immerseel F., Raspoet R., Miyata T. A novel antibiotic-delivery system by using ovotransferrin as targeting molecule. *Eur J Pharm Sci.* 2015, 66(23), pp. 59–69. – DOI: 10.1016/j.ejps.2014.10.005.
85. Jana, S.; Pei, C.; Empel, C.; Koenigs, R. M. Photochemical Carbene Transfer Reactions of Aryl/Aryl Diazoalkanes—Experiment and Theory. *Angew Chem., Int. Ed.* 2021, 60, pp. 13271–13279. – DOI: 10.1002/anie.202100299.
86. Jansen K.U., Anderson A.S. The role of vaccines in fighting antimicrobial resistance (AMR). *Hum. Vacc. Immunother.* 2018, 14(9), pp. 2142–2149. – DOI: 10.1080/21645515.2018.1476814.
87. Jayaraman P., Sakharkar K.R., Lim C., Siddiqui M.I., Dhillon S.K., Sakharkar M.K. Novel phytochemical-antibiotic conjugates as multitarget inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* GyrB/ParE and DHFR. *Drug Des Devel Ther.* 2013, 7, pp. 449–475. – DOI: 10.2147/DDDT.S43964.
88. Ji, P.; Wang, L.; Chen, Y.; Wang, S.; Wu, Zh.; Qi, X. Hyaluronic acid hydrophilic surface rehabilitating curcumin nanocrystals for targeted breast cancer

treatment with prolonged biodistribution. *Biomater. Sci.*, 2020, 8, pp. 462-472. – DOI: 10.1039/C9BM01605H.

89. Jin X., Riedel-Kruse I.H. Biofilm Lithography enables high-resolution cell patterning via optogenetic adhesin expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2018, 115, pp. 3698– 3703. – DOI:10.1073/pnas.1720676115.

90. Jones R.G., Terando N.H. Antibacterial compositions containing 3-nitropyrazoles. *Chem. Abstr.* 1978, 88, 152614.

91. Kaiser A.B., Kernodle D.S., Parker R.A. Low-inoculum model of surgical wound infection. *J Infect Dis.* 1992, 166, pp. 393–399.

92. Kalinin, S.; Vedekhina, T.; Paramonova, P.; Krasavin, M. Antimicrobial activity of 5-membered nitroheteroaromatic compounds beyond nitrofurans and nitroimidazoles: recent progress. *Curr. Med. Chem.* 2021, 28, pp.5926-5982. – DOI: 10.2174/0929867328666210216114838.

93. Kamali, M., Davarazar, T.M., Aminabhavi. Single precursor sonochemical synthesis of mesoporous hexagonal-shape zero-valent copper for effective nitrate reduction. *Chem. Eng. J.* 2020, 384, 123359. – DOI: 10.1016/j.cej.2019.123359.

94. Kamurai, B.; Mombeshora, M.; Mukanganyama, S. Repurposing of Drugs for Antibacterial Activities on Selected ESKAPE Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Microbiol.* 2020, 8885338. – DOI:10.1155/2020/8885338.

95. Kang J., Gopala L., Reddy Tangadanchu V., Gao W., Zhou C. Novel naphthalimide nitroimidazoles as multitargeting antibacterial agents against resistant *Acinetobacter baumannii*. *Future Med Chem.* 2018, 10(7), pp. 711-724. DOI: 10.4155/fmc-2017-0160.

96. Karakan T. [et al.] Gut-brain-microbiota axis: antibiotics and functional gastrointestinal disorders. *Nutrients.* 2021, Vol. 13, 2. pp. 389. – DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13020389>.

97. Kariniemi, M.; Niinisto, J.; Hatanpaa, T.; Kemell, M.; Sajavaara, T.; Ritala, M.; Leskela, M. Plasma-Enhanced Atomic Layer Deposition of Silver Thin

Films. *Chem. Mater.* 2011, 23, pp. 2901–2907. – DOI:10.1021/cm200402j.

98. Kaur, M.; Singh, K. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2019, 102, pp. 844–862. – DOI: 10.1016/j.msec.2019.04.064.

99. Kayange N, Kamugisha E, Mwizamholya DL, Jeremiah S, Mshana SE. Predictors of positive blood culture and deaths among neonates with suspected neonatal sepsis in a tertiary hospital, Mwanza-Tanzania. *BMC Pediatr.* 2010, 10, pp. 39. – DOI: 10.1186/1471-2431-10-39.

100. Keffer J. L., Plaza, A., Bewley, C. A. *Org. Lett.* 2009, 11, pp. 1087–1090.

101. Khachatoorian R., Micewicz E., Micewicz A., French S., Ruchala P. Optimization of 1,3-disubstituted urea-based inhibitors of Zika virus infection. *Bioorg Med Chem Lett.* 2019, 29(20), 126626. – DOI: 10. 1016/j. bmcl. 2019. 126626.

102. Khadse S., Amnerkar N., Dighole K., Dhote A., Patil V., Lokwani D., Ugale V., Charbe N., Chatpalliwar V. Hetero-substituted sulfonamido-benzamide hybrids as glucokinase activators: design, synthesis, molecular docking and in-silico ADME evaluation. *J Mol Struct.* 2020, 1222, 128916. DOI: 10. 1016/j. molst ruc. 2020.

103. Khaleghi, M.; Ahmadi, E.; Gholami, M.; Haghi, F.; Morshedi, D. Antibacterial curcumin-loaded hydrogel based on Hyaluronic Acid-Polydimethylsiloxane (HA-PDMS) for wound dressing perspectives [Internet]. 20th International Congress of Microbiology of Iran, Kerman, 2019. URL: <https://civilica.com/doc/987151> (accessed on April 03, 2022).

104. Khameneh B., Iranshahy M., Ghandadi M., Ghoochi Atashbeyk D., Fazly Bazzaz B., Iranshahi M. Investigation of the antibacterial activity and efflux pump inhibitory effect of co-loaded piperine and gentamicin nanoliposomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drug Dev Ind Pharm.* 2015, 41(6), pp. 989-994. DOI: 10.3109/03639045.2014.920025.

105. Khlebnikov, A. F.; Novikov, M. S.; Gorbunova, Y. G.; Galenko, E. E.; Mikhailov, K. I.; Pakalnis, V. V.; Avdontceva, M. S. Isoxazolium N-ylides and 1-oxa-5-azahexa-1,3,5-trienes on the way from isoxazoles to 2*H*-1,3-oxazines. *Beilstein J. Org. Chem.* 2014, 10, pp. 1896–1905.
106. Kommu N., Ghule V.D., Kumar A.S., Sahoo A.K. Triazole-Substituted Nitroarene Derivatives: Synthesis, Characterization, and Energetic Studies. *Chem. Asian J.* 2014, 9, p. 166. DOI: 10.1002/asia.201300969.
107. Kono M., Matsumoto T., Kawamura T. Synthesis, SAR study, and biological evaluation of a series of piperazine ureas as fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2013, 21(1), pp. 28–41. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.
108. Kurihara M., Sales R., Silva K., Maciel W., Simionatto S. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreaks: a global problem in healthcare settings. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020, 6, 53, e20200248. DOI: 10.1590/0037-8682-0248-2020.
109. Langdon, S. R.; Brown, N.; Blagg, J. Scaffold Diversity of Exemplified Medicinal Chemistry Space. *J. Chem. Inf. Model.* 2011, 51, pp. 2174–2185. – DOI:10.1021/ci2001428.
110. Lewis, K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol.* 2007, pp. 48-56. – DOI:10.1038/nrmicro1557.
111. Li J., Wang J., Yang Y., Cai P., Cao J., Cai X., et al. Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2020, 9, pp. 153. – DOI: 10.1186/s13756-020-00819-1.
112. Li Y., Geng J., Liu Y., Yu S., Zhao G. Thiadiazole-a promising structure in medicinal chemistry. *ChemMedChem.* 2013, 8(1), pp. 27–41. DOI: 10.1002/cmdc.201200355.
113. Li, J.; Shin, G.H.; Chen, X.; Park, H.J. Modified curcumin with hyaluronic acid: Combination of pro-drug and nano-micelle strategy to address the

curcumin challenge. *Food Research International*. 2015, 69, pp. 202-208. – DOI:10.1016/j.foodres.2014.12.045.

114. Lindström B., Pettersson L.G., Menon G. Activity and characterization of Cu/Zn, Cu/Cr and Cu/Zr on γ -alumina for methanol reforming for fuel cell vehicles. *Appl. Catal. A Gen.* 2022, 234, pp. 111–125. – DOI: 10.1016/S0926-860X(02)00202-8.

115. Ling L.L, Schneider T., Peoples A.J., Spoering A.L., Engels I., Conlon B.P., Mueller A., Schäberle T.F., Hughes D.E., Epstein S., Jones M., Lazarides L., Steadman V.A., Cohen D.R., Felix C.R., Fetterman K.A., Millett W.P., Nitti A.G., Zullo A.M., Chen C., Lewis K. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*. 2015, 517(7535), pp. 455–459. – DOI: 10.1038/nature14098.

116. Linlin W. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*. 2017, 12, pp.1227–1249 – DOI:10.2147/IJN.S121956

117. Liu H., Chu Z., Xia D., Cao H., Lv X. Discovery of novel multi-substituted benzo-indole pyrazole schiff base derivatives with antibacterial activity targeting DNA gyrase. *Bioorg Chem.* 2020, 99, 103807. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.103807.

118. Logoluso, N.; Malizos, K.; Blauth, M.; Danita, A.; Simon, K.; Romanò, C. Anti-bacterial hydrogel coating of osteosynthesis implants: Early clinical results from a multi-center prospective trial. *European Cells and Materials*. 2015, 30(2), pp. 35.

119. Lovati, A.B.; Drago, L.; Bottagisio, M.; Bongio, M.; Ferrario, M.; Perego, S.; Sansoni, V.; De Vecchi, E.; Romanò, C.L. Systemic and local administration of antimicrobial and cell therapies to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*-induced femoral nonunions in a rat model. *Mediators of Inflammation*. 2016, 9595706. – DOI: 10.1155/2016/9595706.

120. Luo, X.; Chen, G.; He, L.; Huang, X. Amination of Diazocarbonyl Compounds: N–H Insertion under Metal-Free Conditions. *J. Org. Chem.* 2016, 81, pp. 2943–2949.

121. Makhaeva G.F., Kovaleva N.V., Boltneva N.P., Makhaeva G.F., Kovaleva N.V., Boltneva N.P., Lushchekina S.V., Rudakova E.V., Stupina T.S., Terentiev A.A., Serkov I.V., Proshin A.N., Radchenko E.V., Palyulin V.V., Richardson R.J. Conjugates of tacrine and 1,2,4-thiadiazole derivatives as new potential multifunctional agents for Alzheimer's disease treatment: synthesis, quantumchemical characterization, molecular docking, and biological evaluation. *Bioorg Chem.* 2020, 94, 103387. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103387.

122. Makvandi, P.; Ashrafizadeh, M.; Ghomi, M.; Najafi, M.; Hossein, H.H.S.; Zarrabi, A.; Mattoli, V.; Varma, R.S. Injectable hyaluronic acid-based antibacterial hydrogel adorned with biogenically synthesized AgNPs-decorated multi-walled carbon nanotubes. *Prog. Biomater* 2021, 10, pp. 77–89. – DOI: 10.1007/s40204-021-00155-6.

123. Malizos, K.; Blauth, M.; Danita, A.; Capuano, N.; Mezzoprete, R.; Logoluso, N.; Drago, L.; Romanò, C.L. Fast-resorbable antibiotic-loaded hydrogel coating to reduce post-surgical infection after internal osteosynthesis: A multicenter randomized controlled trial. *Journal of Orthopaedics and Traumatology.* 2017, 18(2), pp. 159-169. – DOI: 10.1007/s10195-017-0442-2.

124. Marchisio P., Esposito S., Bianchini S., Dusi E., Fusi M., Nazzari E., Picchi R., Galeone C., Principi N. Efficacy of injectable trivalent virosomal-adjuvanted inactivated influenza vaccine in preventing acute otitis media in children with recurrent complicated or noncomplicated acute otitis media. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2009, 28(10), pp. 855–859. – DOI:10.1097/INF.0b013e3181a487b4.

125. Marickar, R.F.; Geetha, R.V.; Neelakantan, P. Efficacy of contemporary and novel Intracanal medicaments against enterococcus faecalis. *J Clin Pediatr Dent.* 2014, 39(1), pp. 47–50. – DOI: 10.17796/jcpd.39.1.wmw9768314h56666.

126. Martinez-Guerra B. A., Gonzalez-Lara M. F., de-Leon-Cividanes N. A., Tamez-Torres K. M., Roman-Montes C. M., Rajme-Lopez S., et al. (2021). Antimicrobial resistance patterns and antibiotic use during hospital conversion in

the COVID-19 pandemic. *Antibiotics (Basel)*. 2021, 10 pp. 182. – DOI: 10.3390/antibiotics10020182.

127. Marturano J.E., Lowery T.J. ESKAPE Pathogens in Bloodstream Infections Are Associated With Higher Cost and Mortality but Can Be Predicted Using Diagnoses Upon Admission. *Open Forum Infect. Dis.*, 2019, 6(12). – DOI: 10.1093/ofid/ofz503.

128. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T., Kawasaki M., Tsubouchi H., Sasaki H., Shimokawa Y., Komatsu M. A Nitro-Dihydro-Imidazooxazole Derivative with Promising Action against Tuberculosis In Vitro and In Mice. *PLoS Med.* 2006, 3, p. 2131. DOI: 10.1371/journal.pmed.0030466.

129. McRipley R.J., Whitney R.R. Characterization and quantitation of experimental surgical-wound infections used to evaluate topical antibacterial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1976,10, pp. 38–44.

130. Meirer, K.; Roedl, C. B.; Wisniewska, J. M.; George, S.; Haefner, A.-K.; Buscato, E. I.; Klingler, F.-M.; Hahn, S.; Berressem, D.; Wittmann, S. K.; Steinhilber, D.; Hofmann, B.; Proschak, E. Synthesis and Structure–Activity Relationship Studies of Novel Dual Inhibitors of Soluble Epoxide Hydrolase and 5-Lipoxygenase. *J. Med. Chem.* 2013, 56, pp. 1777–1781. – DOI: 10.1021/jm301617j.

131. Mielko K.A.; Jabłoński S.J.; Milczewska J.; Sands D.; Łukaszewicz M.; Młynarz P. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019, 35(11), pp. 178. – DOI: 10.1007/s11274-019-2739-1.

132. Miikkulainen, V.; Leskelä, M.; Ritala, M.; Puurunen, R.L. Crystallinity of inorganic films grown by atomic layer deposition: Overview and general trends. *J. Appl. Phys.* 2013, 113, 021301. – DOI: 10.1063/1.4757907.

133. Mikhailova, E.O. Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. *J. Funct. Biomater.* 2020, 11, pp. 84. – DOI: 10.3390/jfb11040084.

134. Miller T.W., Tristram E.W., Wolf F.J. Azirinomycin. II. Isolation and chemical characterization as 3-methyl-2(2H) azirinecarboxylic acid. *J Antibiot (Tokyo)*. 1971, 24(1), pp. 48–50.

135. Minjauw, M.M.; Solano, E.; Sree, S.P.; Asapu, R.; Van Daele, M.; Ramachandran, R.K.; Heremans, G.; Verbruggen, S.W.; Lenaerts, S.; Martens, J.A.; et al. Plasma-Enhanced Atomic Layer Deposition of Silver Using Ag(fod)(PEt₃) and NH₃-Plasma. *Chem. Mater.* 2017, 29, pp. 7114–7121. – DOI: 10.1021/acs.chemmater.7b00690.
136. Moffat, J. G.; Vincent, F.; Lee, J. A.; Eder, J.; Prunotto, M. Opportunities and challenges in phenotypic drug discovery: an industry perspective. *Nat Rev Drug Discov.* 2017, 16, 531-543. doi:10.1038/nrd.2017.111.
137. Moghadamtousi, S.Z.; Kadir, H.A.; Hassandarvish, P.; Tajik, H.; Abubakar, S.; Zandi, K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *Biomed Res Int.* 2014, 186864. – DOI: 10.1155/2014/186864.
138. Motola, M.; Capek, J.; Zazpe, R.; Bacova, J.; Hromadko, L.; Bruckova, L.; Ng, S.; Handl, J.; Spotz, Z.; Knotek, P.; et al. Thin TiO₂ Coatings by ALD Enhance the Cell Growth on TiO₂ Nanotubular and Flat Substrates. *ACS Appl. Bio Mater.* 2020, 3, pp. 6447–6456. – DOI: 10.1021/acsabm.0c00871.
139. Molinski T. F., Ireland, C. M. *J. Org. Chem.* 1988, 53, pp. 2103–2105.
140. Mulani M.S., Kamble E.E., Kumkar S.N., Tawre M.S., Pardesi K.R. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol.* 2019, 10(539). – DOI: 10.3389/fmicb.2019.00539.
141. Murray C.J.L., Ikuta K.S., Sharara F., Swetschinski L., Aguilar G.R., Gray A., Han C., Bisignano C., Rao P., Wool E., Johnson S.C., Browne A.J., Chipeta M.G., Fell R., Hackett S. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet.* 2022, 399(10325), pp. 629-655 – DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
142. Naaz F., Srivastava R., Singh A., Singh N., Verma R., Singh V.K., Singh R.K. Molecular modeling, synthesis, antibacterial and cytotoxicity evaluation of sulfonamide derivatives of benzimidazole, indazole, benzothiazole and thiazole. *Bioorg Med Chem.* 2018, 26(12), pp. 3414–3428. – DOI: 10.1016/j.bmc.2018.05.015.

143. Naclerio G.A., Abutaleb N., Onyedibe K.I., Seleem M.N., Sintim H.O. Potent trifluoromethoxy, trifluoromethylsulfonyl, trifluoromethylthio and pentafluorosulfanyl containing (1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzamides against drug-resistant Gram-positive bacteria. *RSC Med Chem.* 2019, 11(1), pp. 102–110. – DOI: 10.1039/c9md00391f.
144. Nastulyavichus A., Kudryashov S., Smirnov N. Antibacterial coatings of Se and Si nanoparticles. *Applied Surface Science.* 2019, Vol. 469, pp. 220-225. – DOI: 10.1016/j.apsusc.2018.11.011.
145. Nazarov, D.V.; Zemtsova, E.G.; Solokhin, A.Y.; Valiev, R.Z.; Smirnov, V.M. Modification of the Surface Topography and Composition of Ultrafine and Coarse Grained Titanium by Chemical Etching. *Nanomaterials* 2017, 7, pp. 15. – DOI: 10.3390/nano7010015.
146. Nelson R.E. [et al.] National estimates of healthcare costs associated with multidrug-resistant bacterial infections among hospitalized patients in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2021, Vol. 72, 1, pp. 17–26. – DOI: 10.1093/cid/ciaa1581.
147. Nepali K., Lee H.-Y., Liou J.-P. Nitro-Group-Containing Drugs. *Med. Chem.* 2019, 62, p. 2851. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00147.
148. Neubauer S., Madzgalla S., Marquet M. et al. A genotype-phenotype correlation study of SHV β -lactamases offers new insight into SHV resistance profiles. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020, V. 64, p. e02. – DOI: 10.1128/AAC.02293-19.
149. Niemelä, J.-P.; Marin, G.; Karppinen, M. Titanium dioxide thin films by atomic layer deposition: A review. *Semicond. Sci. Technol.* 2017, 32, 093005. – DOI: 10.1088/1361-6641/aa78ce.
150. Nwobodo D.C., Ugwu M.C., Anie C.O., Al-Ouqaili M.T.S., Ikem J.C., Chigozie U.V., Saki M. Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *J Clin Lab Anal.* 2022, 36(9). – DOI: 10.1002/jcla.24655.

151. Odell, L. R.; Nilsson, M. T.; Gising, J.; Lagerlund, O.; Muthas, D.; Nordqvist, A.; Karlen, A.; Larhed, M. Functionalized 3-amino-imidazo[1,2-a]pyridines: A novel class of drug-like Mycobacterium tuberculosis glutamine synthetase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, pp. 4790–4793. – DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.06.045.
152. Olive P.L. Correlation between the half-wave reduction potentials of nitroheterocycles and their mutagenicity in Chinese hamster V79 spheroids. *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 1981, 82, p. 137. DOI: 10.1016/0027-5107(81)90145-7.
153. Olivera C., Hung V.V., Davenport C., Rakonja J. In vitro synergy of 5-nitrofurans, vancomycin and sodium deoxycholate against Gram-negative pathogens. *J Med Microbiol.* 2021, 70(3), 001304 – DOI: 10.1099/jmm.0.001304.
154. Owens, D.K.; Wendt, R.C. Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* 1969, 13, pp. 1741–1747. – DOI: 10.1002/app.1969.070130815.
155. Pazos-Perez N., Borke T., Andreeva D.V., Alvarez-Puebla R.A. Silver coated aluminium microrods as highly colloidal stable SERS platforms. *Nanoscale.* 2011, 3, pp. 3265–3268. – DOI: 10.1039/c1nr10403a.
156. Pendleton J.N, Gorman S.P, Gilmore B.F (March 2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 2013, 11 (3), pp. 297–308. – DOI:10.1586/eri.13.12.
157. Peng M. [et al.] In vitro combined inhibitory activities of β -Lactam antibiotics and clavulanic acid against blaKPC-2-positive *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Drug Resist.* 2021, Vol. 14., pp. 361–368. – DOI:10.2147/IDR. S292612.
158. Pérez, J.M.M.; Pascau, J. *Image Processing with ImageJ*; Packt Publishing Ltd: Birmingham, UK. 2013; 140 p.
159. Pisella, G.; Gagnebin, A.; Waser, J. Three-Component Reaction for the Synthesis of Highly Functionalized Propargyl Ethers. *Chem. Eur. J.* 2020, 26, pp.10199–10204.

160. Pitarresi, G.; Palumbo, F.S.; Calascibetta, F.; Fiorica, C.; Di Stefano, M.; Giammona, G. Medicated hydrogels of hyaluronic acid derivatives for use in orthopedic field. *Int. J. Pharmac.* 2013, 449(1-2), 84-94. – DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.03.059.
161. Pitton J.S. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Ergeb Physiol.* 1972, V. 65, pp. 15–93.
162. Polaquini, C.R.; Morão, L.G.; Nazaré, A.C.; Torrezan, G.S.; Dilarri, G.; Cavalca, L.B.; Campos, D.L.; Silva, I.C.; Pereira, J.A.; Scheffers, D.J.; Duque, C.; Pavan, F.R.; Ferreira, H.; Regasini, L.O. Antibacterial activity of 3,3'-dihydroxycurcumin (DHC) is associated with membrane perturbation. *Bioorg Chem.* 2019, 90. – DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103031.
163. Pompa-Monroy, D.A.; Figueroa-Marchant, P.G.; Dastager, S.G.; Thorat, M.N.; Iglesias, A.L.; Miranda-Soto, V.; Pérez-González, G.L.; Villarreal-Gómez, L.J. Bacterial Biofilm Formation Using PCL/Curcumin Electrospun Fibers and Its Potential Use for Biotechnological Applications. *Materials* 2020, 13(23), 5556. – DOI: 10.3390/ma13235556.
164. Prete S.D., De Luca V., Bua S., Nocentini A., Carginale V., Supuran C.T., Capasso C. The Effect of Substituted Benzene-Sulfonamides and Clinically Licensed Drugs on the Catalytic Activity of CynT2, a Carbonic Anhydrase Crucial for Escherichia coli Life Cycle. *Int J Mol Sci.* 2020, 21(11), pp. 4175. – DOI: 10.3390/ijms21114175.
165. Prichard K., Campkin D., O'Brien N., Kato A., Fleet G., Simone M. Biological activities of 3,4,5-trihydropiperidines and their N- and O-derivatives. *Chem Biol Drug Des.* 2018, 92(1), pp.1171-1197. DOI: 10.1111/cbdd.13182.
166. Qin, Z.; Zheng, Y.; Wang, Y.; Du, T.; Li, C.; Wang, X.; Jiang, H. Versatile roles of silver in Ag-based nanoalloys for antibacterial applications. *Coord. Chem. Rev.* 2021, 449, pp. 214218. – DOI: 10.1016/j.ccr.2021.214218.
167. Radaeva, I.F.; Kostina, G.A.; Il'ina, S.G.; Kostyleva, R.N. Antimicrobial activity of hyaluronic acid. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2001, 1, pp. 74–75.

168. Rather M.A., Gupta K., Mandal M. Microbial biofilms: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Braz J Microbiol.* 2021, 54(4), pp. 1701–1718. – DOI: 10.1007/s42770-021-00624-x.
169. Rineh A., Soren O., McEwan T. Discovery of cephalosporin-3'-diazoniumdiolates that show dual antibacterial and antibiofilm effects against *Pseudomonas aeruginosa* clinical cystic fibrosis isolates and efficacy in a murine respiratory infection model. *ACS Infect Dis.* 2020, 6(6), pp.1460–1479. DOI: 10.1021/acsinfecdis.0c00070.
170. Rittenhouse S., Singley C., Hoover J., Page R., Payne D. Use of the surgical wound infection model to determine the efficacious dosing regimen of retapamulin, a novel topical antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006, 50, pp. 3886–3888.
171. Roca A, Quinto L, Abacassamo F, Morais L, Valles X, Espasa M, Sigauque B, Sacarlal J, Macete E, Nhacolo A, Mandomando I, Levine MM, Alonso PL. Invasive *Haemophilus influenzae* disease in children less than 5 years of age in Manhica, a rural area of southern Mozambique. *Trop Med Int Health.* 2008, 13 pp. 818–826. – DOI: 10.1111/j.1365-3156.2008.02061.x.
172. Romanò, C.L.; De Vecchi, E.; Bortolin, M.; Morelli, I.; Drago, L. Hyaluronic Acid and Its Composites as a Local Antimicrobial/Anti-adhesive Barrier. *J Bone Jt Infect.* 2017, 2(1), pp. 63-72. – DOI: 10.7150/jbji.17705.
173. Rostovskii, N. V.; Agafonova, A. V.; Smetanin, I. A.; Novikov, M. S.; Khlebnikov, A. F.; Ruvinskaya, J. O.; Starova, G. L. Metal-Catalyzed Isomerization of 5-Heteroatom-Substituted Isoxazoles as a New Route to 2-Halo-2H-azirines. *Synthesis.* 2017, 49, pp. 4478–4488.
174. Rudrappa, T.; Bais, H.P. Curcumin, a known phenolic from *Curcuma longa*, attenuates the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in whole plant and animal pathogenicity models. *J Agric Food Chem.* 2008, 56(6), pp. 1955-1962. – DOI: 10.1021/jf072591j.
175. Russo A., Gavaruzzi F., Ceccarelli G., Borrazzo C., Oliva A., Alessandri F., Magnanimiti E., Pugliese F., Venditti M. Multidrug-resistant

Acinetobacter baumannii infections in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit. *Infection*. 2021, 27, pp. 1–10. DOI: 10.1007/s15010-021-01643-4.

176. Sabbouh M., Nikitina A., Rogacheva E.V., Kraeva L., Ulasevich S.A., Skorb E.V., Nosonovsky M. Separation of motions and vibrational separation of fractions for biocide brass. *Ultrason. Sonochem.* 2021, 80, 105817. – DOI: 10.1016/j.ultsonch.2021.105817.

177. Sakharov, P. A.; Koronotov, A. N.; Khlebnikov, A. F.; Novikov, M. S.; Glukharev, A. G.; Rogacheva, E. V.; Kraeva, L. A.; Sharoyko, V. V.; Tennikova, T. B.; Rostovskii, N. V. Non-natural 2*H*-azirine-2-carboxylic acids: an expedient synthesis and antimicrobial activity. *RSC Adv.* 2019, 9, pp. 37901–37905. – DOI: 10.1039/c9ra09345a.

178. Sambasivan, R.; Ball, Z. T. Metallopeptides for Asymmetric Dirhodium Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, pp. 9289–9291. – DOI: 10.1021/ja103747h.

179. Santajit, S.; Indrawattana, N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int.* 2016, 2475067. – DOI: 10.1155/2016/2475067.

180. Shaaban, S.; Abdel-Wahab, B. F. Groebke–Blackburn–Bienaymé multicomponent reaction: emerging chemistry for drug discovery. *Mol. Divers.* 2016, 20, pp. 233–254. – DOI: 10.1007/s11030-015-9602-6.

181. Shababdoust, A.; Ehsani, M.; Shokrollahi, P.; Zandi, M. Fabrication of curcumin-loaded electrospun nanofibrous polyurethanes with anti-bacterial activity. *Prog. Biomater.* 2018, 7, pp. 23–33. – DOI: 10.1007/s40204-017-0079-5.

182. Shababdoust, A.; Zandi, M.; Ehsani, M.; Shokrollahi, P.; R. Foudazi. Controlled curcumin release from nanofibers based on amphiphilic-block segmented polyurethanes. *Int. J. Pharm.* 2020, 575, 118947. – DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118947.

183. Sharma, M.; Sahu, K.; Singh, S.P.; Jain, B. Wound healing activity of curcumin conjugated to hyaluronic acid: in vitro and in vivo evaluation. *Artificial*

Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. 2018, 46(5), pp. 1009-1017. – DOI: 10.1080/21691401.2017.1358731.

184. Sheldrick, G. M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Cryst.* 2015, C71, pp. 3–8.

185. Sheldrick, G.M. A Short History of SHELX. *Acta Cryst.* 2008, A64, pp.112–122.

186. Shin H., Seo S., Choo H., Kuem G., Choi K., Nam G. Synthesis and antibacterial activities of new piperidine substituted (5R)-[1,2,3]triazolylmethyl and (5R)-[(4-F-[1,2,3]triazolyl)methyl] oxazolidinones. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013, 23(5), pp. 1193-1196. DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.01.033.

187. Shukla, N. M.; Salunke, D. B.; Yoo, E.; Mutz, C. A.; Balakrishna, R.; David, S. A. Antibacterial activities of Groebke-Blackburn-Bienaymé-derived imidazo[1,2-a]pyridin-3-amines. *Bioorg. Med. Chem.* 2012, 20, pp. 5850–5863. – DOI: 10.1016/j.bmc.2012.07.052.

188. Skepper, C. K., Dalisay, D. S.; Molinski, T. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, pp. 2029–2032.

189. Skepper, C. K., Dalisay, D. S.; Molinski, T. F. *Org. Lett.* 2008, 10, pp. 5269–5271.

190. Skepper, C. K., Molinski, T. F. *J. Org. Chem.* 2008, 73, pp. 2592 – 2597.

191. Snetkov, P.; Morozkina, S.; Uspenskaya, M.V.; Olekhovich, R. Hyaluronan-based nanofibers: fabrication, characterization and application. *Polymers.* 2019, 11, 2036. – DOI: 10.3390/polym11122036.

192. Snetkov, P.P.; Morozkina, S.N.; Olekhovich, R.O.; Uspenskaya, M.V. The Influence of Technological Parameters on Morphology of Electrospun Nanofibers Based on Hyaluronic Acid. *Key Eng. Mater.* 2021, 899, pp. 125-131. – DOI: 10.4028/www.scientific.net/KEM.899.125.

193. Snetkov, P.P.; Sitnikova, V.E.; Uspenskaya, M.V.; Morozkina, S.N.; Olekhovich, R.O. Hyaluronic acid—curcumin electrospun fibers. *Russ Chem Bull.* 2020, 69, pp. 596–600. – DOI: 10.1007/s11172-020-2804-9.

194. Sommer MOA, Munck C, Toft-Kehler RV, Andersson DI. 2017. Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm? *Nat Rev Microbiol.* 2017, 15, pp. 689–696. – DOI: 10.1038/nrmicro.2017.75.
195. Spriano, S.; Yamaguchi, S.; Baino, F.; Ferraris, S. A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. *Acta Biomater.* 2018, 79, pp.1–22. – DOI: 10.1016/j.actbio.2018.08.013
196. Srinivas D., Ghule V.D., Tewari S.P., Muralidharan K. Synthesis of Amino, Azido, Nitro, and Nitrogen-Rich Azole-Substituted Derivatives of 1H-Benzotriazole for High-Energy Materials Applications. *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 15031. DOI: 10.1002/chem.201202481.
197. Srisuknimit V., Qiao Y., Schaefer K., Kahne D., Walker S. Peptidoglycan cross-linking preferences of *Staphylococcus aureus* penicillin-binding proteins have implications for treating MRSA infections. *J Am Chem Soc.* 2017, 139(29), pp. 9791–9794. DOI: 10.1021/jacs.7b04881.
198. Stepanenko, I. S. A new group of compounds derived from 4-, 5-, 6- and 7-aminoindoles with antimicrobial activity / I. S. Stepanenko, S. A. Yamashkin, Y. A. Kostina, A. A. Batarshva, M. A. Mironov // *Research Results in Pharmacology.* – 2018. – Vol. 4. – Issue 3. – P. 17-26.
199. Stewart, C.; Akhavan, B.; Wise, S.G.; Bilek, M.M.M. A review of biomimetic surface functionalization for boneintegrating orthopedic implants: Mechanisms, current approaches, and future directions. *Prog. Mater. Sci.* 2019, 106, 100588. – DOI: 10.1016/j.pmatsci.2019.100588.
200. Stivanin, M. L.; Fernandes, A. A. G.; da Silva, A. F.; Okada Jr, C. Y.; Jurberg, I. D. Blue Light-Promoted N–H Insertion of Carbazoles, Pyrazoles and 1,2,3-Triazoles into Aryldiazoacetates. *Adv. Synth. Catal.* 2020, 362, pp. 1106–1111. – DOI: 10.1002/adsc.201901343.

201. Stover C.K., Warrener P., VanDevanter D.R., Sherman D.R., Arain T.M., Langhorne M.H., Anderson S.W., Towell J.A., Yuan Y., McMurray D.N. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. *Nature*. 2000, 405, p. 962. – DOI: 10.1038/35016103.

202. Sulayyim H.J.A., Ismail R., Hamid A.A., Ghafar N.A. Antibiotic Resistance during COVID-19: A Systematic Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022, 19(19), pp. 11931. – DOI: 10.3390/ijerph191911931.

203. Suwantong, O.; Opanasopit, P.; Ruktanonchai, U.; Supaphol, P. Electrospun cellulose acetate fiber mats containing curcumin and release characteristic of the herbal substance. *Polymer* 2007, 48(26), pp. 7546–7557. – DOI:10.1016/j.polymer.2007.11.019.

204. Swinney, D. C. Phenotypic vs. Target-Based Drug Discovery for First-in-Class Medicines. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2013, 93, pp. 299-301. – DOI: 10.1038/clpt.2012.236.

205. Swinney, D. C.; Anthony, J. How were new medicines discovered? *Nat Rev Drug Discov.* 2011, 10, pp. 507-519. – DOI: 10.1038/nrd3480.

206. Tang, Z.H.; Hou, C.L.; Chen, Q.Q. Experimental study on bacteriostasis of chitosan and sodium hyaluronate. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2002, 16, pp. 259–261.

207. Tapalski D.V. [et al.] Microbiological efficiency of the combinations of two carbapenems against antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* strains. *Rus. Clin. Lab. Diagn.* 2021, Vol. 66, 5, pp. 304–309. – DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-5-304-309.

208. Tassini S., Sun L., Lanko K., Crespan E., Langron E., Falchi F., Kissova M., Armijos-Rivera J.I., Delang L., Mirabelli C., Neyts J., Pieroni M., Cavalli A., Costantino G., Maga G., Vergani P., Leyssen P., Radi M. Discovery of multitarget agents active as broadspectrum antivirals and correctors of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator for associated pulmonary diseases. *J Med Chem*, 2017, 60(4), pp. 1400–1416. – DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01521.

209. Teow, S.Y.; Liew, K.; Ali, S.A.; Khoo, A.S.; Peh, S.C. Antibacterial Action of Curcumin against *Staphylococcus aureus*: A Brief Review. *J Trop Med.* 2016, 2853045. – DOI: 10.1155/2016/2853045.
210. Terreni, M.; Taccani, M.; Pregnolato, M. New Antibiotics for Multidrug-Resistant Bacterial Strains: Latest Research Developments and Future Perspectives. *Molecules.* 2021, 26, pp. 2671. – DOI: 10.3390/molecules26092671.
211. The Review on Antimicrobial Resistance: Tackling drug-resistant infections globally / Chaired by J. O'Neill. 2014.
212. The state of the world's antibiotics, 2015. Center for Disease Dynamics *Economics & Policy.* 2015. [Internet] URL: https://cddep.org/publications/state_worlds_antibiotics_2015/. (accessed on November 13, 2019).
213. Tortoreto, C.; Rackl, D.; Davies, H. M. L. Metal-Free C–H Functionalization of Alkanes by Aryldiazoacetates. *Org. Lett.* 2017, 19, pp. 770–773. – DOI: 10.1021/acs.orglett.6b03681.
214. Uddin T.M., Chakraborty A.J., Khusro A., Zidan B.M.R.M., Mitra S., Emran T.B., Dhama K., Ripon Md.K.H., Gajdacs M., Sahibzada M.U.K., Hossain Md.J., Koirala N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health.* 2021, 14(12), pp. 1750–1766. – DOI: 10.1016/j.jiph.2021.10.020.
215. Ulasevich S.A., Koshel E.I., Kassirov I.S., Brezhneva N., Shkodenko L., Skorb E. V. Oscillating of physicochemical and biological properties of metal particles on their sonochemical treatment. *Mater. Sci. Eng.* 2020, 109, 110458 – DOI: 10.1016/j.msec.2019.110458.
216. Valiev, R.Z.; Prokofiev, E.A.; Kazarinov, N.A.; Raab, G.I.; Minasov, T.B.; Strasky, J. Developing Nanostructured Ti Alloys for Innovative Implantable Medical Devices. *Materials* 2020, 13, pp. 967. – DOI: 10.3390/ma13040967.
217. Vaughn V. M., Gandhi T., Petty L. A., Patel P. K., Prescott H. C., Malani A. N., et al. Empiric antibacterial therapy and community-onset bacterial co-

infection in patients hospitalized with COVID-19: a multi-hospital cohort study. *Clin. Infect. Dis.* 2020, 72, pp. 533–541. – DOI: 10.1093/cid/ciaa1239.

218. Viehman J.A., Nguyen M.H., Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs*. 2014,74(12), pp. 1315–1333. – DOI: 10.1007/s40265-014-0267-8.

219. Volkova T.V., Terekhova I.V., Silyukov O.I., Proshin A.N., Bauer-Brandl A., Perlovich G.L. Towards the rational design of novel drugs based on solubility, partitioning/distribution, biomimetic permeability and biological activity exemplified by 1,2,4-thiadiazole derivatives. *Medchemcomm.* 2017, 8(1), pp. 162–175. – DOI: 10.1039/C6MD00545D.

220. Wack, S.; Lunca Popa, P.; Adjeroud, N.; Guillot, J.; Pistillo, B.R.; Leturcq, R. Large-Scale Deposition and Growth Mechanism of Silver Nanoparticles by Plasma-Enhanced Atomic Layer Deposition. *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, pp. 27196–27206. – DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b06473.

221. Wang C.-H., Hsieh Y.-H., Powers Z.M., Kao C.-Y. Defeating Antibiotic-Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020, 21(3), pp. 1061. – DOI: 10.3390/ijms21031061.

222. Wang X, Xu P, Yao Z, Fang Q, Feng L, Guo R, Cheng B. Preparation of Antimicrobial Hyaluronic Acid/ Quaternized Chitosan Hydrogels for the Promotion of Seawater-Immersion Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019, 7, pp. 360. – DOI:10.3389/fbioe.2019.00360.

223. Watanabe Y., Arimori S. Preparation of tetrazolinone derivatives as agrochemical fungicides and pesticides. *Chem. Abstr.* 2015, 162, 418609.

224. Weist K, Hogberg LD. ECDC publishes 2015 surveillance data on antimicrobial resistance and antimicrobial consumption in Europe. *Euro Surveill.* 2016, 21(46) pp. 30401. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.46.30399.

225. Wen, C.E.; Xu, W.; Hu, W.Y.; Hodgson, P.D. Hydroxyapatite/titania sol-gel coatings on titanium-zirconium alloy for biomedical applications. *Acta*

Biomater. 2007, 3, pp. 403–410. – DOI: 10.1016/j.actbio.2006.10.004.

226. WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation. Geneva: World Health Organisation, 2018. – ISBN: 9789241514880.

227. World Health Organisation. The top 10 causes of death. [Internet] URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed on May 03, 2023).

228. Wu, X.; Chen, S.; Ji, W.; Shi, B. The risk factors of early implant failure: A retrospective study of 6113 implants. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2021, 23, pp. 280–288. – DOI: 10.1111/cid.12992.

229. Wyatt, P.; Hudson, A.; Charmant, J.; Orpen, A. G.; Phetmung, H. Synthesis and chemistry of enantiomerically pure 10,11-dihydrodibenzo[*b,f*]thiepines. *Org. Biomol. Chem.* 2006, 4, pp. 2218–2232. – DOI: 10.1039/b516606c.

230. Xiao Y., Pan J., Wang D., Heise A., Lang M. Chemo-Enzymatic Synthesis of Poly (4-piperidine lactone- β - ω -pentadecalactone) Block Copolymers as Biomaterials with Antibacterial Properties. *Biomacromolecules.* 2018, 19(7), pp. 2673-2681. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00296.

231. Yan J., Bassler B.L. Surviving as a Community: Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms. *Cell Host Microbe.* 2019, 26(1), pp. 15–21. – DOI: 10.1016/j.chom.2019.06.002.

232. Yayehrad A.T., Wondie G.B., Marew T. Different Nanotechnology Approaches for Ciprofloxacin Delivery Against Multidrug-Resistant Microbes. *Infection and Drug Resistance,* 2022, 15, pp. 413-426, – DOI: 10.2147/IDR.S348643m.

233. Yudintceva, N.M.; Bogolyubova, I.O.; Muraviov, A.N.; Sheykhov, M.G.; Vinogradova, T.I.; Sokolovich, E.G.; Samusenko, I.A.; Shevtsov, M.A. Application of the allogenic mesenchymal stem cells in the therapy of the bladder tuberculosis. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018, 12, pp. 1580–1593. – DOI: 10.1002/term.2583.

234. Zak O., O'Reilly T. Animal models in the evaluation of antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991, 35, pp. 1527–1531.
235. Zhang H.-Z., He S.-C., Peng Y.-J., Zhang H.-J., Gopala L., Tangadanchu V.K.R., Gan L.-L. Zhou C.-H. Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel benzimidazole-incorporated sulfonamide analogues. *Eur J Med Chem.* 2017, 136(18), pp. 165–183. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.04.077.
236. Zhang, L.C.; Chen, L.Y. A Review on Biomedical Titanium Alloys: Recent Progress and Prospect. *Adv. Eng. Mater.* 2019, 21, pp. 1801215. – DOI: 10.1002/adem.201801215.
237. Zheng, D.; Huang, Ch.; Huang, H.; Zhao, Y.; Rafi, M.; Khan, U.; Zhao, H.; Huang, L. Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. *Chemistry & Biodiversity*, 2020, 17(8), pp. 2000171. – DOI: 10.1002/cbdv.202000171.
238. Zhou, Z.; Zhang, Q.; Wang, Y. Preparation and characterization of antibacterial and anti-inflammatory hyaluronic acid-chitosan-dexamethasone hydrogels for peri-implantitis repair. *J. Biomater App.* 2022, 36(7), pp. 1141-1150. – DOI: 10.1177/08853282211047939.
239. Zhu, M. [et al.] The future of antibiotics begins with discovering new combinations. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2021, Vol. 1496, 1, pp. 82–96. – DOI: 10.1111/nyas.14649.
240. Zorzi, R. R.; Jorge, S. D.; Palace-Berl, F.; Pascualoto, K. F. M.; de Sá Bortolozo, L.; de Castro Siqueira A. M.; Tavares, L. C. Exploring 5-nitrofurans derivatives against nosocomial pathogens: Synthesis, antimicrobial activity and chemometric analysis. *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, pp. 2844-2854. – DOI: 10.1016/j.bmc.2014.03.044.

ПРИЛОЖЕНИЯ