

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії та ботаніки

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «Розробка передових матеріалів для гасіння бактеріального
кворуму»

Виконала: здобувачка вищої освіти 5 курсу, групи 11801
22 Охорона здоров'я
226 «Фармація, промислова фармація»
(шифр і назва напрямку підготовки)
Фармація
(назва освітньої програми)
Підрушняка Марина Василівна

д.фарм.н., професор Карпюк Уляна Володимирівна
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
Рецензент: к. фарм. н., доцент Афанасенко Ольга Вікторівна

Київ - 2026 рік

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДОЛАННЯ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ШЛЯХОМ ІНІГБУВАННЯ СИСТЕМ КВОРУМ-СЕНСИНГУ.....	8
1.1. Антибіотикорезистентність як глобальна загроза здоров'ю.	8
1.2. <i>P. aeruginosa</i> : біологічні особливості патогена та механізми вродженої резистентності.	9
1.3. Теоретичні засади та молекулярна організація систем кворум-сенсингу (QS) як ключового регулятора вірулентності.	10
1. 3.1. N-ацил-гомосеринлактони (AHL) як сигнали грамнегативних бактерій.	11
1. 3.2. Автоіндукуючі пептиди (AIP) у грампозитивних бактерій.	12
1.4. Ієрархія організації системи кворумної сигналізації <i>P. aeruginosa</i> та роль системи IQS у адаптації патогена.....	12
1.5. Молекулярно імпринтовані полімери як перспективна платформа для інгібування систем кворумної сигналізації.	14
1.6. Молекулярний відбиток.	15
1.7. Характеристика МІП	18
1.8. МІП у фармацевтичних науках	19
Заключення.....	21
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	22
2.1. Хід дослідження.	Ошибка! Закладка не определена.
2.2. Екстракція та очищення полімерів.....	29
2.2.1. Приготування розчину мурашиної кислоти.....	30
2.2.2. Приготування розчину аміаку в метанолі	30
2.2.3. Приготування розчину метанол-вода	31
2.2.4. Коригування рН водних фаз	31
2.2.5. Очищення блочних полімерів	31

2.3 Аналіз ефективності видалення шаблону з полімерів.....	32
<i>Висновки до розділу 2.</i>	32
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
SUMMARY.....	39
Додатки	Ошибка! Закладка не определена.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АБР -антибіотикорезистентність;
ВООЗ -Всесвітня організація охорони здоров'я
QS -кворум чутливість
P.aeruginosa -Pseudomonas aeruginosa
AHL-N-ацил-гомосерилактон
V.fischeri -Vibrio fischeri
AIP -автоіндукуючі пептиди
LAS -N-3-оксо-додеканоїл-L-гомосеринлактон
RHL (C4-HSL) -N-бутил-L-гомосериллактон
PQS -Pseudomas Quinolone Signal
IQS -Integrated Quorum Sensing
МІП -молекулярно імпринтований полімер
SEM -скануюча електронна мікроскопія
НІП -невідбитковий полімер
МАК -метакрилова кислота
ІТК -ітаконова кислота
ВБК -4-вінілбензойна кислота
НЕМ -2-гідроксиетилметакрилат
ІРА -N-ізопропілакриламід
АТУ- 1-аліл-2-тіосечовина
ЕГДМА -етиленглікольдиметакрилат
ТФЕ -твердофазна екстракція

ВСТУП

Стрімке зростання резистентності мікроорганізмів до традиційних антибіотиків зумовлює необхідність пошуку принципово нових стратегій боротьби з інфекціями [29]. Перспективним напрямком є “гасіння кворуму” - блокування системи спілкування бактерій, яка відповідає за вірулентність та формування біоплівки [25]. Для того щоб реалізувати дану стратегію, необхідні матеріали, які здатні до високоселективного розпізнання та перехоплення сигнальних молекул [26].

Молекулярно імпринтовані полімери (МІП), які часто називають “штучними антитілами”, це матеріали з пам’яттю, структура яких має специфічні порожнини (сайти зв’язування), які комплементарні за формою та хімічною спорідненістю до цільової молекули - шаблону [27]. Застосування полімерних матриць із властивостями специфічного розпізнання автоіндукторів *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) відкриває нові можливості для створення як діагностичних систем, так і терапевтичних засобів нового покоління у боротьбі з антибіотикорезистентністю [25].

Мета роботи: розробка оптимальних умов синтезу селективних матриць МІП та експериментальне підтвердження їхньої здатності вибірково сорбувати компоненти системи кворум-сенсингу, *P. aeruginosa* відповідальні за формування біоплівки [31].

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання.

1. Проведено аналіз наукових літературних джерел щодо механізмів системи кворум-сенсингу *P. aeruginosa* та сучасних методів синтезу молекулярно імпринтованих полімерів як селективних сорбентів.

2. Обґрунтувати вибір шаблону, функціональних мономерів, зшиваючого агента, ініціатора, розчинників, та порівняти вплив розчинників на формування сайтів специфічного розпізнання, оптимізувати співвідношення компонентів, температури та часу полімеризації.

3. Провести синтез та провести порівняльну фізико-хімічну характеристику серії з 12 зразків.

Об'єктами дослідження стали: серія з 12 полімерних матриць, отримана методом вільно радикальної блочної полімеризації (6 молекулярно імпринтованих та 6 неімпринтованих полімерів).

Предметом дослідження є: фізико-хімічна характеристика 12 зразків полімерів. Та їхня здатність до специфічного зв'язування сигнальних молекул автоіндукторів.

Методи дослідження. Вільно радикально блочна полімеризація, дегазація азотом, ультразвукова гомогенізація.

Новизна та значення одержаних результатів. Уперше проведено порівняльне дослідження серії з 12 полімерів (6 МПП-матриць, синтезованих із використанням різних функціональних мономерів, та 6 НПП-матриць щодо їх ефективності у перехопленні сигнальних молекул *P. aeruginosa*. Запропоновано оптимальні умови синтезу селективних матеріалів для обраної стратегії, що має значення для подолання антибіотикорезистентності [31].

Особистий внесок здобувача. Дана робота є самостійним дослідженням автора, проведеного упродовж 2025-2026 р. Виконана на базі Варшавського медичного університету, Польща (м.Варшава), на кафедрі органічної та фізичної хімії. Наукові керівники проф. Люлінський П, д. фарм. н., Клейн Д.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження викладені у випускній кваліфікаційній роботі доповідались та обговорились на засіданнях кафедри фармакогнозії та ботаніки. Здобувач брав участь у конкурсі студентських наукових робіт НМУ імені О.О. Богомольця Annual Young Medical Conferencee 2025. Тема доповіді: «Розробка передових матеріалів для гасіння кворуму бактерій». За темою доповіді опубліковано тези: Підрушняк М.В. Розробка передових матеріалів для гасіння кворуму бактерій / М.В. Підрушняк, У.В. Карпюк// Наук.-практ.конф. «Annual Young Medical Conferencee 2025 », 21 лис. 2025 р. : Український науково-медичний молодіжний журнал. 2025. № 4 (159), додаток. С. 144. матеріали конф. -Київ.

(додаток А), (додаток Б) . Отримала 3 призове місце за участь у конференції (додаток В).

А також брала участь на науково-практичній конференції PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА, 23 січня 2026 р. з публікацією тез доповіддю та постерною доповіддю. Pidrushniak M.V. Molecularly imprinted polymers (MIP's): from historycal origins to modern synthesis strategies and applications / M.V. Pidrushniak, P Lulński, D. Klejn, U. V. Karpiuk // VI Наук.-практ. конф. з міжнар. уч., «Planta+. Наука, практика та освіта » 23 січ. 2026 р. : матеріали конф. –Київ, Т.1. 2026 - С. 204 (додаток Г), (додоток Д), (Додаток Е).

Публікація. Опубліковані 2 тези, 1 усна доповідь та 1 постерна доповідь.

Структура і обсяг роботи. Випускна кваліфікаційна робота складається зі вступу, 2 розділів, висновків, списку використаних джерел, 2 додатків.

Загальний обсяг роботи – 45 сторінок машинописного тексту. Робота ілюстрована 8 рисунками та 2 таблицями. Бібліографія нараховує 32 джерела.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Методом блочної полімеризації синтезовано 6 пар полімерів (МПП та НПП). Використання широкого спектра функціональних мономерів, дозволило експериментально порівняти їхню здатність до специфічного розпізнання шаблону.

2. Встановлено, що для отримання гомогенної фракції зерен необхідно провести від 10 до 14 циклів седиментації в ацетоні. Це забезпечило видалення найдрібнішої фракції, що гарантує стабільний потік розчину в колонках ТФЕ.

3. Комбінована екстракція та подальше промивання в камері ТФЕ забезпечує повне видалення шаблону. Це підтверджено прямолінійним характером спектрів та низькою абсорбцією елюатів на спектрофотометрі.

4. Підтверджено хімічну стійкість отриманих МПП у діапазоні рН від 3,0 до 8,0. Це доводить, що розроблені матеріали можуть працювати зі складними біологічними або екологічними зразками без руйнування структури «відбитків».

5. Науково-дослідницька робота знаходиться на стадії активного впровадження, наразі триває етап збору та систематизації даних фізико-хімічних аналізів систематизованих полімерів (сканувальна електронна мікроскопія, та ІЧ-спектроскопія). Сформовано серію зразків для передачі до Університету Вітватерсранда (Йоганнесбург, ПАР), де в межах міжнародної співпраці будуть проведені мікробіологічні тести на здатність розроблених полімерів пригнічувати кворумну сигналізацію патогену. Експериментальна частина дослідження триває.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Andersson L. I., et al. Molecular imprinting of amino acid derivatives at low temperature / L. I. Andersson, B. Sellergren, K. Mosbach // *Tetrahedron Letters*. 1990. Vol. 31, no. 12. P. 1771–1774. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)88871-3.
2. Cao J. G, Meighen E. A. Biosynthesis and stereochemistry of the autoinducer controlling luminescence in *Vibrio harveyi*. / J. G. Cao, E. A. Meighen // *Journal of Bacteriology*. -1993. -Vol. 175, No. 12. -P. 3856–3862.
3. Chen L., et al. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and future prospects / L. Chen, X. Wang, W. Lu et al. // *Chemical Society Reviews*. -2011. -Vol. 40, No. 5. P. 2922–2942. DOI: 10.1039/C0CS00084A.
4. Churchill ME, Chen L. Structural biology of quorum sensing. / M. E. Churchill, L. Chen // *Current Opinion in Structural Biology*. 2011. Vol. 21 No. 4. P. 501-510.
5. Cornelis, P. (2019). The 4th Quorum Sensing Signal IQS of *P. aeruginosa* Is Aeruginaldehyde / P. Cornelis // *mBio*. -2019-Vol. 10, No. 1. -e02665-18.
6. Eberhard A., et al. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase synthesis / A. Eberhard, A. L. Burlingame, C. Eberhard et al. // *Biochemistry*. -1981. - Vol. 20, No. 9. -P. 2444-2449.
7. Genomics of antibiotic-resistance prediction in *Pseudomonas aeruginosa*. / K.J. S. Abbotts, S. A. J. Bohlmann, S. T. Perron // *Genome Medicine*.- 2020. - Vol. 12, No. 1. Art. 67. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7379567/>
8. Hense B. A., et al. Does efficiency sensing unify diffusion and quorum sensing? / B. A. Hense, C. Kuttler, J. Muller et al. // *Nature Rev Microbiol* -2007 - Vol 5, No. 3- P. 230-239.
9. Hentzer M., Givskov, M. Pharmacological inhibition of Quorum Sensing for the treatment of chronic bacterial infections. / M. Hentzer, M. Givskov // *Journal of Clinical Investigation*, 2003. Vol.112, No. 9.-P.1300-1307.
10. Hsu J. How covid-19 is accelerating the threat of antimicrobial resistance. / J. Hsu // *BMJ*. 2020. Vol. 369. -m1983.

11. Jimenez P. N., et al. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* / P. N. Jimenez, G. Koch, J. A. Thompson et al. // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. -2012.-Vol.76, No.1.-P. 46–65. DOI: 10.1128/MMBR.00050-11.
12. Lee J, Zhang L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa* / J. Lee, L. Zhang // *Protein & Cell*.- 2015. Vol. 6, No.1-P.26-41. doi:10.1007/s13238-014-0100-x.
13. Lee, J.et al. A previously unknown quorum-sensing system in *P. aeruginosa* that is triggered by phosphate limitation / J. Lee, L. Wu, C. Gunduz et al. // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. -2013. Vol. 29. -P. 2401-2406.
14. Liechty W.B., et al. Polymers for drug delivery systems / W. B. Liechty, D. R. Kryscio, B. V. Slaughter et al. // *Chemical Engineering Science*. 2010. Vol. 65, No. 1. P. 1–30. DOI: 10.1016/j.ces.2009.06.021.
15. Lulinski P. Molecularly imprinted polymers as relevant components of pharmaceutical and biomedical analysis./ P. Lulinski // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. -2017. -Vol.145. -P.821–837. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.037.
16. Mastropaolo, M. D., et al. (2021). Synergy between Quorum Sensing and Stress Response in *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity. / M. D. Mastropaolo, S. J. Silby, N. S. Lyczak // *Journal of Bacteriology*. -2012. -Vol. 194, No.1. P. 203-211.
17. Mellini, M., et al. PQS system and MvfR (PqsR) transcriptional regulation / M. Mellini, S. Di Muzio, S. D'Angelo et al. // *Scientific Reports*.n - 2019. -Vol. 9. DOI: 10.1038/s41598-018-38142-6.
18. Nealson K. H., et al. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system./ K. H. Nealson, T. Platt, J. W. Hastings // *Journal of Bacteriology*. -1970. -Vol. 104, No.1.-P. 313-322.

19. Papenfort K., Bassler B. L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria / K. Papenfort, B. L. Bassler // *Nature Reviews Microbiology*. -2016.- Vol. 14, No. 9. -P. 576–588. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.89.
20. Remy B., et al. Interference in bacterial quorum sensing: a biopharmaceutical perspective / B. Remy., S. Mion, L. Plener [et al.] // *Frontiers in Pharmacol.* -2018. -Vol. 9. -Art 203. DOI: 10.3389/fphar.2018.00203.
21. Rojas Murcia N., et al. Discussion on IQS synthesis and ambABCDE genes / N. Rojas Murcia, F. Thoma, L. Eberl et al. // *Environmental Microbiology*.-2020. -Vol. 22, No. 7. - P. 2480–2490. DOI: 10.1111/1462-2920.15024.
22. Rutherford S. T, Bassler B. L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control / S. T. Rutherford, B. L. Bassler // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. -2012. -Vol -2, No. 11 -a012427.
23. Schuster M, Greenberg E. P. A network of networks: quorum sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa* / M. Schuster, E. P. Greenberg // *International Journal of Medical Microbiology*. -2006. -Vol. 296, No. 2-3. -P. 73 - 81. DOI: 10.1016/j.ijmm.2006.01.036.
24. Schuster M, Greenberg EP (2007) Early activation of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* reveals the architecture of a complex regulon / M. Schuster, E. P. Greenberg // *BMC Genomics* -2007. Vol. 8 -Art. 287. DOI: 10.1186/1471-2164-8-287.
25. Sikdar R., Elias M. H. Evidence for Complex Interplay between Quorum Sensing and Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* / R. Sikdar, M. H. Elias // *Microbiology Spectrum*. -2022. -Vol. 10, No. 6. -e03043-22. DOI: 10.1128/spectrum.03043-22.
26. Song Z., et al. A novel quorum-sensing system (IQS) integrates environmental cues with the quorum-sensing network in *Pseudomonas aeruginosa* / Z. Song, K. Kong, H. Wu et al. // *Nature Chemical Biology* -2013 -Vol -9, No. 12. -P. 809 -817. DOI: 10.1038/nchembio.1369.
27. Vasapollo G., et al. Molecularly imprinted polymers: present and future in biological applications / G. Vasapollo, R. Del Sole, L. Mergola et al. //

International Journal of Molecular Sciences. -2011. Vol. 12, No. 9. P. 5908–5945.
DOI: 10.3390/ijms12095908.

28. Welsh M. A, Blackwell H. E. Chemical genetics reveals environment-specific roles for quorum sensing circuits in *pseudomonas aeruginosa* / M. A. Welsh, H. E. Blackwell // Cell Chemical Biology. -2016, -Vol. 23, No. 3. P. 361-369. DOI: 10.1016/j.chembiol.2016.01.006.

29. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>

30. Wulff G., Sarhan A. The use of polymers with enzyme-like properties for the resolution of racemates / G. Wulff, A. Sarhan // Angewandte Chemie International Edition in English. -1972. -Vol. 11, No. 4. -P. 341 -344. DOI: 10.1002/anie.197203411.

31. Підрушняк М. В. Розробка передових матеріалів для гасіння кворуму бактерій. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2025. № 4 (159), додаток. С. 144.

SUMMARY

Pidrushniak Maryna

DESIGN OF ADVANCED MATERIALS FOR THE BACTERIAL QUORUM QUENCHING

Department of pharmacognosy and botany

Scientific supervisor: prof. Luliński P, doctor. n. farm Klejn D, prof. Karpiuk U.V.

Keywords: MIP, NIP, *P. aeruginosa*, 2-aminothiazole

Introduction. *The aim of the work.* The study is focused on the synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers (MIPs) designed for the selective recognition and removal of signaling molecules involved in bacterial communication. The synthesis of such polymers is achieved by utilizing the key Quorum Sensing (QS) signaling molecule. Among the integrated quorum signals (IQS) involved in the formation of *P. aeruginosa* biofilms is 2-(2-hydroxyphenyl)thiazole-4-carbaldehyde. Using a structural analog as a template molecule allows for integration into the QS system, while assigning alternative tasks to the biofilms formed by *P. aeruginosa*.

Materials and Methods. The study utilized 2-aminothiazole as the template molecule. The synthesis of MIPs and corresponding non-imprinted polymers (NIPs) was performed using the following components. Functional monomers: methacrylic acid, itaconic acid, 4-vinylbenzoic acid, 2-hydroxyethyl methacrylate, N-isopropylacrylamide, and 1-allyl-2-thiourea. Cross-linker: ethylene glycol dimethacrylate. Initiator: 1,1'-azobiscyclohexanecarbonitrile. Porogen: a mixture of methanol and toluene.

The synthesis was carried out via free-radical bulk polymerization under a nitrogen atmosphere. The resulting polymer block were mechanically ground and processed through 10-14 cycles of sedimentation in acetone to obtain a homogeneous particle fraction. Template removal achieved using Soxhlet extraction with methanol 24 hours and sequential washing in a Solid-Phase Extraction (SPE) vacuum manifold using 1% formic acid, 1% ammonia, and pH-