

## Моніторинг властивостей похідних 1,2,4-тріазолу щодо створення оригінальних антимікробних препаратів

Л. І. Кучеренко<sup>1,A,F</sup>, Ю. В. Карпенко<sup>1,\*1,A,C,D</sup>, М. В. Оглобліна<sup>3,B,C</sup>, В. В. Зажарський<sup>2,B,C,D</sup>,  
М. В. Білан<sup>2,B,C</sup>, О. М. Кулішенко<sup>2,B,C</sup>, І. В. Бушуєва<sup>1,B,C,E,F</sup>, В. В. Парченко<sup>1,A,C,F</sup>

<sup>1</sup>Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна, <sup>2</sup>Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Україна, <sup>3</sup>Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – комплексне вивчення антимікробних властивостей нових похідних 1,2,4-тріазолу за допомогою інструментів *in silico* та *in vitro* досліджень.

**Матеріали і методи.** Використали комп'ютерні методи пошуку сполуки з вираженою антибактеріальною активністю, *in silico* дослідження з застосуванням молекулярного докінгу (рецептори бета-лактамаза класу А (PDB id: 1n9b) і бета-лактамаза класу А SHV-1 (PDB id: 2zd8)) та *in vitro* дослідження на 16 видах мікроорганізмів. Після цього для сполук, що пройшли *in silico* аналіз, здійснили *in vitro* дослідження на антимікробну активність. Після підготовки розчинів різних концентрацій через 24 години ріст культури виміряли за зональною шкалою для зчитування розмірів зон пригнічення росту мікроорганізмів (Antibiotic Zone Scale-C, модель PW297, Індія), використали програмне забезпечення TrpDig2 (2016, F. James Rohlf). Статистично результати дослідження опрацювали за допомогою програмного забезпечення Statistica 13 (StatSoft Inc., США).

**Результати.** За результатами молекулярного докінгу, сполуки 2 і 7 мають сильну афінність зв'язування з ферментами класу А, тому вони можуть бути ефективними під час лікування інфекції, спричиненої *K. pneumoniae*. Порядок зростання прогнозованої спорідненості зв'язування через розраховану оцінку щодо ферментів TEM і SHV такий: сполука 4 < сполука 3 < сполука 1 < сполука 7 < сполука 2. Встановили, що досліджені хімічні сполуки 1–4, 7 інгібують зростання колоній багатьох видів мікроорганізмів сімейства *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae* і *Bacillaceae*.

**Висновки.** Вперше дослідили комплексну інгібуювальну дію хімічних сполук 1–4 і 7 щодо 16 штамів бактерій. Встановлено виражену антибактеріальну дію сполук: сполуки 1 – щодо 13, сполуки 2 – щодо 9, сполуки 3 – щодо 10, сполуки 4 – щодо 7, сполуки 7 – щодо 10 з 16 досліджених полірезистентних штамів бактерій.

### Ключові слова:

похідні 1,2,4-тріазолу, біологічна активність, антимікробна дія, дослідження *in silico*, *in vitro*.

Запорізький медичний журнал. 2024. Т. 26, № 6(147). С. 481-489

\*E-mail: karpenko.y.v@gmail.com

## Monitoring the properties of 1,2,4-triazole derivatives for the development of original antimicrobial drugs

L. I. Kucherenko, Yu. V. Karpenko, M. V. Ohloblina, V. V. Zazharskyi, M. V. Bilan, O. M. Kulishenko, I. V. Bushuieva, V. V. Parchenko

**Aim.** A comprehensive study on the antimicrobial properties of new 1,2,4-triazole derivatives using the tools of *in silico* and *in vitro* studies.

**Materials and methods.** Computer search techniques were used to find a compound with a strong antibacterial activity; *in silico* molecular docking (receptors for class A (PDB id: 1n9b) and class A SHV-1 (PDB id: 2zd8) beta-lactamase) and *in vitro* studies on 16 types of microorganisms. Then, the *in silico* analyzed compounds were tested *in vitro* for antimicrobial activity. After preparing solutions of different concentrations, the culture growth was measured on a zonal scale for detecting sizes of microbial growth inhibition zones after 24 hours (Antibiotic Zone Scale-C, model RW297, India) and a TrpDig2 software (2016, F. James Rohlf). Statistical analysis of the study results was carried out using the Statistica 13 software (StatSoft Inc., USA).

**Results.** From the results of molecular docking, a strong binding affinity to class A enzymes has been found in compounds 2, 7, so they could be effective in the treatment of infection caused by *K. pneumoniae*. The ascending order of the predicted binding affinity through the calculated score for TEM and SHV enzymes was as follows: compound 4 < compound 3 < compound 1 < compound 7 < compound 2. According to our results, the studied chemical compounds 1–4, 7 inhibited the growth of many microbial species of the *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae* and *Bacillaceae* families.

**Conclusions.** For the first time, studies on the complex inhibitory effect of chemical compounds 1–4, 7 were conducted using 16 bacterial strains. Evident antibacterial effects of the studied compounds have been established: compound 1 against 13, compound 2 – 9, compound 3 – 10, compound 4 – 7, compound 7 – 10 out of 16 tested polyresistant bacterial strains.

### Keywords:

1,2,4-triazole, biological activity, antimicrobial effect, *in silico*, *in vitro*.

Zaporozhye Medical Journal. 2024;26(6):481-489

Використання протимікробних препаратів у клінічній практиці – ключовий елемент сучасної медицини, що сприяє широкому спектру можливостей ефективно протидіяти різноманітним інфекційним захворюванням [1]. Антимікробні засоби є основним компонентом під

час боротьби з різними інфекціями. Ці ліки допомагають суттєво знизити смертність від інфекційних хвороб, покращити лікування складних захворювань, а також забезпечити ефективну підтримку під час хірургічних операцій тощо [2]. Антимікробні ліки сприяють пригні-

ченню росту або повністю знищують патогенні мікроорганізми. Отже, ці засоби є важливою складовою під час лікування інфекційних хвороб, але їхня ефективність з часом може зменшуватись. Залежить ця ефективність не лише від відповідального використання антимікробного препарату, але і від абсолютно об'єктивного показника – резистентності мікроорганізмів [3].

Резистентність до певних антимікробних засобів визначають як відсутність очікуваного терапевтичного ефекту під час їх використання. Тобто лікарські препарати перестають вбивати бактерії або пригнічувати їх розмноження. Стійкість бактерій формується, якщо вони тривалий час перебувають під впливом антибактеріального препарату. Зауважимо, що при цьому спостерігають загибель певної частки бактерій, але інша частина продовжує існувати, розмножуватися і набувати стійкості до цього антимікробного засобу.

Система охорони здоров'я України має бути готова до протистояння різним інфекційним захворюванням, незважаючи на складні умови війни, в яких нині перебуває країна. За словами керівника офісу Всесвітньої організації охорони здоров'я, «внаслідок повномасштабної війни в Україні зростає тяжкість перебігу захворювань, а також збільшилася захворюваність на окремі інфекційні хвороби» [4]. Центр громадського здоров'я щомісяця публікує статистичну інформацію про поширеність в Україні різних інфекційних хвороб, зокрема гострих кишкових інфекційних захворювань, шигельозу, лептоспірозу, правця, кашлюка, дифтерії, менингококової інфекції, вірусного менінгіту, кору, краснухи, вірусних гепатитів, грипу тощо. Крім того, епідеміологічна ситуація обтяжується зоонозами. Тільки за п'ять місяців 2024 року (січень – травень) за переліком інфекційних хвороб зареєстровано збільшення кількості випадків на 1,5–38,1 %.

Тому розроблення нових молекул, що характеризуватимуться покращеними показниками активності, є завжди актуальним завданням фармацевтичної науки. У цьому контексті як перспективні визначають похідні 1,2,4-тріазолу, які протягом багатьох років є об'єктом наукових студій [5,6]. Антимікробна активність 1,2,4-тріазолів доволі добре досліджена, але ці сполуки мають тенденцію до збільшення кількості активних молекул. Серед похідних 1,2,4-тріазолу є сполуки, які характеризуються сильними протимікробними властивостями, і тому можуть бути активними фармацевтичними інгредієнтами (АФІ) потенційних ліків.

Хімічна модифікація речовин шляхом змін функціонального складу або додаткового введення різних замісників – ключовий аспект під час створення нових молекул, які можуть сприяти подоланню резистентності збудників, що поширюються [7].

## Мета роботи

Комплексне вивчення антимікробних властивостей нових похідних 1,2,4-тріазолу за допомогою інструментів *in silico* та *in vitro* досліджень.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження ґрунтується на використанні комп'ютерних методів пошуку сполуки з вираженою антибактері-

альною активністю, здійсненні *in silico* досліджень із застосуванням молекулярного докінгу, а також *in vitro* досліджень на 16 видах мікроорганізмів. Експеримент спрямований на зменшення кількості маніпуляцій і дає змогу комплексно вивчити антимікробні властивості нових похідних 1,2,4-тріазолу (рис. 1).

На початку дослідження з хімічної бази похідних 1,2,4-тріазолу (1000 сполук) обрали 8 сполук із потенційною антибактеріальною активністю за допомогою біоінформаційних засобів (ADME-фільтри, QSAR-аналіз).

Попередньо здійснили *in silico* дослідження сполук, які перетворені на 3D-формат за допомогою Spartan 14. Набір V3LYP і 6-31G\* використали як базовий для оптимізації досліджуваних сполук, а також отримали низку дескрипторів для наступного дослідження. Ці дескриптори – найвища зайнята молекулярна орбітальна енергія ( $E_{\text{HOMO}}$ ), найнижча незайнята молекулярна орбітальна енергія ( $E_{\text{LUMO}}$ ), енергетична щільність, дипольний момент, площа полярної поверхні, ліпофільність, донор та акцептор водневого зв'язку. Оптимізовані сполуки опрацювали, застосували інструментальне програмне забезпечення AutoDock [7] для перетворення на формат \*.pdbqt перед розрахунком докінгу за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina [8].

Рецептори (бета-лактамаза класу А (PDB id: 1n9b) [9] і бета-лактамаза класу А SHV-1 (PDB id: 2zd8) [10]) одержали з банку даних білка з роздільною здатністю 0,90 Å та 1,05 Å відповідно. Ці рецептори опрацювали, використавши програмне забезпечення Discovery studio, шляхом видалення молекул води, невеликих молекул, завантажених разом із рецепторами; зберегли у форматі \*.pdb. Активні центри в оброблених рецепторах визначили за допомогою програмного забезпечення AutoDock перед докінгом. Прогнозована сітка для двох рецепторів встановлена так: центр ( $X = 2,890877$ ,  $Y = -27,231308$  і  $Z = 46,482723$ ) для бета-лактамази класу А (PDB id: 1n9b) (рис. 1, 2), а центр ( $X = 23,809919$ ,  $Y = 29,185145$  і  $Z = 3,684532$ ) (рис. 3, 4) встановлено для бета-лактамази SHV-1 класу А (PDB id: 2zd8) і того самого розміру ( $X = 40$ ,  $Y = 40$  і  $Z = 40$ ); інтервал, що дорівнював 1,00 Å, однаковий для обох цілей і збережений у форматі \*.pdbqt. Підготовлені ліганди та рецептори докували за допомогою AutoDock Vina, щоб розрахувати афінність зв'язування та спостерігати типи незв'язувальних взаємодій між комплексами, що аналізували.

У результаті обрали потенційні сполуки-лідери для *in vitro* досліджень (рис. 2). Сполуки ресинтезовано за описаними раніше методиками [11,12].

Після цього для сполук, що пройшли *in silico* аналіз, здійснили *in vitro* дослідження на антимікробну активність. Готували етанольний екстракт сполук 1–5 у розведенні 0,1 %, 0,5 % і 1,0 %. З фільтрувального паперу вирізали диски (діаметр – 6 мм), насичували екстрактами та висушували в ламінарній шафі (LAM 2 kl, PORSA-Ukraine).

Антибактеріальну активність різних концентрацій сполук 1–5 визначали диско-дифузійним методом з епізоотичними (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*) та

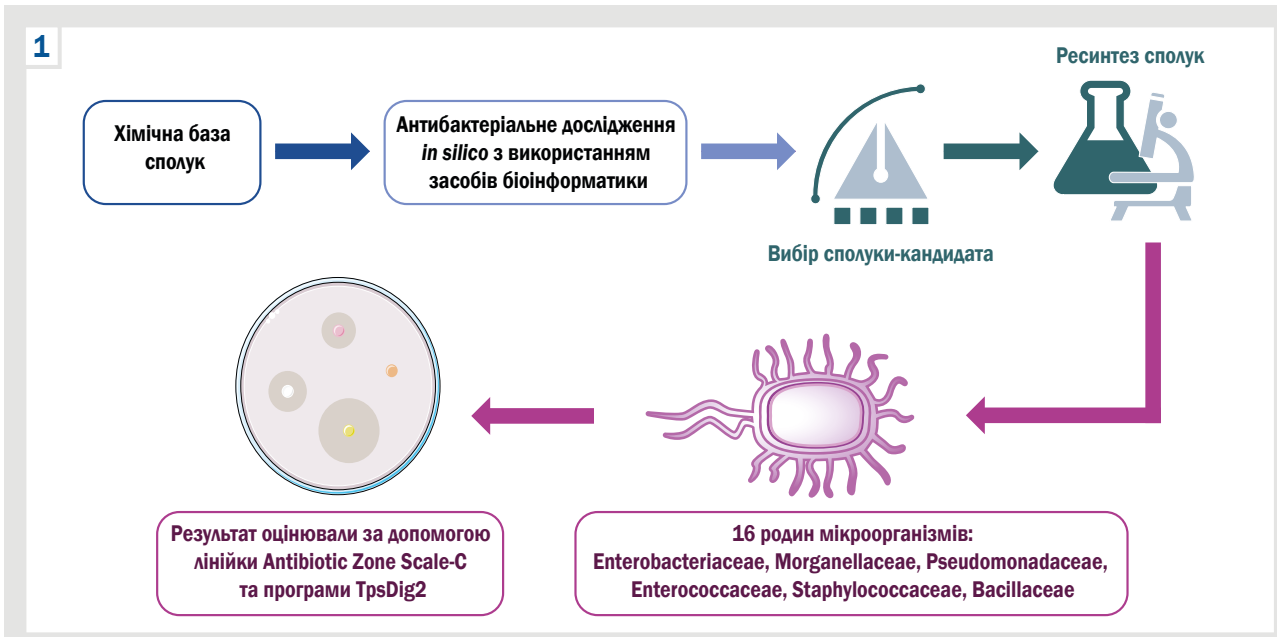


Рис. 1. Структурна схема дослідження антибактеріальної активності сполук.

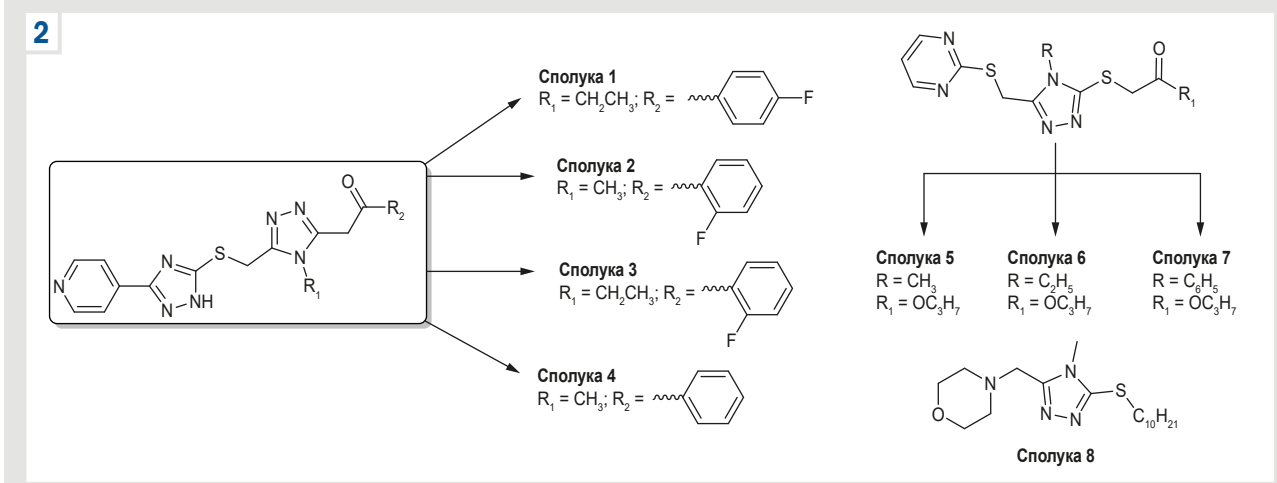


Рис. 2. Структури потенційних сполук-лідерів для in vitro досліджень.

еталонними (*Proteus vulgaris* UNCSM-011, *Escherichia coli* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* UNCSM-014, *Staphylococcus aureus* UNCSM-017, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) штамми мікроорганізмів. Із добових культур цих мікроорганізмів готували завись, в якій кількість бактерій ( $1,5 \times 10^8$  КУО (колонієутворювальних одиниць) за стандартом каламутності) визначали за допомогою денситометра DEN-1 (Латвія, табл. 1).

Надалі завись рівномірно висівали в чашки Петрі з Mueller Hinton Agar (Himedia). На поверхню середовища з інокулятом стерильним пінцетом розкладали диски (діаметр – 6 мм, дотримуючись відстані між дисками як мінімум 24 мм, від країв чашки Петрі – 15 мм), які просочували підготовленими екстрактами, та культивували в термостаті ТСО-80/1 у перевернутому догори дном положенні за температури 37 °С протягом 24 годин.

Як позитивний контроль використали диски з 10 мкг стрептоміцину – антибіотика, що утворюється в процесі життєдіяльності променистих грибів роду

Таблиця 1. Вивчення таксономічного складу 16 видів мікроорганізмів

Клас	Родина	Вид, штам
Gammaproteobacteria	Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter cloacae</i> 1
		<i>Enterobacter cloacae</i> 2
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>rhinoscleromatis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozaenae</i> 1
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozaenae</i> 2
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozaenae</i> 3
		<i>Klebsiella aerogenes</i>
		<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ( <i>typhimurium</i> ) UNCSM-014
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923
		<i>Proteus vulgaris</i> UNCSM-011
		Bacilli
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Enterococcaceae	<i>Enterococcus faecalis</i>	
	<i>Enterococcus faecium</i>	
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i> UNCSM-017	
Bacillaceae	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	

Таблиця 2. Розрахункова оцінка, амінокислотний залишок і типи взаємодій без зв'язування 1n9b

№ сполуки	Енергія зв'язування з 1n9b (кДж/моль)	Амінокислотні залишки та незв'язувальні взаємодії
1	-30,5553	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, MET A:46, LEU A:286, ALAA:59, ALAA:285; полярні: GLN A:32, GLN A:28, THR A:58, SER A:26; іонізовані: негативно – GLU A:31, GLU A:48, GLU A:288
2	-28,2986	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, LEU A:286, LEU A:57, MET A:46, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, THR A:58, SER A:26; іонізовані: позитивно – ARG A:292, негативно – GLU A:31
3	-26,7076	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:59, ALAA:285, MET A:46, ILE A:282, LEU A:286; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, THR A:58, SER A:26; іонізовані: негативно – GLU A:31, GLU A:48, GLU A:288
4	-27,8045	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, TRP A:60, ALAA:59, ALAA:285, ILE A:282, LEU A:286, MET A:46; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, THR A:58, SER A:26; іонізовані: позитивно – ARG A:292, негативно – GLU A:31
5	-26,3433	Гідрофобні: LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:284, ALAA:285, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, GLN A:278, HID A:289, SER A:26, SER A:36; іонізовані: негативно – GLU A:31
6	-26,2470	Гідрофобні: LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, LEU A:286, ALAA:280, ALAA:284, ALAA:285, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, SER A:26; іонізовані: позитивно – LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288
7	-31,2168	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, TRP A:60, ALAA:59, ALAA:285; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, THR A:58, SER A:26; іонізовані: негативно – GLU A:31, GLU A:288
8	-26,2973	Гідрофобні: LEU A:35, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, TRP A:290, VAL A:261, ILE A:287, LEU A:286, ALAA:285, ALAA:284, GLY A:283, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, THR A:58; іонізовані: позитивно – ARG A:292, ARG A:259, негативно – GLU A:31, GLU A:48

Таблиця 3. Розрахункова оцінка, амінокислотний залишок і типи взаємодій без зв'язування 2zd8

№ сполуки	Енергія зв'язування з 2zd8 (кДж/моль)	Амінокислотні залишки та незв'язувальні взаємодії
1	-31,5434	Гідрофобні: LEU A:35, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284; полярні: GLN A:32, GLN A:28, THR A:58, SER A:26, SER A:36; іонізовані: позитивно – ARG A:292, LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288
2	-32,2216	Гідрофобні: LEU A:35, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, THR A:58, SER A:26, HID A:289, GLN A:39; іонізовані: позитивно – ARG A:292, негативно – GLU A:31
3	-30,8065	Гідрофобні: LEU A:35, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, SER A:26, SER A:36; іонізовані: позитивно – LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288
4	-29,2071	Гідрофобні: LEU A:35, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284, ILE A:282; полярні: GLN A:32, GLN A:28, THR A:58, HID A:289, SER A:26; іонізовані: позитивно – ARG A:292, негативно – GLU A:31
5	-25,8912	Гідрофобні: LEU A:286, ILE A:282, ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284, MET A:46; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, SER A:26; іонізовані негативно – GLU A:31
6	-24,6268	Гідрофобні: ILE A:33, LEU A:30, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284, ILE A:282, LEU A:286, ILE A:287; полярні: GLN A:32, GLN A:28, SER A:26, HID A:289; іонізовані: позитивно – LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288
7	-29,7598	Гідрофобні: LEU A:35, LEU A:286, ILE A:33, ILE A:282, LEU A:286, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:285, ALAA:284; полярні: GLN A:32, GLN A:28, SER A:26, HID A:289; іонізовані: позитивно – LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288
8	-26,7034	Гідрофобні: LEU A:35, LEU A:30, LEU A:250, ILE A:287, TRP A:290, ILE A:33, ILE A:282, LEU A:286, PRO A:29, PRO A:27, ALAA:280, ALAA:285, ALAA:284; полярні: GLN A:32, GLN A:28, HID A:289, SER A:26; іонізовані: позитивно – ARG A:292, LYS A:34, негативно – GLU A:31, GLU A:288

*Streptomyces* [13]. Через 24 години ріст культури виміряли за зональною шкалою для зчитування розмірів зон пригнічення росту мікроорганізмів (Antibiotic Zone Scale-C, модель PW297, Індія), шляхом визначення ділянки пригнічення росту мікроорганізмів навколо дисків, визначали в міліметрах (E. A. Tendencia, 2004; V. V. Zazharskyi et al., 2019). Використали програмне забезпечення TpsDig2 (F. James Rohlf, 2016).

Поверх посівів наносили диски ( $n = 8$ ), насичені відповідними спиртовими розчинами сполук (табл. 1).

Статистично кількісні результати дослідження опрацювали, застосувавши програмне забезпечення Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). Розраховали середнє значення та стандартне відхилення ( $x \pm SD$ ). Відмінності між значеннями в групах контролю та досліді визначали за допомогою тесту Тьюкі, де відмінності визначають як вірогідні при  $p < 0,05$  (враховуючи поправку Бонферроні). Дані в таблицях наведені як  $x \pm SD$  (стандартне відхилення).

## Результати

Під час цього дослідження проаналізовано саме грам-негативні факультативно-анаеробні паличкоподібні бактерії групи *Klebsiella*, оскільки їх визначено як достатньо патогенні. Окремі штами бактерій мають полірезистентність до багатьох антибіотиків, що спричинена наявністю R-плазмід; крім того є штами, які характеризуються стійкістю до карбапенемів внаслідок наявності карбапенем-гідролізуючих  $\beta$ -лактамаз. Капсула, що формується цими бактеріями, також є фактором патогенності [14]. *Klebsiella pneumoniae* – один зі збудників пневмонії, а також інфекцій сечостатевої системи, гнійних абсцесів печінки, селезінки [15].

Тому здійснили молекулярний докінг на ферментах  $\beta$ -лактамази: class A beta-lactamase (PDB: 1n9b) та SHV-1 class A beta-lactamase (PDB: 2zd8), які мають *K. pneumoniae*.

Згідно з результатами докінгу, що наведені в таблиці 2, сполуки 2, 3 і 4 зі схожими енергіями зв'язування (-28,2986 кДж/моль, -26,7076 кДж/моль та -27,8045



3

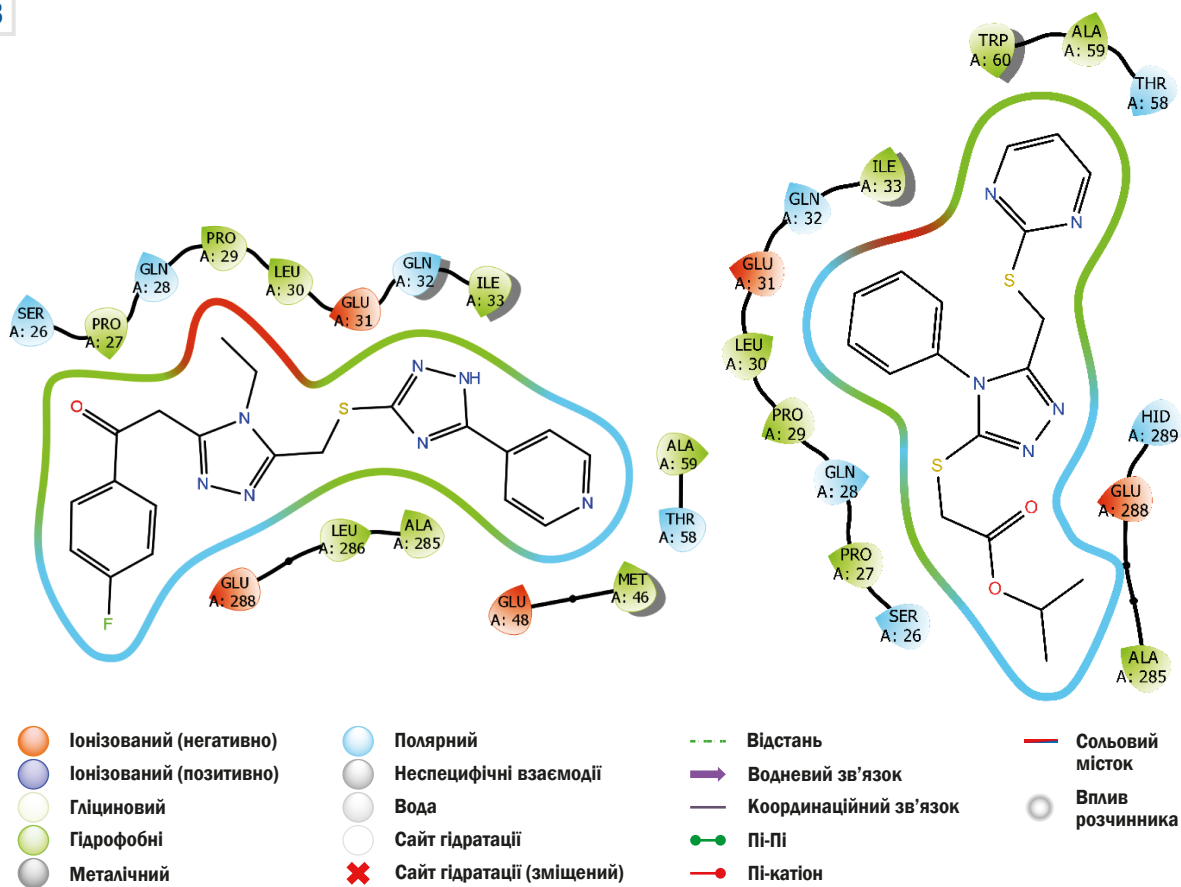


Рис. 3. Мережа взаємодій між ферментом  $\beta$ -лактамази class A beta-lactamase (PDB id: 1n9b) та сполуками 1, 7. Негативно заряджені залишки показані червоним, полярні – блакитним, гідрофобні – зеленим кольором.

кДж/моль відповідно) зв'язуються з чотирма амінокислотами (GLN, HID, THR, SER); сполука 6 із показником зв'язування -26,2470 кДж/моль зв'язується з трьома амінокислотами (GLN, HID, SER); а сполуки 1 і 7 мали найменшу енергію зв'язування (-30,5553 кДж/моль та -31,2168 кДж/моль відповідно), що дало підстави вважати їх найефективнішими проти мікроорганізмів SHV з чотирма амінокислотами (GLN, HID, THR, SER), зв'язаними з ним під час процесу стикування.

Встановили, що атоми алкільного замісника в 4 положенні 1,2,4-тріазольного ядра сполуки 1 беруть участь у взаємодії за допомогою гідрофобних взаємодій з амінокислотними залишками GLU A:31, GLU A:48, GLU A:288. Ароматичні замісники та 1,2,4-тріазол зв'язувалися насамперед гідрофобними взаємодіями, а атом Флуору та піридинове кільце – полярними ковалентними зв'язками з амінокислотами GLN, THR, SER (рис. 3).

На рис. 3 для сполуки 7 показана поверхня, намальована навколо активного центру з чергуванням гідрофобних і полярних взаємодій. Встановлено, що структура найактивнішого інгібітора у найімовірнішій докованій конформації є комплементарною акцепторній / донорній області полярного зв'язку активного сайту; отже, основним структурним елементом є естерний залишок карбоксильної кислоти та феніл у 4 положенні 1,2,4-тріазолу. Це дає підстави зробити висновок про

перспективність структурної модифікації цього ядра за четвертим положенням і алкільним залишком при карбоксильній групі.

У таблиці 3 наведено показники докінгу сполук з амінокислотами, що пов'язані з інгібітором SHV-1 class A beta-lactamase (PDB id: 2zd8), та їхніми амінокислотними залишками, а також взаємодії без зв'язування. Згідно з даними, що наведені, сполуки 2 та 7 мають найнижчі показники зв'язування (-32,2216 кДж/моль та -29,7598 кДж/моль). Це дає підстави зробити висновок, що вони є найефективнішими потенційними  $\beta$ -лактамами антибіотиками серед інших, які вивчили.

Під час аналізу молекулярного докінгу для сполуки 2 визначили: полярною частиною виявилася тільки карбоксильна група, інша частина молекули пов'язана гідрофобними взаємодіями з амінокислотними залишками. Сполука 7 внаслідок різноманітнішої просторової будови мала полярні зв'язки з 1,2,4-тріазольним ядром та фенілом у 4 положенні. Важливий фактор, виявлений у цієї сполуки, – піримідинове кільце, що забезпечувало негативний іонізований зв'язок із амінокислотами – GLU A:31, GLU A:288 (рис. 4).

Результати вивчення антибактеріальної дії окремих похідних 1,2,4-тріазолів проти бактерій родин *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae* та *Pseudomonadaceae* наведено в таблиці 4.

4

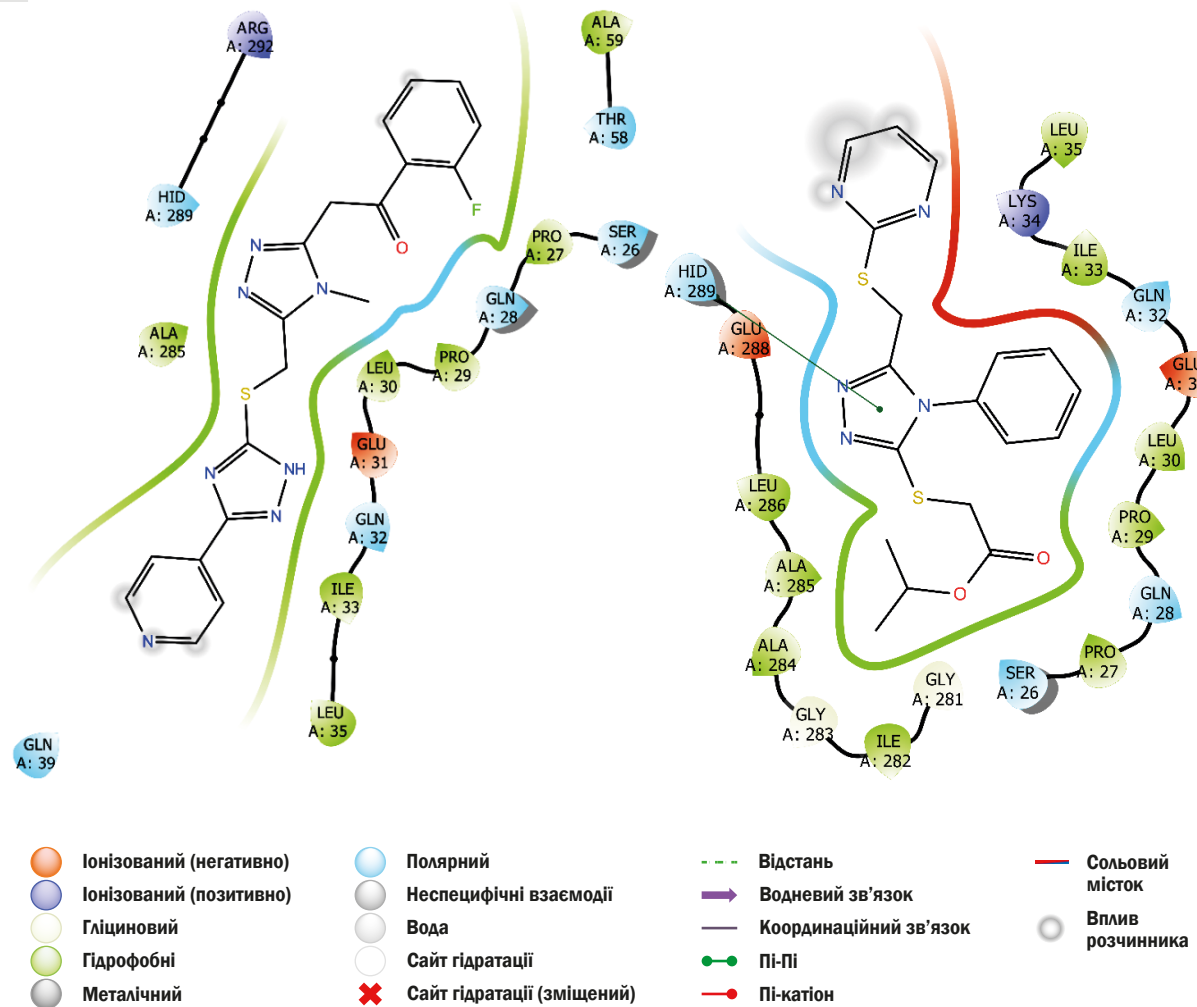


Рис. 4. Мережа взаємодій між ферментом β-лактамази SHV-1 class A beta-lactamase (PDB id: 2zd8) та сполуками 2, 7. Негативно заряджені залишки показані червоним, полярні – блакитним, гідрофобні – зеленим кольором.

Таблиця 4. Вивчення антибактеріальної дії сполук 1–4, 7 ( $x \pm SD$ ,  $n = 8$ ) проти родин *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae* та *Pseudomonadaceae*

Сполука	Конц., %	<i>En. cloacae 1</i>	<i>En. cloacae 2</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Klebsiella pn. ssp. rh.</i>	<i>Klebsiella pn. ssp. oz. 1</i>	<i>Klebsiella pn. ssp. oz. 2</i>	<i>Klebsiella pn. ssp. oz. 3</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	0,1	7,06 ± 0,48	7,06 ± 0,79	6,88 ± 0,52	6,80 ± 0,87	6,78 ± 0,55	8,78 ± 1,06	7,44 ± 0,52	6,56 ± 1,07	7,46 ± 0,98	8,14 ± 0,10	9,68 ± 1,05	6,06 ± 0,88
	0,5	7,06 ± 0,73	7,48 ± 0,7	9,18 ± 1,10	6,84 ± 0,90	7,76 ± 0,27	10,86 ± 0,94	7,83 ± 1,05	7,64 ± 1,10	7,54 ± 0,62	8,42 ± 0,71	10,20 ± 0,57	6,92 ± 1,59
	1,0	8,06 ± 0,37	8,38 ± 0,84	9,18 ± 0,83	7,72 ± 1,31	10,12 ± 0,91	10,74 ± 0,94	10,12 ± 0,90	11,8 ± 1,03 <sup>c</sup>	9,40 ± 1,12	10,06 ± 1,03	10,26 ± 0,90	8,68 ± 1,20
2	0,1	7,12 ± 0,33	7,02 ± 0,62	6,52 ± 0,62	6,86 ± 1,0	7,16 ± 0,63	8,78 ± 0,69	8,84 ± 1,04	9,16 ± 0,96	7,54 ± 0,74	10,22 ± 1,07	6,38 ± 0,73	6,18 ± 0,88
	0,5	8,10 ± 0,49	7,18 ± 0,64	6,42 ± 0,49	6,42 ± 0,75	8,12 ± 0,43	9,32 ± 0,58	9,40 ± 1,20	10,96 ± 1,11	8,26 ± 0,64	10,22 ± 0,82	7,92 ± 0,93	7,92 ± 1,02
	1,0	11,14 ± 1,30	8,16 ± 0,66	7,08 ± 0,60	6,72 ± 0,83	8,46 ± 0,50	9,18 ± 0,39	10,46 ± 1,28	13,28 ± 0,90	9,12 ± 0,88	10,58 ± 0,99	8,78 ± 0,69	7,94 ± 0,94
3	0,1	6,14 ± 0,47	8,34 ± 0,64	0,00 ± 0,00	6,30 ± 0,74	6,63 ± 0,46	6,74 ± 0,48	7,82 ± 1,07	7,70 ± 0,98	6,26 ± 0,75	11,16 ± 1,06	6,48 ± 0,58	6,82 ± 0,65
	0,5	6,14 ± 0,73	10,16 ± 1,44	6,16 ± 1,13	6,52 ± 1,30	6,62 ± 0,52	6,74 ± 0,48	10,30 ± 0,48	11,32 ± 1,29	6,92 ± 0,50	11,14 ± 1,12	7,28 ± 0,74	7,44 ± 0,57
	1,0	8,10 ± 0,64	10,5 ± 0,78	6,68 ± 0,78	7,76 ± 0,59	7,17 ± 0,38	7,30 ± 0,64	10,24 ± 0,84	12,02 ± 1,35	7,66 ± 0,58	11,80 ± 1,07 <sup>c</sup>	9,12 ± 1,04	8,22 ± 0,87
4	0,1	7,06 ± 1,03	8,2 ± 0,95	7,90 ± 0,88	6,58 ± 0,60	6,44 ± 0,62	8,22 ± 0,72	0,00 ± 0,00	7,44 ± 1,57	6,62 ± 0,53	9,78 ± 0,35	7,25 ± 0,51	6,26 ± 0,69
	0,5	7,16 ± 0,73	9,06 ± 0,98	9,24 ± 0,61	7,18 ± 0,77	6,44 ± 0,45	8,12 ± 0,62	4,10 ± 1,09	7,76 ± 1,06	6,72 ± 0,77	9,88 ± 0,98	7,54 ± 0,46	7,02 ± 1,22
	1,0	8,06 ± 0,96	10,04 ± 1,19	10,24 ± 0,91	7,44 ± 0,82	6,98 ± 0,46	10,34 ± 0,58	7,76 ± 0,83	9,92 ± 0,73	6,94 ± 0,90	11,2 ± 1,04 <sup>f</sup>	7,66 ± 0,94	8,12 ± 1,02
7	0,1	9,08 ± 1,03	6,74 ± 0,36	7,74 ± 0,44	6,71 ± 0,50	7,08 ± 0,35	6,76 ± 0,54	7,78 ± 0,89	7,50 ± 1,08	6,28 ± 0,89	8,32 ± 0,63	6,76 ± 0,49	7,12 ± 1,23
	0,5	10,13 ± 1,81	6,80 ± 0,90	7,84 ± 0,36	6,78 ± 0,81	7,06 ± 0,67	7,74 ± 0,87	7,80 ± 1,06	9,26 ± 1,13	7,88 ± 0,99	8,54 ± 1,04	6,84 ± 0,59	7,08 ± 1,05
	1,0	11,12 ± 0,97	6,76 ± 0,46	9,08 ± 1,15	7,28 ± 0,58	7,08 ± 0,44	8,18 ± 0,64	9,38 ± 0,71	9,94 ± 2,11	8,12 ± 1,04	9,72 ± 1,06	7,14 ± 0,60	7,88 ± 0,98
Контроль*		14,08 ± 0,86	19,18 ± 0,80	18,74 ± 0,97	17,74 ± 1,28	14,08 ± 1,07	13,72 ± 1,01	9,70 ± 0,98	12,12 ± 0,75	15,54 ± 0,72	28,78 ± 1,14	16,16 ± 0,90	10,76 ± 1,24

\*: диски з 10,0 мкг стрептоміцину використали як позитивний контроль.

Таблиця 5. Вивчення антибактеріальної дії сполук 1–4, 7 ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 8$ ) проти родин *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae* та *Bacillaceae*

Сполука	Конц., %	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1	0,1	6,78 ± 0,83	6,80 ± 0,97	6,84 ± 0,88	6,06 ± 0,88
	0,5	6,92 ± 1,06	7,14 ± 1,24	8,08 ± 1,12	6,92 ± 1,59
	1,0	7,22 ± 0,63	7,26 ± 0,83	8,12 ± 1,21	8,68 ± 1,20
2	0,1	6,38 ± 0,73	6,56 ± 0,71	8,43 ± 0,57	6,18 ± 0,88
	0,5	6,72 ± 0,58	6,92 ± 0,55	9,08 ± 1,24	7,92 ± 1,02
	1,0	6,88 ± 0,99	7,22 ± 1,06	9,14 ± 1,24	7,94 ± 0,94
3	0,1	6,18 ± 0,95	8,04 ± 0,98	7,96 ± 0,96	6,82 ± 0,65
	0,5	6,56 ± 0,65	9,22 ± 1,15	8,26 ± 1,26	7,44 ± 0,57
	1,0	6,92 ± 0,89	10,74 ± 1,06	8,32 ± 1,05	8,22 ± 0,87
4	0,1	6,36 ± 0,81	8,82 ± 0,86	0,00 ± 0,00	6,26 ± 0,69
	0,5	6,42 ± 0,57	9,22 ± 0,94	8,08 ± 0,94	7,02 ± 1,22
	1,0	6,78 ± 0,99	9,90 ± 0,89	10,22 ± 0,88	8,12 ± 1,02
7	0,1	6,34 ± 0,72	6,78 ± 0,50	7,18 ± 0,56	7,12 ± 1,23
	0,5	6,42 ± 0,64	6,84 ± 0,83	7,76 ± 0,81	7,08 ± 1,05
	1,0	6,62 ± 0,68	7,82 ± 0,87	7,92 ± 0,92	7,88 ± 0,98
Контроль*		14,23 ± 0,88	19,80 ± 1,06	19,66 ± 0,96	10,82 ± 1,14

\*: диски з 10,0 мкг стрептоміцину використали як позитивний контроль.

Виявлено бактерицидний вплив лише 1,0 % сполуки 1 (11,14 mm;  $p < 0,05$ ), а також 0,5 % (10,13;  $p < 0,05$ ) та 1,0 % (11,12;  $p < 0,05$ ) сполуки 7 на *E. cloacae* 1; 0,5 % (10,16;  $p < 0,05$ ) і 1,0 % (10,50;  $p < 0,05$ ) сполуки 3; 1,0 % (10,04;  $p < 0,05$ ) сполуки 4 на *E. cloacae* 2 порівняно з даними, що одержані при менших концентраціях. Визначили інгібувальний ефект 1,0 % сполуки 1 на всі три польових штами *K. pneumoniae ssp. ozaenae* (10,12, 10,74 і 10,12;  $p < 0,05$ ), а також високої концентрації сполуки 4 лише на *K. pneumoniae ssp. ozaenae* 2 (10,34;  $p < 0,05$ ), сполук 2, 3 – проти *K. pneumoniae ssp. ozaenae* 3 (10,46 та 10,24;  $p < 0,05$ ). Помірну чутливість *K. pneumoniae ssp. rhinoscleromatis* – лише до високих концентрацій сполук 1, 3, 4, 7 із колюванням зони затримки росту в межах 7,72–7,28 mm. Пригнічення росту і розвитку *Salmonella enterica* виявлено під впливом 1,0 % сполуки 1 (11,80;  $p < 0,05$ ), а також 0,5 % і 1,0 % сполуки 2 (10,96, 13,28;  $p < 0,05$ ), 0,5 % і 1,0 % сполуки 3 (11,32, 12,02;  $p < 0,05$ ), що дорівнювало контролю (12,12). Визначено помірну чутливість *E. coli* до високих концентрацій сполук 1, 2, 7 із зоною затримки росту в межах 8,12–9,40 mm. Визначено сильний антибактеріальний ефект усіх розведень сполук 2 і 3 проти *P. vulgaris* із зоною інгібування 10,22–11,80 ( $p < 0,05$ ) та високих концентрацій сполук 1 і 4 (10,06, 11,20;  $p < 0,05$ ). Зафіксовано бактерицидний вплив лише 0,5 % і 1,0 % сполуки 1 проти *Morganella morganii* (10,20, 10,26;  $p < 0,05$ ) при помірній чутливості досліджених ізолятів *P. aeruginosa* до 1,0 % сполук 1, 3, 4 (8,68, 8,22 і 8,12).

Надалі проаналізували антибактеріальну дію окремих похідних 1,2,4-тріазолів на штамів мікроорганізмів родин *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae* та *Bacillaceae* (табл. 5).

Визначили бактерицидний вплив лише 1,0 % сполуки 3 (10,74;  $p < 0,05$ ) та пригнічення росту і розвитку 0,1 % і 0,5 % сполуки 3 (8,04, 9,22), усіх дослідних розведень сполуки 4 (8,82, 9,22, 9,90) на *E. faecium*. На фоні пригнічення росту та розвитку *S. aureus*, що спричинені сполуками 1–3 (колювався у межах 8,08–9,14 mm), підвищення чутливості дослідженої мікрофлори спостерігали для сполуки 4 у концентрації 1,0 % (10,22;  $p < 0,05$ ) порівняно з мінімальним розведенням. Помірна чутливість

досліджених ізолятів *B. subtilis* для високих концентрацій сполук 1, 3, 4 (8,68, 8,22 і 8,12; контроль – 10,82) свідчить про антибіотикорезистентність штаму. Не виявлено бактерицидної дії різних концентрацій дослідних препаратів на *E. faecalis*.

### Обговорення

Для докінгу проти двох ферментів (1n9b і 2zd8) використали 8 хімічних сполук – потенційних β-лактамних антибіотиків. Найнижче значення афінності зв'язування описує найвищу здатність інгібувати досліджені мішені. Зважаючи на це, доведено, що сполуки 1 та 7 мають найнижчу інгібувальну активність щодо бета-лактамази класу А (ідентифікатор PDB: 1n9b) і бета-лактамази класу А SHV-1 (ідентифікатор PDB: 2zd8) (табл. 2, 3). Розрахована спорідненість зв'язування для сполуки 2 свідчить про сильніше інгібування з погляду здатності добре зв'язуватися з ферментами TEM і SHV. Встановили, що комбінації атомів, які містили залишки карбоксильних груп та ароматичні ядра, посилювали їхню біологічну активність / інгібувальну активність проти мішеней, що дослідили [16].

Згідно з результатами молекулярного докінгу, сполуки 2 та 7 мають сильну афінність зв'язування з ферментами класу А, а отже можуть бути ефективними під час лікування інфекції, що спричинена *K. pneumoniae*. Порядком зростання прогнозованої спорідненості зв'язування через розраховану оцінку щодо ферментів TEM і SHV такий: сполука 4 < сполука 3 < сполука 1 < сполука 7 < сполука 2.

Результати дають змогу припустити, що похідні 1,2,4-тріазолів мають бактерицидний потенціал, який можна успішно використовувати для виготовлення антибактеріальних препаратів. Згідно з одержаними даними, хімічні сполуки 1–4, 7 інгібують ріст колоній багатьох видів мікроорганізмів сімейств *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae* і *Bacillaceae*. Під час аналізу залежності «структура – антимікробна активність» на цих штамів визначили фактори, що наведені на рис. 5.

5

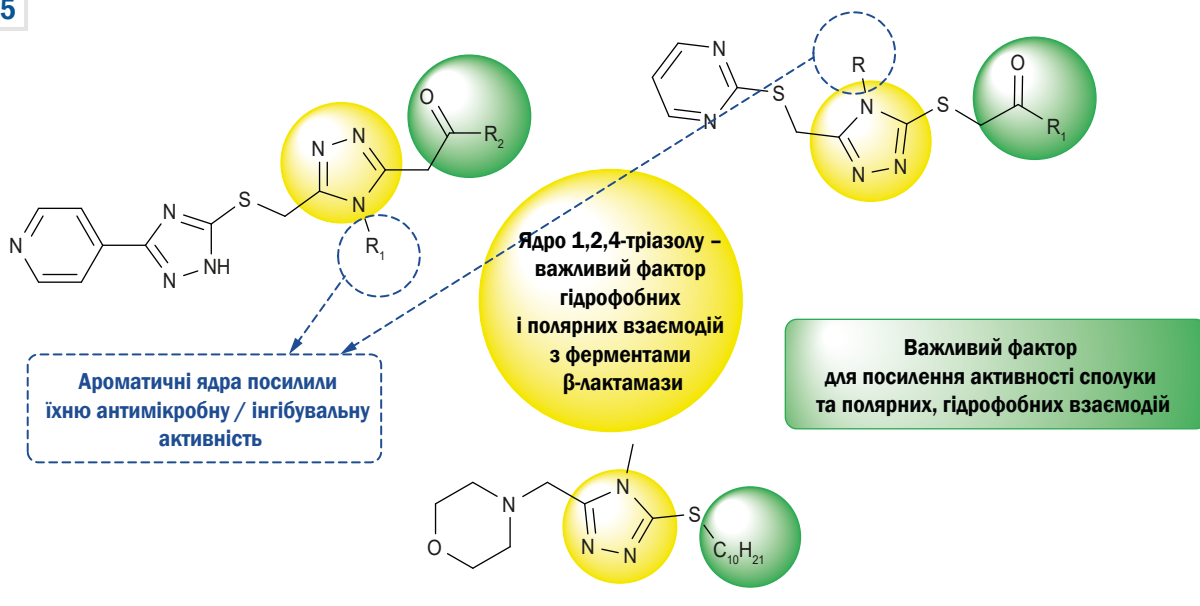


Рис. 5. Фактори, що впливають на показники антимікробної активності.

## Висновки

1. За результатами молекулярного докінгу встановлено, що сполуки 2 і 7 мають сильну афінність зв'язування з ферментами класу А, тому вони можуть бути ефективними під час лікування інфекцій, що спричинена *K. pneumoniae*.

2. Порядок зростання прогнозованої спорідненості зв'язування через розраховану оцінку щодо ферментів TEM і SHV такий: сполука 4 < сполука 3 < сполука 1 < сполука 7 < сполука 2.

3. Уперше дослідили комплексну інгібувальну дію хімічних сполук 1–4, 7 щодо 16 штамів бактерій. Встановлено виражену антибактеріальну дію: сполука 1 – щодо 13, сполука 2 – щодо 9, сполука 3 – щодо 10, сполука 4 – щодо 7, сполука 7 – щодо 10 із 16 досліджених полірезистентних штамів бактерій.

4. Створення нових вітчизняних оригінальних лікарських засобів протимікробної дії на основі похідних 1,2,4-тріазолу сприятиме розробленню нових схем лікування інфекційних хвороб, зниженню високого рівня імпортозалежності вітчизняного ринку лікарських засобів та фінансового навантаження на систему охорони здоров'я.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у продовженні вивчення етанольних розведень сполук 1, 3 та 7, що мають потенціал для боротьби з полірезистентними штамми мікроорганізмів.

## Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Синтез та вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей речовин в ряду азагетероциклів. Створення та стандартизація оригінальних та комбінованих лікарських препаратів на основі похідних азагетероциклів. Розробка та валідація нових методик аналізу лікарських засобів», державний реєстраційний № 0123U103937 (2023–2028 рр.).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 29.07.2024

Після доопрацювання / Revised: 10.10.2024

Схвалено до друку / Accepted: 15.10.2024

## Відомості про авторів:

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2229-0232

Карпенко Ю. В., канд. хім. наук, доцент каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4390-9949

Оглобіна М. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармації, фармакології, медичної, біоорганічної та біологічної хімії, Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-5696-3621

Захарський В. В., канд. вет. наук, доцент, зав. каф. інфекційних хвороб тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2674-2494

Білан М. В., канд. вет. наук, доцент каф. інфекційних хвороб тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3178-201X

Кулішенко О. М., канд. вет. наук, доцент каф. інфекційних хвороб тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6801-2380

Бушуєва І. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5336-3900

Парченко В. В., д-р фарм. наук, професор каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2283-1695



**Information about the authors:**

Kucherenko L. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Karpenko Yu. V., PhD, Associate Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Ohloblina M. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacy, Pharmacology, Medical, Bioorganic and Biological Chemistry, Petro Mohyla Black Sea National University, Mykolaiv, Ukraine.

Zazharskyi V. V., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Infectious Animal Diseases, Dnipro State Agrarian and Economic University, Ukraine.

Bilan M. V., PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Animal Diseases, Dnipro State Agrarian and Economic University, Ukraine.

Kulishenko O. M., PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Animal Diseases, Dnipro State Agrarian and Economic University, Ukraine.

Bushuieva I. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Parchenko V. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Activity, Enzymes Inhibition, Molecular Docking Studies of Novel 1,2,4-Triazole Derivatives. *J Biomol Struct Dyn*. 2023;42(3):1220-36. doi: 10.1080/07391102.2023.2253906

13. CLSI M100-S21 – Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty First Informational Supplement [Internet]. Ansi.org. 2024 [cited 2024 Oct 16]. Available from: <https://webstore.ansi.org/standards/clsim100s21?srsid=AfmBOOr7rMkHiPcNa65N7eDSm-wJ2SSW4aBK7FKL6N-5qTGVYFj1BnodU>
14. Akinola OT, Oyebamiji AK, Oke DG. In silico analysis on binding action of beta-lactam drugs against TEM and SHV class A beta-lactamases from *Klebsiella pneumoniae*. *Discov Appl Sci*. 2024;6(196):1-10. doi: 10.1007/s42452-024-05783-8
15. Czatzkowska M, Wolak I, Harnisz M, Korzeniewska E. Impact of anthropogenic activities on the dissemination of ARGs in the environment-a review. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(19):12853. doi: 10.3390/ijerph191912853
16. Karpun Y, Fedotov S, Khilkovets A, Karpenko Y, Parchenko V, Klochkova Y, et al. An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions. *Pharmacia*. 2023;70(1):139-53. doi: 10.3897/pharmacia.70.e90783

**References**

1. Morandi S, Silvetti T, Lopreiato V, Piccioli-Cappelli F, Trevisi E, Brasca M. Biodiversity and antibiotic resistance profile provide new evidence for a different origin of enterococci in bovine raw milk and feces. *Food Microbiol*. 2024;120:104492. doi: 10.1016/j.fm.2024.104492
2. Tian G, Song Q, Liu Z, Guo J, Cao S, Long S. Recent advances in 1,2,3- and 1,2,4-triazole hybrids as antimicrobials and their SAR: A critical review. *Eur J Med Chem*. 2023;259:115603. doi: 10.1016/j.ejmech.2023.115603
3. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*. 2021;10(10):1310. doi: 10.3390/pathogens10101310
4. Poia A. Cherez viinu v Ukraini zroste tiazhkist ta poshyrenist deiakykh infektsiinykh khvorob – VOOZ [Due to the war in Ukraine, the severity and prevalence of some infectious diseases will increase – WHO]. *Ukrainska pravda*. 2023 Nov 7 [cited 2024 Oct 16]. Available from: <https://life.ppravda.com.ua/health/2023/11/7/257504/>
5. Xie F, Ni T, Zhao J, Pang L, Li R, Cai Z, et al. Design, synthesis, and in vitro evaluation of novel antifungal triazoles. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017;27(10):2171-3. doi: 10.1016/j.bmcl.2017.03.062
6. El-Sebaey SA. Recent advances in 1,2,4-triazole scaffolds as antiviral agents. *Chemistry Select*. 2020;5(37):11654-80. doi: 10.1002/slct.202002830
7. Morakinyo AE, Oyebamiji AK, Morddiyyah A, Chukwuetoo CC, Oyedapo OO. Antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic pulp residue extract of african star apple (*Chrysophyllum albidum*). *Lett Appl Nanobiosci*. 2024;13(1):1-9. doi: 10.33263/LIANBS131.035
8. Ibrahim AO, Semire B, Oladuji TE, Latona DF, Oyebamiji AK, Owonikoko AD, et al. Molecular properties and in silico bioactivity evaluation of (4-fluorophenyl)[5]-3-phen-(4-nitrophenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]methanone derivatives: DFT and molecular docking approaches. *J Taibah Univ Med Sci*. 2023;18(6):1386-405. doi: 10.1016/j.jtumed.2023.05.011
9. Nukaga M, Mayama K, Hujer AM, Bonomo RA, Knox JR. Ultrahigh resolution structure of a class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extended-spectrum SHV-2 enzyme. *J Mol Biol*. 2003;328(1):289-301. doi: 10.1016/s0022-2836(03)00210-9
10. Nukaga M, Bethel CR, Thomson JM, Hujer AM, Distler A, Anderson VE, et al. Inhibition of class A beta-lactamases by carbapenems: crystallographic observation of two conformations of meropenem in SHV-1. *J Am Chem Soc*. 2008;130(38):12656-62. doi: 10.1021/ja7111146
11. Davydenko P, Borovik I, Kulishenko O, Zazharskyi V, Radzykhovskiy M, Dyshkant, O, et al. [Tuberculocidal and tuberculostatic activity of 1,2,4-triazole derivatives in vitro (determination of mic (minimum inhibitory concentration))]. Scientific and technical bulletin of state scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives and institute of animal biology. 2023;24(2):59-71. Ukrainian. doi: 10.36359/scivp.2023-24-2.07
12. Karpenko Y, Kusdemir G, Parchenko V, Tüzün B, Taslimi P, Karatas OF, et al. A Biochemistry-oriented Drug Design: Synthesis, Anticancer