



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-3-150-155>
УДК 579.61:615.038

Изучение противогрибковой активности новых производных пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в модели биопленки грибов *Candida spp.*

В.В. Новикова, О.В. Бобровская, В.Л. Гейн

Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПГФА Минздрава России),
614990, Российская Федерация, Пермь, ул. Полевая, 2

Аннотация

Поиск новых антифунгальных препаратов сохраняет актуальность в связи с широким распространением грибковых инфекций. Для моделирования антифунгального эффекта новых перспективных соединений, проявивших высокую противогрибковую активность (ПГА) в планктонной культуре в условиях, приближенных к реальной клинической практике, необходимо дополнительно изучить их влияние на биопленку микромицетов.

Цель: оценить ПГА новых перспективных представителей серебряных солей пиразолов и их конденсированных систем в условиях биопленкообразования.

Материал и методы. Для изучения ПГА серебряных солей I и II использовали микрометод двукратных серийных разведений. Исследовали активность в отношении типового и 14 клинических высоковирулентных изолятов *C. albicans*. Изучение антимикотической активности веществ в условиях биопленки осуществляли с использованием резазурина для количественной оценки степени биопленкообразования. Рассчитывали минимальные ингибирующие концентрации для биопленок ($sMIC_{50}$ – концентрации противогрибкового вещества, при которых наблюдается уменьшение флуоресценции на 50% по сравнению с положительным контролем).

Результаты и обсуждение. Показано, что антифунгальное действие изучаемых соединений в пленочной культуре клинических штаммов *Candida spp.* существенно ниже, чем в планктонной культуре. Выявлена высокая антифунгальная активность серебряной соли пиразол-3-карбоксамида в планктонной и пленочной культуре резистентных штаммов *Candida albicans*, превышающая эффект препарата сравнения флуконазола в 2,8–11,2 раза.

Заключение. Выявлено перспективное производное пиразол-3-карбоксамида, эффективно подавляющее рост биопленок *Candida albicans*, которое можно рекомендовать для дальнейшего изучения.

Ключевые слова:	противогрибковая активность; биопленка; <i>Candida albicans</i> ; пирроло[3,4-с]пиразол-3-оны; пиразол-3-карбоксамиды; серебряные соли.
Финансирование:	работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО ПГФА, тема № 720000Ф.99.1.БН62АБ05000, 2024 г.
Для цитирования:	Новикова В.В., Бобровская О.В., Гейн В.Л. Изучение противогрибковой активности новых производных пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в модели биопленки грибов <i>Candida spp.</i> <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2024;39(3):150–155. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-3-150-155 .

Antifungal activity's study of the of new derivatives of pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides in the biofilm model of *Candida* spp.

Valentina V. Novikova, Olga V. Bobrovskaya, Vladimir L. Gein

Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation,
2, Polevaya str., Perm, 614990, Russian Federation

Abstract

The search for new antifungal drugs is current interest due to the wide spread of fungal infections. To simulate the antifungal effect of new promising compounds with high antifungal activity in planktonic culture in clinical practice, it is necessary to study their effect on the biofilm of micromycetes.

Aim: To study the antifungal activity of new promising representatives of silver salts of pyrazoles and their condensed systems under conditions of biofilm formation.

Material and Methods. To study the antifungal activity of silver salts I and II, the micromethod of two-fold serial dilutions was used. Activity against a typical and 14 clinical highly virulent isolates of *C. albicans* was studied. The study of the antimycotic activity of substances under biofilm conditions was carried out using resazurin to quantify the degree of biofilm formation. The minimum inhibitory concentrations for biofilms were calculated (sMIC₅₀ - the concentration of the antifungal substance at which a 50% decrease in fluorescence is observed compared to the positive control).

Results and Discussion. It was shown that the antifungal effect of the studied compounds in biofilm culture of clinical strains of *Candida* spp. is significantly lower than in planktonic culture. High antifungal activity of the silver salt of pyrazole-3-carboxamide in planktonic and biofilm cultures of resistant strains of *Candida albicans*, exceeding the effect of the reference drug fluconazole by 2.8–11.2 times, was revealed.

Conclusion. A promising pyrazole-3-carboxamide derivative has been identified that effectively inhibits the growth of *Candida albicans* biofilms, which can be recommended for further study.

Keywords:	antifungal activity; biofilm; <i>Candida albicans</i> ; pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones; pyrazole-3-carboxamides; silver salts.
Funding:	the results of the work were obtained with the financial support of the state task FGBOU VO PSFA (subject No. 720000F.99.1.BN62AB05000).
For citation:	Novikova V.V., Bobrovskaya O.V., Gein V.L. Antifungal activity's study of the of new derivatives of pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides in the biofilm model of <i>Candida</i> spp. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2024;39(3):150–155. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-3-150-155

Введение

Грибковые инфекции, включающие поверхностные и инвазивные микозы, представляют серьезную проблему для здравоохранения [1–4]. Смертность от тяжелых грибковых инфекций во всем мире составляет 1,35–1,5 млн больных в год, что сопоставимо со смертностью от туберкулеза и малярии [1, 5]. Поверхностные микозы не представляют непосредственной угрозы жизни пациента, однако являются наиболее распространенными, поражая до 1 млрд человек и существенно снижая качество жизни [5].

Резистентность к противогрибковым препаратам является растущей проблемой во всем мире, включая как формирование устойчивых штаммов ранее чувствительных патогенов на фоне применения антифунгальных препаратов [6–8], так и появление новых видов, устойчивых ко многим противогрибковым препаратам (например, дрожжи *Candida auris*) [4, 5, 9–11]. Обширный спектр возбудителей, включающих дрожжевых и нитчатых микомикетов, обладающих разной степенью вирулентности, требует разработки новых эффективных препаратов для лечения данной патологии.

Исторически сложилось так, что при лечении преимущественно использовались только четыре класса проти-

вогрибковых препаратов системного действия: полиены, азолы, эхинокандины и аналог пиримидина 5-флуцитозина. Поэтому одним из ведущих направлений поиска антифунгальных средств является выявление данной активности у принципиально новых классов химических соединений [12–14].

Полученные ранее данные о высокой противогрибковой активности (ПГА) представителей серебряных солей пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов [12] в планктонной культуре позволили выделить наиболее перспективные малотоксичные соединения из каждого ряда. Однако ПГА веществ в биопленке, которая зачастую имеет место при микотическом поражении органов и колонизации медицинских устройств (катетеры, протезы и т. д.), существенно отличается от показателей, полученных в планктонной культуре. В настоящее время для определения чувствительности к препаратам с антимикотическим действием используются две группы методик, применяемые в клинической практике: методы CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) и методы EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Обе эти группы касаются использования планктонной культуры. Таким образом, для моделирования антифунгального эффекта нового соединения в ус-

ловиях, приближенных к реальной клинической практике, необходимо дополнительно изучить его влияние на биопленку микроцета.

Описаны прямые и косвенные методы количественной оценки биопленкообразования. Прямые методы подразумевают использование различных способов микроскопии (световой, электронной, сканирующей электронной и др.), изучающих количество и состояние клеток в биопленке. При косвенной оценке количественных показателей пленкообразования могут быть применены красители, которые фиксируются адгезированными клетками биопленки [13, 14]: резазурин [15, 16], кристаллический фиолетовый [15], соли тетразолия (ХТТ) [15] и др. Одним из доступных и низкотоксичных красителей является резазурин (аламаровый синий). Его важной особенностью является способность восстанавливаться метаболически активными (живыми) клетками в розовый флуоресцирующий резорурфин. При этом процессы редукции коррелируют с количеством живых клеток [16], что, безусловно, значимо при оценке противомикробного действия вещества.

Цель исследования: оценка ПГА новых серебряных солей пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в условиях биопленкообразования.

Материал и методы

Серебряные соли 4-[4-(ацетилсульфамоил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она (I) и N-{4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамоил]фенил}-1-фенил-5-(4-этоксифенил)пиразол-3-карбоксамид (II) 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 тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol UV-254 в системе хлороформ-метанол (80 : 15), проявитель – ультрафиолетовое (УФ) облучение. Структура синтезированных соединений подтверждена данными спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) ¹H, инфракрасной (ИК) и масс-спектрометрии [12, 13].

Для изучения ПГА серебряных солей I и II применяли микрометод двукратных серийных разведений [17]. В исследовании использовали типовой (*Candida albicans* NCTC 885-653) и 14 клинических высоковирулентных изолятов *C. albicans*, полученных из различного клинического материала, имеющих высокую способность к формированию биопленки и устойчивость к 2 и более антимикотикам.

Для приготовления микробной взвеси использовали суточные культуры грибов. Концентрация дрожжевых клеток

в опыте составила около $2-5 \times 10^5$ КОЕ/мл. Положительным контролем служила питательная среда с внесенной исследуемой культурой, отрицательным контролем – питательная среда без культуры. Посевы инкубировали в термостате в течение 22–24 ч при температуре 35 ± 1 °C. Оценку роста проводили визуально. За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) принимали наименьшую концентрацию соединения, при которой отсутствует видимый рост тест-штамма. Исследования осуществляли в двух повторях, результаты приводили в виде среднего арифметического полученных МПК. Вещества, имеющие МПК в диапазоне 125–1000 мкг/мл, оценивали как обладающие низкой ПГА, 15,6–62,5 мкг/мл – средней ПГА. Перспективными для дальнейшего изучения считали вещества с высокой ПГА (МПК 7,8 мкг/мл и менее) [12].

Для изучения антимикотической активности новых соединений в условиях биопленки подбирали оптимальные условия для ее создания с использованием резазурина для количественной оценки степени биопленкообразования: концентрация дрожжевых клеток около 5×10^5 КОЕ/мл, выдержка с 0,5% раствором резазурина в течение 6 ч при температуре 35 ± 1 °C. Степень флуоресценции резорурфина измеряли с помощью микропланшетного ридера (DTX 880, «Beckman Coulter»), возбуждение – при 535 нм, поглощение – 595 нм [13].

Для оценки антифунгальной активности нового соединения в модели биопленки использовали принцип двукратных серийных разведений. Положительный контроль – лунки с 100 мкл среды Сабуро и биопленкой, не подвергшейся воздействию противогрибкового агента. Посевы помещали в термостат на 24 ч при температуре 35 ± 1 °C. Рассчитывали минимальные ингибирующие концентрации для биопленок (sessile minimum inhibitory concentration, sMIC₅₀ – концентрации противогрибкового вещества, при которых наблюдается уменьшение флуоресценции на 50% по сравнению с положительным контролем) [13]. Исследование проводили в двух повторях.

В качестве препарата сравнения использовали субстанцию флуконазола (АО «Медисорб», партия № 260519) как одного из наиболее часто применяемых лекарственных средств для терапии грибковых заболеваний.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010, StatGraphics Plus 5.0.

Результаты и обсуждение

Полученные соединения I, II представлены на рисунке 1.

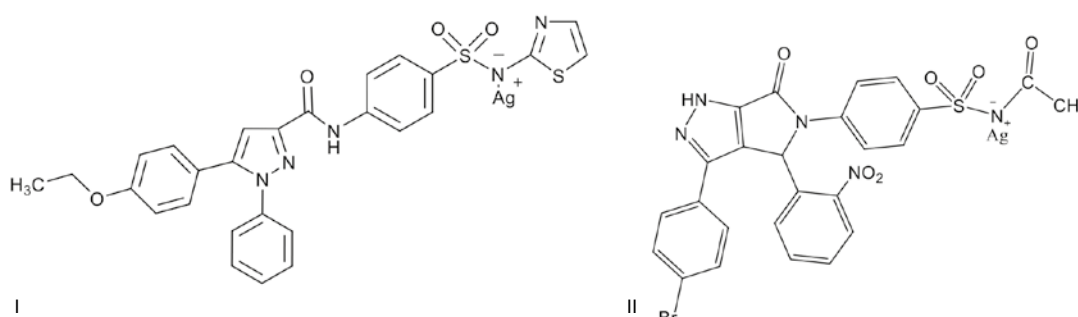


Рис. 1. I – серебряная соль пиразол-3-карбоксамид, II – серебряная соль пирроло[3,4-с]пиразол-3-она
Fig. 1. I – pyrazole-3-carboxamide silver salt, II – silver salt of pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-one

Установлено, что соединения I, II проявляют высокую антифунгальную активность по отношению к представителям рода *Candida* в планктонной культуре. В ряде случаев ПГА значительно превышает активность препаратов сравнения ($p < 0,05$). Результаты представлены в таблице 1.

Результаты, полученные при определении ПГА изученных соединений с использованием подобранной методики биопленкообразования, представлены в таблице

2. Установлено наличие значительно более низкой ПГА исследуемых соединений в биопленке, чем в планктонной культуре. Подавление роста 50% микроорганизмов, находящихся в биопленке ($sMIC_{50}$) исследуемым соединением I сопоставимо с действием препарата сравнения или превышает его при воздействии на штаммы 1, 2, 4, 5; соединением II – на штаммы 8, 10. При этом среднее значение $sMIC_{50}$ соединения I превышает аналогичный показатель флуконазола в 11,2 раза.

Таблица 1. Противогрибковая активность изучаемых соединений в отношении *Candida* spp. в планктонной культуре

Table 1. Antifungal activity of the studied compounds against *Candida* spp. in planktonic culture

Соединение / штамм	I	Флуконазол	Соединение / штамм	II	Флуконазол
			MIC, мкг/мл		
<i>C. albicans</i> NCTC 885-653	4,2	2,9	–	7,8	–
<i>C. albicans</i> -1	3,9	0,5	<i>C. albicans</i> -8	1	7,8
<i>C. albicans</i> -2	0,5*	31,2	<i>C. albicans</i> -9	125	250
<i>C. albicans</i> -3	31,2*	125,0	<i>C. albicans</i> -10	3,9	31,2
<i>C. albicans</i> -4	39,0	62,5	<i>C. albicans</i> -11	1	15,6
<i>C. albicans</i> -5	19,4	31,2	<i>C. albicans</i> -12	1	31,2
<i>C. albicans</i> -6	15,6	31,2	<i>C. albicans</i> -13	1	15,6
<i>C. albicans</i> -7	0,2*	21,8	<i>C. albicans</i> -14	15,6	62,5
Среднее значение в отношении клинических штаммов	15,7	43,3	Среднее значение	21,2	59,1

Примечание: I – серебряная соль N-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]-1-фенил-5-(4-этоксифенил)пирозол-3-карбоксамид, II – серебряная соль 4-[4-(ацетилсульфамойл)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пирозол-3-она, * – превышение противогрибкового эффекта флуконазола статистически значимо ($p \leq 0,05$).

Таблица 2. Результаты определения противогрибковой активности в биопленке

Table 2 Results of determination of antifungal activity in biofilm

Соединение / штамм	I	Флуконазол	Соединение / штамм	II	Флуконазол
			$sMIC_{50}$, мкг/мл		
<i>C. albicans</i> -1	3,9	15,6	<i>C. albicans</i> -8	250	250
<i>C. albicans</i> -2	3,9*	500,0	<i>C. albicans</i> -9	1000	500
<i>C. albicans</i> -3	31,2	15,6	<i>C. albicans</i> -10	250	500
<i>C. albicans</i> -4	1,0*	250,0	<i>C. albicans</i> -11	500	250
<i>C. albicans</i> -5	7,8*	125,0	<i>C. albicans</i> -12	> 1000	500
<i>C. albicans</i> -6	31,2	15,6	<i>C. albicans</i> -13	500	125
<i>C. albicans</i> -7	3,9	2,0	<i>C. albicans</i> -14	1000	250
Среднее значение	11,8	131,9	Среднее значение	642,8	339,3

Примечание: I – серебряная соль N-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]-1-фенил-5-(4-этоксифенил)пирозол-3-карбоксамид, II – серебряная соль 4-[4-(ацетилсульфамойл)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пирозол-3-она, * – превышение противогрибкового эффекта флуконазола статистически значимо ($p \leq 0,05$).

В настоящее время все большее число микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания человека и животных, приобретают устойчивость к имеющимся противомикробным препаратам. Возникшая резистентность имеет способность передаваться следующим поколениям микробов. Противомикробная активность серебросодержащих препаратов обусловлена взаимодействием ионов серебра с тиольными группами ферментов и белков, образованием активных форм кислорода, повреждающих клеточные стенки микроорганизмов, а также со связыванием с нуклеиновыми кислотами [18]. Многообразие механизмов действия обеспечивает редкость формирования устойчивых форм микробов к подобному рода препаратам.

Особую проблему представляют биопленочные сообщества микроорганизмов, имеющие более высокий потенциал устойчивости к противомикробным средствам.

Основную массу биопленки представляют матричные биополимеры, секретируемые микробами либо являющиеся дериватами погибших микробных клеток. В грибковых биопленках матрикс представлен главным образом β -1,3-глюканами с высоким содержанием D-глюкозы, α -D-маннозы, α -L-рамнозы и N-ацетилглюкозамина [19]. Подавление биопленкообразования исследуемыми соединениями можно связать с наличием ионов серебра, оказывающими антиадгезивное действие, что активно применяется в производстве серебросодержащих покрытий, используемых в медицине и пищевой промышленности. С другой стороны, угнетение образования биопленок микромицетов может быть связано с гетероциклической частью молекулы, проявившей наиболее выраженную активность, в частности с амидной группой. Так, в работе [20] показано наличие ПГА производных пирозолкарбоксамидов, предполагаемо связанной с ингибированием

фермента сукцинатдегидрогеназы, участвующем в энергетическом метаболизме грибов. Данный эффект приводит к снижению активности процессов жизнедеятельности, в том числе к образованию матрикса биопленок.

Таким образом, показана важность тестирования новых соединений, проявляющих высокий антифунгальный эффект в планктонной культуре, в условиях биопленки, моделируя грибковую инфекцию в клинических условиях.

Закключение

Установлена высокая антифунгальная активность новых перспективных представителей серебряных солей пирроло[3,4-с]пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов в отношении резистентных изолятов *Candida albicans* в планктонной культуре. Выявлено соединение-лидер, которое можно рекомендовать для дальнейших исследований – серебряная соль N-{4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил}-1-фенил-5-(4-этоксифенил)пиразол-3-карбоксамид. Оно проявляет выраженный противогрибковый эффект в отношении планктонных и пленочных культур штаммов *Candida albicans* (pMIC 0,2–39,0 мкг/мл, sMIC₅₀ 1,0–31,2), превышающий эффект препарата сравнения флуконазола в 2,8–11,2 раза.

Литература / References

- Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., Shadrivova O., Borzova Y., Burygina E. et al. The burden of serious fungal diseases in Russia. *Mycoses*. 2015;58:58–62. DOI: 10.1111/myc.12388.
- Denning D.W., Kneale M., Sobel J.D., Rautemaa-Richardson R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *The Lancet infectious diseases*. 2018;18(11):339–347. DOI:10.1016/S1473-3099(18)30103-8.
- Кубанов А.А., Богданова Е.В. Итоги деятельности медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь по профилю дерматовенерология, в 2020 году: работа в условиях пандемии. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2021;97(4):8–32. Kubanov A.A., Bogdanova E.V. Dermatovenereology of Russian Federation in 2020: Working Under a Pandemic. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2021;97(4):8–32. (In Russ.). DOI: 10.25208/vdv1261.
- Fisher M.C., Alastruey-Izquierdo A., Berman J., Bicanic T., Bignell E.M., Bowyer P. et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2022;20(9):557–571. DOI: 10.1038/s41579-022-00720-1.
- Fisher M.C., Gurr S.J., Cuomo C.A., Bleher D.S., Jin H., Stukenbrock E.H. et al. Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture. *ASM Journals. mBio*. 2020;11(3):e00449-20. DOI: 10.1128/mBio.00449-20.
- Беженар М.Б., Плахова К.И. Механизмы развития резистентности к противогрибковым препаратам грибов рода *Candida* при рецидивирующем течении урогенитального кандидоза. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2020;38(1):15–23. DOI: 10.17116/molgen2020380115. Bezhenar M.B., Plakhova K.I. Mechanisms of development of resistance to antifungal drugs of fungi of the genus *Candida* during recurrent course of urogenital candidiasis. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2020;38(1):15–23. (In Russ.) DOI: 10.17116/molgen2020380115.
- Gupta A.K., Venkataraman M. Antifungal resistance in superficial mycoses. *J. Dermatolog. Treat.* 2022;33(4):1888–1895. DOI: 10.1080/09546634.2021.1942421.
- Khurana A., Sardana K., Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genet. Biol.* 2019;132:103255. DOI: 10.1016/j.fgb.2019.103255.
- Chakrabarti A., Singh S. Multidrug-resistant *Candida auris*: an epidemiological review. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2020;18(6):551–562. DOI: 10.1080/14787210.2020.1750368.
- Du H., Bing J., Hu T., Ennis C. L., Nobile C.J., Huang G. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. *PLoS Pathog.* 2020;16(10):e1008921. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008921.
- Sanyaolu A., Okorie C., Marinkovic A., Abbasi A.F., Prakash S., Mangat J. *Candida auris*: an overview of the emerging drug-resistant fungal infection. *Infect. Chemother.* 2022;54(2):236. DOI: 10.3947/ic.2022.0008.
- Новикова В.В., Бобровская О.В., Гейн В.Л. Противогрибковая активность серебряных солей пирроло [3, 4-с] пиразол-3-онов и пиразол-3-карбоксамидов, содержащих сульфамидную группу. *Химико-фармацевтический журнал*. 2023;57(8):41–45. Novikova V.V., Bobrovskaya O.V., Gein V.L. Antifungal activity of silver salts of pyrrolo[3, 4-c]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides containing a sulfamide group. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57(8):41–45. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2023-57-8-41-45.
- Новикова В.В., Иванов Д.В., Игидов Н.М. Изучение противогрибковой активности нового бромпроизводного 4, 5-дигидрофуран-3-карбоновой кислоты на модели биопленки. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(2):14–17. Novikova V.V., Ivanov D.V., Igidov N.M. Study of the antifungal activity of a new bromo derivative of 4, 5-dihydrofuran-3-carboxylic acid in a biofilm model. *Experimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2023;86(2):14–17. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-2-14-17.
- Hoening M., Sprute R., Egger M., Arastehfar A., Cornely O.A., Krause R. et al. The antifungal pipeline: fosmanogepix, ibrexafungerp, olorofim, opelconazole, and rezafungin. *Drugs*. 2021;81:1703–1729. DOI: 10.1007/s40265-021-01611-0.
- Azeredo J., Azevedo N.F., Briandet R., Cerca N., Coenye T., Costa A.R. et al. Critical review on biofilm methods. *Crit. Rev. Microbiol.* 2017;43(3):313–351. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1208146.
- Van Den Driessche F., Rigole P., Brackman G., Coenye T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms. *J. Microbiol. Meth.* 2014;8(3):31–34. DOI:10.1016/j.mimet.2013.12.011.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных (под ред. Миронова А.Н.) Часть первая. М.: Гриф и К; 2012:944. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products (ed. by Mironov A.N.) Part one. Moscow: Grif and K; 2012:944. (In Russ.).
- Гордина Е.М., Божкова С.А. Бактериальные биопленки в ортопедии: проблема и возможные перспективы профилактики. *РМЖ*. 2021;29(8):29–32. Gordina E. M., Bozhkova S. A. Bacterial biofilms in orthopedics: problem and possible prospects for prevention. *RMJ*. 2021;29(8):29–32. (In Russ.).
- Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Маянский Н.А. Матрикс микробных биопленок. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2016;18(1): 9–19. Chebotar I.V., Mayansky A.N., Mayansky N.A. Matrix of microbial biofilms. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. 2016;18(1):9–19. (In Russ.).
- Sun J., Zhou Y. Synthesis and antifungal activity of the derivatives of novel pyrazole carboxamide and isoxazolol pyrazole carboxylate. *Molecules*. 2015;20(3):4383–4394. DOI: 10.3390/molecules20034383.

Информация о вкладе авторов

Новикова В.В. – обоснование актуальности работы, проведение микробиологических исследований.

Бобровская О.В. – получение субстанций новых соединений групп пирроло[3,4-с]пиразол-3-оны, пиразол-3-карбоксамидов.

Гейн В.Л. – осуществление организационных работ, руководство синтезом субстанций, подготовка текста статьи.

Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

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

Information on author contributions

Novikova V.V. – substantiation of the relevance of the work, conducting microbiological studies.

Bobrovskaya O.V. – obtaining substances of new compounds of the groups pyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-ones, pyrazole-3-carboxamides.

Gein V.L. – implementation of organizational work, management of the synthesis of substances, preparation of the text of the article.

All authors participated in the discussion of the results.

Conflict of interests: the authors declare no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Сведения об авторах

Новикова Валентина Васильевна, д-р фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, ПГФА Минздрава России, Пермь, <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>.

E-mail: vnperm@yandex.ru.

Бобровская Ольга Васильевна, д-р фарм. наук, профессор, кафедра фармацевтической химии, ПГФА Минздрава России, Пермь, <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>.

E-mail: bobban@mail.ru.

Гейн Владимир Леонидович, д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой общей и органической химии, ПГФА Минздрава России, Пермь, <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>.

E-mail: geinvl48@mail.ru.



Новикова Валентина Васильевна, e-mail: vnperm@yandex.ru.

Поступила 11.12.2023;
рецензия получена 06.03.2024;
принята к публикации 18.04.2024.

Information about the authors

Valentina V. Novikova, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>.

E-mail: vnperm@yandex.ru.

Olga V. Bobrovskaya, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>.

E-mail: bobban@mail.ru.

Vladimir L. Gein, Dr. Sci. (Chem.), Head of the Department of General and Organic Chemistry, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>.

E-mail: geinvl48@mail.ru.



Valentina V. Novikova, e-mail: vnperm@yandex.ru.

Received 11.12.2023;
review received 06.03.2024;
accepted for publication 18.04.2024.