

Оригінальні дослідження

УДК: 615.281.9:547.781/.783

ПОРІВНЯЛЬНА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ ГРУПИ ПОХІДНИХ ІМІДАЗОЛІВ ТРЬОХ ПОКОЛІНЬ

В.К. СвіжакВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

Ключові слова: похідні імідазолів, антимікробна дія, антикандидозна та антибактеріальна активність, кандиди, грампозитивні та грамнегативні бактерії.

Буковинський медичний вісник. Т.21, № 3 (83). С. 68-74

DOI:
10.24061/2413-0737.
XXI.3.83.2017.97

E-mail:
svizhak@bsmu.edu.ua

Мета роботи – провести порівняльні експрес-дослідження *in vitro* антимікробної активності препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь.

Матеріал і методи. Експрес-оцінку антимікробної дії серійних промислових зразків шести лікарських засобів групи похідних імідазолів трьох поколінь (Біфоналу, Клотримазолу, Мікогелю, Еконазолу, Ломексину та Кетодину) проведено *in vitro* з використанням загальноприйнятої методики дворазових серійних розведень у рідкому живильному середовищі. При цьому встановлювали мінімальні бактеріостатичні чи фунгістатичні і мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні концентрації препаратів групи похідних імідазолів щодо референс-штамів грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) і грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 25922) та дріжджоподібних грибів роду *Candida* (*Candida albicans* ATCC 885/653).

Результати. Досліджені препарати групи похідних імідазолів трьох поколінь проявляють противірогову та антибактеріальну активність стосовно грампозитивних мікроорганізмів вищу порівняно з їх антибактеріальною дією щодо грамнегативних мікроорганізмів. Встановлено, що мінімальні бактеріостатичні/фунгіостатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів стосовно референс-штамів *S. aureus* ATCC 25923 знаходилися в межах від 0,97 мкг/мл до 15,62 мкг/мл, *E.coli* ATCC 25922 – від 62,5 мкг/мл до 125 мкг/мл, а щодо референс-штаму *S.albicans* ATCC 885-653 – від 0,48 мкг/мл до 15,62 мкг/мл.

Висновки. Досліджені препарати групи похідних імідазолів трьох поколінь (Біфонал, Клотримазол, Мікогель, Еконазол, Ломексин та Кетодин) проявляють як антикандидозну, так і антибактеріальну активність стосовно грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Найвищу антикандидозну дію виявлено в препараті третього покоління Кетодину, найактивнішими щодо *S. aureus* ATCC 25923 були Клотримазол та Ломексин. Стосовно референс-штаму грамнегативних бактерій (*E. coli* ATCC 25922) досліджені препарати проявили значно меншу антибактеріальну дію – на рівні 62,5 мкг/мл – 125 мкг/мл.

Ключевые слова: производные имидазола, антимикробное и антикандидозное действие, антибактериальная активность, кандиды, грамположительные и грамотрицательные бактерии.

Буковинский медицинский вестник. Т.21, № 3 (83). С. 68-74

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗОЛА ТРЕХ ПОКОЛЕНИЙ**В.К. Свіжак**

Цель работы – провести сравнительные экспрес-исследования *in vitro* антимикробной активности препаратов группы производных имидазола трех поколений.

Материал и методы. Экспрес-оценка антимикробного действия серийных промышленных образцов шести лекарственных средств группы производных имидазола трех поколений (Бифонала, Клотримазола, Микогеля, Эконазола, Ломексина и Кетодина) проведено *in vitro* с использованием общепринятой методики двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. При этом

устанавливали минимальные бактериостатические или фунгистатические и минимальные бактерицидные или фунгицидные концентрации препаратов группы производных имидазола по отношению референс-штаммов грамположительных (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) и грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* ATCC 25922), а также дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*Candida albicans* ATCC 885/653).

Результаты. Исследованные препараты группы производных имидазола трех поколений проявляют противогрибковую и антибактериальную активность в отношении грамположительных микроорганизмов выше по сравнению с их антибактериальным действием в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Установлено, что минимальные бактериостатические/ фунгистатические концентрации препаратов группы производных имидазола относительно референс-штаммов *S. aureus* ATCC 25923 находились в пределах от 0,97 мкг/мл до 15,62 мкг/мл, *E. coli* ATCC 25922 – от 62,5 мкг/мл до 125 мкг/мл, а по отношению референс-штамма *C. albicans* ATCC 885-653 – от 0,48 мкг/мл до 15,62 мкг/мл.

Выводы. Исследованные препараты группы производных имидазола трех поколений (Бифонал, Клотримазол, Микогель, Эконазол, Ломексин и Кетодин) проявляют как антикандидозную, так и антибактериальную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Наивысшее антикандидозное действие выявлено у препарата третьего поколения Кетодина, самыми активными по отношению к *S. aureus* ATCC 25923 были Клотримазол и Ломексин. Относительно референс-штамма грамотрицательных бактерий (*E. coli* ATCC 25922) исследованные препараты проявили значительно меньшее антибактериальное действие – на уровне 62,5 мкг/мл – 125 мкг/мл.

Key words: antimicrobial action, imidazole derivatives, anti-candidal action, antibacterial action, candida, gram-positive and gram-negative bacteria.

Bukovinian Medical Herald. T.21, № 3 (83). P. 68-74

COMPARATIVE ANTIMICROBIAL CHARACTERISTICS OF DRUGS FROM IMIDAZOLE GROUP DERIVATIVES OF THREE GENERATIONS

V.K. Svizhak

Objective – to carry out comparative express-studies in vitro of antimicrobial activity of the drugs from imidazole group derivatives of the third generation.

Materials and methods. Express-assessment of antimicrobial action of production samples of six medicines from imidazole group derivatives of the third generation (Bifonalum, Clotrimazole, Mycogel, Econazole, Lomexin, and Ketodion) was carried out in vitro with application of general methods of two-phase serial dilution in liquid nutrient medium. In the course of the study minimal bacteriostatic or fungistatic and minimal bactericidal or fungicidal concentrations of imidazole derivatives concerning reference-strains of gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922) and yeast-like fungi (*Candida albicans* ATCC 885/653) were investigated.

Results. The examined drugs from imidazole group derivatives of the third generation are found to manifest higher antifungal action and antibacterial activity concerning gram-positive microorganisms as compared to their antibacterial action concerning gram-negative microorganisms. Minimal bacteriostatic/fungistatic concentrations of imi-

Оригінальні дослідження

dazole derivatives concerning reference-strain S. aureus ATCC 25923 were found to be within the range from 0,97 mkg/ml to 15,62 mkg/ml, concerning reference-strain E.coli ATCC 25922 – from 62,5 mkg/ml to 125 mkg/ml, and concerning reference-strain C.albicans ATCC 885-653 – from 0,48 mkg/ml to 15,62 mkg/ml.

Conclusions. *The examined medicines of imidazole derivatives of the third generation (Bifonalum, Clotrimazole, Mycogel, Econazole, Lomexin, and Ketodion) manifest both anti-candidal and antibacterial activity concerning gram-positive and gram-negative microorganisms. Ketodion, a drug of the third generation, manifests the highest anti-candidal action, Clotrimazole and Lomexin were the most active against S. aureus ATCC 25923. Concerning reference-strain gram-negative bacteria (E. coli ATCC 25922) the examined drugs manifested considerably less antibacterial action – within the range 62,5 mkg/ml – 125 mkg/ml.*

Вступ. З моменту відкриття імідазолу ще в 40-х роках минулого століття розробки та дослідження сполук, що містять імідазол, досить швидко та активно розвиваються внаслідок їх широкого застосування як лікарських препаратів, агрохімікатів, синтетичних матеріалів, штучних акцепторів, супрамолекулярних ліганд, біоміметичних каталізаторів та ін. [1]. Особливого прогресу досягало застосування фармакологічних похідних імідазолу. Численні сполуки імідазолу з високою терапевтичною ефективністю широко використовуються в клініці при лікуванні різних видів захворювань як протигрибкові, антибактеріальні, протипухлинні, протипаразитарні, протитуберкульозні, протизапальні, гіпотензивні, антиневропатичні, антигістамінні, протівірусні лікарські засоби, хоча є необхідним пошук більш активних і менш токсичних лікарських препаратів на основі імідазолу [1].

Останнім часом зроблено багато зусиль для виявлення нових антибактеріальних засобів імідазолу з новими структурами і виявлено велику кількість імідазолів, що мають антибактеріальну активність широкого спектра. [2, 3]. Азольні з'єднання, такі, як імідазоли та триазоли, є першим класом синтетичних протигрибкових агентів. Проте поряд із широкомасштабним застосуванням сучасних протигрибкових препаратів, збільшення стійкості мікроорганізмів значною мірою вплинуло на їх терапевтичні ефекти (4, 5). Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків, яка виникла в більшості мікробів, є глобальною проблемою [6-8] і становить загрозу для здоров'я та життя людей у всьому світі [9, 10]. Множинна лікарська стійкість є великою клінічною проблемою при лікуванні інфекційних захворювань і досягнула тривожних масштабів в останні роки [4]. Така тенденція становить серйозну загрозу життю пацієнтів [11].

Для боротьби з лікарською стійкістю патогенних мікроорганізмів необхідні нові антибіотики або розробки методів лімітації антибіотикоре-

зистентності нових антимікробних препаратів [12, 13]. Для пошуку останніх надзвичайно перспективною групою хімічних сполук є саме похідні імідазолів, які можна розглядати як один з основних класів біологічно активних сполук із широким спектром дії, у т.ч. антимікробним. У зв'язку з чим, у багатьох країнах світу здійснюється не лише синтез нових представників похідних імідазолу, але й досліджуються численні біологічні властивості, у т.ч. протибактеріальні і протигрибкові в наявних лікарських препаратів.

Мета роботи. Провести порівняльні експрес-дослідження *in vitro* антимікробної активності препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь.

Матеріал і методи. Для проведення порівняльного експрес-дослідження антимікробної активності препаратів групи похідних імідазолів відібрано серійні промислові зразки шести лікарських засобів трьох поколінь: I покоління імідазолів - Біфонал (діюча речовина біфоназол), Клотримазол (діюча речовина клотримазол), Мікогель (діюча речовина міконазол), II покоління імідазолів – Еконазол (діюча речовина еконазол), Ломексин (діюча речовина фентиконазол) та III покоління імідазолів – Кетодин (діюча речовина кетоконазол). Для приготування розчинів препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь використовували 0,1 мл ДМСО і стерильну дистильовану воду, доводячи матричний розчин до 1000 мкг/мл.

Експрес-оцінку антимікробної дії досліджуваних препаратів проведено *in vitro* з використанням загальноприйнятої методики дворазових серійних розведень у рідкому живильному середовищі [14]. При цьому встановлювали мінімальні бактеріостатичні чи фунгістатичні (МБсК, МФсК) і мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні (МБцК, МФцК) концентрації препаратів групи похідних імідазолів щодо референс-штамів грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) і грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC

25922) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans* ATCC 885/653).

Експерименти *in vitro* проводилися тричі з кожною концентрацією препарату та досліджуваною культурою мікроорганізмів з метою отримання достовірних результатів, усі досліді супроводжували відповідними контролюями.

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати дослідження мінімальних бактеріостатичних концентрацій препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 наведено на рис. 1.

Мінімальні бактеріостатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 знаходилися в межах від 0,97 мкг/мл до 15,62 мкг/мл. Найактивнішими щодо цього референс-штаму були Клотримазол та Ломексин (їх МБсК встановлено на рівні 0,97 мкг/мл). Мікогель та Еконазол проявили дещо меншу бактеріостатичну дію – їх МБсК були відповідно 1,95 мкг/мл та 3,9 мкг/мл. Найнижчі мінімальні бактеріостатичні концентрації (15,62 мкг/мл) стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 встановлено в Біфоналу та Кетодину.

Мінімальні бактерицидні концентрації досліджених препаратів стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 знаходилися в більш широкій межі - від 7,81 мкг/мл (Мікогель) до 62,5 мкг/мл (Ломексин) (рис. 2).

При цьому МБцК Клотримазолу та Еконазолу встановлено на рівні 15,62 мкг/мл, а Біфоналу та Кетодину - 31,25 мкг/мл.

Щодо референс-штаму грамнегативних бактерій (*E. coli* ATCC 25922) досліджені препарати групи похідних імідазолів проявили значно меншу порівняно з референс-штамом грампозитивних бактерій (*S. aureus* ATCC 25923) антибактеріальну дію (рис. 3-4).

Так, МБсК Мікогелю стосовно референс-штаму *E. coli* ATCC 25922 встановлено на рівні 125 мкг/мл, а решти досліджених препаратів – 62,5 мкг/мл (рис. 3). МБцК препаратів групи похідних імідазолів щодо цього референс-штаму були в два рази більшими їх МБсК і знаходилися в межах від 125 мкг/мл до 250 мкг/мл (рис. 4).

При вивченні антикандидозної активності препаратів групи похідних імідазолів встановлено наступне. Найвищу фунгістатичну дію виявлено в препараті третього покоління Кетодину. Його мінімальна фунгістатична концентрація стосовно

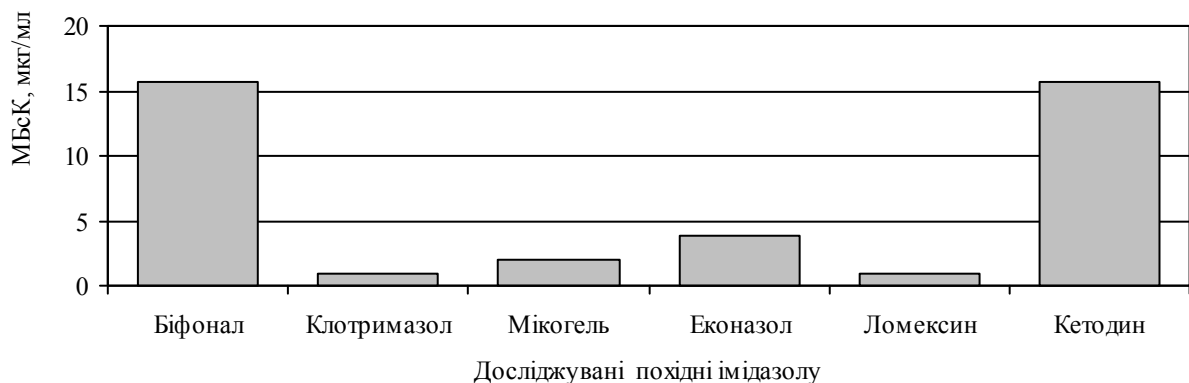
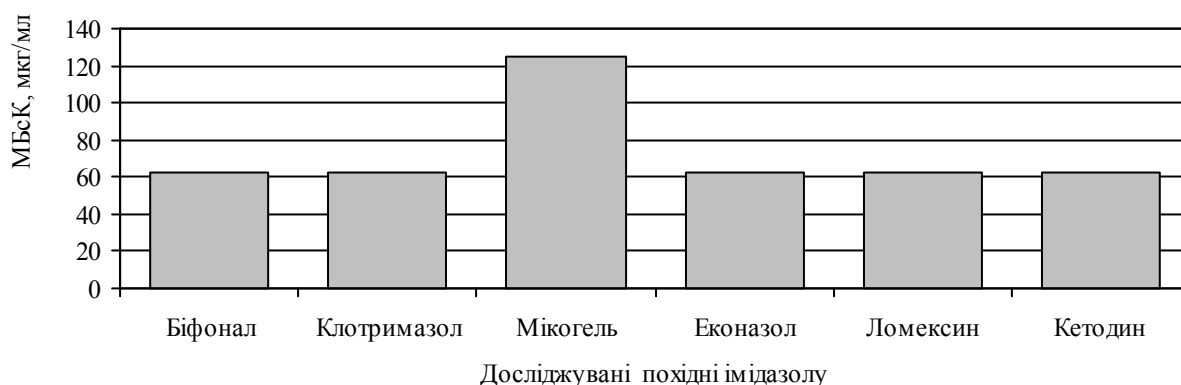
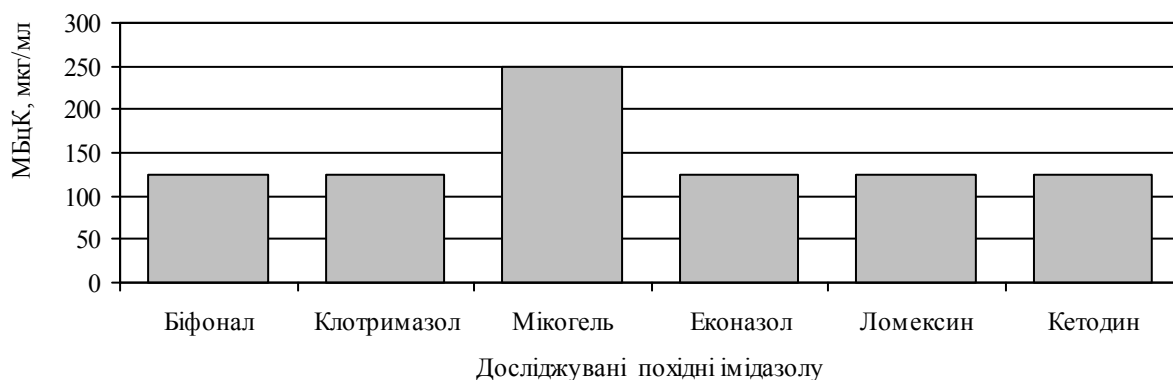
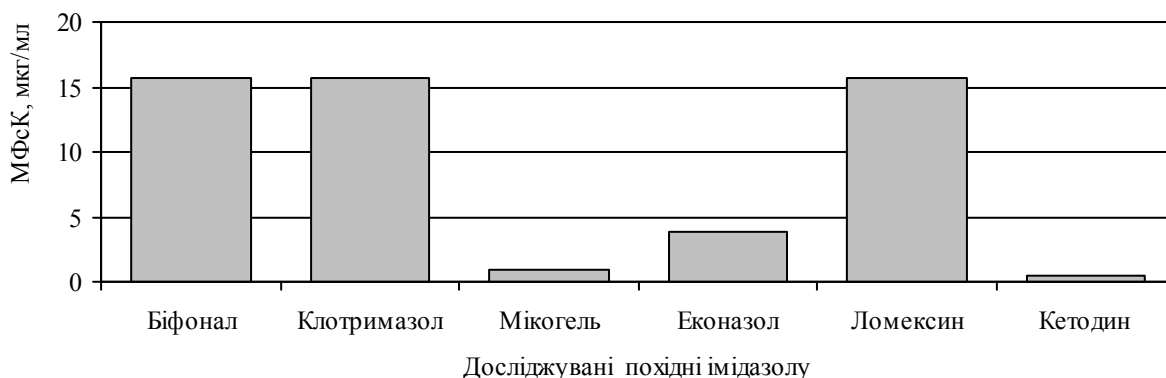


Рис. 1. Мінімальні бактеріостатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 (мкг/мл)



Рис. 2. Мінімальні бактерицидні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 (мкг/мл)

Оригінальні дослідження

Рис. 3. Мінімальні бактериостатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *E.coli* ATCC 25922 (мкг/мл)Рис. 4. Мінімальні бактерицидні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *E.coli* ATCC 25922 (мкг/мл)Рис. 5. Мінімальні фунгістатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *C.albicans* ATCC 885-653 (мкг/мл)

вно референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 становила 0,48 мкг/мл (рис. 5).

Децю меншу фунгістатичну дію виявлено в Мікогелю та Еконазолу – їх мінімальні фунгістатичні концентрації стосовно референс-штаму *C.albicans* ATCC 885-653 встановлено на рівні 0,97 мкг/мл та 3,9 мкг/мл. Біфонал, Клотримазол та Ломексин володіють ще меншою фунгістатич-

ною активністю – їх МФсК були рівними 15,62 мкг/мл.

Найбільшу фунгіцидну дію виявлено знову ж таки в препараті третього покоління – Кетодину (рис. 6). Його мінімальна фунгіцидна концентрація стосовно референс-штаму *C.albicans* ATCC 885-653 у два рази перевищувала мінімальну фунгістатичну концентрацію та становила 0,97 мкг/мл.

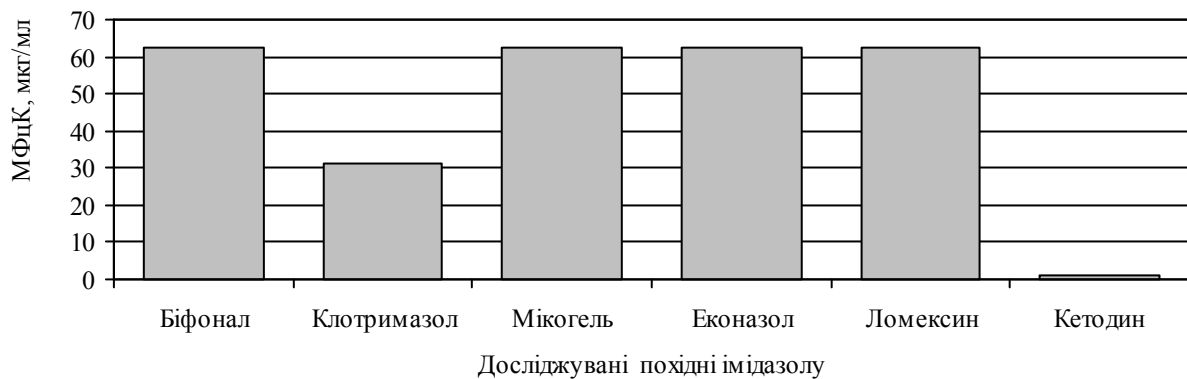


Рис. 6. Мінімальні фунгіцидні концентрації препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь стосовно референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 (мкг/мл)

Мінімальна фунгіцидна концентрація Клотримазолу стосовно референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 встановлена на рівні 31,25 мкг/мл, а решти досліджених препаратів групи похідних імідазолів – 62,5 мкг/мл (рис. 6).

Проведений аналіз отриманих результатів дозволив встановити, що досліджені препарати групи похідних імідазолів трьох поколінь проявляють, у цілому, протигрибкову (антикандидозну) дію та антибактеріальну активність стосовно грам-позитивних мікроорганізмів вищу порівняно з їх антибактеріальною дією щодо грам-негативних мікроорганізмів. Так, наприклад, середні значення МФСК усіх досліджених препаратів стосовно референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 становили 8,70 мкг/мл, середні значення МБСК усіх досліджених препаратів стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 – 6,51 мкг/мл, тоді як їх середні значення МБСК стосовно *E. coli* ATCC 25922 – 72,91 мкг/мл. Подібні закономірності виявлено і стосовно фунгіцидних та бактерицидних концентрацій досліджених препаратів – середні їх значення були відповідно 47,03, 27,34 та 145,83 мкг/мл.

Висновки

1. Досліджені шість препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь (Біфонал, Клотримазол, Мікогель, Еконазол, Ломексин та Кетодин) проявляють як протигрибкову (антикандидозну) дію, так і антибактеріальну активність стосовно грам-позитивних та грам-негативних мікроорганізмів. При цьому вказані препарати проявляють, у цілому, протигрибкову дію та антибактеріальну активність стосовно грам-позитивних мікроорганізмів вищу порівняно з їх антибактеріальною дією щодо грам-негативних мікроорганізмів.

2. Мінімальні бактериостатичні/фунгіостатичні концентрації препаратів групи похідних імідазолів стосовно референс-штаму *S. aureus* ATCC 25923 знаходилися в межах від 0,97 мкг/мл до 15,62 мкг/мл, стосовно референс-

штаму *E. coli* ATCC 25922 – від 62,5 мкг/мл до 125 мкг/мл, а щодо референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 – від 0,48 мкг/мл до 15,62 мкг/мл.

3. Найвищу антикандидозну дію виявлено в препараті третього покоління Кетодину (мінімальна фунгіостатична концентрація стосовно референс-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 становила 0,48 мкг/мл). Найактивнішими щодо *S. aureus* ATCC 25923 були Клотримазол та Ломексин (їх мінімальні бактериостатичні концентрації встановлено на рівні 0,97 мкг/мл). Стосовно референс-штаму грам-негативних бактерій (*E. coli* ATCC 25922) досліджені препарати групи похідних імідазолів проявили значно меншу антибактеріальну дію – для Мікогелю встановлено мінімальну бактериостатичну концентрацію на рівні 125 мкг/мл, а для решти досліджених препаратів – 62,5 мкг/мл.

Перспективи подальших досліджень.

Дослідження антимікробних властивостей препаратів групи похідних імідазолів трьох поколінь щодо розширеного спектра музейних та клінічних штамів мікроорганізмів.

Список літератури

- Zhang L, Peng XM, Damu GL, Geng RX, Zhou CH. Comprehensive review in current developments of imidazole-based medicinal chemistry. *Med Res Rev.* 2014;34(2):340-37.
- Khabnadideh S, Rezaei Z, Ghasemi Y, Montazeri-Najafabady N. Antibacterial activity of some new azole compounds. *Anti Infect Agents.* 2012;10:26-33.
- Munoz-Bonilla A, Fernandez-Garcia M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Prog Polym Sci.* 2012;37:281-39.
- Costa C, Pires C, Cabrito TR, Renaudin A, Ohno M, Chibana H, et al. *Candida glabrata* drug: H⁺ antiporter CgQdr2 confers imidazole drug resistance, being activated by transcription factor CgPdr1. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(7):3159-167.
- Tommasi R, Brown DG, Walkup GK. ESCAPEing the labyrinth of antibacterial discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2015;14:529-42.
- Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks E, Johnston M, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS ONE.* 2012;7(4):1-11.

Оригінальні дослідження

7. Amabile-Cuevas CF. Antibiotics and Antibiotic Resistance in the Environment. Mexico; 2015. 121 p.
8. Pei R, Joyner M, Knisley J. Revised Model for Antibiotic Resistance in a Hospital. East Tennessee state university; 2015. 39 p.
9. Berendonk T, Manaia C, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nature Reviews Microbiology. 2015;13:310-17.
10. Willems R. EVOTAR-Evolution and Transfer of Antibiotic Resistance-FP7 Project. Impact. 2016;1:28-30.
11. Carlet J, Jarlier V, Harbarth S, Voss A, Goossens H, Pittet D. Ready for a world without antibiotics? The penières antibiotic resistance call to action. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 2012;1(1):11.
12. Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. Springer Berlin Heidelberg. 2012;211:121-33.
13. Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart H-P. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Frontiers in microbiology. 2013;4(47):1-13.
14. Guidelines 9.9.5-143-2007 "Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics". Kyiv: MOZ Ukraïny, 2007. 63 p.

Відомості про автора:

Свіжак В.К., аспірант кафедри мікробіології та вірусології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторе:

Свижак В.К., аспирант кафедры микробиологии и вирусологии ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Information about the author:

Svizhak V.K., postgraduate student of Department of microbiology and virology, HSEI of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine.

Надійшла до редакції 04.08.2017

Рецензент – проф. Сидорчук І.Й.

© В.К. Свіжак, 2017