

Противогрибковая активность нового производного тиадиазола при экспериментальном кандидозе у мышей

Д. Ю. Ивкин[✉], А. В. Караваева, Т. Ф. Черных, М. В. Краснова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, литера А

✉ Контактное лицо: Ивкин Дмитрий Юрьевич. E-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

ORCID: Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>;
А. В. Караваева – <https://orcid.org/0000-0001-8231-6364>;
Т. Ф. Черных – <https://orcid.org/0009-0000-1539-8013>;
М. В. Краснова – <https://orcid.org/0000-0001-8138-6408>.

Статья поступила: 30.08.2024

Статья принята в печать: 18.11.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

Резюме

Введение. В современном мире все больше внимания уделяется проблеме увеличения случаев микозов. В октябре 2022 года ВОЗ опубликовала первый список патогенных грибов, требующих первоочередного внимания и представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека. Среди микотических инфекций одну из лидирующих позиций по частоте занимают различные формы кандидоза. Дрожжи *Candida albicans* ВОЗ отнесены к группе с критическим приоритетом. Поэтому поиск новых эффективных антимикотических средств является актуальным. В Санкт-Петербургском химико-фармацевтическом университете было синтезировано новое производное 1,3,4-тиадиазола. В опытах *in vitro* было показано, что оно обладает широким спектром противогрибковой активности, по эффективности сопоставимым с вориконазолом.

Цель. Оценить противогрибковую активность фармацевтической субстанции хлорида 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия (производное тиадиазола, ПТ) на моделях неинвазивного кандидоза кишечника и острой септицемии (сепсиса), вызванных *C. albicans*.

Материалы и методы. Моделирование неинвазивного кандидоза кишечника проводили путем инфицирования мышей линии BALB/c кандидой при свободном доступе к поилке, содержащей суспензию дрожжевых клеток *C. albicans*. Предварительно у животных вызывали дисбактериоз раствором антибиотиков (ванкомицин, клиндамицин, гентамицин) в питьевой воде. Моделирование острой септицемии, вызванное *C. albicans*, проводили путем инфицирования мышей линии BALB/c внутривенным введением взвеси дрожжевой культуры. После заражения мышей им ежедневно однократно внутривенно вводили исследуемую субстанцию и препараты сравнения – вориконазол и флуконазол. В конце эксперимента оценивали количество павших животных и проводили микробиологическое исследование внутренних органов.

Результаты и обсуждение. Было показано, что количество дрожжевых клеток, выделяемых из толстого и тонкого кишечника у мышей с неинвазивным кандидозом кишечника, после введения нового производного тиадиазола во всех испытанных дозах (1, 5, 10 мг/кг) достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой № 6 без лечения. В дозе 10 мг/кг испытуемая субстанция проявляла антикандидозное действие на уровне препаратов сравнения, вориконазола и флуконазола. У мышей с септиемией летальность также зависела от дозы производного тиадиазола, но эффективной дозой оказалась только 10 мг/кг.

Заключение. В ходе исследования выявлено, что новое производное тиадиазола хлорид 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия проявляло противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* на модели неинвазивного кандидоза кишечника и модели септицемии (сепсиса). Установлено, что в дозе 10 мг/кг ПТ проявляло активность на уровне препаратов сравнения, вориконазола и флуконазола.

Ключевые слова: кандидоз кишечника, острая септицемия, противогрибковая активность, производное тиадиазола, *Candida albicans*

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

Вклад авторов. Д. Ю. Ивкину принадлежит научная идея и окончательная корректура статьи. А. В. Караваева отвечала за дизайн эксперимента, участвовала в написании статьи. Т. Ф. Черных проводила моделирование кандидоза, участвовала в обработке данных. М. В. Краснова участвовала в написании статьи. Все авторы участвовали в обсуждении статьи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России».

Для цитирования: Ивкин Д. Ю., Караваяева А. В., Черных Т. Ф., Краснова М. В. Противогрибковая активность нового производного тиadiaзола при экспериментальном кандидозе у мышей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):251–258. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1923>

Antifungal activity of thiadiazole derivative in experimental candidiasis in mice

Dmitry Yu. Ivkin✉, Anna V. Karavaeva, Tatyana F. Chernykh, Marina V. Krasnova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Dmitry Yu. Ivkin. **E-mail:** dmitry.ivkin@pharminnotech.com

ORCID: Dmitry Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>;

Anna V. Karavaeva – <https://orcid.org/0000-0001-8231-6364>;

Tatyana F. Chernykh – <https://orcid.org/0009-0000-1539-8013>;

Marina V. Krasnova – <https://orcid.org/0000-0001-8138-6408>.

Received: 30.08.2024

Accepted: 18.11.2024

Published: 22.11.2024

Abstract

Introduction. In the modern world, more attention is paid to the problem of increasing cases of mycosis. In October 2022, the World Health Organization (WHO) published the first fungal priority pathogens list which constitute the greatest danger to human health. Among mycotic infections, one of the leading positions in frequency is occupied by various forms of candidiasis. The WHO has classified *Candida albicans* as a critical priority group. Therefore, the search for new effective antimycotics is relevant. A new derivative of 1,3,4-thiadiazole was synthesized at Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. *In vitro* experiments, it was shown that it has a wide spectrum of antifungal activity in effectiveness comparable to voriconazole.

Aim. To evaluate the antifungal activity of 2-[(1Z)-1-(3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazol-2(3H)-ylidene)methyl]-3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazole-3-ium (thiadiazole derivative, TD) chloride drug substance in non-invasive bowel candidiasis and acute septicemia (sepsis) models caused by *C. albicans*.

Materials and methods. Simulations of non-invasive intestinal candidiasis were performed by infecting BALB/c mice with candida with free access to a drinking bottle containing *C. albicans* yeast cells suspension. Previously, dysbiosis was caused in animals by adding a solution of antibiotics (vancomycin, clindamycin, gentamicin) in drinking water. Simulations of *C. albicans*-induced acute septicemia were performed by infecting BALB/c mice with intravenous yeast culture suspension. After the mice were infected, the test substance and the comparators Voriconazole and Fluconazole were administered intragastrically once daily. At the end of the experiment, the number of fallen animals were estimated and microbiological examination of internal organs was carried out.

Results and discussion. It was shown that the number of yeast cells secreted from the large and small intestines in mice with non-invasive intestinal candidiasis after administration of a new thiadiazole derivative at all doses tested (1, 5, 10 mg/kg) were significantly reduced compared with control group No. 6 without treatment. At 10 mg/kg, the test substance demonstrated anticandidosis effects at the level of comparators drugs, Voriconazole and Fluconazole. In mice with septicemia, mortality also depended from the dose of the thiadiazole derivative, but only 10 mg/kg proved to be an effective dose.

Conclusion. The study revealed that the new thiadiazol derivative 2-[(1Z)-1-(3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazol-2(3H)-ylidene)methyl]-3,5-diphenyl-1,3,4-thiadiazole-3-ium showed antifungal activity against *Candida albicans* in the model of non-invasive intestinal candidiasis and the model of septicemia (sepsis). At 10 mg/kg, TD was found to be active at the level of comparators, Voriconazole and Fluconazole.

Keywords: intestinal candidiasis, acute septicemia, antifungal activity, thiadiazole derivative, *Candida albicans*

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. Dmitry Yu. Ivkin was responsible for the scientific idea and final proofreading of the article. Anna V. Karavaeva was responsible for the design of the experiment, participated in writing the article. Tatyana F. Chernykh conducted candidiasis modeling, participated in data processing. Marina V. Krasnova participated in writing the article. All authors participated in the discussion of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University".

For citation: Ivkin D. Yu., Karavaeva A. V., Chernykh T. F., Krasnova M. V. Antifungal activity of thiadiazole derivative in experimental candidiasis in mice. *Drug development & registration*. 2024;13(4):251–258. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1923>

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире все больше внимания уделяется проблеме увеличения случаев микозов. Есть несколько причин данного положения дел. Во-первых, возрастает количество людей со сниженным иммунитетом. Это люди со злокачественными образованиями, после трансплантации органов, ВИЧ-инфицированные, получающие агрессивную химиотерапию (например, глюкокортикостероиды, иммунодепрессанты, противоопухолевые препараты), а также люди пожилого возраста [1–8]. Во-вторых, участились случаи микозов, связанные с оказанием такой медицинской помощи, как гемодиализ, длительная искусственная вентиляция легких, пролонгированная катетеризация центральных вен [1, 9]. В-третьих, микозы возникают при дисбактериозе, вызванном длительным или повторным применением антибактериальных препаратов [1, 5, 9]. В-четвертых, увеличились темпы появления устойчивых патогенных и условно-патогенных грибов к широко распространенным антимикотикам [1, 3]. Все это привело к тому, что в октябре 2022 года ВОЗ опубликовала первый список патогенных грибов, требующих первоочередного внимания и представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека¹ [3]. В данном списке 19 грибковых патогенов были разделены на три группы (критические, высокие и средние) по приоритетности научных изысканий. Кроме того, в докладе ВОЗ отмечено, что на данный момент существует всего четыре класса противогрибковых лекарственных препаратов и всего несколько препаратов-кандидатов в стадии клинических разработок. Дрожжи *Candida albicans* и *Candida auris* ВОЗ отнесены к группе с критическим приоритетом.

Среди микотических инфекций одну из лидирующих позиций по частоте занимают различные формы кандидоза. Дрожжи *Candida* spp. составляют 8–10 % всех нозокомиальных инфекций. Они занимают четвертое место после *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Enterococcus* spp. среди наиболее часто выделяемых из крови возбудителей. Причем на *C. albicans* приходится 15–60 % случаев. На инфекции кровотока, связанные с *Candida* spp., в мире приходится 600 000 случаев в год, а количество ежегодно регистрируемых случаев инвазивного кандидоза без положительного посева крови составляет более 900 000 во всем мире [1, 3, 9].

Дрожжи рода *Candida* отличает способность колонизировать различные биотопы организма человека, сохранять жизнеспособность при контактном механизме передачи в лечебно-профилактических учреждениях, формировать биопленку на различных искусственных материалах (например, имплантах) [9].

¹ WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. 25 October 2022. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Accessed: 30.08.2024.

C. auris отличает множественная лекарственная устойчивость и возможность вызывать инвазивные инфекции и вспышки с высоким уровнем смертности среди госпитализированных пациентов, особенно в отделениях интенсивной терапии [9, 11].

Из вышесказанного следует, что поиск новых эффективных антимикотических средств является актуальным. В Санкт-Петербургском химико-фармацевтическом университете было синтезировано новое производное 1,3,4-тиадиазола. В опытах *in vitro* было показано, что оно обладает широким спектром противогрибковой активности, по эффективности сопоставимым с вориконазолом [12].

Цель исследования – оценка противогрибковой эффективности фармацевтической субстанции хлорида 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия (производное тиадиазола, ПТ) на моделях неинвазивного кандидоза кишечника и острой септицемии (сепсиса), вызванных *Candida albicans*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тест-микроорганизм: *Candida albicans* 45 ВГНКИ VRC-S FLU-S, клинический изолят, чувствительный к флуконазолу и вориконазолу.

Исследуемая фармацевтическая субстанция: хлорид 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия.

Препараты сравнения: флуконазол, субстанция (серия FL0040115, HETERO DRUGS Limited, Индия); вориконазол, субстанция (серия C10463132, Pfizer Manufacturing Deutschland GmbH, Германия).

Препараты, используемые при моделировании инфекции: ванкомицин, лиофилизат для приготовления растворов для приема внутрь (Ванкомицин-Тева, Венгрия); клиндамицин, раствор для инфузий (серия C500141, Hemopharm infectologica, Сербия).

Контрольное вещество: вода очищенная в соответствии с ФС².

Исследование проводилось на 280 мышах-самках линии BALB/c массой 18–20 г. Источник получения животных – филиал «Столбовая» НЦБМТ РАМН. Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (ви-вариев).

Перерасчет доз препаратов для мышей с человека проводили при помощи коэффициентов в зависимости от массы тела по E. J. Freireich (1966) [13]. Индивидуальный объем вводимой дозы для каждого животного рассчитывался исходя из значения массы тела, полученного после последнего взвешивания.

² Государственная фармакопея РФ XIV издания, ФС.2.2.0020 «Вода очищенная». Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/fs-2-2-0020-15-voda-ochishhennaya/>. Ссылка активна на 30.08.2024.

Моделирование неинвазивного кандидоза кишечника

Методом рандомизации было сформировано 7 экспериментальных групп по 20 животных в каждой (5 опытных и 2 контрольных). Животные 1 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 1 мг/кг и были инфицированы кандидой, животные 2 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 5 мг/кг и были инфицированы кандидой, животные 3 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 10 мг/кг и были инфицированы кандидой, животные 4 группы получали препарат сравнения вориконазол в дозе 26 мг/кг и были инфицированы кандидой, животные 5 группы получали препарат сравнения флуконазол в дозе 25 мг/кг и были инфицированы кандидой, животные 6 группы (контрольной 1) получали воду очищенную и были инфицированы кандидой, животные 7 группы (контрольной 2) получали воду очищенную, не были инфицированы.

Схема проведения эксперимента.

1 этап. Подготовка грибной взвеси *C. albicans* 45 ВГНКИ VRC-S FLU-S.

C. albicans культивировали в течение 24 ч при температуре 36 °С на среде Сабуро. Затем биомассу смывали физиологическим раствором с добавлением стрептомицина 2 мг/мл, подсчитывали концентрацию дрожжевых клеток в камере Горяева и доводили ее до $1,0E + 10$ /мл. Для контроля концентрации дрожжевых клеток делали посев 1 мл приготовленной суспензии культуры на среду Сабуро и через 24 ч подсчитывали количество выросших колоний. Приготовленную суспензию хранили в холодильнике в течение 24 ч до получения результатов количественного учета жизнеспособных дрожжевых клеток. Для заражения животных использовали культуру одной генерации.

2 этап. Антибиотикотерапия экспериментальных мышей линии BALB/c.

В течение 4 суток животные всех групп вместо питьевой воды получали раствор антибиотиков в питьевой воде. Раствор содержал 1 мг/мл ванкомицина, 1 мг/мл клиндамицина и 200 мг/мл гентамицина.

3 этап. Инфицирование мышей.

За 8 ч до инфицирования ограничивали доступ животных к питьевой воде. Культуральную взвесь (см. этап 1, $1,0E + 10$ КОЕ/мл) разводили в десятикратном объеме питьевой воды. Полученной взвесью на 24 ч заменяли питьевую воду для мышей во всех группах, кроме группы № 7 (контрольная 2). По истечении этого времени мыши снова получали питьевую воду.

4 этап. Фармакологическая терапия.

Исследуемую субстанцию и препараты сравнения вводили внутривентрально при помощи желудочного зонда (1,3 мм) в объеме 0,5 мл ежедневно однократно в первой половине дня начиная со следующего дня после инфицирования в течение 15 суток.

5 этап. Учет результатов эксперимента (клиническое наблюдение за животными, исследование органов ЖКТ на выявление *C. albicans*).

Каждый пятый день после начала терапии случайно отбирали 3 животных в каждой группе, подвергали их эвтаназии (метод эвтаназии – цервикальная дислокация) и вскрывали. Затем проводили микробиологическое исследование тонкого и толстого кишечника с целью выделения *C. albicans* и количественного учета дрожжевых клеток.

В качестве критерия эффективности лекарственной терапии использовали количество дрожжевых клеток, выделяемых из органов пищеварительной системы животных из контрольных и опытных групп на день окончания эксперимента. Для статистической обработки и выражения промежуточных и итоговых данных использованы логарифмические единицы, выражающие значение показателя «КОЕ/орган» в виде десятичного логарифма числа КОЕ, выделенных из соответствующего органа.

Моделирование острой септицемии, вызванное *C. albicans*

Методом рандомизации было сформировано 7 экспериментальных групп по 20 животных в каждой (5 опытных и 2 контрольных). Животные 1 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 1 мг/кг и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 2 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 5 мг/кг и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 3 группы получали исследуемую субстанцию в дозе 10 мг/кг и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 4 группы получали препарат сравнения вориконазол в дозе 26 мг/кг и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 5 группы получали препарат сравнения флуконазол в дозе 25 мг/кг и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 6 группы (контрольной 1) получали воду очищенную и были инфицированы кандидой в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ, животные 7 группы (контрольной 2) получали воду очищенную, не были инфицированы.

Схема проведения эксперимента.

1 этап. Подготовка грибной взвеси *C. albicans* 45 ВГНКИ VRC-S FLU-S.

C. albicans культивировали в течение 24 ч при температуре 36 °С на среде Сабуро. Затем биомассу смывали физиологическим раствором, подсчитывали концентрацию дрожжевых клеток в камере Горяева и доводили ее до $1,0E + 8$ /мл. Для контроля концентрации дрожжевых клеток делали посев 1 мл приготовленной суспензии культуры на среду Сабуро и через 24 ч подсчитывали количество выросших колоний. Приготовленную суспензию хранили в холодильнике в течение 24 ч до получения результатов количественного учета жизнеспособных дрожжевых клеток. Для заражения животных использовали культуру одной генерации.

2 этап. Инфицирование мышей.

Мышей инфицировали внутривенным введением (в хвостовую вену) 0,25 мл свежеприготовленной (см. 1 этап) взвесью дрожжевой культуры. Таким образом, каждое животное получало $2,5 \times 10^7$ дрожжевых клеток.

3 этап. Фармакологическая терапия.

Исследуемую субстанцию и препараты сравнения вводили внутривенно при помощи желудочного зонда (1,3 мм) в объеме 0,5 мл ежедневно однократно в первой половине дня начиная со дня заражения и продолжали до гибели всех животных из 6 группы (контрольной 1). Дата гибели всех животных данной группы считалась датой окончания эксперимента.

4 этап. Учет результатов.

В качестве критерия эффективности лекарственного препарата использовали количество павших животных в опытных группах по сравнению с контрольной группой (№ 6), не получавшей лечения. Для учета животного в анализе было необходимо удостовериться в причине его гибели. Павших животных вскрывали и проводили микробиологическое исследование внутренних органов (печень, селезенка). Необходимым условием для включения животного в анализ служило выделение из внутренних органов *C. albicans*. Павшие животные, из органов которых кандиды не выделялись, признавались погибшими от случайных факторов и в статистический анализ не включались.

Статистическая обработка результатов.

В отношении всех количественных данных применялись методы описательной статистики согласно рекомендациям Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [14]. Межгрупповые различия анализировали непараметрическими методами для множественного сравнения с использованием критерия Манна-Уитни. Различия определяли при 0,05 уровне значимости. Использовалось программное обеспечение STATISTICA 6.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании неинвазивного кандидоза кишечника мыши линии BALB/c из опытных групп (№№ 1–5) и контрольной группы № 6 получали антибиотики (ванкомицин, клиндамицин и гентамицин) в течение 4 дней с целью вызвать дисбактериоз кишечника у мышей для облегчения инфицирования кандидой. Затем питьевую воду заменяли питьевой водой с клетками *C. albicans* в концентрации $1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл на 24 ч, обеспечивали свободный доступ к питью. Начиная со следующего дня после инфицирования в течение 15 суток животным ежедневно внутривенно вводили исследуемую субстанцию в дозах 1, 5 или 10 мг/кг, а также препараты сравнения в терапевтической дозе в зависимости от группы. Каждый пятый день после начала терапии проводили

микробиологическое исследование тонкого и толстого кишечника с целью выделения *C. albicans* и количественного учета дрожжевых клеток. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Анализ данных таблицы показывает, что количество дрожжевых клеток, выделяемых из толстого и тонкого кишечника после введения исследуемой субстанции во всех испытанных дозах, достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой № 6 без лечения. Наблюдался дозозависимый эффект. Наиболее эффективной была доза ПТ 10 мг/кг, после введения которой уже на 10 день после инфицирования кандиды не выделялись. После введения инфицированным мышам препаратов сравнения в терапевтической дозе на 10 день после заражения кандиды также не выделялись.

Таким образом, субстанция хлорида 2-[[1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия проявляла противогрибковую активность в отношении *C. albicans* на модели неинвазивного кандидоза кишечника мышей в дозах 1, 5 и 10 мг/кг. Более того, в дозе 10 мг/кг ПТ проявлял антикандидозное действие на уровне препаратов сравнения, вориконазола и флуконазола.

При моделировании острой септицемии, вызванной *C. albicans*, мышей линии BALB/c из опытных групп (№№ 1–5) и контрольной группы № 6 инфицировали взвесью *C. albicans* внутривенно в дозе $2,5 \times 10^7$ КОЕ/мышь. В тот же день начинали вводить внутривенно исследуемую субстанцию в дозах 1, 5 или 10 мг/кг, а также препараты сравнения в терапевтической дозе в зависимости от группы. Введение продолжали до гибели всех животных из контрольной группы № 6. Дата гибели всех животных данной контрольной группы № 6 считалась датой окончания эксперимента. Динамика гибели мышей в ходе эксперимента представлена в таблице 2.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что все животные первой контрольной группы № 6 погибли в течение 6 дней. Поэтому эксперимент далее не продолжали. Через 6 дней после инфицирования и лечения исследуемой субстанцией в дозе 1 мг/кг погибло 18 мышей из 20, при лечении в дозе 5 мг/кг – 12 мышей, при лечении в дозе 10 мг/кг – 3 мыши. Таким образом, так же как и при неинвазивном кандидозе кишечника, на данной модели тоже наблюдалась зависимость эффекта от дозы. Однако достоверным отличием от контрольной группы № 6 без лечения можно считать только вариант с применением дозы 10 мг/кг.

Чтобы удостовериться в том, что причина гибели мышей связана с кандидозом, павших животных вскрывали и проводили микробиологическое исследование печени и селезенки. Из органов павших животных была выделена *C. albicans* в количестве не менее 30 КОЕ на 1 мл гомогената органа. Таким образом, можно сделать вывод о том, что все павшие животные погибли в результате развития септицемии, вызванной *C. albicans*.

Таблица 1. Количество дрожжевых клеток, выделяемых из органов, (log 10) КОЕ/орган

Table 1. Number of yeast cells excreted from organs (log 10) CFU/organ

Группа Group	Кишечник Intestinal tract	Дни после инфицирования Days after infection		
		5	10	15
1. ПТ 1 мг/кг 1. TD 1 mg/kg	Тонкий Small	1,80 ± 0,23*	1,53 ± 0,15*	1,13 ± 0,03*
	Толстый Large	2,97 ± 0,03*	2,37 ± 0,20*	1,97 ± 0,09*
2. ПТ 5 мг/кг 2. TD 5 mg/kg	Тонкий Small	0,90 ± 0,10*	0,97 ± 0,09*	0,17 ± 0,07*
	Толстый Large	0,93 ± 0,07*	0,53 ± 0,09*	0,13 ± 0,03*
3. ПТ 10 мг/кг 3. TD 10 mg/kg	Тонкий Small	0,13 ± 0,03*	0	0
	Толстый Large	0,13 ± 0,03*	0	0
4. Вориконазол 4. Voriconazole	Тонкий Small	0,10 ± 0,00*	0	0
	Толстый Large	0,10 ± 0,00*	0	0
5. Флуконазол 5. Fluconazole	Тонкий Small	0,10 ± 0,00*	0	0
	Толстый Large	0,10 ± 0,00*	0	0
6. Контроль 1 6. Control 1	Тонкий Small	2,93 ± 0,03	2,50 ± 0,17	2,27 ± 0,15
	Толстый Large	4,07 ± 0,03	4,17 ± 0,12	4,10 ± 0,21
7. Контроль 2 7. Control 2	Тонкий Small	0	0	0
	Толстый Large	0	0	0

Примечание. * $p \leq 0,05$ по сравнению с группой № 6.

Note. * $p \leq 0.05$ compared to group № 6.

Таблица 2. Количество погибших животных в ходе эксперимента

Table 2. Number of animal mortality during the experiment

Группа Group	Количество животных Number of animals	Дни после инфицирования Days after infection						Всего погибших животных Total animal mortality
		1	2	3	4	5	6	
1. ПТ 1 мг/кг 1. TD 1 mg/kg	20	2	0	2	5	6	3	18
2. ПТ 5 мг/кг 2. TD 5 mg/kg	20	0	1	2	7	1	1	12
3. ПТ 10 мг/кг 3. TD 10 mg/kg	20	0	0	1	0	1	1	3
4. Вориконазол 4. Voriconazole	20	0	0	1	1	0	0	2
5. Флуконазол 5. Fluconazole	20	0	0	0	0	0	1	1
6. Контроль 1 6. Control 1	20	1	1	3	3	8	4	20
7. Контроль 2 7. Control 2	20	0	0	0	0	0	0	0

В результате проведенного эксперимента по оценке противогрибковой активности субстанции производного тиадиазола на модели септицемии, вызванной *C. albicans*, было показано, что эффективная доза исследуемой субстанции составила 10 мг/кг. Результат лечения был сопоставим с эффективностью препаратов сравнения – вориконазола и флуконазола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования выявлено, что новое производное тиадиазола хлорид 2-[(1Z)-1-(3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-дифенил-1,3,4-тиадиазол-3-ия проявляло противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* на модели неинвазивного кандидоза кишечника и модели септицемии (сепсиса). Установлено, что в дозе 10 мг/кг ПТ проявляло активность на уровне препаратов сравнения, вориконазола и флуконазола.

ЛИТЕРАТУРА

- Акимкин В. Г., Тутельян А. В., Шулакова Н. И. Микологический айсберг: современные сдвиги в эпидемиологии микозов. *Инфекционные болезни*. 2022;20(1):120–126. DOI: 10.20953/1729-9225-2022-1-120-126.
- Липницкий А. В., Половец Н. В., Муругова А. А., Топорков А. В. Анализ и прогноз распространения в мире особо опасных микозов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;(4):16–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-16-23.
- Casalini G., Giacomelli A., Antinori S. The WHO fungal priority pathogens list: a crucial reappraisal to review the prioritisation. *The Lancet Microbe*. 2024;5(7):717–724. DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00042-9.
- Хостелиди С. Н. Инвазивные микозы у реципиентов трансплантатов внутренних органов (обзор литературы). *Проблемы медицинской микологии*. 2023;25(4):3–14. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-3-14.
- Багирова Н. С. Инвазивные грибковые инфекции: пересмотр определений, новое в диагностике по данным EORTC/MSGERC. *Злокачественные опухоли*. 2020;10(3S1):39–48. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-10-3S1-39-48.
- Попова М. О., Рогачева Ю. А. Инвазивные микозы у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и реципиентов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: результаты систематического обзора, обзора литературы и метаанализа. *Онкогематология*. 2023;18(1):101–120. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-1-101-120.
- Wang R., Huang C., Zhang Y., Li R. Invasive dermatophyte infection: A systematic review. *Mycoses*. 2021;64(4):340–348. DOI: 10.1111/myc.13212.
- Jacobs S. E., Wengenack N. L., Walsh T. J. Non-Aspergillus Hyaline Molds: Emerging Causes of Sino-Pulmonary Fungal Infections and Other Invasive Mycoses. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;41(1):115–130. DOI: 10.1055/s-0039-3401989.

- Казак В. И., Черновецкий М. А., Скопонец Е. Я. Инвазивные грибковые инфекции: эпидемиология и диагностика (обзор литературы). *Лабораторная диагностика*. *Восточная Европа*. 2023;11(3):363–374. DOI: 10.34883/PI.2022.11.3.011.
- Махрова Т. В., Заславская М. И., Галка А. Г., Костров А. В. Противогрибковое действие холодной гелиевой плазмы на *Candida* spp. в экспериментах *in vitro*. *Проблемы медицинской микологии*. 2020;22(2):45–49. DOI: 10.24412/1999-6780-2020-2-45-49.
- Босак И. А., Выборнова И. В., Чилина Г. А., Оганесян Э. Г., Венчакова В. В., Паршикова Е. Г., Богомолова Т. С., Ковыршин С. В., Авдеенко Ю. Л., Карпов С. А., Павлова И. Э., Васильева Н. В. Вирулентность и особенности патогенеза диссеминированного кандидоза, обусловленного штаммами *Candida auris* с различной фосфолипазной активностью, в экспериментальной модели. *Проблемы медицинской микологии*. 2023;25(4):52–58. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-52-58.
- Кошевенко А. С., Ананьева Е. П., Яковлев И. П., Юсковец В. Н. Антифунгальная активность новых производных 1,3,4-тиадиазола. *Проблемы медицинской микологии*. 2016;18(3):42–44.
- Freireich E. J., Gehan E. A., Rail D. P., Schmidt L. H., Skipper H. E. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemotherapy Reports*. 1966;50(4):219–244.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

REFERENCES

- Akimkin V. G., Tutelyan A. V., Shulakova N. I. Medical mycological iceberg: recent trends in the epidemiology of mycoses. *Infectious diseases*. 2022;20(1):120–126. (In Russ.) DOI: 10.20953/1729-9225-2022-1-120-126.
- Lipnitsky A. V., Polovets N. V., Murugova A. A., Toporov A. V. Analysis and Forecast of the Spread of Particularly Dangerous Mycoses around the World. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;(4):16–23. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-16-23.
- Casalini G., Giacomelli A., Antinori S. The WHO fungal priority pathogens list: a crucial reappraisal to review the prioritisation. *The Lancet Microbe*. 2024;5(7):717–724. DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00042-9.
- Khoshelidi S. N. Invasive mycoses in recipients of solid organ transplants (literature review). *Problems in Medical Mycology*. 2023;25(4):3–14. (In Russ.) DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-3-14.
- Bagirova N. S. Invasive fungal infections: revision of definitions, new in diagnosis according to data EORTC/MSGERC. *Malignant Tumours*. 2020;10(3s1):39–48. (In Russ.) DOI: 10.18027/2224-5057-2019-10-3s1-39-48.
- Popova M. O., Rogacheva Yu. A. Invasive mycoses in patients with hematological malignancies and recipients of hematopoietic stem cell transplantation: results of a systematic review, literature review and meta-analysis. *Oncohematology*. 2023;18(1):101–120. (In Russ.) DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-1-101-120.

7. Wang R., Huang C., Zhang Y., Li R. Invasive dermatophyte infection: A systematic review. *Mycoses*. 2021;64(4):340–348. DOI: 10.1111/myc.13212.
8. Jacobs S.E., Wengenack N.L., Walsh T.J. Non-Aspergillus Hyaline Molds: Emerging Causes of Sino-Pulmonary Fungal Infections and Other Invasive Mycoses. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;41(1):115–130. DOI: 10.1055/s-0039-3401989.
9. Kazak V.I., Tchernovetskiy M.A., Skopovets E.Ya. Invasive fungal infections: epidemiology and diagnostics (literature review). Laboratory diagnostics. *Eastern Europe*. 2023;11(3): 363–374. (In Russ.) DOI: 10.34883/Pl.2022.11.3.011.
10. Makhrova T.V., Zaslavskaya M.I., Galka A.G., Kostrov A.V. Antifungal action of cold helium plasma on *Candida* spp. in experiments *in vitro*. *Problems in Medical Mycology*. 2020;22(2):45–49. (In Russ.) DOI: 10.24412/1999-6780-2020-2-45-49.
11. Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Oganessian E.G., Venchakova V.V., Parshikova E.G., Bogomolova T.S., Kovyrshin S.V., Avdeenko Y.L., Karpov S.A., Pavlova I.V., Vasilyeva N.V. Virulence and pathogenesis features of disseminated candidiasis caused by *Candida auris* strains with different phospholipase activities in an experimental model. *Problems in Medical Mycology*. 2023;25(4):52–58. (In Russ.) DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-52-58.
12. Koshevenko A.S., Ananyeva E.P., Yakovlev I.P., Yuskovets V.N. Antifungal activity of new derivatives of 1,3,4-thiadiazole. *Problems in Medical Mycology*. 2016;18(3):42–44. (In Russ.)
13. Freireich E.J., Gehan E.A., Rail D.P., Schmidt L.H., Skipper H.E. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemotherapy Reports*. 1966;50(4):219–244.
14. Guidelines for Preclinical Trials of Medicinal Products. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)