

УДК 615.31:547.792]:[615.281+615.281.9]-047.37

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ ТА ПРОТИГРИБКОВОЇ
АКТИВНОСТІ В РЯДУ S-ПОХІДНИХ 3-(МОРФОЛІНОМЕТИЛЕН)-4-R-
4H-1,2,4-ТРІАЗОЛ-5-ТІОЛІВ**

Р. О. Щербина, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, Н. М. Поліщук

Запорізький державний медичний університет

Резюме. В роботі наведені результати дослідження 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот на протимікробну та протигрибкову активність. Встановлено, що сполука 2-((4-метил-3-(морфолінометилен)-4H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатна кислота (1.2) за силою фармакологічної дії перевищує еталон порівняння триметоприм. Відмічено перспективність подальшої хімічної модифікації S-похідних 3-(морфолінометилен)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-5-тіолів та встановлені деякі закономірності залежності «структура - дія».

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, протимікробна та протигрибкова активність, метод серійних розведень.

Вступ. Вивчення та впровадження в фармацевтичну практику відносно нетоксичних препаратів з високою біологічною активністю є пріоритетним завданням практичної фармації. Інфекційні захворювання займають провідні позиції серед причин інвалідності, непрацездатності та передчасної смертності населення [1, 6]. В зв'язку з цим, особливої актуальності набув цілеспрямований органічний синтез з метою створення нових лікарських препаратів, які дозволяють найбільш ефективно і, в той же час, максимально безпечно вирішувати поставлену проблему. Аналіз літератури показує [1, 3, 4], що антибіотичні, антисептичні та дезінфікуючі засоби які застосовуються в медичній практиці з часом втрачають свою терапевтичну цінність. Дане явище обумовлено формуванням резистентних форм мікроорганізмів [5].

Огляд наукової літератури дозволяє зробити висновок, що пошук потенційних протимікробних сполук слід вести в ряду S-похідних 1,2,4-тріазол-5-тіолів [2, 4-6]. Висока реакційна здатність та широке коло хімічних перетворень тіопохідних 1,2,4-тріазолів дозволяють широко їх застосовувати при хімічному моделюванні різноманітних гетероциклічних систем [3]. В науковій літературі досить детально охарактеризовані протизапальна, протимікробна, аналгетична та інші види активності при низьких показниках гострої токсичності [3-5]. Проте, в дослідженому різноманітті гетероциклічних систем на основі 1,2,4-тріазол-5-тіолу [1-6] не приділено належної уваги похідним 3-(морфолінометилен)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-5-тіолів, хоча наявність в молекулі залишку морфоліну значно підвищує фармакологічний ефект синтетичних речовин [3, 4]. Таким чином, нами представлялось за доцільне

дослідити саме даний клас хімічних речовин, так як вони є перспективними для пошуку нових протимікробних сполук, а оцінка їх біологічної активності є досить актуальною.

Метою даного дослідження є вивчення протимікробних та протигрибкових властивостей нових похідних 3-(морфолінометил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-5-тіолів методом серійних розведень та встановлення деяких закономірностей залежності «структура-дія».

Матеріал та методи дослідження. Об'єктами наших досліджень були 10 нових сполук (табл.1), похідних 3-(морфолінометил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-5-тіолів, які були синтезовані на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри д.фарм.н., професор О.І. Панасенко). Дані сполуки представляють собою кристалічні речовини, які не мають запаху, розчинні у воді або органічних розчинниках.

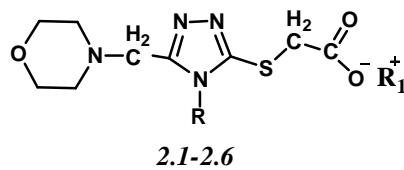
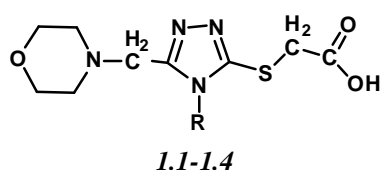


Схема 1

R= H(1.1), -CH₃ (1.2), -C₂H₅ (1.3), -C₆H₅ (1.4); R= -C₆H₅ (2.1-2.6), R₁= Na(2.1), K (2.2), NH₄ (2.3), NH₃-CH₂-CH₂-OH (2.4), піперидил (2.5), морфоліл (2.6).

Дослідження протимікробної та протигрибкової активності проводилося на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри д.мед.н, О. М. Камишний) згідно до методичних вказівок “Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів” [8] та методичних рекомендацій “Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів” [7]. Дослідження проведене 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». В подальшому, з початкової концентрації речовини 1 мг/мл, готували ряд дворазових серійних розведень сполук у бульйоні Мюллер-Хінтона в об'ємі 1 мл, після чого у кожен пробірку додавали по 0,1 мл мікробної суспензії (10⁶ мікробних клітин/мл). При проведенні дослідження визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) та мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБЦК/МФЦК). МІК визначалася за відсутністю видимого росту в пробірці з мінімальною концентрацією речовини. МБЦК/МФЦК визначалася за відсутністю росту на агарі після висіву в прозорих пробірках. В якості препарату порівняння протимікробної активності сполук застосовували розчин хлоргексидину 0,05% («Здоров'я», Україна), а розчинником сполук слугував

диметилсульфоксид (99,80%). Додатково проведено контроль поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик [7, 8].

При первинному скринінговому дослідженні синтезованих речовин застосовували еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, які належать до різних за морфологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань.

Результати та обговорення. В результаті проведеного дослідження протимікробної та протигрибкової активності встановлено (табл. 1), що синтезовані сполуки (1.1–1.4, 2.1–2.6) вибірково проявляють протимікробну та протигрибкову дію. Аналізуючи вплив 2-((4-*R*-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот (1.1-1.4) відмічено, що сполука 2-((4-метил-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатна кислота (1.2) проявляє виражену бактеріостатичну та бактерицидну дію (МІК-1,95 мкг/мл, МБЦК-7,8 мкг/мл) відносно *P. aeruginosae* перевищуючи при цьому дію еталону порівняння триметоприму. Заміна метильного радикалу при N4 атомі 1,2,4-тріазолового циклу етильним, фенільним або відсутність замісника знижує активність відносно вказаного штаму мікроорганізмів. Цікаво відзначити, що сполуки 1.2 та 1.3 на ряду з вибірковою протимікробною дією проявляють протигрибкову дію і перевищують еталон порівняння зі значеннями МІК-31,25 мкг/мл, МБЦК-62,5 мкг/мл відповідно.

Подальший перехід до солей (2.1-2.6) неоднозначно впливає на результати дослідження. Так, морфолініум 2-((3-(морфолінометилен)-4-феніл-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетат (2.6) виявився найбільш активним серед вказаного класу сполук відносно *P. aeruginosae* (МІК-15,6 мкг/мл, МБЦК-31,25 мкг/мл) та *S. albicans* (МІК-31,25 мкг/мл, МБЦК-62,5 мкг/мл). Нами також відмічено, що перехід від натрієвої (2.1) до калієвої (2.2) та амонієвої (2.3) солей 2-((3-(морфолінометилен)-4-феніл-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти слабо впливає на протимікробну активність.

За результати дослідження встановлено, що сполуки 1.1–1.4 та 2.1–2.6 проявляють незначну бактеріостатичну та бактерицидну дію відносно штамів *E. coli* (МІК-125-250 мкг/мл, МБЦК-125-250 мкг/мл) та *S. aureus* (МІК-125 мкг/мл, МБЦК-125-250 мкг/мл).

Протимікробна та протигрибкова активність 3-(морфолінометилен)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-5-тіолів

Сполука	Бактерицидна активність						Фунгіцидна активність	
	E. coli		S. aureus		P. aeruginosae		C. albicans	
	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МФЦК, МКГ/МЛ
Триметоприм	50	50	31,2	62,5	62,5	125	62,5	125
1.1	125	250	125	125	62,5	125	62,5	62,5
1.2	125	125	125	250	1,95	7,8	31,25	62,5
1.3	250	250	125	250	15,6	31,25	31,25	62,5
1.4	125	125	125	250	125	125	62,5	62,5
2.1	125	125	125	125	62,5	125	62,5	125
2.2	125	250	125	250	62,5	125	62,5	62,5
2.3	125	125	125	250	125	125	62,5	62,5
2.4	125	250	125	250	62,5	125	62,5	62,5
2.5	125	250	125	250	62,5	125	62,5	125
2.6	125	125	125	250	15,6	31,25	31,25	62,5

Висновки. Досліджено протимікробну та протигрибкову активність нових похідних 3-(морфолінометилен)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-5-тіолів. В результаті дослідження встановлені деякі закономірності залежності «структура-дія» та виявлена сполука 2-((4-метил-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатна кислота (1.2), що перевищує протигрибкову та протимікробну активність еталону порівняння триметоприму.

Література

1. Synthesis and antimicrobial activity of new 1,2,4-triazole-3-thiol metronidazole derivatives / Saadeh H. A., Moslheh I. M., Al-Bakri A. G. // *Monatsh Chem.* – 2010. – Vol. 141. – P. 471–478.
2. Пат. 74648 Україна, МПК 2012.01 C07D 249/00, A61K31/00. Похідні 1,2,4-тріазолу, що проявляють протимікробну активність / Є. Г. Книш, О. І. Панасенко, А. А. Сафонов [та ін.]. – № у 2012 03353 ; опубл. 12.11.12, Бюл. № 21.
3. Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, які містять ядро фурану : дис. ... канд. фарм. наук / В. В. Парченко. – К., 2006. – 207 с.
4. Каплаушенко А. Г. Синтез, будова і біологічна активність похідних 4-моно- та 4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіону : дис. ... д-ра фарм. наук / А. Г. Каплаушенко. – Запоріжжя, 2012. – 387 с.
5. Щербина Р. О. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 2-(4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегіду : дис. ... канд. фарм. наук / Р. О. Щербина. – Запоріжжя, 2014. – 231 с.
6. Synthesis and antimicrobial evaluation of some novel 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives / Jukasz Popioiek, Urszula Kosikowska, Liliana Mazur [et al.]. // *Med. Chem. Res.* – 2013. – Vol. 22, issue 7. – P. 3134–3147.

7. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.

8. 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>.

Резюме. В работе приведены результаты исследования 2-((4-R-3-(морфолинометил)-4H-1,2,4-триазол-5-ил)тио)уксусных кислот на противомикробную и противогрибковую активность. Установлено, что соединение 2-((4-метил-3-(морфолинометил)-4H-1,2,4-триазол-5-ил)тио)уксусная кислота (1.2) по силе фармакологического действия превышает эталон сравнения триметоприм. Отмечено перспективность дальнейшей химической модификации S-производных 3-(морфолинометил)-4-R-4H-1,2,4-триазол-5-тиолов и установлены некоторые закономерности зависимости «структура-действие».

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, противомикробная и противогрибковая активность, метод серийных разведений.

Summary. Paper gives the results of studying of 2-((4-R-3-(morpholinomethylene)-4H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)acetic acid for antimicrobial and antifungal activity. As a result of research the compound 2-((4-methyl-3-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)acetic acid (1.2) which in pharmacological action exceeds the reference standard trimethoprim have been established. The perspective of further chemical modification of the S-derivatives 3-(morpholinomethylene)-4-R-4H-1,2,4-triazole-5-thiols and some patterns between “structure” and “action” were described.

Keywords: 1,2,4-triazole, antimicrobial and antifungal activity, the method of serial dilutions