

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)
УДК 615.281



Оригинальная статья / Research article

Противомикробная активность новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей

В. В. Новикова✉, В. О. Васильев, В. Л. Гейн, О. В. Назарец, А. В. Романова,
О. В. Бобровская, Н. А. Бузмакова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Новикова Валентина Васильевна. E-mail: vvnperm@yandex.ru

ORCID: В. В. Новикова – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; В. О. Васильев – <https://orcid.org/0009-0008-3342-0630>;
В. Л. Гейн – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; О. В. Назарец – <https://orcid.org/0000-0002-1674-5117>;
А. В. Романова – <https://orcid.org/0000-0002-2516-2458>; О. В. Бобровская – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>;
Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 06.10.2023

Статья принята в печать: 11.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Важным направлением современной фармации является получение новых отечественных субстанций, обладающих антиинфекционной активностью, в рамках обеспечения технологического суверенитета государства. Оптимизация методов определения противомикробной активности является неотъемлемой частью данных исследований. Полученные ранее серебряные соли пирролопиразолов и пиразолкарбоксамидов обладали высокой противомикробной активностью. В данной работе представлены результаты определения противомикробной активности новых биологически активных соединений, синтезированных реакцией солеобразования с ионами серебра по карбоксильной группе амидов ароилпировиноградных кислот, содержащих в амидном фрагменте антралиловую кислоту.

Цель. Получение ранее неизвестных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей и изучение их противомикробной активности (ПМА).

Материалы и методы. Новые *N*-замещенные амиды антралиловых кислот и их серебряные соли получены методами органического синтеза. Для исследования их противомикробной активности использовали микрометод двукратных серийных разведений на скрининговых штаммах *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, а также *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* № 103/39 для высоко активных соединений. Дополнительно осуществляли способ учета результатов с использованием явления флуоресценции при взаимодействии с резазурином, указывающем на наличие живых микробных клеток.

Результаты и обсуждение. Установлено наличие антибактериальной активности серебряных солей **2a** и **2b** по отношению к изученным штаммам: минимальная подавляющая концентрация (МПК) соединения **2a** 23,4–31,2 мкг/мл, **2b** – 3,9–5,8 мкг/мл. При учете результатов исследования ПМА с использованием явления флуоресценции, установлено, что они либо совпадают со значениями МПК, определяемых визуально, либо указывают на меньшую антибактериальную активность. Сопоставление данных результатов и высевы содержимого лунок на плотную питательную среду в отношении скрининговых штаммов свидетельствует о том, что подавление флуоресценции в опытных лунках по сравнению с контролем в диапазоне 82–99 % сопровождается отсутствием роста бактерий (бактерицидный эффект), при угнетении флуоресценции менее 60 % наблюдается выраженный рост микроорганизмов. В промежуточном диапазоне наблюдается рост единичных колоний (бактериостатический эффект).

Заключение. Результаты исследования показали, что новые серебряные соли *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот обладают высокой противомикробной активностью. Установлено соответствие типа антибактериальной активности степени угнетения флуоресценции.

Ключевые слова: *N*-замещенные амиды ароилпировиноградных кислот и их серебряные соли, противомикробная активность, флуоресценция

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. В. Новикова – обоснование актуальности работы, руководство проведением микробиологических исследований. В. О. Васильев – проведение микробиологических исследований. О. В. Бобровская, О. В. Назарец, А. В. Романова, В. Л. Гейн, Н. А. Бузмакова – синтез субстанций новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы получены в рамках государственного задания ФГБОУ ВО ПГФА (тема № 720000Ф.99.1.БН62АБ05000), 2023 г.

Для цитирования: Новикова В. В., Васильев В. О., Гейн В. Л., Назарец О. В., Романова А. В., Бобровская О. В., Бузмакова Н. А. Противомикробная активность новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):34–40. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)

Antimicrobial Activity of New *N*-substituted Amides of Aroylpyruvic Acids and Their Silver Salts

Valentina V. Novikova✉, Vitaly O. Vasilev, Vladimir L. Gein, Olga V. Nazarets,
Angelina V. Romanova, Olga V. Bobrovskaya, Nadezhda A. Buzmakova

© Новикова В. В., Васильев В. О., Гейн В. Л., Назарец О. В., Романова А. В., Бобровская О. В., Бузмакова Н. А., 2023
© Novikova V. V., Vasilev V. O., Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Buzmakova N. A., 2023

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

✉ **Corresponding author:** Valentina V. Novikova. E-mail: vvnperm@yandex.ru

ORCID: Valentina V. Novikova – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; Vitaly O. Vasilev – <https://orcid.org/0009-0008-3342-0630>;
Vladimir L. Gein – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>; Olga V. Nazarets – <https://orcid.org/0000-0002-1674-5117>;
Angelina V. Romanova – <https://orcid.org/0000-0002-2516-2458>; Olga V. Bobrovskaya – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>;
Nadezhda A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 06.10.2023 **Revised:** 11.12.2023 **Published:** 27.12.2023

Abstract

Introduction. An important direction of modern pharmacy is the production of new domestic substances with anti-infectious activity, within the framework of ensuring the technological sovereignty of the state. Optimization of methods for determining antimicrobial activity is an integral part of these studies. Previously obtained silver salts of pyrazoles and pyrazolecarboxamides had high antimicrobial activity. This work presents the results of determining the antimicrobial activity of new biologically active compounds synthesized by a salt formation reaction with silver ions at the carboxyl group of aroylpyruvic acid amides containing anthranilic acid in the amide fragment.

Aim. Obtaining previously unknown amides of aroylpyruvic acids and their silver salts and studying their antimicrobial activity (AMA).

Materials and methods. New *N*-substituted amides of anthranilic acids and their silver salts were obtained by organic synthesis methods. To study their antimicrobial activity, a micromethod of double serial dilutions was used on screening strains of *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, as well as *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* No. 103/39 for highly active compounds. Additionally, a method of accounting for the results was carried out using the phenomenon of fluorescence in interaction with rezazurin, indicating the presence of living microbial cells.

Results and discussion. The presence of antibacterial activity of silver salts **2a** and **2b** in relation to the studied strains was established: the minimum suppressive concentration (MPC) of compound **2a** is 23.4–31.2 micrograms/ml, **2b** is 3.9–5.8 micrograms/ml. When taking into account the results of the study of AMA using the phenomenon of fluorescence, it was found that they either coincide with the values of MPC determined visually, or indicate less antibacterial activity. Comparison of these results and seeding of the contents of the wells on a dense nutrient medium with respect to screening strains indicates that the suppression of fluorescence in experimental wells in the range of 99–82 % compared with the control is accompanied by the absence of bacterial growth (bactericidal effect), with fluorescence inhibition of less than 60 %, a pronounced growth of microorganisms is observed. In the intermediate range, the growth of single colonies is observed (bacteriostatic effect).

Conclusion. The results of the study showed that the new silver salts of *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids have high antimicrobial activity. The correspondence of the type of antibacterial activity to the degree of fluorescence inhibition was established.

Keywords: *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts, antimicrobial activity, fluorescence

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Valentina V. Novikova – substantiation of the relevance of the work, management of microbiological research. Vitaly O. Vasilev – conducting microbiological studies. Olga V. Bobrovskaya, Olga V. Nazaret, Angelina V. Romanova, Vladimir L. Gein, Nadezhda A. Buzmakova – synthesis of substances of new *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts. All the authors participated in the discussion of the results.

Funding. The results of the work were obtained within the framework of the state assignment of Perm Pharmaceutical Academy (Agreement No. 720000F.99.1.BN62AB05000), 2023.

For citation: Novikova V. V., Vasilev V. O., Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Buzmakova N. A. Antimicrobial activity of new *N*-substituted amides of aroylpyruvic acids and their silver salts. *Drug development & registration*. 2023;12(4-1):34–40. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1602](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1602)

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых соединений, обладающих противомикробной активностью (ПМА), является актуальным вектором развития современной фармации [1–4]. Особое значение имеет получение новых отечественных субстанций с высокой активностью в отношении патогенных микроорганизмов в условиях импортозамещения. При этом важной составляющей этих исследований является совершенствование методик определения противомикробной активности. Одно из направлений оптимизации тра-

диционно используемых методов – это повышение качества способов учета результатов. С этой целью в частности предлагается использование явлений биолюминесценции [5–8] и фотолюминесценции (флуоресценции) [9, 10].

Ранее сотрудниками Пермской государственной фармацевтической академии были получены по сульфамидной группе натриевые и серебряные соли 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-*N*-[4-(*N*-*R*-сульфамоил)фенил]бут-2-енамидов, 5-арил-*N*-{4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамоил]фенил}-1-фенилпиразол-3-карбоксамидов, метил (2*Z*)-4-арил-4-оксо-2-[[4-(*N*-*R*-сульфамоил)

фенил]амино}бут-2-еноатов, пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов [11–14], проявляющие противомикробную активность. Однако реакции солеобразования с ионами серебра и других металлов по карбоксильной группе амидов ароилпировиноградных кислот, содержащих в амидном фрагменте антраниловую кислоту, не были изучены.

Цель исследования. Получение ранее неизвестных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей и изучение их противомикробной активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Замещенные амиды ароилпировиноградных кислот **1a, 6** и их серебряные соли **2a, 6** синтезированы сотрудниками кафедры общей и органической химии и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия».

Ход реакций и степень чистоты полученных соединений контролировали методом ТСХ на пластинках SilufolUV-254 в системе хлороформ-метанол (80:15), проявитель – УФ-облучение. Структура синтезированных соединений **1a, 6** и **2a, 6** подтверждена данными спектроскопии ЯМР ^1H и ИК-спектроскопии.

Взаимодействием метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с 2-аминобензойной кислотой (антраниловой кислотой) при кипячении в ледяной уксусной кислоте осуществлен синтез новых *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **1a, 16**. В ходе модификации структуры *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **1a, 6** по ранее описанной методике [5, 6, 9], приводящей к получению соединений, обладающих противомикробной активностью, были синтезированы их серебряные соли **2a, 26**.

Для изучения ПМА соединений **1a, 6** и **2a, 6** использовали микрометод двукратных серийных разведений¹. Антибактериальную активность определяли в отношении типовых культур бактерий *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922. Вещества, проявившие высокую активность в отношении скрининговых штаммов, дополнительно протестировали на других грамположительных и грамотрицательных бактериях: *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* Wood 46, *S. abony* № 103/39. Для приготовления бактериальной взвеси использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на питательном агаре. Концентрация бактериальных клеток в опыте составила $2\text{--}5 \times 10^5$ КОЕ/мл². В качестве положи-

тельного контроля использовали питательную среду с внесенной исследуемой культурой. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. Посевы инкубировали в термостате при температуре 35 ± 1 °С. Оценку роста проводили визуально через 22–24 часа инкубирования. В качестве значения МПК (минимальной подавляющей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при которой отсутствует определяемый визуально рост тест-организма. Исследования осуществляли в двух повторях, результаты приводили в виде среднего арифметического полученных МПК. Вещества, имеющие МПК в диапазоне 125–1000 мкг/мл, оценивались как обладающие низкой ПМА, 15,6–62,5 мкг/мл – средней ПМА. Перспективными для дальнейшего изучения считались вещества с высокой ПМА (МПК 7,8 мкг/мл и менее). Антибактериальный эффект изучаемых соединений сравнивали с действием гентамицина (ОАО «Дальхимфарм», серия № 530622).

В качестве дополнительного способа учета результатов оценивали взаимодействие с резазурином. Жизнеспособные клетки с активным метаболизмом могут преобразовать резазурин в резорурфин, который имеет розовый или красновато-фиолетовый цвет, а также обладает способностью к флуоресценции³. Использование данного подхода особенно значимо в случае исходного отсутствия прозрачности содержимого лунок, обусловленное свойствами испытуемого вещества. В обычной практике указанная ситуация требует осуществления высева на плотную питательную среду, что увеличивает продолжительность и стоимость эксперимента. Помимо этого, получаемый результат указывает на бактерицидное действие соединения, а в ходе визуального учета результата на жидкой питательной среде определяется, как правило, бактериостатическое действие.

В микрорунки плашки с разведениями вещества после инкубирования добавляли по 50 мкл 0,05%-го резазурина. Планшет с культурами оставляли на 2 часа в темном месте, что достаточно для того, чтобы живые клетки переработали резазурин в флуоресцирующий продукт⁴. Измеряли флуоресценцию на микропланшетном ридере DTX 880. В качестве значения МПК (минимальной подавляющей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при котором подавление свечения ока-

¹ Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

² Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Доступно по: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrecdsma2021.pdf>. Ссылка активна на 21.05.2023.

³ Riss T. L., Moravec R., Niles A., Duellman S., Benink H., Worzella T. J., Minor L., Markossian S., Grossman A., Brimacombe K., Arkin M., Auld D., Austin C., Baell J., Chung T. D. Y., Coussens N. P., Dahlin J. L., Devanarayan V., Foley T. L., Glicksman M., Gorshkov K., Haas J. V., Hall M. D., Hoare S., Inglese J., Iversen P. W., Kales S. C., Lal-Nag M., Li Z., McGee J., McManus O., Riss T., Saradjian P., Sittampalam G. S., Tarselli M., Trask Jr. O. J., Wang Y., Weidner J. R., Wildey M. J., Wilson K., Xia M., Xu X., editors. Cell Viability Assays. National Library of Medicine. 2004.

⁴ Там же.

залось выше 50 % по сравнению со свечением контроля культуры. В случае скрининговых штаммов *S. aureus* ATCC 6538P и *E. coli* ATCC 25922 делали высеиваемый лунок планшета с визуальным определяемым изменением цвета резазурина с синего на розовый на питательный агар. Посевы инкубировали 22–24 часа в термостате при температуре 35 ± 1 °C. Результат оценивали визуально.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтезированные *N*-замещенные амиды ароилпировиноградных кислот **1a, б** представляют собой белые кристаллические вещества с желтоватым оттенком, растворимые в диметилсульфоксиде (ДМСО), диметилформамиде (ДМФА), при нагревании – в ледяной уксусной кислоте, этиловом спирте.

Серебряные соли *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот **2a, б** – серые с коричневым или зеленоватым оттенком кристаллические вещества, растворимые при нагревании в ДМФА, ДМСО, ледяной уксусной кислоте, этиловом спирте.

В ходе определения ПМА соединений **1a, б** и **2a, б** в установлено, что соединение **2б** проявляет высокую активность по отношению к изученным штаммам, однако уступает препарату сравнения. Результаты представлены в таблице 1.

При учете результатов изучения ПМА *N*-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей с использованием явления флуоресценции установлено, что данные указывающие на наличие живых микробных клеток после воздействия изучаемых соединений либо совпадают со значениями МПК, определяемой визуально, либо указывают на меньшую антибактериальную активность (таблица 2). В случае со штаммом *E. coli* ATCC 25922 среднее арифметическое МПК, определяемой визуально, ниже аналогичных показателей,

определяемых с использованием резазурина. Однако при этом одно из значений МПК повтора соответствует МПК, оцениваемой с использованием флуоресценции. Полученные результаты допустимы, так как используемый рутинный метод с визуальным учетом не может отразить наличие присутствующих микроорганизмов в лунке планшета или пробирке в полной мере. Предлагаемый способ учета является более точным, поскольку предполагает инструментальную количественную оценку МПК.

Таблица 1. Результаты определения противомикробной активности в отношении типовых штаммов бактерий (визуальный учет)

Table 1. Results of determining antimicrobial activity against typical bacterial strains (visual recording)

Шифр Cipher	МПК, мкг/мл MIC, µg/ml				
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. abony</i> № 103/39	<i>S. aureus</i> Wood 46	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
1a	500	500	–	–	–
1б	250	500	–	–	–
2a	31,2	23,4*	31,2	31,2	23,4*
2б	3,9	5,8**	3,9	3,9	5,8**
Гентамицин Gentamicin	3,9	1,5***	3,9	1,0	23,4*

Примечание. «–» – Активность не определялась.

* 15,6 и 31,2 мкг/мл.

** 3,9 и 7,8 мкг/мл.

*** 1,0 и 2,0 мкг/мл.

Note. "–" – Activity was not determined.

* 15.6 and 31.2 µg/ml.

** 3.9 and 7.8 µg/ml.

*** 1.0 and 2.0 µg/ml.

Таблица 2. Результаты учета противомикробной активности в отношении типовых штаммов бактерий с использованием явления флуоресценции, % угнетения роста микроорганизмов по сравнению с контролем

Table 2. Results of accounting for antimicrobial activity against typical strains of bacteria using the phenomenon of fluorescence, % inhibition of microorganism growth compared to control

<i>S. aureus</i> ATCC 6538P											
	500	250	125	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9	2,0	1,0	0,5
1a	28	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0
1б	99	59	46	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	99	98	98	98	0	0	0	0	0	0	0
2б	98	99	99	99	99	99	99	41	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	97	99	99	99	99	99	99	99	99	98	65

<i>E. coli</i> ATCC 25922											
1a	35	16	26	24	18	17	18	12	3	0	0
16 1b	20	26	24	30	34	28	22	22	13	0	0
2a	98	96	97	97	97	82	59	19	19	20	20
26 2b	98	97	98	98	98	98	99	98	56	30	33
Гентамицин Gentamicin	90	91	91	92	92	92	92	92	92	73	72
<i>S. aureus</i> Wood 46											
2a	89	89	89	89	34	39	8	9	0	0	0
26 2b	89	91	91	91	92	89	58	56	34	0	0
Гентамицин Gentamicin	97	97	97	98	98	98	98	98	91	98	65
<i>S. abony</i> № 103/39											
2a	61	58	50	0	0	0	0	0	0	0	0
26 2b	62	71	70	64	66	0	0	0	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	84	85	87	87	87	88	88	71	86	75	58
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212											
2a	61	58	50	0	0	0	0	0	0	0	0
26 2b	62	71	70	64	66	0	0	0	0	0	0
Гентамицин Gentamicin	78	80	81	81	81	73	62	30	0	0	0

При сопоставлении результатов учета ПМА в отношении скрининговых штаммов *S. aureus* ATCC 6538P и *E. coli* ATCC 25922 с использованием явления флуоресценции и посева содержимого лунок на плотную питательную среду установлено, что при подавлении флуоресценции в опытных лунках по сравнению с

контролем в диапазоне 82–99 % фиксируется отсутствие роста микроорганизмов (бактерицидный эффект), при угнетении флуоресценции менее 60 % наблюдается рост изучаемых бактерий (таблицы 3, 4). В промежуточном диапазоне наблюдается рост единичных колоний (бактериостатический эффект).

Таблица 3. Сопоставление результатов учета противомикробной активности в отношении *S. aureus* ATCC 6538P с использованием явления флуоресценции и посева на плотную питательную среду

Table 3. Comparison of the results of accounting for antimicrobial activity against *S. aureus* ATCC 6538P using the phenomenon of fluorescence and seeding on a solid nutrient medium

Концентрация вещества, мкг/мл Substance concentration, µg/ml	2a		26 2b		Гентамицин Gentamicin	
	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results
500	99	–	98	–	98	–
250	98	–	99	–	99	–
125	98	–	99	–	99	–
62,5	98	–	99	–	99	–
31,2	0	+	99	–	99	–
15,6	0	+	99	–	99	–
7,8	0	+	99	–	99	–
3,9	0	+	41	+	99	–
2,0	0	+	0	+	98	–
1,0	0	+	0	+	65	+

Примечание. «–» – Роста микроорганизмов нет.
«+» – Наблюдается рост микроорганизмов.

Note. "–" – There is no growth of microorganisms.
"+" – Growth of microorganisms is observed.

Таблица 4. Сопоставление результатов учета противомикробной активности в отношении *E. coli* ATCC 25922 с использованием явления флуоресценции и посева на плотную питательную среду**Table 4.** Comparison of the results of accounting for antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 using the phenomenon of fluorescence and seeding on a solid nutrient medium

Концентрация вещества, мкг/мл Substance concentration, µg/ml	2a		2b		Гентамицин Gentamicin	
	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results	% Угнетения роста % Growth inhibition	Результаты посева Seeding results
500	98	–	98	–	90	–
250	96	–	97	–	91	–
125	97	–	98	–	91	–
62,5	97	–	98	–	92	–
31,2	97	–	98	–	92	–
15,6	82	–	98	–	92	–
7,8	59	+	99	–	92	–
3,9	19	+	98	–	99	–
2,0	19	+	56	+	98	–
1,0	20	+	30	+	73	Единичные колонии Single colonies

Примечание. «–» – Роста микроорганизмов нет.
«+» – Наблюдается рост микроорганизмов.

Note. "–" – There is no growth of microorganisms.
"+" – Growth of microorganisms is observed.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучена ПМА новых N-замещенных амидов ароилпировиноградных кислот и их серебряных солей, выявлено соединение, обладающее высокой антибактериальной активностью. Установлено соответствие бактерицидного и бактериостатического действия соединений степени угнетения флуоресценции при инструментальном способе учета противомикробной активности. Представленные результаты подтверждают перспективность дальнейших исследований в данном ряду соединений.

ЛИТЕРАТУРА

- Исмиев А. И., Шоаиб М., Доценко В. В., Ганбаров Х. Г., Исраилова А. А., Магеррамов А. М. Синтез и биологическая активность диэтиловых эфиров 8-(диалкиламино)-3-арил-6-оксо-2,4-дигидропиримидино[3,2-с] пиримидина-2,4-дигидропиримидино[3,2-с] октан-2, 4-дикарбоновой кислоты. *Журнал общей химии*. 2020;90(8):1207–1215. DOI: 10.31857/S0044460X20080089.
- Самотруева М. А., Цибизова А. А., Габитова Н. М., Озеров А. А., Тюреньков И. Н. Противомикробная активность нового производного хиначолина VMA-13-03. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(8):24–28. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28.
- Цибизова А. А., Ясенявская А. Л., Озеров А. А., Тюреньков И. Н., Башкина О. А., Самотруева М. А. Скрининговые исследования противомикробной активности пиримидинового производного. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021;41(6):56–60. DOI: 10.18699/SSMJ20210606.
- Цибизова А. А., Ясенявская А. Л., Озеров А. А., Тюреньков И. Н., Самотруева М. А. Оценка противомикробной активности производного пиримидина в отношении *Streptococcus pyogenes*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(4):34–37. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-4-34-37.
- Осипова З. М., Щеглов А. С., Ямпольский И. В. Новая биолуминесцентная система грибов: перспективы использования в медицинских исследованиях. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018;1:80–83. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.004.
- Сафронюк С. Л., Гавриченко Ю. Ю., Кацев А. М. Применимость рекомбинантных lux-биосенсоров для выявления некоторых механизмов антибактериальной активности направленно синтезированных производных 2-((2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4] триазино[2,3-с] хиначолин-6-ил)тио)уксусной кислоты. *Биофармацевтический журнал*. 2020;12(5):26–32.
- Ishimaru M., Noda H., Matsumoto E., Koshi H., Otake H. Comparative study of rapid ATP bioluminescence assay and conventional plate count method for development of rapid disinfecting activity test. *Luminescence*. 2021;36(3):826–833. DOI: 10.1002/bio.4014.
- Cziborowski M., Kemperman A. J. B., Rolevink E., Blom J., Visser T., Philipp B. A two-step bioluminescence assay for optimizing antibacterial coating of hollow-fiber membranes with polydopamine in an integrative approach. *Journal of Microbiological Methods*. 2022;196:106452. DOI: 10.1016/j.mimet.2022.106452.
- Van Den Driessche F., Rogole P., Brackman G., Coenye T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms. *Journal of microbiological methods*. 2014;98:31–34. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.12.011.
- Azeredo J., Azevedo N. F., Briandet R., Cerca N., Coenye T., Costa A. R., Desvaux M., Bonaventura D., Hebraud M., Jaglic Z., Kacaniová M., Knechel S., Lourenço A., Mergulhão f., Meyer R. C., Nychas G., Simoes M., Tresse O., Sternberg C. Critical review on biofilm methods. *Critical reviews in microbiology*. 2017;43(3):313–335. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1208146.

11. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Русских А.А., Новикова В.В., Гейн О.Н., Карпенко Ю.Н., Чащина С.В., Дмитриев М.В., Янкин А.Н. Синтез и биологическая активность 5-арил-N-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]-1-фенилпиразол-3-карбоксамидов и их солей. *Журнал общей химии*. 2019;89(4):542–551. DOI: 10.1134/S0044460X19040073.
12. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Машкина Е.А., Новикова В.В., Махмудов Р.Р., Янкин А.Н., Данилов С.Е., Хволис Е.А., Белоногова В.Д., Гуляев Д.К. Синтез и противомикробная активность метил 4-арил-2-[4-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфамойл]фениламино]-4-оксобут-2-еноатов и их серебряных солей. *Журнал общей химии*. 2020;90(5):723–729. DOI: 10.31857/S0044460X20050108.
13. Гейн О.Н., Бобровская О.В., Гейн С.В., Гейн В.Л. Иммунобиологическая и противовоспалительная активность натриевых солей пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(2):21–25. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
14. Новикова В.В., Бобровская О.В., Гейн В.Л., Селиверстов Г.В., Люст Е.Н., Махмудов Р.Р. Оценка противогрибковой и антибактериальной активности серебряных солей 5,6-диарил-4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-онов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(9):34–38. DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.
9. Van Den Driessche F. Rogole P. Brackman G. Coenye T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms. *Journal of microbiological methods*. 2014;98:31–34. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.12.011.
10. Azeredo J., Azevedo N.F., Briandet R., Cerca N., Coenye T., Costa A.R., Desvaux M., Bonaventura D., Hebraud M., Jaglic Z., Kacaniová M., Knechel S., Lourenco A., Mergulhão f., Meyer R.C., Nychas G., Simoes M., Tresse O., Sternberg C. Critical review on biofilm methods. *Critical reviews in microbiology*. 2017;43(3):313–335. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1208146.
11. Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Russkikh A.A., Novikova V.V., Gein O.N., Karpenko Yu.N., Chashchina S.V., Dmitriev M.V., Yankin A.N. Synthesis and Biological Activity of 5-Aryl-N-[4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenyl]-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxamides and Their Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2019;89(4):680–688. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363219040073.
12. Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Mashkina E.A., Novikova V.V., Makhmudov R.R., Yankin A.N., Danilov S.E., Hvolis E.A., Belonogova V.D., Gulyaev D.K. Synthesis and Antimicrobial Activity of Methyl (2Z)-4-aryl-2-[4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino]-4-oxobut-2-enoates and Their Silver Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(5):723–729. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0044460X20050108.
13. Gein O.N., Bobrovskaya O.V., Gein S.V., Gein V.L. Immunobiological and anti-inflammatory activity of sodium salts of pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides in experiment. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(2): 21–25. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
14. Novikova V.V., Bobrovskaya O.V., Gein V.L., Seliverstov G.V., Lyust E.N., Makhmudov R.R. Assessing the antifungal and antibacterial activity of silver salts of 5,6-diaryl-4-[4-(acetylaminosulfonyl)-phenyl]-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(9):34–38. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.

REFERENCES

1. Ismiev A.I., Shoaib M., Dotsenko V.V., Ganbarov H.G., Israilova A.A., Magerramov A.M. Synthesis and biological activity of diethyl esters of 8-(dialkylamino)-3-aryl-6-oxo-2,4-dicyanobicyclo [3.2.1] octane-2,4-dicarboxylic acid. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(8):1207–1215. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0044460X20080089.
2. Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Gabitova N.M., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N. Antimicrobial activity of a new derivative of quinazoline VMA-13-03. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2020;83(8):24–28. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-8-24-28.
3. Tsibizova A.A., Yasenyavskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N., Bashkina O.A., Samotrueva M.A. Screening studies of antimicrobial activity of pyrimidine derivative. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal*. 2021;41(6):56–60. (In Russ.) DOI: 10.18699/SSMJ20210606.
4. Tsibizova A.A., Yasenyavskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N., Samotrueva M.A. Evaluation of antimicrobial activity of pyrimidine derivative against *Streptococcus pyogenes*. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2023;86(4):34–37. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-4-34-37.
5. Osipova Z.M., Shcheglov A.S., Yampolsky I.V. A new bioluminescent system of fungi: prospects for use in medical research. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2018;1:80–83. (In Russ.) DOI: 10.24075/vrgmu.2018.004.
6. Safronyuk S.L., Gavrichenko Yu.Yu., Katsev A.M. Applicability of recombinant lux biosensors to identify some mechanisms of antibacterial activity of directionally synthesized derivatives of 2-((2-oxo-3-phenyl-2H-[1,2,4]triazino[2,3-C]quinazolin-6-yl)thio)acetic acid. *Biofarmaceuticheskij zhurnal*; 2020;12(5):26–32. (In Russ.)
7. Ishimaru M., Noda H., Matsumoto E., Koshi H., Otake H. Comparative study of rapid ATP bioluminescence assay and conventional plate count method for development of rapid disinfecting activity test. *Luminescence*. 2021;36(3):826–833. DOI: 10.1002/bio.4014.
8. Czieborowski M., Kemperman A.J.B., Rolevink E., Blom J., Visser T., Philipp B. A two-step bioluminescence assay for optimizing antibacterial coating of hollow-fiber membranes with polydopamine in an integrative approach. *Journal of Microbiological Methods*. 2022;196:106452. DOI: 10.1016/j.mimet.2022.106452.