

### ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ 4-(R-ІЛІДЕНАМІНО)-3-(МОРФОЛІНОМЕТИЛЕН)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОЛІВ

**Ключові слова:** 1,2,4-триазол, протимікробна активність, метод серійних розведень

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) летальні випадки, спричинені патогенними мікроорганізмами, займають одне з провідних місць. Особливо гостро ця проблема постає в країнах, де економічні можливості не дають змоги утримувати спалахи інфекційних захворювань під повним контролем [1]. Тому необхідність в нових, доступних та високоактивних бактерицидних препаратах є доцільною та обґрунтованою [2].

Зважає та доцільне використання антибіотиків звичайно зменшує ризик розвитку антибіотикорезистентності бактерій, але не відкидає необхідності заміни застарілих препаратів на нові, більш ефективні та менш токсичні. У цьому аспекті досить перспективним класом сполук є азотовмісні системи [3]. Похідні триазолу вже давно ввійшли в світову медичну практику як високоактивні протигрибкові, нейрелептичні, гіпотензивні та спазмолітичні препарати [2, 4]. Особливу увагу в цьому разі заслуговують похідні 1,2,4-триазолу [2, 3]. Яскравим прикладом є позаконазол, воріконазол, ітраконазол, які вже встигли зарекомендувати себе як досить ефективні протигрибкові засоби [2, 4].

В джерелах літератури відсутня інформація, присвячена 4-(R-іліденаміно)-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолам. Тому, зважаючи на вищезазначену інформацію та опираючись на раніше одержані результати, ми вважали за доцільне дослідити саме тіпохідні 1,2,4-триазолу, адже таке дослідження зможе допомогти в майбутньому у разі моделювання нових та ефективних препаратів [1, 3].

**Метою** нашої роботи є вивчення протимікробних та протигрибкових властивостей 4-(R-іліденаміно)-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолів методом серійних розведень та встановлення деяких закономірностей залежності «структура–дія».

#### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом досліджень були 4-(R-іліденаміно)-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіоли (2.1–2.21) (табл. 1). Сполуки було синтезовано в лабораторії органічного синтезу кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом проф. О. І. Панасенко та проф. Є. Г. Книша [5].

Дослідження протимікробної та протигрибкової активності здійснювали на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри д-р мед. наук О. М. Камишний) згідно з методичними вказівками «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [6] та методичними рекомендаціями «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів» [7]. Дослідження виконано з використанням стандартних тест-штамів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Всі тест-штами отримано з бактеріологічної лабораторії Державної установи «Запорізький обласний лабораторний Центр державної санітарно-епідеміологічної служби України». У подальшому, з початкової концентрації речовини 1 мг/мл, готували низку дворазових серійних розведень сполук у бульйоні Мюллера–Хінтона в об'ємі 1 мл, після чого у кожну пробірку додавали по 0,1 мл мікробної суспензії ( $10^6$  мікробних клітин/мл). Під час виконання дослідження визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК)

та мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБцК/МФцК). МІК визначали за відсутності видимого росту в пробірці з мінімальною концентрацією речовини. МБцК/МФцК визначали за відсутності росту на агарі після висіву в прозорих пробірках. Розчинником сполук слугував диметилсульфоксид (99,80%). Додатково здійснено контроль поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик [6, 7].

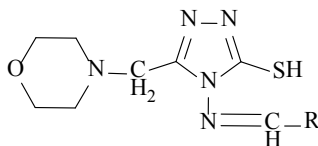
Як препарат порівняння протимікробної дії використовували Триметоприм (CAS 738-70-5, Ivy Fine Chemicals, United States), протигрибкової – Ністатин (ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”», Харків). Ці речовини обрано як референт-препарати тому, що за хімічної структурою вони подібні до вивчаємих сполук. Так, Триметоприм є азотовмісним гетероциклом, а Ністатин містить подвійні зв’язки, які присутні у всіх молекулах синтезованих сполук.

### Результати дослідження та обговорення

У результаті дослідження протимікробної та протигрибкової активності встановлено (табл. 1), що синтезовані сполуки (2.1–2.21) вибірково виявляють протимікробну дію.

Т а б л и ц я 1

### Результати протимікробної дії 4-(R-ілденаміно)-3-(морфолінометил)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолів (2.1–2.21)



№ сполуки	R	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosae</i>		<i>C. albicans</i>	
		МІК*	МБцК*	МІК*	МБцК*	МІК*	МБцК*	МІК*	МБцК*
2.1	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-CH <sub>3</sub>	125	250	125	250	125	125	125	125
2.2	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2-OH	125	250	62,5	125	125	250	125	125
2.3	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-OH	125	250	125	250	125	250	125	125
2.4	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-F	125	250	125	250	62,5	125	62,5	62,5
2.5	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,4-(F) <sub>2</sub>	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.6	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -3,4-(F) <sub>2</sub>	125	125	125	125	62,5	125	62,5	62,5
2.7	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2-Cl-6-F	125	125	62,5	62,5	62,5	125	31,25	62,5
2.8	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-Cl	125	250	125	250	125	125	125	125
2.9	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2-Br	125	250	125	250	62,5	125	125	125
2.10	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2-NO <sub>2</sub>	62,5	125	31,25	62,5	62,5	125	31,25	62,5
2.11	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -3-NO <sub>2</sub>	125	250	62,5	125	125	250	62,5	125
2.12	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-NO <sub>2</sub>	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	125
2.13	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	250	250	125	250	125	250	125	125
2.14	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,3-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	62,5	125	62,5	125	125	250	31,25	62,5
2.15	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -3,5-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	62,5	125	62,5	125	125	250	31,25	62,5
2.16	-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -2,4-(OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	125	250	125	250	62,5	125	62,5	125
2.17	-2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> S	125	250	15,6	31,25	31,25	62,5	62,5	62,5
2.18	-2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O-5-NO <sub>2</sub>	15,6	31,25	3,9	3,9	31,25	125	31,25	62,5
2.19	-2-CH=CH-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O-5-NO <sub>2</sub>	31,25	31,25	3,9	7,8	62,5	125	31,25	62,5
2.20	-2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O-5-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-COOH)	125	250	125	125	125	125	125	125
2.21	C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> -2-OH	125	250	125	250	62,5	125	62,5	125
Триметоприм		50	50	31,2	62,5	62,5	125	62,5	125
Ністатин		100	>200	200	>200	100	>200	0,78	1,56

П р и м і т к а. \* – Концентрація в мкг/мл.

Так, поява в молекулі 4- (2.3) та 2-гідроксифенільних (2.2) радикалів не виявляє вираженої протимікробної дії, хоча введення останнього дещо підвищує протимікробний ефект відносно *S. aureus*. Подальша заміна гідроксогрупи на ковалентно зв'язані атоми флуору (2.4–2.6) підвищує антимікробну активність відносно *P. aeruginosae*, причому вираженість цієї дії така сама, як і в еталона порівняння Триметоприму (МІК–62,5 мкг/мл; МБцК–125 мкг/мл). Слід зазначити, що молекули з дизаміщеними атомами флуору (2.5, 2.6) більш активні за монозаміщений (2.4), а подальша заміна на атом хлору (2.7) практично не впливає на вираженість досліджуваної дії.

Введення в молекули тіолів -NO<sub>2</sub>-груп (2.10–2.112) дещо підсилює антимікробну дію, причому відмічено вплив положення нітрогрупи на досліджувану дію. Показано, що збільшення протимікробної дії відбувається в ряду 3-NO<sub>2</sub> (2.11)→4-NO<sub>2</sub> (2.12)→2-NO<sub>2</sub> (2.10).

З джерел літератури відомо, що похідні 5-нітрофуранів мають досить виражені протимікробні властивості [4]. Опираючись на дані літератури та результати попередніх досліджень [2, 3], було вивчено протимікробну дію продуктів конденсації 4-аміно-3-(морфолінометил)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолу з 5-нітро-2-фуральдегідом (2.18) та 5-нітро-2-фурилакroleїном (2.19). Як випливає з одержаних даних, синтезовані сполуки (2.18, 2.19), за силою протимікробної дії перевищують еталон порівняння Триметоприм, причому наявність алільного фрагмента в молекулі 2.19 дещо зменшує значення МІК відносно *E. coli* та *P. aeruginosae*. Заміна -NO<sub>2</sub>-групи за п'ятим положенням ядра фурану (2.18, 2.19) на залишок 4-карбоксібенозної кислоти (2.20) призводить до різкого зниження протимікробної дії відносно всіх тестових штамів.

У подальшому, нами виконано дослідження протигрибкової дії синтезованих похідних на штамі *C. albicans*. Як було зазначено раніше, похідні 1,2,4-триазолу знайшли своє застосування в медицині як ефективні протигрибкові лікарські засоби [2]. Нажаль, досліджений клас 4-(R-іліденаміно)-3-(морфолінометил)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолів виявив досить низьку протигрибкову дію відносно еталонного штаму з результатами, які значно поступаються еталону порівняння Ністатину.

### В и с н о в к и

1. У ході експерименту встановлено, що найбільш виражену протимікробну дію виявляють 3-(морфолінометил)-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіол (2.18) та 3-(морфолінометил)-4-(((3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліден)аміно)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіол (2.19), перевищуючи еталон порівняння Триметоприм.

2. Дослідження сполук 2.1–2.21 виявило відсутність виражених протигрибкових властивостей відносно еталонного штаму *C. albicans*.

3. У результаті дослідження відзначено деякі закономірності залежності «структура–дія», які можуть бути інтегровані в подальший цілеспрямований пошук речовин із протимікробними властивостями.

### Л І Т Е Р А Т У Р А

1. World Health Statistics 2014. – Geneva: World Health Organization, 2014. — 178 с.
2. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2014. – 1216 с.
3. *Щербина Р. О.* Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 2-(4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетальдегіду: Дис. ... канд. фарм. наук. – Запоріжжя, 2014. – 231 с.
4. *Brenner G. M., Stevens C. W.* Pharmacology. - 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2012. - 528 p.
5. *Щербина Р. О., Панасенко О. І., Книш Є. Г.* Синтез ряду іліденопохідних 4-аміно-3-(морфолінометил)-4Н-1,2,4-триазол-5-тіолу // Фармац. журн. – 2014. – № 5. – С. 63–69.
6. Наказ МОЗ від 05. 04. 2007 № 167 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?code=v0167282-07>.
7. *Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П.* Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.

Надійшла до редакції 20. 05. 2015.

Р. А. Щербина, А. И. Панасенко, Е. Г. Кныш, А. М. Камышный

Запорожский государственный медицинский университет

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ 4-(R-ИЛИДЕНАМИНО)-3-(МОРФОЛИНОМЕТИЛЕН)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТИОЛОВ

**Ключевые слова:** 1,2,4-триазол, противомикробная активность, метод серийных разведений

А Н Н О Т А Ц И Я

По данным Всемирной организации здравоохранения летальные случаи, вызванные патогенными микроорганизмами, занимают одно из ведущих мест. Особенно остро эта проблема выражена в странах, где экономические возможности не позволяют удерживать вспышки инфекционных заболеваний под контролем. Поэтому необходимость в новых, доступных и высокоактивных бактерицидных препаратах целесообразна и обоснована. К сожалению, в источниках литературы отсутствует информация, посвященная 4-(R-илиденамино)-3-(морфолинометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-тиолам.

Целью работы являлось изучение противомикробных и противогрибковых свойств 4-(R-илиденамино)-3-(морфолинометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-тиолов методом серийных разведений и установление некоторых закономерностей зависимости «структура–действие».

Исследование проведено с использованием стандартных тест-штаммов: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*. В качестве препарата сравнения противомикробного действия использовали Триметоприм, противогрибкового – Нистатин.

Таким образом, наиболее выраженное противомикробное действие проявляют 3-(морфолинометилен)-4-(((5-нитрофуран-2-ил)метилен)амино)-4Н-1,2,4-триазол-5-тиол (2.18) и 3-(морфолинометилен)-4-((3-(5-нитрофуран-2-ил)алилиден)амино)-4Н-1,2,4-триазол-5-тиол (2.19), превышая эталон сравнения Триметоприм. Исследование соединений 2.1–2.21 выявило отсутствие выраженных противогрибковых свойств относительно эталонного штамма *C. albicans*. В результате исследования отмечены некоторые закономерности зависимости «структура–действие», которые могут быть интегрированы в дальнейшем при целенаправленном поиске веществ с противомикробными свойствами.

R. O. Shcherbyna, O. I. Panasenko, Ye. H. Knysh, O. M. Kamyshnyy

Zaporizhzhia State Medical University

THE STUDING OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 4-(R-YLIDENAMINO)-3-(MORPHOLINOMETHYLENE)-4H-1,2,4-TRIAZOLE-5-THIOL

**Key words:** 1,2,4-triazole, antimicrobial activity, the method of serial dilutions

A B S T R A C T

According to the information of the World Health Organization (WHO) the lethal cases caused by pathogenic microorganisms occupied the one of the leading places. Most acutely the problem posed in countries where economic opportunities does not hold the flashes of infectious diseases under control. Therefore necessity of the new, available and high bactericidal drugs is reasonable and justified. Unfortunately, in literary sources missing information which devoted to 4-(R-ylidenamino)-3-(morpholinomethylene)-4H-1,2,4-triazole-5-thioles.

The main aim of our work are studying antimicrobial and antifungal properties of 4-(R-ylidenamino)-3-(morpholinomethylene)-4H-1,2,4-triazole-5-thioles by serial dilutions method and establishing some patterns dependence “structure-action”. The research was conducted by using of standard test cultures: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*. The trimethoprim was used as reference preparation for antimicrobial activity studying, the nystatinum – for antifungal.

Thus, the most pronounced antimicrobial action during the experiment shows 3-(morpholinomethylene)-4-(((5-nitrofuranyl)methylene)amino)-4H-1,2,4-triazole-5-thiol (2.18) and 3-(morpholinomethylene)-4-((3-(5-nitrofuranyl)allylidene)amino)-4H-1,2,4-triazole-5-thiol (2.19) which exceeds the standard comparison drug trimethoprim. The researching of compounds 2.1–2.21 has specified the absence of pronounced antifungal properties for a reference strain of *C. albicans*. Some regularities of the influence structure of tested substances for the pharmacological activity were established, and they can be useful in future searching of highly effective antimicrobial drugs.

Електронна адреса для листування з авторами: [rscherbyna@gmail.com](mailto:rscherbyna@gmail.com)