



О. А. Сугак, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, О. М. Камишний

Протимікробна та протигрибкова активність похідних 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова:

протимікробні засоби,
протигрибкові засоби,
1,2,4-тріазол.

За останнє десятиріччя зросла група антибіотиків тріазолового ряду, поряд з тим підвищилась резистентність мікроорганізмів до цього класу препаратів. Актуальним питанням сучасної фармації є синтез нових сполук із високою протимікробною та протигрибковою активністю й низьким рівнем побічних дій. Дуже перспективною з огляду на це є 1,2,4-тріазолова система. Мета роботи – вивчити протимікробну та протигрибкову активність похідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів та 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолу. У ході дослідження використовували метод серійних розведень. Критерії активності препаратів: мінімальна інгібіторна концентрація (МІК) – найменша концентрація препарату, що гальмує ріст тест-культури, та мінімальна бактерицидна концентрація (МБЦК) – найменша концентрація препарату, що викликає бактерицидний ефект. Сполуки, котрі досліджували, – похідні 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів та 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолу – проявляють протигрибкову та протимікробну активність. Найбільш активною серед досліджуваних похідних 1,2,4-тріазолу є сполука 4 (4-метил-3-(октилтіо)-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол, котрій властива як протимікробна, так і протигрибкова активність. Досліджені та встановлені деякі закономірності «структура-дія».

Противомикробная и противогрибковая активность производных 3-(алкилтио)-4-R-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазолов

О. А. Сугак, А. И. Панасенко, Е. Г. Книш, А. М. Камышний

За последнее десятилетие выросла группа антибиотиков триазолового ряда. Наряду с этим повысилась резистентность микроорганизмов к данному классу препаратов. Синтез новых соединений, которые бы проявляли противомикробную и противогрибковую активность и имели низкий уровень побочных действий, – один из актуальных вопросов современной фармации. Перспективной в этом плане является 1,2,4-триазоловая система. Цель работы – изучить противомикробную и противогрибковую активность производных 4-R-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиолов и 3-(алкилтио)-4-R-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазола. В ходе исследования использовался метод серийных разведений. Критериями активности соединений выступили: минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – наименьшая концентрация препарата, который тормозит рост тестовой культуры, и минимальная бактерицидная концентрация (МБЦК) – наименьшая концентрация препарата, который вызывает бактерицидный эффект. Исследуемые соединения – производные 4-R-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиолов и 3-(алкил-тио)-4-R-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазола – проявляют противогрибковую и противомикробную активность. Наиболее эффективным среди производных 1,2,4-триазола оказалось соединение 4 (4-метил-3-(октилтио)-5-(тиофен-2-илметил)-4Н-1,2,4-триазол, которому свойственны как противогрибковая, так и противомикробная активность. Также исследованы некоторые закономерности «структура-действие».

Ключевые слова: противомикробные средства, противогрибковые средства, 1,2,4-триазол.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2015. – № 3 (19). – С. 67–70

Antibacterial and antifungal activity of derivatives 3-(alkylthio)-4-R-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole

О. А. Сугак, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, О. М. Камишний

The amount of antibiotics has increased over the past decade. This also resulted in increase of microorganisms' resistance to this class of drugs. Therefore, the synthesis of new compounds that have exhibited antimicrobial and antifungal activity and low level of side effects is an important issue of modern pharmacy. The 1,2,4-triazole system is very promising in this aspect.

The aim was to study the antimicrobial and antifungal activity of 4-R-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole-3-thiol and 3-(alkylthio)-4-R-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole.

Methods and results. In the study «serial dilutions» method has been used. The criteria for the activity of given compound was the minimum inhibitory concentration (MIC) which is the lowest concentration of drug that inhibits the growth of the test culture and the minimum bactericidal concentration (MBC) which is the lowest concentration of drug that causes bactericidal effect. Test compounds are derivatives of 4-R-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole-3-thiol and 3-(alkyl-thio)-4-R-5-(thiophene-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole which exhibit antifungal and antimicrobial activity.

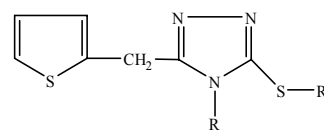
Conclusion. The most active of the studied 1,2,4-triazole derivatives is 4 (4-methyl-3-(octylthio)-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4Н-1,2,4-triazole), which manifests as antifungal and antimicrobial activity. Some regularity between structure and action has been investigated.

Key words: Anti-Microbial Agents, Antifungal Agents, 1,2,4-triazole.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 3 (19): 67–70

Таблиця 1

Фізико-хімічні константи



Сполука	R	R ₁
1	CH ₃	H-C ₄ H ₉
2	CH ₃	H-C ₅ H ₁₁
3	CH ₃	H-C ₆ H ₁₃
4	CH ₃	H-C ₈ H ₁₇
5	CH ₃	H-C ₉ H ₁₉
6	C ₂ H ₅	H-C ₄ H ₉
7	C ₂ H ₅	H-C ₇ H ₁₅
8	C ₂ H ₅	H-C ₉ H ₁₉
9	C ₂ H ₅	H-C ₁₀ H ₂₁
10	C ₆ H ₅	H
11	C ₆ H ₅	H-C ₆ H ₁₃

Сьогодні є багато нових штамів мікроорганізмів. У зв'язку з цим виникла гостра потреба в розробленні нових стратегічних підходів до протимікробної терапії. Актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки є пошук ліків серед похідних 1,2,4-тріазолу, котрі проявляють високу протимікробну активність[2,3,4,5]. Отже, похідні 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів і 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолів є перспективним класом сполук для створення нових високоефективних і малотоксичних лікарських засобів.

Мета роботи

Вивчення протимікробної активності похідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів і 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолу (табл. 1).

Матеріали і методи дослідження

Протимікробну активність нових синтезованих сполук вивчали відповідно до методичних рекомендацій [1]. З вихідної концентрації препарату 1мг/мл готували ряд дворазових серійних розведень у бульйоні Мюллер-Хінтона в об'ємі 1 мл, після чого додавали в кожен пробірку по 0,1 мл мікробної зависі (10⁶ м.к./мл). МІК визначали за відсутності видимого росту у пробірці з мінімальною концентрацією препарату, мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБ_цК, МФ_цК) – за відсутності росту на агарі після висіву з прозорих пробірок. Як розчинник сполук використали диметилсульфоксид. Для первинного скринінгового дослідження новосинтезованих речовин застосовано еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфо-фізіологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. Як набір стандартних тест-штамів взяли *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Додатково здійснили контроль поживних середовищ і розчинника з використанням загальноприйнятих методик [1].

Результати та їх обговорення

Під час досліджень одержали результати (табл. 2) та дослідили взаємозв'язок «структура-дія».

Критеріями активності того чи іншого препарату є мінімальна інгібіторна концентрація (МІК) – найменша концентрація препарату, що гальмує ріст тест-культури, і мінімальна бактерицидна концентрація (МБ_цК) – найменша концентрація препарату, що викликає бактерицидний ефект.

Щодо впливу похідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів та 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолів на бактерію *Escherichia coli*, слід відзначити, що мінімальна інгібіторна концентрація алкілтріазолів знаходиться в межах 31,25–125 мкг/мл, мінімальна бактерицидна концентрація – 31,25–250 мкг/мл. Найактивнішим є 3-(октилтіо)-4-метил-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол, котрий

Таблиця 2

Показники протимікробної активності окремих похідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолів та 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-тріазолу

Сполука	Escherichia coli		Staphylococcus aureus		Pseudomonas aeruginosa		Candida albicans	
	МІК, мкг/мл	МБ _ц К, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБ _ц К, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБ _ц К, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФ _ц К, мкг/мл
Хлоргексидин	-	25,0	-	18,8	-	200	-	10,4
1	62,5	125	3,9	125	62,5	125	31,25	62,5
2	125	250	3,9	7,8	62,5	125	31,25	62,5
3	125	250	1,8	1,8	62,5	125	15,6	31,25
4	31,25	31,25	3,9	3,9	31,25	62,5	7,8	15,6
5	62,5	125	1,8	3,9	62,5	125	7,8	15,6
6	62,5	125	3,9	7,8	62,5	125	15,6	31,25
7	62,5	125	3,9	7,8	62,5	125	7,8	15,6
8	62,5	125	3,9	7,8	62,5	62,5	31,25	62,5
9	31,25	62,5	3,9	62,5	62,5	62,5	31,25	62,5
10	62,5	125	1,8	3,9	62,5	125	31,25	31,25
11	62,5	125	1,8	3,9	62,5	125	31,25	62,5

Таблиця 3

Залежність хімічної структури від фармакологічної дії

Сполука	Замісник при С 4 атомі	Замісник при S атомі	Ефект			
			E. coli	St. aureus	Ps. aeruginosa	C. albicans
1	CH ₃	C ₄ H ₉	↑	↓	↑	↑
2		C ₅ H ₁₁	↑	↓	↑	↑
3		C ₆ H ₁₃	↓	↑	↓	↓
4		C ₈ H ₁₇	↑	↑	↑	↑
5		C ₉ H ₁₉	↓	↑	↓	↑
6	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	↑	↓	↑	↑
7		C ₇ H ₁₅	↑	↓	↑	↑
8		C ₉ H ₁₉	↑	↓	↑	↑
9		C ₁₀ H ₂₁	↓	↓	↓	↓
10	C ₆ H ₅	H	↑	↓	↑	↑
11		C ₆ H ₁₃	↑	↓	↑	↓

має мінімальну інгібіторну концентрацію 31,25 мкг/мл і мінімальну бактерицидну концентрацію 31,25 мкг/мл, заміна октилового радикала за атомом Сульфуру на дециловий та метилового замісника – на етиловий у 4 положенні ядра 1,2,4-тріазолу призводить до незначного зниження мінімальної бактерицидної концентрації.

Розглядаючи вплив алкілпохідних на *Staphylococcus aureus*, слід виділити сполуки 3,5,10,11, котрі пригнічують ріст бактерії в концентрації 1,8 мкг/мл, що перевищує еталон порівняння хлоргексидин. Заміна метилового або фенілового радикала на етиловий призводить до зменшення активності (табл. 3).

Порівнюючи вплив похідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів та 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазолів на бактерію *Pseudomonas aeruginosa*, визначили, що сполуки 4,8,9 мають дещо кращу протимікробну дію, ніж препарат порівняння хлоргексидин, мінімальна інгібіторна

концентрація знаходиться в межах 31,25–62,5 мкг/мл, мінімальна бактерицидна концентрація становить 62,5 мкг/мл. Найактивнішою є сполука 4 (табл. 3).

Визначили, що сполуки 1–11 проявляють протигрибкову дію щодо грибків роду *Candida albicans*. Уведення гексилового радикала за атомом Сульфуру в молекулу 10 навпаки призводить до зниження активності.

Висновки

1. Сполуки, що досліджували, – похідні 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів і 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазолу проявляють протигрибкову та протимікробну активність.

2. Найбільш активною серед похідних 1,2,4-тріазолу є сполука 4 (4-метил-3-(октилтіо)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол), котра проявляє як протигрибкову, так і протимікробну активність.

3. Досліджені та встановлені деякі закономірності «структура-дія».

Список літератури

1. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. реком. / Ю.Л. Волянський, І.С. Грищенко, В.П. Ширококов та ін. ; ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.
2. Каплаушенко А.Г. Синтез, будова і протимікробна активність 4-R-5R1-3-гетерилтіо-1,2,4-тріазолів / А.Г. Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш // Фармацевтичний журнал. – 2007. – №3. – С. 88–91.
3. 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. ; патентовласник Запорізький державний медичний університет. – №2012 03353 ; опубл. 12.11.12 // Бюл. № 21.
4. Сафонов А.А. Протимікробна та протигрибкова дія S-похідних 5-гетерил-4-(R-аміно)-1,2,4-тріазол-3-тіолів / А.А. Сафонов, Є.Г. Книш // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2012. – №2, додаток : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. Дню науки «Медицина та

фармація XXI століття-крок у майбутнє» (м. Запоріжжя, 19–20 квіт. 2012 р.). – С. 221.

5. Щербина Р.О. Дослідження протимікробної та протигрибкової дії нових похідних 2-(4-R-5-R1-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегіду / Р.О. Щербина, Є.С. Пругло, Є.Г. Книш // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2012. – №2, додаток : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. Дню науки «Медицина та фармація XXI століття-крок у майбутнє» (м. Запоріжжя, 19–20 квіт. 2012 р.). – С. 229–230.

References

1. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., & Shyrobokov, V. P. (2004) *Izvchennia spetsyfychnoi aktyvnosti protymikrobnykh likarskykh zasobiv [Studying the specific activity of antimicrobial drugs]*. Kyiv. [in Ukrainian].
2. Kaplaushenko, A. H., Panasenko, O. I., & Knysh, Ye. H. (2007). Syntez, budova i protymikrobna aktyvnist 4-R-5R1-3-heteryltio-1,2,4-tryazoliv [Synthesis, budova i protimikrobna aktivnist 4 -R-5R1-3- geteriltio -1,2,4-triazoliv]. *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 3, 88–91[in Ukrainian].

3. Knysh, Ye. H., Panasenko, O. I., Safonov, A. A., et al. (patentee) (2012) Patent Ukraine №74648 MPK 2012.01 C07D 249/00, A61K31/00. Pokhidni 1,2,4-triazolu, shcho proiavliaiut protymikrobnu aktyvnist [Derivatives of 1,2,4- triazol, that show antimicrobial activity]. *Biul.*, 21. [in Ukrainian].
4. Safonov, A. A., & Knysh, Ye. H. (2012) Protymikrobnna ta protyhrybkova diia S-pokhidnykh 5-heteryl-4-(R-amino)-1,2,4-triazol-3-tioliv [Antimicrobial and antifungal effect of derivative S-5 heteryl-4-(R-amino) -1,2,4-triazoles-3-thiols]. *Aktualni pytannia farmatsevychnoi ta medychnoi nauky ta praktyky*, 2. Abstracts of Papers of the All-Ukrainian Scientific and Praktscal Conference, (p. 221). Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
5. Shcherbyna, R. O., Pruhlo, Ye. S., & Knysh, Ye. H. (2012) Doslidzhennia protymikrobnii ta protyhrybkovoi dii novykh pokhidnykh 2-(4-R-5-R1-1,2,4-triazol-3-iltio)acetaldehydu [Doslidzhennya protimikrobnii that protigribkovoii dii novih pohidnih 2-(4 -R- 5 -R1-1,2,4- triazol 3- iltio) atsetaldehydu]. *Aktualni pytannia farmatsevychnoi ta medychnoi nauky ta praktyky*, 2. Abstracts of Papers of the All-Ukrainian Scientific and Praktscal Conference, (pp. 229–230). Zaporizhzhia. [in Ukrainian].

Відомості про авторів:

Сугак О. А., здобувач, інспектор ІІ фармацевтичного факультету, Запорізький державний медичний університет, E-mail: osughak@mail.ru.

Панасенко О. І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Книш Є. Г., д. фарм. н., професор, зав. каф. управління та економіки фармації, медичного і фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет.

Камішний О. М., д. мед. н., доцент, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет.

Сведения об авторах:

Сугак О. А., соискатель, инспектор ІІ фармацевтического факультета, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: osughak@mail.ru.

Панасенко А. И., д. фарм. н., профессор, зав. каф. токсикологической и неорганической химии, Запорожский государственный медицинский университет.

Кныш Е. Г., д. фарм. н., профессор, зав. каф. управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического правоведения, Запорожский государственный медицинский университет.

Камышный А. М., д. мед. н., доцент, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Suhak O. A., Researcher, Inspector of ІІ Pharmaceutical Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: osughak@mail.ru.

Panasenko O. I., MD, PhD, Dr.hab., Professor, Head of the Department of Toxicology and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University.

Knysh E. G., Dr.hab., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Management and Pharmacy Economics, Medical and Pharmaceutical Commodity Research, Zaporizhzhia State Medical University.

Kamyshny O. M., MD, PhD, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University.

Надійшла в редакцію 03.09.2015 р.