

DOI: 10.21802/artm.2024.2.30.86
УДК 547.75 + 615.282**ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ 1-(4-R-ФЕНІЛ)-3-((1H-[1,2,4]-ТРІАЗОЛ-5-ІЛ)ТІО)ПІРОЛІДИН-2,5-ДІОНІВ ЩОДО ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ОПОРТУНІСТИЧНИХ МІКОЗІВ**

В.В. Процюк

Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології, м. Івано-Франківськ, Україна
ORCID: 0000-0001-6909-6993, e-mail: vzasidko@ifnmu.edu.ua

Резюме. У всьому світі, та й в Україні зокрема, спостерігаємо неухильне зростання мікозів. Це пов'язано з негативною дією низки факторів сучасної цивілізації на організм людини: збільшення використання антибіотиків широкого спектру дії, імуносупресивної терапії та зростання кількості хронічних захворювань, таких як діабет і ожиріння. Серед найпоширеніших збудників мікозів одне з очільних місць займають умовно-патогенні дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Вони (гриби) є частиною нормальної флори людського організму, але можуть викликати інфекції, коли імунна система скомпрометована або порушено природний баланс мікроорганізмів.

Мета. Вивчити протигрибкову активність 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідін-2,5-діонів щодо основних збудників опортуністичних мікозів і встановити їхні ефективні антифунгальні концентрації.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були збудники опортуністичних мікозів, а саме: гриби роду *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* і *Cryptococcus*. Первинний скринінг протигрибкової активності проводили методом дифузії в агар, більш детальне вивчення ступеня впливу речовин на мікроскопічні гриби у вигляді визначення МІК проводили мікрометодом серійних розведень. Результати аналізували шляхом побудови теплокарт.

Результати дослідження. Встановлено, що 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідін-2,5-діони містять виражену протигрибкову активність щодо всіх досліджуваних об'єктів. Для азолочутливих ізолятів грибів роду *Candida* діапазон значення МІК становив 1,56 – 6,25 мкг/мл, для азолорезистентних – 6,25 – 50 мкг/мл, для штамів грибів роду *Aspergillus* – 6,25 – 50 мкг/мл та 25 – 50 мкг/мл для роду *Cryptococcus*.

Висновок. Досліджувані синтетичні сполуки – похідні 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідін-2,5-діону – проявляють значну протигрибкову активність стосовно умовно-патогенних дріжджоподібних і міцеліальних грибів із переважною фунгіцидною дією. Найвищу антифунгальну активність проявила сполука із замісником хлор (Cl) у положенні 4 фенільного радикалу, а найнижчу – сполука без замісника (гідроген (H) у положенні 4). Протигрибкова активність сполук L 1369 (1-(4-хлорфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідін-2,5-діон) і L 95 (1-(4-бромфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідін-2,5-діон) поширюється на стійкі до флуконазолу клінічні штами *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans* і *Aspergillus spp.*

Ключові слова: гетероциклічні сполуки, протигрибкова активність, *Candida spp.*, 1,2,4-тріазол-3(5)-тіол, піролідін-2,5-діон, збудники опортуністичних мікозів, протигрибкові препарати, антифунгальна резистентність, кандидоз.

Вступ. Актуальною проблемою сучасної медицини продовжує залишатися динамічне зростання частоти грибкових захворювань, зокрема опортуністичних мікозів. За даними ВООЗ, кожний четвертий житель планети Земля страждає від грибкових захворювань. Відзначається значне зростання частки інвазивних уражень у порівнянні з поверхневими проявами, а це передовсім призводить до підвищення показника смертності від різноманітних грибкових інфекцій. До прикладу, клінічні прояви інвазивного кандидозу та кандидемії призводять до летальних наслідків у близько 50% випадків. У зв'язку з цим восени 2022 року ВООЗ запровадила перший в історії список грибкових патогенів, які сформовані в пріоритетний каталог [1]. Найнебезпечніші збудники віднесено до «критичної» групи. З-поміж яких – *Cryptococcus neoformans* (*Filobasidiella neoformans*), *Candida albicans* і *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus*. Поряд із цим *Candida glabrata* (*Nakaseomyces glabrata*), *Candida tropicalis* та *Candida parapsilosis* разом із грибами родів *Histoplasma spp.* і *Fusarium spp.* входять до складу групи «високого пріоритету».

Беззаперечним лідером серед збудників опортуністичних мікозів постає *Candida albicans* і низка споріднених видів, які часто об'єднуються загальною назвою *Candida non-albicans* [2, 3, 4]. Серед них і *Candida auris* – новий вид грибів роду *Candida*, що становить потенційну загрозу як збудник нозокоміальних інфекцій і є на сьогодні мало вивченим. Особливістю кандид є те, що вони належать до представників умовно-патогенної мікрофлори людського організму, які перебувають у складі мікробіомів шкіри, слизових оболонок ротової порожнини, кишечника та зовнішніх статевих органів кожної людини. Проте їх неконтрольоване розмноження призводить до розвитку кандидозу (передусім ротової порожнини або зовнішніх статевих шляхів) чи інших клінічних проявів вказаної інфекції. Підвищену увагу до цієї проблеми спостерігаємо з боку фахівців практично всіх спеціальностей, особливо у випадках коморбідних імунодефіцитних станів.

Cryptococcus neoformans (*Filobasidiella neoformans*) – інкапсульований дріжджоподібний грибок, який спричинює тяжке й потенційно летальне

захворювання, асоційоване з серйозними імунodefіцитами, зокрема ВІЛ-інфекцію, що переважно знаходить вияв у вигляді ураження ЦНС [5]. Досить часто він проявляє мультирезистентність до протигрибкових препаратів і може спричинювати серйозні спалахи захворювання в медичних закладах.

Aspergillus fumigatus є представником цвілевих грибів, який найчастіше уражає ЛОР-органи (приносіві пазухи, зовнішній слуховий прохід і середнє вуха), а також бронхолегеневу систему, спричинюючи симптоми, схожі на пневмонію. Кількість випадків мультирезистентного аспергільозу значно збільшилась упродовж останнього десятиліття, особливо серед пацієнтів групи ризику [6].

Ситуація з опортуністичними мікозами ускладнюється також завдяки збільшенню випадків інфікування мультирезистентними штамми, які не піддаються традиційному лікуванню [7]. Зазвичай лікування грибкових інфекцій розпочинають із застосування найпоширенішого класу протигрибкових препаратів – азолів, проте збудники дуже швидко адаптуються до них і розвивають стійкість [8]. Для боротьби з цією проблемою залучено дуже багато науковців та лікарів. Основними напрямками боротьби з клінічною резистентністю постають раціональне застосування антимікотиків і пошук нових сполук із протигрибковими властивостями, до котрих штамми грибів ще не розвинули стійкість.

Обґрунтування. Увагу дослідників привертають синтетичні гетероциклічні сполуки, зокрема похідні тіазолу, тіазолідину та тріазолу, що володіють значною біологічною активністю на тлі низької токсичності [9]. Зокрема, публікації в науковій літературі свідчать: 1,2,4-тріазол-3(5)-тіол і його похідні мають досить широкий спектр дії [10]. Вони проявляють антиоксидантні [11], гіполіпідемічні [12], нейропротекторні [13], анагетичні [14], протипухлинні [15] та протимікробні властивості [16]. Тож спільно з колегами було проведено синтез та первинне дослідження протимікробних і протигрибкових властивостей похідних 3-(1H-[1,2,4]тріазол-3(5)-тіолу [17]. На основі цих відомостей 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]тріазол-5-іл)тіол)піролідін-2,5-діони привернули нашу увагу своєю потенційно високою протигрибковою активністю, тому вказане дослідження спрямоване на отримання детальнішої інформації щодо їхньої дії на найпоширеніших збудників опортуністичних мікозів.

Мета дослідження. Визначити спектр протигрибкової активності 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]тріазол-5-іл)тіол)піролідін-2,5-діонів відносно збудників опортуністичних мікозів і встановити їхні ефективні антифунгальні концентрації.

Матеріали та методи. Загальна інформація. Досліджувані сполуки отримані в результаті хімічної взаємодії 1,2,4-тріазол-3(5)-тіолу з N-арилмалеїмідами (похідними 1-феніл-1H-пірол-2,5-діону) на кафедрі фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького під керівництвом проф. Лесика Р. Б. [17]. Для тестування антифунгальної активності сполуки розчиняли у суміші DMSO:C₂H₅OH:H₂O 1:2:1 (концентрація 1000 мкг/мл).

Дослідження протигрибкових властивостей. Для визначення спектру протигрибкової активності

використано колекційні та клінічні штамми *Candida spp.*, а саме колекційний штам *Candida albicans* (ATCC MYA-2876 / SC5314) та *Candida glabrata* (ATCC 2001 / CBS138), клінічні штамми *Candida albicans* (флюконазол-чутливий – FLUC-S і флюконазол-резистентний – FLUC-R штамми), *Candida tropicalis* (FLUC-R штам), *Candida glabrata* (FLUC-R й ехінокандин-резистентний ECHO-R штам), *Candida auris* (FLUC-R та ECHO-R штам), *Candida krusei* (FLUC-R штам), *Candida lusitanae* (FLUC-R штамми), *Candida kefyr* (FLUC-S штам), *Candida haemulonii* (FLUC-S штам), *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* і *Cryptococcus neoformans* (FLUC-R штамми). Первинну ідентифікацію штамів виконано за допомогою біохімічної тест-системи VITEK 2 YST ID (bioMerieux, Франція). Генетичні видові характеристики ізолятів підтверджено за допомогою ПЛР-діагностики (Q5 High-Fidelity PCR Kit, New England Biolabs, Inc., США), «прямий» праймер ITS 1379 (forward primer – ITS1-F_KYO2), «зворотній» праймер ITS 1381 (reverse primer – ITS1-KYO2). Дослідження антифунгальних властивостей сполук виконано методами дифузії в агар і серійних розведень [18,19].

Метод дифузії в агар. У горизонтально розташовані чашки Петрі заливали по 30 мл агару Сабуро, в якому робили лунки діаметром $d = 4,0 \pm 0,1$ мм, у загальній кількості не більше 7 на діаметр чашки. Після цього виконували посів тест-культури грибів у концентрації 1×10^7 КУО/мл. У лунки вносили по 20 мкл розчинів досліджуваних сполук (1000 мкг/мл), а в контрольну лунку – 20 мкл розчинника (DMSO:C₂H₅OH:H₂O у співвідношенні 1:2:1). Препаратами контролю в цьому дослідженні вибрано відомі антисептики 0,05% розчин хлоргексидину («Хлоргексидин», Vishpha, Україна) і 0,2% розчин декаметоксину («Декасан», 2 мг/мл, Юрія-Фарм, Україна). Засіяні чашки інкубували в статичному термостаті при температурі 37°C упродовж 24 годин. Цифрові зображення посівів опрацьовували за допомогою програми UTHSCSA ImageTools 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, San Antonio, TX, USA, © 1995-1996). Визначали діаметри зон затримки росту (ЗЗР) культур навколо дослідних і контрольних лунок.

Мікрометод серійних розведень. Дослідження виконували в 96-лункових полістиролових планшетах у рідкому середовищі. Для культивування кандид використовували середовище YPD – yeast extract peptone dextrose (BioShop, Канада), для аспергілів – картопляно-декстрозний бульйон (PDB, BioShop, Канада), для криптококів – рідке середовище Сабуро (SD, BioShop, Канада). В усі лунки планшети, окрім стовпця 1, вносили по 100 мкл поживного середовища. У стовпець 1 (8 лунок) вносили по 100 мкл розчину досліджуваної сполуки в концентрації 200 мкг/мл. Шляхом перекатів здійснювали двократні серійні розведення сполуки в кожному ряду планшети (стовпці 2-10). Розчини сполук не вносили в стовпці 11-12 контрольних лунок: контроль росту штаму (стовпець 11) та контроль середовища (стовпець 12). Тестування штамів здійснювали, висіваючи їх у ряди лунок. У лунки кожного ряду стовпців 1-11 вносили по 100 мкл суспензій тест-культур кандид і криптококів у концентрації 1×10^6 КУО/мл.

Для приготування посівної суспензії тест-культур аспергілів, їхні спори з 5-7-добової культури першочергово вимивали розчином фосфатного буферу (BioShop, Канада) та проводили підрахунок за допомогою хемоцитомера й мікроскопа. При наявності близько 100 спор у полі зору 10 мкл суспензії додавали до 10 мл картопляно-декстрозного бульйону.

У якості контрольної референтної сполуки було використано флюконазол.

Засіяні планшети інкубували впродовж 24-48 годин у статичному термостаті при температурі 37°C. Реєстрацію росту культур проводили через 24 та 48 годин шляхом вимірювання оптичної щільності середовища в лунках за допомогою багаторежимного спектрофотометра Synergy™HTX (Biotek Instruments Inc., USA) при довжині хвилі 600 нм. На основі аналізу отриманих числових значень установлювали мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) досліджуваних сполук. Фунгистатичний ефект констатували при пригніченні росту культури на 50 % від контрольного рівня, фунгіцидний – при інтенсивності росту культури ≤ 10 % відносно контролю.

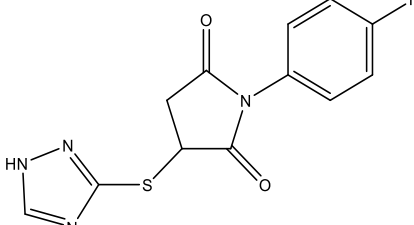
Аналіз результатів і побудову теплокарт (heat maps) проводили за допомогою програмного

забезпечення Microsoft Excel 2016 (Microsoft 365) та Prism 9.0 (GraphPad Software 2024, США).

Для диференціації між фунгистатичною та фунгіцидною концентраціями *in vitro* було застосовано метод реплікат. Спеціальний стерильний штемпель плавно занурювали в 96-лункову планшету, утримували впродовж 3-5 секунд усередині лунок, а потім переносили на поверхню великої чашки Петрі з агаром YPD. Завдяки невеликому натиску штемпель залишав відбитки (реплікати) 96 лунок із досліджуваної планшети. Такі чашки інкубували в статичному термостаті при температурі 30°C упродовж 24 годин. Диференційну оцінку здійснювали за наявності чи відсутності росту культури у відповідності до реплікат досліджуваної 96-лункової планшети. Цифрові зображення опрацьовували за допомогою програми ImageJ v 0.4.0 (NIH, USA, 2021).

Результати та їх обговорення. На основі первинного скринінгу синтезованих 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діонів було виявлено 3 сполуки з вираженою антифунгальною активністю відносно клінічного штаму *Candida albicans*. Дані похідні різняться наявністю замісника (R) в положенні 4 фенільного радикалу, що зазначено у табл. 1.

Таблиця 1

Основні характеристики досліджуваних сполук			
Похідні 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону			
			
Сполуки	L 1558	L 95	L 1369
R	H	Br	Cl
Хімічна формула	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	C ₁₂ H ₉ BrN ₄ O ₂ S	C ₁₂ H ₉ ClN ₄ O ₂ S
Молекулярна маса	274,30	353,19	308,74

Задля подальшого тестування протигрибкової активності було використано гриби роду *Candida*, яким належить чільне місце в розвитку опортуністичних мікозів: колекційний штам ATCC *Candida albicans* (MYA-2876) та клінічні штами *Candida albicans* (флюконазол-чутливий – FLUC-S), *Candida tropicalis* (FLUC-R штам), *Candida lusitanae* (FLUC-R штами), *Candida kefyr* (FLUC-S штам). Результати тестування активності сполук методом дифузії в агар із метою спостереження варіацій їхнього протигрибкового ефекту представлені в табл. 2 у вигляді числових значень ЗЗР.

Отримані результати показали, що досліджувані речовини проявляють протигрибкову активність відносно різних штамів грибів роду *Candida* та помітна кореляція ефекту в залежності від чутливості до флюконазолу. Варто зазначити: у FLUC-R штамів отримано як фунгіцидний ефект, так і фунгистатичний. Зони повного припинення росту (ЗПР) свідчать про фунгіцидний ефект речовин. Їхні діаметри знаходяться в нижніх межах усього спостережуваного діапазону для FLUC-R штаму *Candida tropicalis* та FLUC-S ізолятів *Candida albicans* і

Candida lusitanae. Найвищу фунгіцидну активність проявила сполука L 95, яка в положенні 4 фенільного кільця містить замісник бром (Br).

Діаметри зон повного припинення росту (ЗПР) цих штамів становлять $15,92 \pm 0,21$ мм; $14,32 \pm 0,68$ мм та $10,1 \pm 0,26$ мм відповідно, зон часткової затримки росту (ЗЗР) – $24,41 \pm 0,21$ мм; $20,18 \pm 0,59$ мм і $18,19 \pm 0,47$ мм. Сполука L 1369 містить замісник хлор (Cl) у положенні 4 фенільного кільця та має дещо нижчу фунгіцидну активність у порівнянні зі сполукою L 95. Проте її фунгистатичний ефект виражений навіть краще, ніж в інших двох сполук. ЗПР щодо згаданих вище штамів становлять $13,55 \pm 0,43$ мм; $10,54 \pm 0,26$ мм і $10,26 \pm 0,33$ мм відповідно, а ЗЗР – $25,63 \pm 0,51$ мм; $18,72 \pm 0,67$ мм та $20,64 \pm 0,37$ мм. Найнижчу активність проявила сполука L 1558, яка в положенні 4 фенільного кільця не містить жодного замісника. ЗПР становлять $11,32 \pm 0,26$ мм; $8,18 \pm 0,32$ мм і $11,49 \pm 0,5$ мм відповідно, а ЗЗР – $23,70 \pm 0,47$ мм, $14,72 \pm 0,53$ мм та $16,52 \pm 0,26$ мм. Відносно *Candida lusitanae* L 1558 має дещо кращий фунгіцидний ефект, ніж інші дві сполуки.

Таблиця 2

Противірикова активність похідних 1-(4-*R*-феніл)-3-((1*H*-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону відносно *Candida spp.* за методом дифузії в агар (діаметри зон затримки росту культур, мм)

Сполуки	Зони затримки росту культур, мм				
	<i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	<i>Candida albicans</i> (FLUC-S)	<i>Candida tropicalis</i> (FLUC-R)	<i>Candida kefyr</i> (FLUC-S)	<i>Candida lusitanae</i> (FLUC-S)
Контроль DMSO:C ₂ H ₅ OH:H ₂ O (1:2:1)	5,05 ± 0,18	4,08 ± 0,27	4,27 ± 0,21	4,12 ± 0,29	4,32 ± 0,17
Хлоргексидин 0,05% р-н	16,88 ± 0,18	15,34 ± 0,43	14,48 ± 0,27	15,59 ± 0,26	15,09 ± 0,26
Декаметоксин 0,2% р-н	14,30 ± 0,23	14,31 ± 0,40	13,21 ± 0,23	14,85 ± 0,27	12,78 ± 0,40
Флюконазол 25 мкг	[25,75 ± 0,39]	[22,48 ± 0,28]	[18,92 ± 0,51]	20,70 ± 0,40 [25,26 ± 0,27]	19,25 ± 0,51 [24,43 ± 0,49]
L 1558	15,44 ± 0,50	11,32 ± 0,26 [23,70 ± 0,47] **/††	8,18 ± 0,32 [14,72 ± 0,53]	18,83 ± 0,57 */†	11,49 ± 0,50 [16,52 ± 0,26] */†
L 95	20,14 ± 0,61 */††	15,92 ± 0,21 † [24,41 ± 0,21] **/††	14,32 ± 0,68 [20,18 ± 0,59] */††	23,01 ± 0,52 **/††	10,1 ± 0,26 [18,19 ± 0,47] */†
L 1369	19,63 ± 0,30 */††	13,55 ± 0,43 † [25,63 ± 0,51] **/††	10,54 ± 0,26 [18,72 ± 0,67] */†	20,48 ± 0,23 */††	10,26 ± 0,33 [20,64 ± 0,37] */††

Примітки:

- у квадратних дужках наведено діаметри зони часткового пригнічення росту культур (фунгістатичний ефект).
- для всіх результатів тестування досліджуваних сполук, антисептиків і флюконазолу $p < 0,001$ порівняно з контролем (розчин DMSO:C₂H₅OH:H₂O 1:2:1).
- * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$ при порівнянні з хлоргексидином.
- † – $p < 0,01$, † – $p < 0,001$ при порівнянні з декаметоксином

Щодо колекційного штаму ATCC *Candida albicans* (MYA-2876) та FLUC-S штаму *Candida kefyr* досліджувані сполуки проявили значний фунгіцидний ефект. Активність сполук залишилась у тому ж порядку L95 > L 1369 > L 1558. ЗПР речовини L 95 – 20,14 ± 0,61 мм і 23,01 ± 0,52 мм відповідно, речовини L 1369 – 19,63 ± 0,30 мм та 20,48 ± 0,23 мм, речовини L 1558 – 15,44 ± 0,50 мм та 18,83 ± 0,57 мм.

Окрім флюконазолу, в якості контрольних препаратів було використано відомі антисептики хлоргексидин (0,05%) і декаметоксин (0,2%), які завдяки антифунгальним властивостям широко використовують для місцевого лікування різноманітних локальних проявів кандидозу. У тесті дифузії в агар вони проявили виразну фунгіцидну активність відносно усіх тест-штамів кандид. Розчини досліджуваних сполук із концентрацією 1000 мкг/мл (що відповідає 0,1%) формували ЗПР кандид, які були зіставними з антисептиками або навіть перевищували їх дію. Чутливість до досліджуваних сполук у FLUC-S колекційного штаму *Candida albicans* ATCC MYA-2876 та клінічного ізоляту *Candida kefyr* достовірно вища, ніж до хлоргексидину й декаметоксину (див. табл. 2). Відносно інших тест-штамів досліджувані сполуки формували на відміну від антисептиків подвійні зони пригнічення росту з можливістю чіткої диференціації фунгіцидної і фунгістатичної дії.

Для більш точної оцінки противірикової активності похідних 1-(4-*R*-феніл)-3-((1*H*-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону мікрометодом серійних розведень проведено визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК). Із метою верифікації спектру противірикових властивостей найбільш

активних сполук було розширено видову різноманітність тестових штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*: додано FLUC-R колекційний і клінічний штами *Candida glabrata*, FLUC-R клінічні штами *Candida auris* та *Candida krusei*, FLUC-S клінічний штам *Candida haemulonii*. Крім того, тестувальну панель доповнено іншими актуальними збудниками опортуністичних мікозів: FLUC-R клінічним штамом *Cryptococcus neoformans* і цвілевими грибами – *Aspergillus fumigatus* та *Aspergillus niger* (FLUC-R клінічні штами). В якості контрольного штаму слугував колекційний штам *Candida albicans* ATCC MYA-2876, а контрольною речовиною порівняння – флюконазол. Для дослідження свідомо обрано більше штамів із резистентністю до відомих противірикових препаратів, оскільки результати дифузійного тесту чітко відобразили, що чутливі штами грибів роду *Candida spp.* рівноцінно є чутливими й до досліджуваних хімічних сполук.

Реєстрацію інтенсивності росту культур у присутності різних концентрацій препаратів заради подальшого визначення МІК проводили після 24 та 48 годин інкубації (табл. 3), позаяк мікроскопічні гриби мають здатність входити в логарифмічну фазу росту дещо повільніше, ніж бактерії. Якщо значення МІК зростає в інтервалі від 24 до 48 годин, то концентрація після 24 годин інкубації вважається фунгістатичною (МФ_сК), а концентрація після 48 буде вважатися фунгіцидною (МФ_цК) за умов, що значення OD не перевищує 10% значення при 0 годині інкубації та підтверджено відсутністю росту на чашці з реплікатою відповідної планшети (рис. 1).

На основі числових значень інтенсивності росту культур грибів побудовано теплокарти (heat maps) для кожної речовини (L 95, L 1369, L 1558) та для

контрольного препарату (Флюконазол), які представлені на малюнках (рис. 2).

Таблиця 3

Значення МІК досліджуваних сполук (мкг/мл) щодо колекційних і клінічних штамів збудників опортуністичних мікозів

Досліджувані штами	L 1558		L 95		L 1369		Флюконазол	
	24 год.	48 год.	24 год.	48 год.	24 год.	48 год.	24 год.	48 год.
<i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	50	50	25	25	6,25	12,5	1,562	25
<i>Candida albicans</i> (FLUC-S)	50	50	25	25	6,25	12,5	1,562	3,125
<i>Candida albicans</i> (FLUC-R)	50	50	25	25	6,25	12,5	50	100
<i>Candida tropicalis</i> (FLUC-R; ECHO-R)	50	50	25	25	12,5	12,5	100	200
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 2001)	25	25	25	25	12,5	12,5	50	50
<i>Candida glabrata</i> (FLUC-R; ECHO-R)	25	50	25	25	12,5	25	50	50
<i>Candida auris</i> (FLUC-R; ECHO-R)	12,5	25	12,5	12,5	6,25	12,5	200	200
<i>Candida krusei</i> (FLUC-R)	12,5	25	6,25	12,5	3,125	3,125	100	200
<i>Candida kefyr</i> (FLUC-S)	3,125	6,25	3,125	6,25	1,562	3,125	0,8	1,56
<i>Candida lusitanae</i> (FLUC-S)	25	25	12,5	12,5	6,25	12,5	3,125	50
<i>Candida haemulonii</i> (FLUC-S)	3,125	6,25	1,56	6,25	0,8	1,56	1,56	25
<i>Aspergillus fumigatus</i> (FLUC-R)	25	50	6,25	12,5	3,125	6,25	250	250
<i>Aspergillus niger</i> (FLUC-R)	25	50	12,5	12,5	6,25	6,25	200	200
<i>Cryptococcus neoformans</i> (FLUC-R)	25	50	25	50	25	50	200	200

Результати дослідження за допомогою методу серійних розведень свідчать про широкий спектр і високу протигрибкову активність синтетичних похідних 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону. Найкращі властивості демонструє сполука L 1369, яка містить замісник хлор (Cl) у положенні 4 фенільного кільця. Найбільшу чутливість до сполуки L 1369 проявили флюконазол-чутливі (FLUC-S) штами *Candida haemulonii* – МІК – 1,56 мкг/мл і *Candida kefyr* – МІК – 3,125 мкг/мл, інші FLUC-S штами, такі як: колекційний штам *Candida albicans* ATCC MYA-2876, клінічні штами *Candida albicans* і *Candida lusitanae* є дещо менш чутливими – МІК становить 12,5 мкг/мл. Крім того, флюконазол-резистентні (FLUC-R) штами грибів роду *Candida*, а саме: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* (колекційний штам) і *Candida auris* проявили чутливість до сполуки L 1369 на тому ж рівні, що й контрольний штам *Candida albicans*. Їхнє значення МІК – 12,5 мкг/мл. Варто відзначити високий рівень активності L 1369 відносно FLUC-R штаму *Candida krusei*, що відобразилось у МІК – 3,125 мкг/мл. Найменш чутливим штамом серед грибів роду *Candida* виявився клінічний FLUC-R штам *Candida glabrata*, МІК якого становить 25 мкг/мл. Щодо цвілевих грибів роду *Aspergillus*, а саме клінічних FLUC-R штамів *Aspergillus fumigatus* і *Aspergillus niger*, то вони теж проявили хорошу чутливість до речовини L 1369 – МІК

становить 6,25 мкг/мл. Найменшу чутливість до L 1369 проявив FLUC-R штам *Cryptococcus neoformans* – МІК 50 мкг/мл. Указаний штам має найбільшу серед усіх досліджуваних тест-культур резистентність до флюконазолу.

Сполука L 95, яка в положенні 4 фенільного кільця містить замісник бром (Br) проявила дещо нижчу протигрибкову активність, ніж сполука L 1369. Найчутливішими до сполуки L 95 є флюконазол-чутливі (FLUC-S) штами *Candida haemulonii* та *Candida kefyr* – МІК – 6,25 мкг/мл, що аналогічно стосовно речовини L 1369. Дещо нижчий рівень чутливості проявили *Candida lusitanae*, *Candida auris*, *Candida krusei* та клінічні штами *Aspergillus fumigatus* і *Aspergillus niger*.

Значення МІК відносно них становить 12,5 мкг/мл. Привертає увагу те, що клінічні штами *Candida auris*, *Candida krusei* й *Aspergillus spp.* є доволі резистентними щодо флюконазолу, проте зберігають чутливість до сполуки L 95. Тест-культури грибів роду *Candida albicans* (колекційний штам, FLUC-S і FLUC-R штами), FLUC-R штам *Candida tropicalis* та *Candida glabrata* (колекційний і клінічний FLUC-R штами) проявили помірну чутливість до речовини L 95 – МІК – 25 мкг/мл. Найменшу чутливість до сполуки L 95, як попередньо і до сполуки L 1369, проявив FLUC-R штам *Cryptococcus neoformans* – МІК 50 мкг/мл.

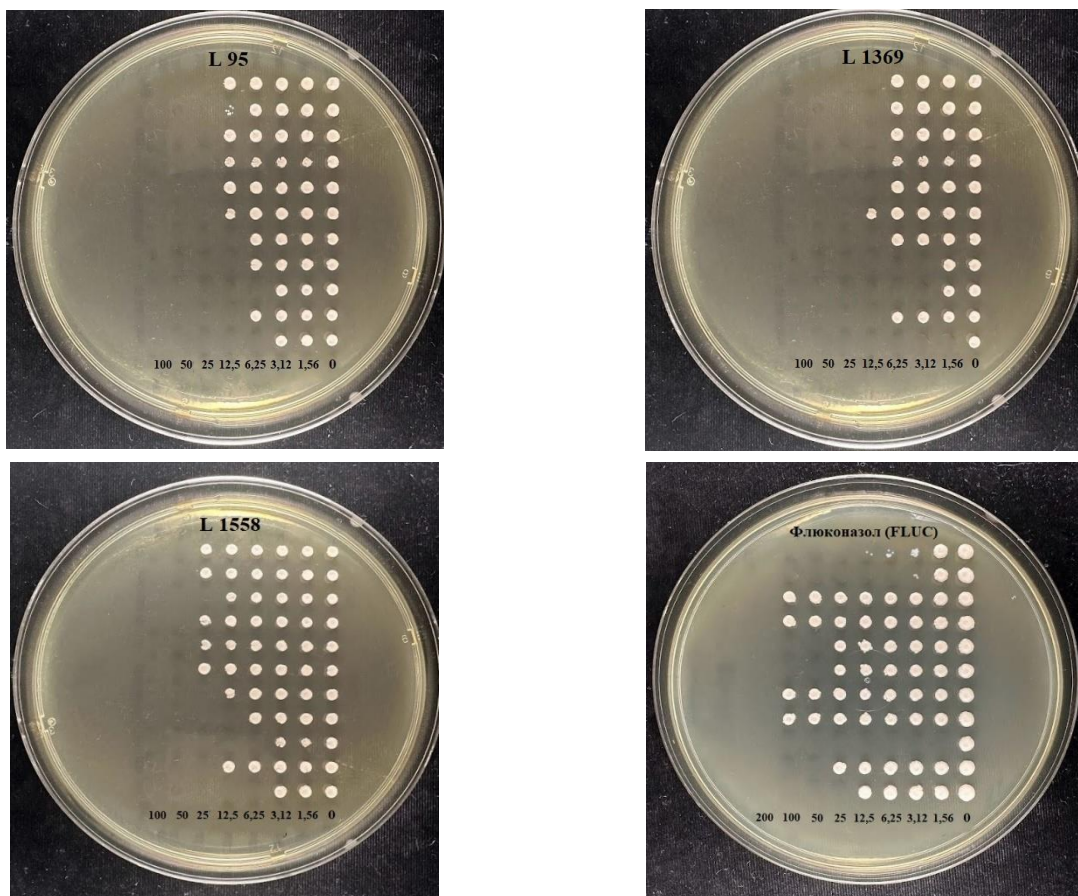


Рис. 1. Реплікати зразків 96-лункових планшетів після 48 год. інкубації.

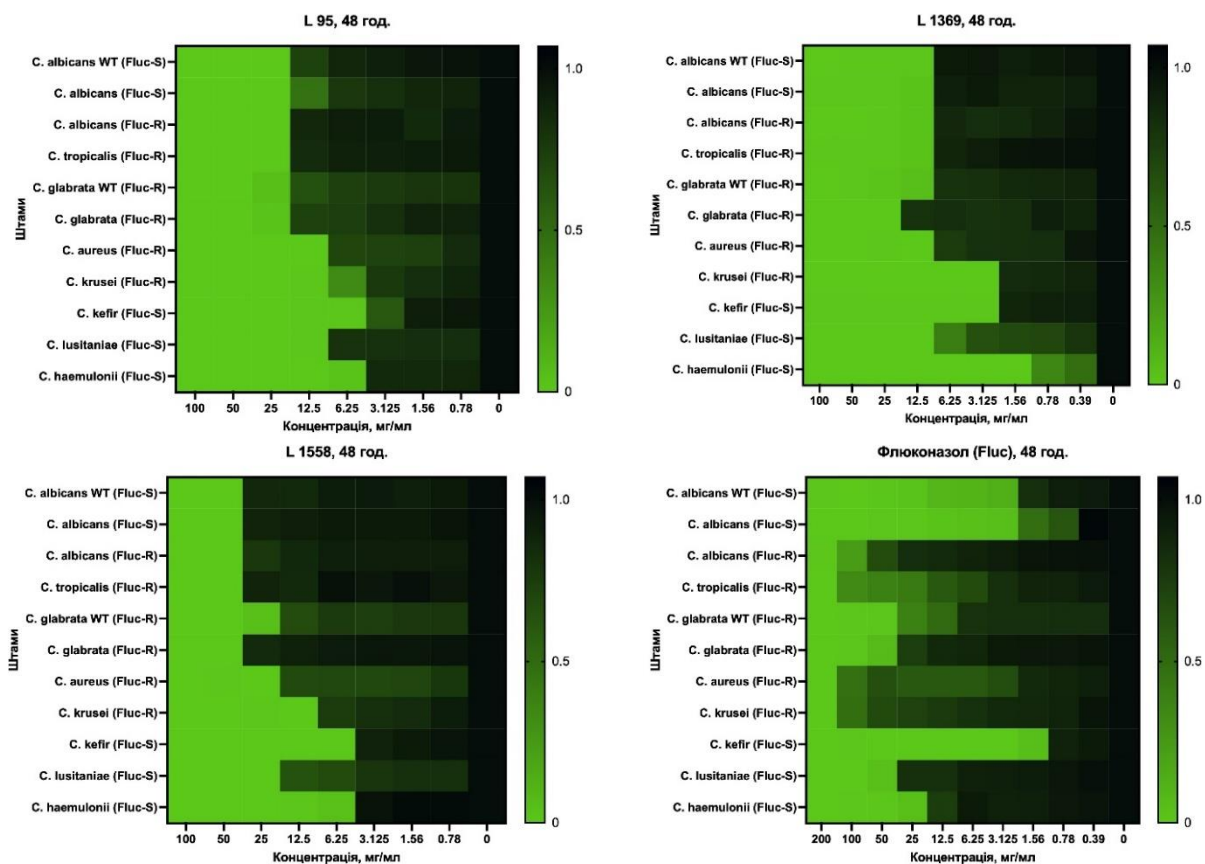


Рис. 2. Теплокарти (heat maps) досліджуваних сполук L 95, L 1369, L 1558 та контрольнього препарату – флюконазолу.

Найнижчу протигрибкову активність, як і в тесті дифузії в агар, проявила сполука L 1558, котра в положенні 4 фенільного кільця не містить замісника. Чутливість тест-культур до цієї сполуки є майже аналогічною, як до сполуки L 95. Найбільш чутливими залишаються флюконазол-чутливі (FLUC-S) штами *Candida haemulonii* та *Candida kefyr* зі значенням МІК – 6,25 мкг/мл. Помірну чутливість до сполуки L 1558 містять *Candida lusitanae*, *Candida auris*, *Candida krusei* та музейний штам *Candida glabrata* – МІК 25 мкг/мл. Штами *Candida albicans* (колекційний штам, FLUC-S і FLUC-R штами), FLUC-R штам *Candida tropicalis*, клінічний FLUC-R штам *Candida glabrata*, клінічні штами *Aspergillus fumigatus* й *Aspergillus niger* та FLUC-R штам *Cryptococcus neoformans* проявили найнижчий рівень чутливості відносно сполуки L 1558. Значення їх МІК дорівнює 50 мкг/мл.

Важливо відзначити: досліджувані сполуки проявили фунгіцидний ефект відносно майже всіх клінічних флюконазол-резистентних (FLUC-R) штамів грибів роду *Candida*, а також щодо колекційних АТСС штамів *Candida albicans* і *Candida glabrata*.

Лікування опортуністичних мікозів у цілому, й інвазивних грибкових захворювань зокрема, продовжує залишатися серйозною проблемою медицини. Проте арсенал антифунгальних засобів у клініці реально дуже обмежений. На сьогодні існують лише три класи протигрибкових препаратів, які придатні для лікування та профілактики інвазивних грибкових інфекцій: триазолі, полієни й ехінокандини (в цілому не більше 10 найменувань). Побічні токсичні ефекти, фармакокінетичні незручності (відсутність форм для перорального прийому або ж незадовільне всмоктування у ШКТ, погане проникнення через гематоенцефалічний бар'єр), взаємодія з іншими ліками створюють проблеми при застосуванні цих засобів у конкретних клінічних ситуаціях. Проте основним викликом, котрий спонукає до пошуку нових антимікотиків, є стрімко наростаюча резистентність збудників опортуністичних мікозів до антифунгальних засобів із класичними механізмами дії. Втім їхня розробка й упровадження в практику просувається надзвичайно повільно. В останні роки клінічні випробування на 2 і 3 фазах проходять до 10 нових антимікотиків [20]. Обнадійливі результати одержано для препаратів із новими механізмами дії, спрямованими на нетривіальні клітинні та біохімічні мішені: інгібітор глікозилфосфатидилінозитолу Fosmanogepix (APX001, E1210), тритерпеноїд – інгібітор синтезу клітинної стінки Ibrexafungerp (МК-3118, SCY-078), інгібітор синтезу піримідину Olorofim (F910318), тетразолі Oteseconazole (VT-1161) і VT-1598. Але, як показує досвід, нещодавно впроваджені у світову медичну практику нові триазолі (ізавуконазол, позаконазол) й ехінокандини (каспофунгін, мікафунгін, анідулафунгін, резифунгін), окремі з яких входять до Списку основних лікарських засобів ВООЗ, залишаються логістично недоступними для пацієнтів в Україні, до того ж мають захмарну вартість. Таким чином, розробка нових молекулярних структур із антифунгальними властивостями постає актуальною.

Триазоловий цикл є визнаним антифунгальним фармакофором. Чинні протигрибкові засоби цього класу похідні (1H-1,2,4-триазол-1-ілметил)-1,3-

діоксолану (ітраконазол), (1H-1,2,4-триазол-1-ілметил)-оксолану (позаконазол, пульмоцид [PC945]), 1,3-біс(1H-1,2,4-триазол-1-іл)-пропан-2-олу (флуконазол), (1H-1,2,4-триазол-1-іл)-бутан-2-олу (воріконазол, альбаконазол, ізавуконазол, равуконазол), котрі в складі додаткових радикалів часто містять піперазиновий цикл. Ми провели дослідження нових синтетичних сполук, у молекулярному каркасі яких 1H-[1,2,4]-триазол поєднується із піролідин-2,5-діоном. У літературі описано антибактеріальні й протигрибкові властивості похідних 1,2,4-триазол-5(4H)-тіону [21], піролідин-2,5-діону [22] і піролідин-2,3-діону [23]. Тож логічно було припустити, що така комбінація структурних блоків у молекулярному каркасі виявиться перспективною для створення нових похідних із потенційною протигрибковою активністю. Представлені результати тестування підтвердили достатньо високу антифунгіцидну й фунгістатичну активність нових синтетичних похідних 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону щодо найбільш поширених збудників опортуністичних мікозів. При цьому сполука L 1369 – 1-(4-хлорфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діон за активністю відносно переважної більшості тест-штамів кандид, криптокока й аспергілів перевищувала референс-препарат флуконазол. Попередня оцінка токсичності досліджуваних сполук за допомогою програмного забезпечення GUSAR з певною обережністю дозволяє відносити їх до V класу токсичності при внутрішньоочеревному та до IV класу токсичності – при пероральному введенні [24].

Це дозволяє розглядати 1-(4-хлорфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діон в якості структури-лідера з антифунгальними властивостями відносно збудників опортуністичних мікозів, кандидата в лікувальні засоби. Крім того, можна розглядати напрямки модифікації структури цієї сполуки для посилення протигрибкової активності.

Висновки.

1. Нові синтетичні сполуки – похідні 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону володіють вираженою протигрибковою активністю відносно опортуністичних дріжджових і міцеліальних грибів із переважаючим фунгіцидним ефектом.

2. Протигрибкова активність досліджених сполук залежить від характеру замісника в положенні 4 фенільного радикалу: Br > Cl > H.

3. Антифунгальна активність сполук L 1369 1-(4-хлорфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діон і L 95 1-(4-бромфеніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діон поширюється на флюконазол-резистентні клінічні штами *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans* і *Aspergillus spp.*

Перспективи подальших досліджень. Нові синтетичні похідні 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-триазол-5-іл)тіо)піролідин-2,5-діону потребують подальшого вивчення з метою встановлення потенційного механізму їхньої дії на грибову клітину й оцінки можливого набування резистентності. Важливо також усебічно дослідити рівень їхньої цитотоксичності та токсичності для організму в цілому. Крім того, існує імовірність, що використання підходу комбінаторного синтезу з метою модифікації базового молекулярного

каркасу 1-(4-R-феніл)-3-((1H-[1,2,4]-тріазол-5-іл)тіопіролідин-2,5-діону дозволить отримати нові похідні з покращеними протигрибковими властивостями.

Подяка.

Колективу кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького під керівництвом проф. Лесика Р. Б.

Голоті Сергієві Миколайовичу, доценту кафедри органічної хімії та фармації Волинського національного університету ім. Лесі Українки.

Ребеці Шапіро (Dr. Rebecca Shapiro), доценту (assistant professor) кафедри молекулярної та клітинної біології, коледжу біологічних наук, Університету Гвельфа, Онтаріо, Канада

Грантова підтримка: Mitacs Globalink Research Award – Ministry of Education and Science of Ukraine (Ref. IT37947)

References.

1. WHO website – <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
2. Kee PN, Chee SK., Harvinder K, Shiang LN, Nadia A, Rukumani DV. *Candida* species epidemiology 2000–2013: a laboratory-based report. *A European J. Tropical Medicine & International Health*. 2015; 20:1447-1453
3. Macias-Paz IU, Pérez-Hernández S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra-Cárdenas JE, Reyna-Beltrán E. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Rev Argent Microbiol*. 2023 Apr-Jun; 55(2):189-198. doi: 10.1016/j.ram.2022.08.003.
4. Lim SJ, Mohamad Ali MS, Sabri S, Muhd Noor ND, Salleh AB, Oslan SN. Opportunistic yeast pathogen *Candida spp.*: Secreted and membrane-bound virulence factors. *Med Mycol*. 2021 Dec 3; 59(12):1127-1144. doi: 10.1093/mmy/myab053.
5. Zhao Y, Ye L, Zhao F, Zhang L, Lu Z, Chu T, Wang S, Liu Z, Sun Y, Chen M, Liao G, Ding C, Xu Y, Liao W, Wang L. *Cryptococcus neoformans*, a global threat to human health. *Infect Dis Poverty*. 2023 Mar 17; 12(1):20. doi: 10.1186/s40249-023-01073-4.
6. Kolisnyk NS, Dmytrychenko VV, Kaplan PYu, Kuzhevskiy IV, Hyrtovyi VA, Mizina VM. Invazyvnyj lehenyvj aspergilloz: suchasnyi stan problemy ta klinichnyj vypadok. *Medychni perspektyvy*. 2018; 23(1):27-37.
7. Shnaider SA, Klenovska SV. Kandydozni urazhennia slyzovoi obolonky porozhnyny rota: suchasni aspekty epidemiologii ta patohenezu. *Innovatsii v stomatologii*. 2016; 2:45-49.
8. Perfect JR. The antifungal pipeline: a reality check. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2017; 16:603–616.
9. Safonov AA. Vyvchennia hostroi toksychnosti 4-(R-amino)-5-(tiophen-2-ilmetyl)-4H-1,2,4-triazol-3-tioliv metodom in vivo. *Farmatsevychnyj zhurnal*. 2016; 2:98-102.
10. Slivka MV, Korol NI, Fizer MM. Fused bicyclic 1,2,4-triazoles with one extra sulfur atom: Synthesis, properties, and biological activity. *J. Heterocycl. Chem*. 2020; 57:3236–3254.
11. Pruhlo YeS, Bilai IM, Kaplaushenko AH, Parchenko VV, Hotsulia AS, Hotsulia TS. Antyoksydantna aktyvnist deiakykh pokhidnykh 1,2,4-triazolu pry eksperymentalni hiperlipidemii. *Farmatsevychnyj chasopys*. 2010; 1(10):61–65.
12. Bilai IM, Halushko AYU, Hnitko IV et al. Hipolipidemichna aktyvnist deiakykh pokhidnykh 1,2,4-triazolu. Aktualni pytannia pharmatsevychnoi i medychnoi nauky i praktyky. 2013; 1(11):15–17.
13. Shcherbyna RO, Parchenko VV, Pavlov SV et al. Neuroprotektorna aktyvnist S-pokhidnykh 1,2,4-triazolu. *Zaporizhskiy medychnyj zhurnal*. 2011; 13(1): 94–97.
14. Panasenko OI, Knysh YeH, Safonov AA. Doslidzhennia analhetychnoi aktyvnosti 4-((R-iden)amino)-5-(tiophen-2-ilmetyl)-4H-1,2,4-triazol-3-tioliv. *Ukrainskyi biofarmatsevychnyj zhurnal*. 2015; 4:23-25.
15. Lesyk R, Vladzimirska O, Holota S, Zaprutko L, Gzella A. New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: Synthesis and anticancer evaluation. *Eur. J. Med. Chem*. 2007; 42:641–648.
16. Lobo P, Poojary B, Manjunatha K, Kumari NS. Synthesis and antimicrobial evaluation of some new 2-(6-oxo-5,6-dihydro[1,3]thiazolo[3,2-b]-2-aryloxymethyl-1,2,4-triazol-5-yl)-arylamides. *Z. Naturforsch. B* 2014; 65:617–624.
17. Holota S, Derkach H, Antoniv O, Slyvka N, Kutsyk R, Gzella A, Lesyk R. Study of 1,2,4-triazole-3(5)-thiol behavior in reactions with 1-phenyl-1H-pyrrole-2,5-dione derivatives and 3-bromodihydrofuran-2(3H)-one and antimicrobial activity of products. *Chem. Proc*. 2021; 3(1):68-75. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-24-08419>
18. Nenoff P, Oswald U, Hausteil UF. In vitro susceptibility of yeasts for fluconazole and itraconazole. Evaluation of a microdilution test. *Mycoses*. 1999; 42:629–639
19. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, Koeth L, Sei K. CLSI Methods Development and Standardization Working Group of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *J. Clin. Microbiol*. 2018; 56:1917–1934.
20. Jacobs SE, Zagaliotis P, Walsh TJ. Novel antifungal agents in clinical trials. *F1000Res*. 2021 Jun 28;10:507. doi: 10.12688/f1000research.28327.2.
21. Aly AA, A Hassan A, Makhlof MM, Bräse S. Chemistry and Biological Activities of 1,2,4-Triazolethiones-Antiviral and Anti-Infective Drugs. *Molecules*. 2020 Jul 3;25(13):3036.
22. Sopbué Fondjo E, Njoya AS, Tamokou JD, Doungmo G, Ndjakou Lenta B, Simon PFW, Tsopmo A, Kuate JR. Synthesis, characterization and antimicrobial properties of two derivatives of pyrrolidine-2,5-dione fused at positions-3,4 to a dibenzobarrelene backbone. *BMC Chem*. 2022 Mar 3;16(1):8. doi: 10.1186/s13065-022-00801-5.
23. López-Pérez A, Freischem S, Grimm I, Weiergräber O, Dingley AJ, López-Alberca MP, Waldmann H, Vollmer W, Kumar K, Vuong C. Discovery of Pyrrolidine-2,3-diones as Novel Inhibitors of *P. aeruginosa* PBP3. *Antibiotics (Basel)*. 2021 May 4;10(5):529.

24. Zasiidko VV. Vyvchennia protygyrbkovoï aktyvnoï novykh syntetychnykh – pokhidnykh tiazolidynu. Suchasni problemy antybiotykoïterapiï ta formuvannia antybiotykoïrezystentnosti: materialy naukovopraktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu. BDMU. 2018 Jan 29: 124.

UDC 547.75 + 615.282

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF 1-(4-R-PHENYL)-3-((1H-[1,2,4]-TRIAZOLE-5-YL)THIO)PYRROLIDINE-2,5-DIONES AGAINST THE MAIN PATHOGENS OF OPPORTUNISTIC MYCOSES

V. V. Protsiuk

*Ivano-Frankivsk national medical university,
Department of microbiology, virology and immunology,
Ivano-Frankivsk, Ukraine
ORCID: 0000-0001-6909-6993,
e-mail: vzasidko@ifnmu.edu.ua*

Abstract. All over the world, and in Ukraine in particular, there is a steady increase in mycoses. This is due to the negative effect of various factors associated with modern civilization on the human body. These factors include increased use of broad-spectrum antibiotics, immunosuppressive therapies, and the rise of chronic health conditions such as diabetes and obesity. Among the most common causative agents of mycoses, one of the leading positions is held by opportunistic yeast-like fungi of the genus *Candida*. These fungi are part of the normal flora of the human body but can cause infections when the immune system is compromised or the natural balance of microorganisms is disrupted.

Purpose: to study the antifungal activity of 1-(4-R-phenyl)-3-((1H-[1,2,4]-triazol-5-yl)thio)pyrrolidine-2,5-diones against the main pathogens of opportunistic mycoses and to determine their effective antifungal concentrations.

Materials and methods. The objects of the study were the causative agents of opportunistic mycoses: fungi of the genus *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, and *Cryptococcus*. Primary screening of antifungal activity was carried out using the agar diffusion method, and a more detailed study of the degree of influence of the compound on microscopic fungi was carried out by the micro method of serial dilutions to determine a MIC (Minimum Inhibitory

Concentration). The results were analyzed by constructing heatmaps. The difference between fungicidal MIC and fungistatic MIC was demonstrated through a replication test on plates with solid media.

Research results. It was established that 1-(4-R-phenyl)-3-((1H-[1,2,4]-triazol-5-yl)thio)pyrrolidine-2,5-diones have significant antifungal activity against all studied objects. For azole-sensitive isolates of *Candida spp.*, such as *Candida albicans*, *Candida kefyr*, *Candida lusitanae*, *Candida haemulonii*, the MIC range of substance L 1369 was 1.56–12.5 µg/ml, and for both L 95 and L 1558, it was 6.25–25 µg/ml. For azole-resistant *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida auris*, and *Candida krusei* the MIC range of L 1369 was 3.125–12.5 µg/ml, for L 95 it was 12.5–25 µg/ml, and for L 1558 it was 25–50 µg/ml. For strains of *Aspergillus spp.* the MIC value of L 1369 was 6.25 µg/ml, for L 95 it was 12.5 µg/ml, and for L 1558 it was 50 µg/ml. For *Cryptococcus neoformans*, the MIC for all three compounds was 50 µg/ml. Compound L 1369 demonstrated greater activity against the majority of test strains of *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, and *Cryptococcus* compared to the reference drug fluconazole.

Preliminary assessment of the toxicity of the studied compounds using GUSAR software, with certain caution, allows them to be classified as Class V toxicity for intraperitoneal administration and Class IV toxicity for oral administration.

Conclusion. New synthetic compounds - derivatives of 1-(4-R-phenyl)-3-((1H-[1,2,4]-triazol-5-yl)thio)pyrrolidine-2,5-dione – show significant antifungal activity against opportunistic yeast and mycelial fungi, with a predominant fungicidal effect. The highest antifungal activity was shown by a compound with chlorine (Cl) substituent in position 4 of the phenyl radical, and the lowest – by a compound without a substituent (hydrogen (H) in position 4). The antifungal activity of compounds L 1369 (1-(4-chlorophenyl)-3-((1H-[1,2,4]-triazol-5-yl)thio)pyrrolidine-2,5-dione) and L 95 (1-(4-bromophenyl)-3-((1H-[1,2,4]-triazol-5-yl)thio)pyrrolidine-2,5-dione) extends to fluconazole-resistant clinical strains of *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus spp.*

Keywords: heterocyclic compounds, antifungal activity, *Candida spp.*, 1,2,4-triazole-3(5)-thiol, pyrrolidine-2,5-dione, causative agents of opportunistic mycoses, antifungal drugs, antifungal resistance, candidiasis.

Стаття надійшла в редакцію 15.05.2024 р.
Стаття прийнята до друку 19.06.2024 р.