

Формулы Фармации. 2023. Т. 5, № 1. С. 10–19

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Научная статья

УДК 615.282

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf409374>

Кандидоз: проблема поиска новых этиотропных препаратов среди продуктов органического синтеза

© 2023. В. В. Новикова¹, В. Л. Гейн¹, О. В. Бобровская¹, Н. А. Пулина¹,
Н. М. Игидов¹, И. П. Рудакова¹

¹Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Новикова Валентина Васильевна, vvnp Perm@yandex.ru

АННОТАЦИЯ. Проведен скрининг 1043 соединений – продуктов органического синтеза на противогрибковую активность на типовом штамме *C. albicans* NCTC 885-653 в планктонной культуре. В результате углубленных исследований высоко активных веществ на типовых и клинических штаммах *Candida spp.*, в том числе в условиях биопленкообразования, выявлено 3 соединения-лидера, являющихся представителями новых химических рядов, не описанных ранее, имеющих высокую противогрибковую активность (МПК₅₀ – 1,0–2,0; МПК₉₀ – 7,8–31,2), более эффективных, чем препарат сравнения флуконазол. Предложена методология поиска соединений с ПГА среди продуктов органического синтеза, базирующаяся на применении теоретических, физико-химических, биологических методов. Разработан подход исследования антифунгальной активности у новых соединений с применением микробиологических методов, включающий скрининг на типовых штаммах дрожжевых грибов, углубленные исследования на клинических изолятах для определения кумулятивных показателей чувствительности популяции микроорганизмов, изучение ПГА соединений в условиях биопленкообразования.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кандидоз; *Candida spp.*; противогрибковая активность; методология поиска

СОКРАЩЕНИЯ:

МПК – Минимальная подавляющая концентрация; ПГА – противогрибковая активность.

ВВЕДЕНИЕ

Грибковые инфекции, включающие поверхностные и глубокие микозы, являются распространённой патологией и важной составляющей инфекционной заболеваемости [1–5]. Так по данным исследователей смертность от микозов достигает 1,3–1,5 млн случаев в год, и сравнима с летальностью от туберкулеза, ВИЧ-инфекции [1, 6]. К высокой частоте этой группы заболеваний приводят предрасполагающие факторы, такие как использование гормональных контрацептивов, антибиотикотерапия, метаболические нарушения, врожденные и приобретенные иммунодефициты. Кроме того, росту данной группы инфекций способствует прогрессирующая устойчивость к используемым противогрибковым препаратам [7–11]. Патология, вызываемая грибковой флорой, обусловлена двумя морфологическими группами микромицетов – нитчатými грибами и дрожжами. Основным патогеном в случае поражения, вызванного дрожжевыми грибами, являются грибы рода *Candida*, и в частности – *C. albicans* [10–13].

Поиск новых органических соединений, обладающих противогрибковой активностью, которые могут быть в последствии рекомендованы в качестве субстанций для создания оригинальных препаратов, является важным направлением фармации и медицины, привлекающим различных исследователей [14–23].

Целью настоящей работы является разработка методологии поиска соединений с противогрибковой активностью – потенциальных лекарственных средств для лечения микозов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали продукты органического синтеза, полученные сотрудниками ФГБОУ ВО ПГФА: осуществлен скрининг 1043 соединений, распределенных на 11 групп, 68 рядов; эталонные (типовые) штаммы дрожжевых грибов рода *Candida*: *C. albicans* NCTC 885-653, *C. tropicalis* РКПГУ-1513/784, *C. krusei* РКПГУ-1472/310, *C. glabrata* РКПГУ-1485/47, полученные из Российской коллекции патогенных грибов (г. Санкт-Петербург); а также клинические штаммы *Candida spp.*, выделенные от пациентов клиник г. Перми – 79 изолятов, в том числе: *C. albicans* – 72 штамма, *C. non-albicans* – 7 штаммов (*C. krusei* – 5, *C. tropicalis* – 1, *C. glabrata* – 1). Для оценки свойств исследуемых штаммов *Candida spp.* была изучена устойчивость к 5 наиболее часто используемым антифунгальным препаратам, выявлено 38 изолятов, устойчивых к 2 и более антимикотикам, из них 16 устойчивых к 3 и более антимикотикам, 8 – к 4 и более антимикотикам.

Для изучения ПГА использовали микрометод двукратных серийных разведений [24] с использованием среды Сабуро. Микробная нагрузка в опыте составила около $2-5 \times 10^5$ КОЕ/мл [25–27]. Положительным контролем служила питательная среда с внесенной исследуемой культурой. Отрицательный контроль – интактная питательная среда. Посевы выдерживали в термостате при температуре $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 22–24 часа. Оценку полученных результатов проводили визуально. За МПК (MIC) принимали минимальную концентрацию вещества, при которой отсутствовал видимый рост тест-штамма. Исследования осуществляли в двух повторах. Соединения с МПК 125–1000 мкг/мл, оценивались как имеющие низкую анти-

фунгальную активность; 15,6–62,5 мкг/мл – среднюю ПГА. Вещества с МПК 7,8 мкг/мл и менее считались перспективными для углубленного исследования [24].

Острая токсичность (LD_{50} , мг/кг) соединений оценивалась путем внутрибрюшинного и перорального введения изучаемых веществ [24]. LD_{50} рассчитывали согласно требованиям государственного фармакологического комитета по изучению общетоксического действия биологически активных веществ [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе скрининга соединений, которые могут обладать противогрибковой активностью, были выявлены девять перспективных химических рядов (МПК 7,8 мкг/мл и менее), которые содержат 27 соединений. При проведении дополнительных исследований этих веществ в отношении типовых штаммов *C. non-albicans* выявлено 20 соединений с МПК 7,8 мкг/мл и менее в отношении двух и более тест-микроорганизмов. В дальнейшем они были исследованы в отношении 28–40 клинических штаммов *Candida spp.* в планктоне. Учитывая, что популяция циркулирующих микромицетов является разнородной по чувствительности, были установлены кумулятивные показатели МПК₅₀ и МПК₉₀. Полученные результаты представлены в таблице 1. Кроме того, были получены аналогичные усредненные показатели для флуконазола – препарата, который использовался в качестве сравнения: МПК₅₀ – 3,0 мкг/мл, МПК₉₀ – 31,2 мкг/мл, доля штаммов с МПК ≤ 2 мг/л – 47,5 %.

Установлены 3 соединения-лидера: соединение **6в** – серебряная соль пиазол-3-карбоксамид с МПК₅₀ – 1,0 мг/л, МПК₉₀ – 15,6 мкг/мл, долей штаммов с МПК ≤ 2 мкг/мл – 70,0 %; соединение **11б** – дибромпроизводное 4,5-дигидрофуран-3-карбоновой кислоты с МПК₅₀ – 2,0 мкг/л, МПК₉₀ – 7,8 мкг/мл, долей штаммов с МПК ≤ 2 мкг/мл – 50,0 %; соединение **14б** – бромированный (гет)ариламид 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановых кислот с МПК₅₀ – 2,0 мкг/мл, МПК₉₀ – 15,6 мкг/мл, долей штаммов с МПК ≤ 2 мкг/мл – 60,0 %.

Результаты определения острой токсичности и отношение МПК к токсичности (LD_{50}) изучаемых соединений представлены в таблице 2. Изученные соединения имеют низкую острую токсичность и относятся к 4 классу опасности [29–31]. Диапазон отношения МПК к токсичности у этих веществ составил 0,007–0,015, что свидетельствует об их высокой фармакологической эффективности. Оптимальным отношением МПК/ LD_{50} обладают соединения **14б** и **11б**, данный показатель в 3,5 раза ниже аналогичного значения флуконазола.

При сравнении активности лидирующих соединений в отношении клинических штаммов *Candida spp.*, устойчивых к двум или более антимикотикам, было обнаружено, что соединение **6в** является более эффективным в ингибировании роста этих штаммов, чем флуконазол в 44,4–100 % случаев (рис. 1.). Аналогичные результаты были получены при изучении антифунгального действия исследуемых соединений на клинические штаммы *Candida non-albicans*, которые являются серьезной проблемой в практике здравоохранения: соединение **6в** оказало наиболее сильное воздействие на рост этих микромицетов.

Табл. 1.

Распределение популяции изученных клинических штаммов *Candida spp.* по значениям МПК исследованных соединений

Table 1.

Population distribution of the studied clinical isolates of *Candida spp.* according to the MIC values of the studied compounds

Соединение/МПК, мкг/мл	Количество штаммов <i>Candida spp.</i>										
	3а	3б	3в	3г	3д	3е	3ж	8а	11а	11б	Флуконазол
250							3				
125							2				1
62,5							3	6	3		1
31,2	3	2		4	4	1	7	6	9		6
15,6	6	13	11	14	8	14	10	6	8	2	2
7,8	16	11	17	9	19	19	4	5	10	7	3
3,9	10	6	11	7	6	6	1	6	4	11	6
2,0	3	8	1	5	2		4	1	4	9	5
1,0	2			1	1		2	3	1	8	6
0,5							1	6	1	1	8
0,25							3	1		2	2
итого	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
МПК ₅₀	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	15,6	3,9	7,8	2,0	2,0
МПК ₉₀	15,6	15,6	15,6	15,6	15,6	15,6	125	31,2	31,2	7,8	31,2
% штаммов с МПК ≤ 2 мкг/мл	12,5	20,0	2,5	15,0	7,5	0	25	42,5	15,0	50,0	52,5
Соединение/МПК, мкг/мл	6а	6б	6в	6г	6д	6е	14а	14б	14в	14г	Флуконазол
125	3	5									2
62,5	3	3		3	5	3			1	1	2
31,2	9	4	3	5	5	1	0	4	9	9	6
15,6	4	1	2	4	4	1	14	2	4	6	3
7,8	2	5	1	0	3	14	21	3	3	2	4
3,9	4	3	4	6	3	15	5	7	1	1	6
2,0	6	10	6	11	9	3		10	6	3	6
1,0	3	1	5	1	6	1		12	4	6	5
0,5	1	7	6	1	3	2		2			5
0,25	5	1	13	9	2			0			1
итого	40	40	40	40	40	40	40	40	28	28	40
МПК ₅₀	7,8	3,9	1,0	2,0	2,0	7,8	7,8	2,0	7,8	3,9	3,9
МПК ₉₀	62,5	62,5	15,6	31,2	62,5	31,2	15,6	15,6	31,2	31,2	31,2
% штаммов с МПК ≤ 2 мкг/мл	37,2	47,5	70,0	57,5	50,0	3,5	0	60	35,7	32,1	42,5

Табл. 2.

Острая токсичность и отношение МПК к острой токсичности соединений-лидеров

Table 2.

Acute toxicity and ratio of mic to acute toxicity of leading compounds

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг	МПК/ЛД ₅₀
6в	>1000	0,015
11б	>1100	0,007
14б	2190 (1300–3000), внутривенно	0,007
Флуконазол	1273*	0,024

* – литературные данные [32].

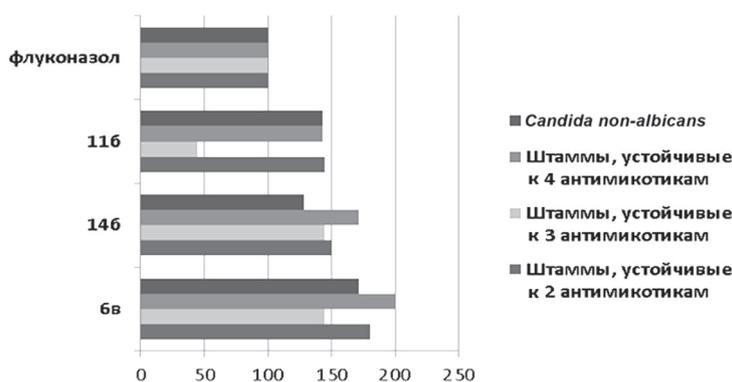


Рис. 1. Эффективность соединений-лидеров в отношении антимикотикорезистентных штаммов *Candida* spp. и *Candida non-albicans* в сопоставлении с флуконазолом, %

Fig. 1. Efficacy of the leading compounds against antimycotic-resistant strains of *Candida* spp. and *Candida non-albicans* compared with fluconazole, %

Также была изучена противогрибковая активность трех лидирующих соединений на модели биопленки в отношении высоковирулентных клинических штаммов, обладающих высокой способностью к биопленкообразованию. Анализ результатов показал, что соединение **6b** имеет наименьшее значение $sMIC_{50}$ (подавление 50 % роста популяции микроорганизмов, находящихся в биопленке), соединение **146** – наименьшее значение $sMIC_{80}$ (угнетение роста 80 % микроорганизмов, присутствующих в биопленке), превышающих эффект флуконазола в 7,1–15,1 раз.

На основе полученных результатов разработана методология поиска соединений с антифунгальной активностью среди продуктов органического синтеза, которая включает использование совокупности теоретических, физико-химических и биологических методов.

Первый этап предполагает выбор биологических и химических объектов исследования. Опираясь на литературные данные о распространенности и этиологической значимости определенного возбудителя микозов (принадлежность к определенному роду), типу строения таллома гриба (дрожжевые, мицелиальные) осуществляется выбор патогена.

Реализация подхода работы с химическими объектами предполагает возможность изменения химической структуры молекул с описанной антифунгальной активностью (как зарегистрированных лекарственных средств-антимикотиков, так и описанных в литературе соединений с ПГА) с целью улучшения фармакокинетических и фармакодинамических свойств, либо получение новых соединений. Во всех случаях рекомендуется базовые принципы:

1. Использование данных о связи химической структуры соединений и их антифунгальной активности, что позволит улучшить эффективность соединений за счет введения определенных фармакофорных групп.

2. Применение методов компьютерного прогнозирования, таких как QSAR моделирование, которые могут использоваться для предположения наличия антифунгальной активности соединений. При наличии данных о противогрибковой, антибактериальной, антиинфекционной активности соединений, вероятность экспериментального подтверждения ПГА увеличивается.

При отсутствии соответствующих прогнозов проведение экспериментальных скрининговых исследований не исключается, если они не были осуществлены в отношении родственных химических структур.

3. Применение *in silico* методов для анализа предполагаемой биологической доступности новых веществ исходя из требований, предъявляемых к биологически активным малым молекулам, опираясь на основные значимые физико-химические параметры (молекулярный вес, липофильность, TPSA и др.).

Второй этап – получение предполагаемых соединений методами органического синтеза с подтверждением химической структуры.

Третий этап – изучение противогрибковой активности и острой токсичности полученных соединений с использованием предложенного алгоритма:

1. Изучение антифунгального эффекта нового вещества с подтвержденной химической структурой в планктонной культуре на тест-штамме *S. albicans* в двойной повторности. При МПК >7,8 мкг/мл исследования завершить; при МПК ≤7,8 мкг/мл перейти к этапу 2.1.

2.1. Изучение острой токсичности соединения. При принадлежности вещества к 1–2 классу токсичности исследования завершить; при принадлежности к 3–4 классу токсичности перейти к этапу 2.2.

2.2. Изучение ПГА нового соединения в планктонной культуре на других типовых штаммах грибов. При МПК ≤7,8 мкг/мл в отношении не менее 2 штаммов перейти к этапу 3.

3.1. Изучение ПГА в отношении клинических изолятов грибов, резистентных к часто применяемым антимикотикам, для выявления потенциальной значимости нового соединения, а также для определения кумулятивных показателей чувствительности популяции штаммов – MPK_{50} и MPK_{90} .

3.2. Изучение ПГА на модели биопленки в условиях, приближенных к практической медицине.

3.3. Изучение синергизма с используемыми в медицине антимикотиками. При потенцировании действия применяемых антифунгальных средств можно рекомендовать сочетанное с ними применение данного соединения при лечении лекарственно-устойчивых микозов.

При положительных результатах исследований, а именно п. 3.1, 3.2 – превышение активности препарата сравнения, п. 3.3 – наличие синергизма, перейти к следующему этапу.

4. Определение механизма действия методами *in silico* с использованием молекулярного докинга и экспериментальными методами *in vitro*.

Четвертый этап. Рекомендация для дальнейших доклинических исследований (изучение хронической токсичности, эмбриотоксичности, ПГА *in vivo* и др.).

Пятый этап. Выбор методик оценки качества для проведения стандартизации изученного соединения – потенциальной фармацевтической субстанции с антифунгальным эффектом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен масштабный скрининг 1043 соединений – продуктов органического синтеза на противогрибковую активность на типовом штамме *C. albicans* NCTC 885-653 в планктонной культуре.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. The burden of serious fungal diseases in Russia / N. Klimko, Y. Kozlova, S. Khostelidi [et al.] // *Mycoses*. – 2015. Т. 58. – С.8–62. DOI: 10.1111/myc.12388.

2. Denning D. W. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review / D. W. Denning, M. Kneale, J. D. Sobel, R. Rautemaa-Richardson // *The Lancet infectious diseases*. – 2018. – V. 18. – № 11. – P.:339–347. DOI:10.1016/S1473-3099(18)30103-8.

3. A clinico-mycological spectrum of Superficial Mycoses of the scalp in the paediatric population / F. Zeehan, F. Uddin, B. Khan [et al.] // *Journal of Rawalpindi Medical College* – 2020/ – V. 24. – № 4. – P. 395–399. DOI: 10.37939/jrmc.v24i4/1476.

4. Кубанов А. А. Итоги деятельности медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь по профилю дерматовенерология, в 2020 году: работа в условиях пандемии. / А. А. Кубанов, Е. В. Богданова // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2021. – Т. 97. – № 4. – С. 8–32. DOI: 10.25208/vdv1261.

5. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health / M. C. Fisher, A. Alastruey-Izquierdo, J. Berman [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2022. – Т. 20. – № 9. С. 557–571. DOI: 10.1038/s41579-022-00720-1.

6. Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture / M. C. Fisher, S. J. Gurr, C. A. Cuomo [et al.] // *ASM Journals. MBio*. – 2020. – V.11. – № 3. – P.e00449–20. DOI:10.1128/mBio.00449-20.

7. Малова И. О. Современные особенности клинического течения урогенитального кандидоза и анализ антимикотической чувствительности грибов рода *Candida* /

В результате углубленных исследований высоко активных веществ на типовых и клинических штаммах *Candida spp.*, в том числе в условиях биопленкообразования, выявлено 3 соединения-лидера, имеющих высокую противогрибковую активность (МПК₅₀ – 1,0–2,0; МПК₉₀ – 7,8–31,2), более эффективных, чем препарат сравнения флуконазол.

Предложена методология поиска соединений с ПГА среди продуктов органического синтеза, базирующаяся на применении теоретических, физико-химических, биологических методов. Разработан подход исследования антифунгальной активности у новых соединений с применением микробиологических методов, включающий скрининг на типовых штаммах дрожжевых грибов, углубленные исследования на клинических изолятах для определения кумулятивных показателей чувствительности популяции микроорганизмов, изучение ПГА соединений в условиях биопленкообразования.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО ПГФА (тема № 720000Ф.99.1.БН62АБ05000), 2023 г.

И. О. Малова, Ю. А. Кузнецова. // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2015. – № 2. – С. 68–75.

8. Арутюнян Н. С. Кандидозные вульвовагиниты у женщин в период беременности / Н. С. Арутюнян, А. А. Мкртчян, П. С. Агафонов. // *Проблемы медицинской микологии*. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 40.

9. Biofilms formed by isolates from recurrent vulvovaginal candidiasis patients are heterogeneous and insensitive to fluconazole / L. Sherry, R. Kean, E. McCloud [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61, № 9. – P. 01065–17.

10. Prevalence of *Candida spp.* in cervical-vaginal samples and the *in vitro* susceptibility of isolates / T. M. Brandt, G. B. Klafke, C.V. Gonçalves [et al.] // *Brazilian journal of microbiology*. – 2017. – V. 48. – № 1. – С. 145–150.

11. Межевитинова Е. А. Применение флуконазола у женщин репродуктивного возраста с вульвовагинальным кандидозом / Е. А. Межевитинова, П. П. Абакарова, Ш. М. Погосян. // *Медицинский совет*. – 2018. – № 13. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-13-96-102>

12. Новикова В. В. Анализ видового состава и чувствительности клинических изолятов *Candida spp.* к современным антимикотикам / В. В. Новикова, С. Г. Езов, А. И. Селиванова. // *Медицинский альманах*. – 2017. – Т. 47, № 2. – С. 138–141.

13. Новикова В. В. Видовой состав изолятов *Candida spp.*, выделенных из различных биоматериалов пациентов г. Перми / В.В. Новикова, Е. В. Косякова, М. В. Логинова // *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. Научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы*

химической безопасности в сфере фармацевтической и медицинской науки и практики», посвященная 50-летию кафедры токсикологической химии: Сборник материалов (14–15 декабря 2022 года) / отв. ред. В.Г. Лужанин. – Пермь, ПГФА, 2022. – Т. 29. – С. 281–284

14. Perfect J. R. The antifungal pipeline: a reality check / J. R. Perfect. // *Nature reviews Drug discovery*. – 2017. – Vol. 16, № 9. – P. 603.

15. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin / S. Zorofchian Moghadamtousi, H. A. Kadir, P. Hassandarvish [et al.] // *BioMed research international*. – 2014. – Т. 2014.

16. Disulphide-reduced psoriasis is a human apoptosis-inducing broad-spectrum fungicide / K. Z. Hein, H. Takahashi, T. Tsumori [et al.]. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – Т. 112, № 42. – С. 13039–13044.

17. Кошевенко А. С. Синтез и противогрибковая активность новых хлоридов 2-[(Z)-1-(3, 5-диарил-1, 3, 4-тиадиазол-2 (3 Н)-илиден) метил]-3, 5-диарил-1, 3, 4-тиадиазол-3-ия / А. С. Кошевенко, И. П. Яковлев, В. Н. Юсковец [и др.]. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2017. – Т. 51, № 6. – С. 18–20.

18. Sphingolipids as targets for treatment of fungal infections / R. Rollin-Pinheiro, A. Singh, E. Barreto-Bergter, M. Del Poeta. // *Future Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 8, № 12. – P. 1469–1484.

19. ASP2397: a novel antifungal agent produced by *Acremonium persicinum* MF-347833 / I. Nakamura, S. Yoshimura, T. Masaki [et al.]. // *The Journal of Antibiotics*. – 2017. – Vol. 70, № 1. – P. 45–51.

20. Новикова В.В. Поиск новых антимикотических средств: основные тенденции и проблемы / В.В. Новикова // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. – 2020 / – № 1. С. 75–81. DOI: 10.21626/vestnik/2020-1/09.

21. Синтез и противомикробная активность метил-4-арил-2-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфамойл]фениламино-4-оксобут-2-еноатов и их серебряных солей / В. Л. Гейн, О. В. Бобровская, Е. А. Машкина [и др.]. // *Журнал общей химии*. – 2020. – Т. 90, № 5. – С. 723–729.

22. Новикова В. В. Противогрибковая активность новых производных 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановых кислот / В. В. Новикова, Н. А. Пулина, Ф. В. Собин, К. В. Липатников // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 225–228. – DOI 10.17816/RCF183225-228.

23. Новикова В. В. Изучение противогрибковой активности нового бромпроизводного 4,5-дигидрофуран-3-карбоновой кислоты на модели биопленки / Новикова В. В., Иванов Д. В., Игидов Н. М. // *Экспериментальная и кли-*

ническая фармакология. – 2023. – Т. 86. – № 2. – С. 14–17. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-2-14-17.

24. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России. Том Часть 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1466-3.

25. EUCAST Definitive Document EDef 7.3.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. Available at: sayt.: – URL: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_EDef_7.3.2_Yeast_testing_definitive_revised_2020.pdf. (дата обращения 21.10.2022).

26. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации [Электронный ресурс]. – 2021. – 225 с.: сайт – URL: <http://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>. (дата обращения 24.12.2021).

27. Новикова В. В. Исследование новых продуктов органического синтеза на противогрибковую активность в отношении дрожжевых грибов: обоснование выбора условий испытаний / В. В. Новикова, Е. В. Якимова, А. Д. Горбушина // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2022;(3):105–112.

28. Методические рекомендации по изучению обшкетоксического действия фармакологических средств: утверждены 25.12.1997. // *Вестник фармакопейного комитета*. – 1998. – № 1. – С. 27–32.

29. Измеров Н. Ф. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии (справочник) / Н. Ф. Измеров, И. В. Саноцкий, К. К. Сидоров – Москва: Медицина, 1977. – С. 196–197.

30. ГОСТ 32419–2013. Классификация опасности химической продукции. Общие требования: национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 833-ст: введен впервые: дата введения 2014–08–01 / разработан ФГУП «ВНИЦСМВ». – Москва: Стандартинформ, 2014. – 25 с.

31. IOI A. С. Согласованная на глобальном уровне система классификаций опасности и маркировки химической продукции (СГС). – Изд. 6-е, пересмотр. – Нью-Йорк, Женева: Организация объединенных наций, 2015. – ST/SG 30/Rev. 6.

32. National Library of Medicine. ChemIDplus [Электронный ресурс]. Bethesda, 1994.: сайт. – URL: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/name/fluconazole> (дата обращения: 10.10.2021).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Валентина Васильевна Новикова – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, vvnp Perm@yandex.ru

Владимир Леонидович Гейн – д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой общей и органической химии Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, geinvl48@mail.ru

Ольга Васильевна Бобровская – д-р фармацевт. наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, bobban@mail.ru

Наталья Алексеевна Пулина – д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, pulina.natalya@pfa.ru

Назим Мусабекевич Игидов – д-р фармацевт. наук, профессор кафедры общей и органической химии Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, igidov_nazim@mail.ru

Ирина Павловна Рудакова – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии Пермской государственной фармацевтической академии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, gudakova@pfa.ru

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 23.04.2023 г., одобрена после рецензирования 11.05.2023 г., принята к публикации 27.05.2023 г.

Pharmacy Formulas. 2023. Vol. 5, no. 1. P. 10–19

PHARMACEUTICAL SCIENCES

Original article

Candidiasis: the problem of finding new etiotropic drugs among organic synthesis products

© 2023. Valentina V. Novikova¹, Vladimir L. Gein¹, Olga V. Bobrovskaya¹, Natalia A. Pulina¹, Nazim M. Igidov¹, Irina P. Rudakova¹

¹Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia
Corresponding author: Valentina V. Novikova, vvnperm@yandex.ru

ABSTRACT. Screening of 1043 compounds – organic synthesis products for antifungal activity on the standard strain *C. albicans* NCTC 885-653 in planktonic culture was carried out. As a result of in-depth studies of highly active substances on standard and clinical strains of *Candida spp.*, including under conditions of biofilm formation, 3 lead compounds were identified, which are representatives of new chemical series not previously described, having high antifungal activity (MIC₅₀ – 1.0–2.0; MIC₉₀ – 7.8–31.2), more effective than the reference drug fluconazole. A methodology for searching for compounds with antifungal activity among organic synthesis products has been proposed, based on the use of theoretical, physico-chemical, and biological methods. An approach to studying the antifungal activity of new compounds using microbiological methods has been developed, which includes screening on standard strains of yeast, in-depth studies on clinical isolates to determine cumulative indicators of the sensitivity of the microorganism population, and the study of the antifungal activity of compounds under conditions of biofilm formation.

KEYWORDS: candidiasis; *Candida spp.*; antifungal activity; search methodology

REFERENCES

1. The burden of serious fungal diseases in Russia / N. Klimko, Y. Kozlova, S. Khostelidi [et al.] // *Mycoses*. – 2015. T. 58. – С.8–62. DOI: 10.1111/myc.12388.
2. Denning D. W. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review / D. W. Denning, M Kneale., J. D. Sobel, R. Rautemaa-Richardson // *The Lancet infectious diseases*. – 2018. – V. 18. – № 11. – P.:339–347. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30103-8.
3. A clinico-mycological spectrum of Superficial Mycoses of the scalp in the paediatric population / F. Zee-shan, F. Uddin, B. Khan [et al.] // *Journal of Rawalpindi Medical College* – 2020/ – V. 24. – № 4. – P.395–399. DOI: 10.37939/jrmc.v24i4/1476.
4. Kubanov A. A. The results of the activities of medical organizations providing medical care in the field of dermatovenereology in 2020: work in a pandemic / A. A. Kubanov, E. V. Bogdanova // *Bulletin of Dermatology and Venereology*. – 2021. – T. 97, No. 4. – S. 8–32. – DOI 10.25208/vdv1261. (In Russ.).
5. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health / M. C. Fisher, A. Alastruey-Izquierdo, J. Berman [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2022. – T. 20. – № 9. С.:557–571. DOI: 10.1038/s41579-022-00720-1.
6. Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture / M. C. Fisher, S. J. Gurr, C. A. Cuomo [et al.] // *ASM Journals. MBio*. – 2020. – V.11. – № 3. – P.e00449–20. DOI: 10.1128/mBio.00449-20.
7. Malova I. O. Modern features of the clinical course of urogenital candidiasis and analysis of antimycotic sensitivity of fungi of the genus *Candida* / I. O. Malova, Yu. A. Kuznetsova // *Bulletin of Dermatology and Venereology*. – 2015. – No. 2. – S. 68–75. (In Russ.).
8. Arutjunjan N. S. Kandidoznye vul'vovaginity u zhen-shhin v period beremennosti / N. S. Arutjunjan, A. A. Mkrtchjan, P. S. Agafonov. // *Problemy medicinskoj mikologii*. – 2015. – T. 17, № 2. – S. 40. (In Russ.).
9. Biofilms formed by isolates from recurrent vulvovaginal candidiasis patients are heterogeneous and insensi-

- tive to fluconazole / L. Sherry, R. Kean, E. McCloud [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2017. – Vol. 61, № 9. – P. 01065–17.
10. Prevalence of *Candida* spp. in cervical-vaginal samples and the in vitro susceptibility of isolates / T. M. Brandolt, G. B. Klafke, C.V. Gonçalves [et al.] // Brazilian journal of microbiology. – 2017. – V. 48. – № 1. – C. 145–150.
11. Mezhevitina E. A., Abakarova P. R., Pogosyan S. M. Use of fluconazole in women of reproductive age with vulvovaginal candidiasis. Meditsinskiy sovet = Medical Council. 2018; (13):96–102. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-13-96-102. (In Russ.).
12. Novikova V. V. Analysis of the species composition and sensitivity of clinical isolates of *Candida* spp. to modern antimycotics / V. V. Novikova, S. G. Ezov, A. I. Selivanova // Medical Almanac. – 2017. – No. 2 (47). – S. 138–141. (In Russ.).
13. Novikova V. V. Vidovoj sostav izoljatov *Sandida* spp., vydelennyh iz razlichnyh biomaterialov pacientov g. Permi / V.V. Novikova, E. V. Kosjakova, M. V. Loginova // Vestnik Permskoj gosudarstvennoj farmacevticheskoj akademii. Nauchno-prakticheskaja konferencija s mezhdunarodnym uchastiem “Aktual’nye problemy himicheskoj bezopasnosti v sfere farmacevticheskoj i medicinskoj nauki i praktiki”, posvjashhennaja 50-letiju kafedry toksikologicheskoi himii: Sbornik materialov (14–15 dekabnja 2022 goda) / otv. red. V.G. Luchanin. – Perm’, PGFA, 2022. – T. 29. – S.281–284. (In Russ.).
14. Perfect J. R. The antifungal pipeline: a reality check / J. R. Perfect. // Nature reviews Drug discovery. – 2017. – Vol. 16, № 9. – P. 603.
15. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin / S. Zorofchian Moghadamtousi, H. A. Kadir, P. Hassandarvish [et al.] // BioMed research international. – 2014. – T. 2014.
16. Disulphide-reduced psoriasis is a human apoptosis-inducing broad-spectrum fungicide / K. Z. Hein, H. Takahashi, T. Tsumori [et al.]. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – T. 112, № 42. – C. 13039–13044.
17. Koshevenko A. S. Synthesis and antifungal activity of new chlorides,4-thiadiazol-3-ium / A. S. Koshevenko, I. P. Yakovlev, V. N. Yuskovets [et al.] // Chemical-pharmaceutical journal. – 2017. – T. 51, No. 6. – S. 18–20. (In Russ.).
18. Sphingolipids as targets for treatment of fungal infections / R. Rollin-Pinheiro, A. Singh, E. Barreto-Bergter, M. Del Poeta. // Future Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 8, № 12. – P. 1469–1484.
19. ASP2397: a novel antifungal agent produced by *Acremonium persicinum* MF-347833 / I. Nakamura, S. Yoshimura, T. Masaki [et al.]. // The Journal of Antibiotics. – 2017. – Vol. 70, № 1. – P. 45–51.
20. Novikova, V. V. Search for new antimycotic agents: main trends and problems / V. V. Novikova // Kursk Scientific and Practical Bulletin Man and his health. – 2020. – No. 1. – P. 75–81. – DOI: 10.21626/vestnik/2020-1/09. (In Russ.).
21. Synthesis and antimicrobial activity of methyl 4-aryl-2-{4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino}-4-oxobut-2-enoates and their silver salts / V. L. Gein, O. V. Bobrovskaya, E. A. Mashkina [et al.] // Journal of General Chemistry. – 2020. – T. 90, No. 5. – S. 723–729. – DOI: 10.31857/S0044460X20050108. (In Russ.).
22. Antifungal activity of new derivatives of 4-(het)aryl-2,4-dioxobutanoic acids / V. V. Novikova, N. A. Pulina, F. V. Sobin, K. V. Lipatnikov // Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. – 2020. – T. 18, No. 3. – S. 225–228. – DOI: 10.17816/RCF183225–228. (In Russ.).
23. Novikova V. V. Studying the antifungal activity of a new bromo derivative of 4,5-dihydrofuran-3-carboxylic acid on a biofilm model / V. V. Novikova, D. V. Ivanov, N. M. Igidov // Experimental and Clinical Pharmacology. – 2023. – T. 86, No. 2. – S. 14–17. – DOI 10.30906/0869-2092-2023-86-2-14-17. (In Russ.).
24. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines / Scientific Center for Expertise of Medicinal Products of the Ministry of Health and Social Development of Russia. Volume Part 1. – Moscow: Grif and K, 2012. – 944 p. – ISBN 978-5-8125-1466-3. (In Russ.).
25. EUCAST Definitive Document EDef 7.3.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_E_Def_7.3.2_Yeast_testing_definitive_revised_2020.pdf.
26. Opređenje čuvstvitel’nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam. Klinicheskie rekomendacii, 2021, 225 s. Rezhim dostupa: <http://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>. (In Russ.).
27. Novikova V.V., Yakimova E.V., Gorbushina A.D. Investigation of new products of organic synthesis for antifungal activity against yeast fungi: substantiation of the choice of test conditions. Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2022. – No. 3. – P. 105–112. (In Russ.).
28. Metodicheskie rekomendacii po izucheniju obshhetoksicheskogo dejstvija farmakologicheskikh sredstv: utverzhdeny 25.12.1997. // Vestnik farmakopejnogo komiteta. – 1998. – № 1. – S. 27–32. (In Russ.).
29. Izmerov, N. F. Parametry toksikometrii promyshlennyh jadov pri odnokratnom vozdejstvii (spravochnik) / N. F. Izmerov, I. V. Sanockij, K. K. Sidorov. – Moskva: Medicina, 1977. – S. 196–197. (In Russ.).
30. GOST 32419–2013. Klassifikacija opasnosti himicheskoi produkcii. Obshhie trebovanija: nacional’nyj standart Rossijskoj Federacii: izdanie oficial’noe: utverzhdeny i vvedeny v dejstvie Prikazom Federal’nogo agentstva po tehničeskoi regulirovaniju i metrologii ot 22 nojabnja 2013 g. № 833-st: vveden v pervye: data vvedenija 2014–08–01 / razrabotan FGUP “VNICSMV”. – Moskva: Standartinform, 2014. – 25 c. (In Russ.).
31. IOI A. C. Soglasovannaja na global’nom urovne sistema klassifikacij opasnosti i markirovki himicheskoj produkcii (SGS). – Izd. 6-oe, peresmotr. – N’ju-Jork, Zheneva: Organizacija ob#edinennyh nacij, 2015. – ST/SG 30/Rev. 6.
32. National Library of Medicine. ChemIDplus. Bethesda, 1994.: sajt. – URL: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/name/fluconazole>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Valentina V. Novikova – Doctor of Pharmacy, Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, vvnperm@yandex.ru

Vladimir L. Gein – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Department of General and Organic Chemistry of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, geinvl48@mail.ru

Olga V. Bobrovskaya – Doctor of Pharmacy, Associate Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, bobban@mail.ru

Natalia A. Pulina – Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Technology of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, pulina.natalya@pfa.ru

Nazim M. Igidov – Doctor of Pharmacy, Professor of the Department of General and Organic Chemistry of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, igidov_nazim@mail.ru

Irina P. Rudakova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Physiology of the Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia, rudakova@pfa.ru

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted April 23, 2023; approved after reviewing May 11, 2023;
accepted for publication May 27, 2023.