



В. М. Одинцова

Дослідження протимікробної та протигрибкової активності N'-іліден-2(3-(адамантан-1-іл)-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіоацетогідразидів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: антимікробна, протигрибкова активність.

Сучасний арсенал протимікробних лікарських засобів характеризується значною токсичністю, а їхнє масове та безконтрольне застосування призводить до селекції резистентних штамів. Це створює сприятливе підґрунтя для синтезу нових сполук із вираженою фармакологічною активністю. З метою виявлення серед синтезованих сполук таких, що володіють високою протимікробною та протигрибковою активністю, виконали первинні скринінгові дослідження бактеріостатичної та бактерицидної/фунгіцидної дії N'-іліден-2(3-(адамантан-1-іл)-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіоацетогідразидів методом 2-разових серійних розведень у рідких поживних середовищах. Виявили сполуки, які за активністю перевищують еталон порівняння. Встановили деякі закономірності взаємозв'язку «будова – дія». Це свідчить про необхідність розширення пошуку спектра дії перспективних сполук щодо музейних і клінічних штамів збудників інфекційних захворювань.

Исследование противомикробной и противогрибковой активности N'-илиден-2(3-(адамантан-1-ил)-1H-1,2,4-триазол-ил)тиоацетогидразидов

В. Н. Одинцова

Современный арсенал противомикробных лекарственных средств характеризуется значительной токсичностью, а массовое и бесконтрольное их применение приводит к селекции резистентных штаммов. Это создает благоприятную почву для синтеза новых соединений с выраженной фармакологической активностью. С целью выявления среди синтезированных соединений тех, которые обладают высокой противомикробной и противогрибковой активностью проведено первичные скрининговые исследования бактериостатического и бактерицидного/фунгицидного действия N'-илиден-2(3-(адамантан-1-ил)-1H-1,2,4-триазол-5-ил)тиоацетогидразидов методом 2-кратных серийных разведений в жидких питательных средах. По результатам исследования выявлено соединения, которые по активности превышают эталон сравнения. Установлены некоторые закономерности взаимосвязи «строение – действие». Это свидетельствует о необходимости расширить поиск спектра действия перспективных соединений относительно музейных и клинических штаммов возбудителей инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: противогрибковые средства, антибактериальные средства.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2015. – № 2 (18). – С. 36–40

The study of antimicrobial and antifungal activity of N'-ylidene-2(3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazole-5-yl)thioacetohydrazides

V. M. Odyntsova

Aim. The modern arsenal of antimicrobial drugs is characterized by high toxicity, moreover their widespread and uncontrolled use leads to the resistant strains' selection. It creates favorable basis for the synthesis of new compounds with pronounced pharmacological activity.

Methods and results. The primary screening of antimicrobial and antifungal activity of synthesized N'-ylidene-2(3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazole-5-yl)thioacetohydrazides has been conducted by twofold serial dilutions method in liquid nutrient media in order to identify among the synthesized compounds those ones which have high antimicrobial and antifungal activities. Due to the results of the study the compounds that exceed the standard, according to the activity of comparison, have been identified. Some relationship's patterns as «structure-activity» have been established.

Conclusion. It indicates the need to expand the search spectrum of promising compounds towards the museum and clinical strains of infectious diseases' pathogens.

Key words: Agents, Antibacterial Agents.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 2 (18): 36–40

Сучасний арсенал протимікробних лікарських засобів і препаратів, що використовують для лікування кандидозу, характеризується значною токсичністю, а їхнє нераціональне, масове та безконтрольне застосування призводить до селекції резистентних штамів [1]. Це зумовлює збільшення витрат населенням на медичну допомогу та є серйозною загрозою для здоров'я людей. Зважаючи на поширеність лікарської стійкості мікроорганізмів, ефективність лікування значно знижується, а смертність від багатьох інфекційних хвороб зростає [2]. Проблемою лікування бактеріальних захворювань

є поява (з численною лікарською стійкістю) грампозитивних бактерій, таких як метицилін-резистентні штами роду *Staphylococcus*, ванкоміцин-резистентні представники родів *Streptococcus* та *Enterococcus*. Відкритими залишаються питання токсичності антибіотиків (тетрацикліни, аміноглікозиди, цефалоспорини тощо), дизбіозу та їхній вплив на імунітет (алергічні реакції, імунодепресія) [1–3].

Похідні 1,2,4-тріазолу серед гетероциклічних систем доволі відомі, мають широкий спектр біологічної дії, зокрема протигрибкову та протимікробну [4–6]. Усе це

разом із незначною токсичністю створює сприятливе підґрунтя для синтезу нових сполук із вираженою фармакологічною активністю [7–11].

Мета роботи

Дослідження антимікробної та протигрибкової активності N'-іліден-2(3-(адамантан-1-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіоацетогідразидів.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження стали сполуки (табл. 1), що синтезовані на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (ЗДМУ).

Вивчення протимікробної та протигрибкової активності сполук, що одержали, здійснили на базі мікробіологічної лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології ЗДМУ.

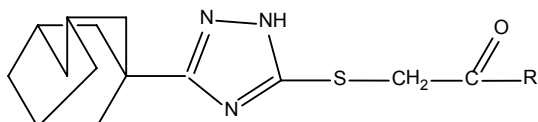
Тестування протимікробної та протигрибкової активності сполук визначали відповідно до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», що затверджені наказом

МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. [12], та методичних рекомендацій «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів». Визначення протимікробної та протигрибкової активності виконали методом 2-разових серійних розведень у рідких поживних середовищах [13]. Під час досліджень із вихідної концентрації препарату 1 мг/мл готували ряд дворазових серійних розведень препарату в бульйоні Мюллер-Хінтона об'ємом 1 мл, потім додавали у кожен пробірку по 0,1 мл мікробної зависі (мікробне навантаження до музейних штамів становило 10⁵ мікробних клітин/мл).

Для первинного скринінгового дослідження синтезованих речовин застосували еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, які належать до різних за морфофізіологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. Як набір стандартних тест-штамів взяли штами мікроорганізмів: грампозитивні (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грамнегативні (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) і

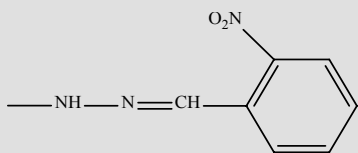
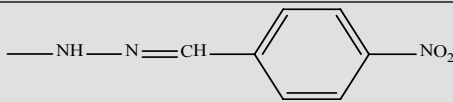
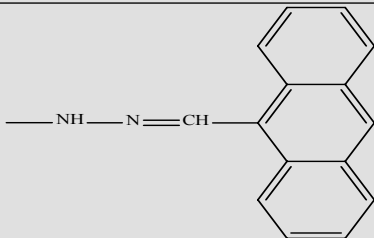
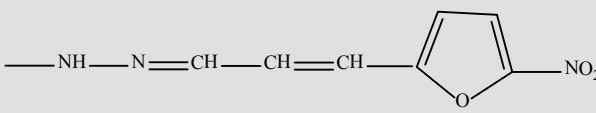
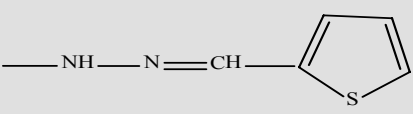
Таблиця 1

Протимікробна та протигрибкова активність N'-іліден-2(3-(адамантан-1-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіоацетогідразидів



| № з/п | R | Штами, що використовували під час досліджень | Результат дослідження | |
|-------|---|--|-----------------------|---|
| | | | МІК, мкг/мл | МБцК (МФцК для <i>S. albicans</i>), мкг/мл |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | | <i>E. coli</i> | 125 | 125 |
| | | <i>S. aureus</i> | 62,5 | 125 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 31,25 | 62,5 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 125 |
| 2 | | <i>E. coli</i> | 125 | 125 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 125 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 62,5 |
| 3 | | <i>E. coli</i> | 125 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 62,5 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 62,5 |
| 4 | | <i>E. coli</i> | 125 | 125 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 62,5 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 62,5 |
| 5 | | <i>E. coli</i> | 125 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 125 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 62,5 |
| 6 | | <i>E. coli</i> | 125 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 125 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 250 |

Продовження таблиці 1

| № з/п | R | Штами, що використовували під час досліджень | Результат дослідження | |
|-------------|---|--|-----------------------|---|
| | | | МІК, мкг/мл | МБцК (МФцК для <i>C. albicans</i>), мкг/мл |
| 7 |  | <i>E. coli</i> | 125 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 125 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 125 |
| 8 |  | <i>E. coli</i> | 125 | 125 |
| | | <i>S. aureus</i> | 31,25 | 250 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 62,5 | 62,5 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 31,25 |
| 9 |  | <i>E. coli</i> | 250 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | 125 | 500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 250 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 62,5 |
| 10 |  | <i>E. coli</i> | 31,25 | 62,5 |
| | | <i>S. aureus</i> | 3,9 | 7,8 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 125 | 250 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 62,5 |
| 11 |  | <i>E. coli</i> | 125 | 250 |
| | | <i>S. aureus</i> | >500 | >500 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 62,5 | 125 |
| | | <i>C. albicans</i> | 31,25 | 62,5 |
| Триметоприм | | <i>E. coli</i> | 50 | 50 |
| | | <i>S. aureus</i> | 31,25 | 62,5 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> | 62,5 | 125 |
| | | <i>C. albicans</i> | 62,5 | 125 |

штами грибів (*Candida albicans* ATCC 885–653). Усі тест-штами одержані з бактеріологічної лабораторії ДУ «Запорізький обласний лабораторний Центр державної санітарно-епідеміологічної служби України». Як контроль протимікробної й протигрибкової активності сполук стосовно досліджуваних штамів мікроорганізмів застосували субстанцію антибактеріального препарату триметоприм. Додатково виконано контроль поживних середовищ і розчинника за допомогою загально прийнятих методик.

Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали за відсутністю видимого росту у пробірці з мінімальною концентрацією препарату, мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБцК/МФцК) – за відсутністю росту на агарі після висіву із прозорих пробірок. Як розчинник сполук у дослідженнях використовували диметилсульфоксид.

Результати та їх обговорення

Провівши первинні скринінгові дослідження протимікробної та протигрибкової активності синтезованих N'-іліден-2(3-(адамantan-1-іл)-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)

тіоацетогідрозидів, виявили, що всі вони активні щодо референтних штамів грампозитивних, грамнегативних мікроорганізмів і грибів роду *C. albicans*. За результатами дослідження (табл. 1) серед синтезованих сполук найактивнішою є сполука 10–2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-(3-(5-nitrofuranyl)allylidene)acetohydrazide, що виявила протимікробну активність до усіх референтних тест-штамів, була активнішою за контрольний препарат стосовно *E. coli* та *C. albicans*, МІК і МБцК яких становили (31,25 і 62,5 мкг/мл) у порівнянні з триметопримом (МІК 50 мкг/мл, МБцК 50 мкг/мл та 62,5 і 125 відповідно) і високоактивною щодо *S. aureus* ATCC 25923 (МІК 3,9 мкг/мл, МБцК 7,8 мкг/мл) у порівнянні з МІК і МБцК триметоприму – 31,25 та 62,5 мкг/мл відповідно.

Дослідження фунгістатичної та фунгіцидної дії синтезованих сполук щодо *C. albicans* показали: сполуки 3, 6 і 9 виявляють таку саму активність, як триметоприм (МІК 62,5 мкг/мл, МБцК 125 мкг/мл). Сполуки 1,2,11 виявилися активнішими до тест-штаму *C. albicans* (31,25 і 125 мкг/мл; 31,25 і 62,5 мкг/мл та 31,25 і 62,5 мкг/мл відповідно) у порівнянні з триметопримом.

Слід відзначити, що сполуки 4 і 7 – 2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-(2-hydroxybenzylidene)acetohydrazide і 2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-(2-nitrobenzylidene)acetohydrazide, які містять гідрокси- (нітро-) групу в орто-положенні бензиліденового кільця молекул, виявляють однакову із триметопримом активність щодо *C. albicans* (сполука 4 – МІК, МБЦК 62,5 мкг/мл і сполука 7 – МІК 62,5 мкг/мл, МБЦК 125 мкг/мл відповідно). Переміщення гідрокси- і нітрогрупи в пара-положення бензиліденового кільця сполук, що синтезовані, призводить до збільшення фунгістатичної та фунгіцидної дії щодо *C. albicans* (сполука 5 – МІК 31,25 мкг/мл, МБЦК 62,5 мкг/мл; сполука 8 – МІК 31,25; МБЦК 31,25 мкг/мл) у порівнянні з триметопримом (62,5 і 125 мкг/мл).

Так, сполука 8 – 2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-(4-nitrobenzylidene)acetohydrazide виявляє однакову із триметопримом активність щодо грампозитивного тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 і грамнегативного тест-штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853, що становить (МІК 31,25 мкг/мл, МБЦК 250 мкг/мл і МІК, МБЦК 62,6 мкг/мл відповідно).

Стосовно синьогнійної палички активність сполук 3,4,11 (МІК 62,5 мкг/мл, МБЦК 250 мкг/мл; 62,5 і 250 мкг/мл; 62,5 і 125 мкг/мл відповідно) знаходилася на рівні препарату порівняння. Однак активнішою за еталон виявилася сполука 1–2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-benzylidene acetohydrazide (МІК 31,25 мкг/мл, МБЦК 62,5 мкг/мл).

Висновки

1. Здійснили первинні скринінгові дослідження бактеріостатичної та бактерицидної/фунгіцидної дії N'-іліден-2(3-(адамантан-1-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіоацетогідразидів.

2. Результати дослідження дали змогу виявити сполуки, котрі за активністю перевищують еталон порівняння. Встановили деякі закономірності взаємозв'язку «будова – дія».

3. Сполука 10 – 2-((3-(adamantan-1-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)-N'-(3-(5-nitrofuranyl)allylidene)acetohydrazide у перспективі може послужити для створення нових лікарських засобів щодо боротьби з кандидозною інфекцією у клінічній практиці.

Список літератури

- Вікторов О.П. Антибіотики: проблеми безпеки під час медичного застосування / О.П. Вікторов // *Здоров'я України*. – 2008. – №21. – С. 42.
- World health statistics 2012 [Electronic resource]. – Mode of access: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/index.html.
- Jacob H.J. Antibacterial activity of some selected 1,2,4-triazole derivatives against standard, environmental, and medical bacteria strains / J.H. Jacob, F.I. Irshaid, Y.A. Al-Soud // *Advanced Studies in Biology*. – 2013. – Vol. 5. – №6. – P. 291–301.
- Киричко Б.П. Вивчення протимікробної дії нових похідних 1,2,4-тріазолу / Б.П. Киричко, Т.В. Звенігородська, В.В. Парченко // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. – 2012. – №1. – С. 125–126.
- Вивчення протимікробної та протигрибової активності нових похідних ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот / Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, О.М. Камішній та ін. // *Запорозький медичний журнал*. – 2013. – №2(77). – С. 109–112.
- Протигрибова та протимікробна активність {2-[3-гетерил-1H-1,2,4-тріазол-5-іл]феніл}амінів і продуктів їх гетероциклізації / А.К. Білий, С.І. Коваленко, Л.М. Антипенко та ін. // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. – 2013. – №2(12). – С. 80–82.
- Kumari Shalini. Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles / Kumari Shalini, Nitin Kumar, Sushma Drabu, Pramod Kumar Sharma // *J. Org. Chem.* – 2011. – №7. – P. 668–677.
- Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, and antibacterial activities of some triazole, triazolothiadiazole, and triazolothiadiazine derivatives / M.A. Hussein, R.M. Shaker, M.A. Ameen, M.F. Mohammed // *Arch. Pharm. Res.* – 2011. – Vol. 34. – №8. – P. 1239–1250.
- Synthesis and antimicrobial activities of some new 1,2,4-triazole derivatives / Sh. Desai, U. Laddi, R. Bennur, Sh. Bennur // *Indian Journal of Chemistry*. – 2013. – Vol. 52(08). – P. 1176–1181.
- Chanda S. Synthesis and antibacterial activity of some new

triazole derivatives / S. Chanda, Y. Baravalia, Sh. Baluja // *Archives of Applied Science Research*. – 2010. – №2(3). – P. 117–126.

- Synthesis, antifungal and antibacterial activity for novel amide derivatives containing a triazole moiety / R. Tang, L. Jin, C. Mou, et al. // *Chemistry Central Journal*. – 2013. – №7(30). – P. 1–7.
- Наказ МОЗ України «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» від 05.04.2007 р. №167.
- Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації МОЗ України / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; ДФЦ МОЗ України. – К., 2004. – 38 с.

References

- Viktorov, O. P. (2008) Antybiotyky: problemy bezpeky pid chas medychnoho zastosuvannia [Antibiotics: security issues during medical applications]. *Zdorovia Ukrainy*, 21, 42. [in Ukrainian].
- World health statistics 2012 [Electronic resource]. Retrieved from: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/index.html.
- Jacob, J. H., Irshaid, F. I., & Al-Soud, Y. A. (2013). Antibacterial activity of some selected 1,2,4-triazole derivatives against standard, environmental, and medical bacteria strains. *Advanced Studies in Biology*, 5(6), 291–301. <http://dx.doi.org/10.12988/asb.2013.3418>.
- Kyrychko, B. P., Zvenihorodska, T. V., & Parchenko, V. V. (2012). Vyvchennia protymikrobnoi dii novykh pokhidnykh 1,2,4-triazolu [Study of antimicrobial activity of new derivatives of 1,2,4-triazole]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*, 1, 125–126. [in Ukrainian].
- Yurchenko, D. M., Aleksandrova, K. V., Kamyshnui, O. M., Polishchuk, N. M., & Romanenko, M. I. (2013). Vyvchennia protymikrobnoi ta protyhyrbkovoї aktyvnosti novykh pokhidnykh ksantynil-7-atsetatnykh i ksantynil-8-tioatsetatnykh kyslot [Studying of antimicrobial and antifungal activity of new derivatives of xanthinyl-7-acetic and xanthinyl-8-thioacetic acids]. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 2(77), 109–112. [in Ukrainian].

6. Bilyi, A. K., Kovalenko, S. I., Antypenko, L. M., Kamyshnyi, O. M., & Polishchuk, N. M. (2013). Protihrybkova ta protymikrobnna aktyvnist {2-[3-heteryl-1H-1,2,4-triazol-5-il] fenil} aminiv i produktiv yikh heterotsuklizatsii [Antifungal and antimicrobial activity of {2-[3-heteryl-1H-1,2,4-triazoles-5-yl]phenyl} amine and products of their heterocyclization]. *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 2(12), 80–82. [in Ukrainian].
7. Kumari, Shalini, Nitin, Kumar, Sushma, Drabu, & Pramod, Kumar Sharma. (2011). Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles. *J.Org. Chem*, 7, 668–677. doi: 10.3762/bjoc.7.79.
8. Hussein, M. A., Shaker, R. M., Ameen, M. A., & Mohammed, M. F. (2011). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, and antibacteria activities of some triazole, triazolothiadiazole, and triazolothiadiazine derivatives. *Arch. Pharm. Res.*, 34(8), 1239–1250. doi: 10.1007/s12272-011-0802-z.
9. Desai, Sh., Laddi, U., Bennur, R., & Bennur, Sh. (2013). Synthesis and antimicrobial activities of some new 1,2,4-triazole derivatives. *Indian Journal of Chemistry*, 52(08), 1176–1181.
10. Chanda, S., Baravalia, Y. & Baluja, Sh. (2010). Synthesis and antibacterial activity of some new triazole derivatives. *Archives of Applied Science Research*, 2(3), 117–126.
11. Tang, R., Jin, L., Mou, C., Yin, J., Bai, S., Hu, D. et al. (2013). Synthesis, antifungal and antibacterial activity for novel amide derivatives containing a triazole moiety. *Chemistry Central Journal*, 7(30), 1–7. doi: 10.1186/1752-153X-7-30.
12. Nakaz MOZ Ukrainy Pro zatverdzhennia metodychnykh vkazivok «Vyvchennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ» vid 5 kvitnia 2007 roku №167 [Order of the Ministry of Health of Ukraine About approv alguide lines «Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics» from April 5 2007, №167]. [in Ukrainian].
13. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., Shyrobokov, V. P., et al. (2004). Vyvchennia spetsyfichnoi aktyvnosti protymikrobnnykh likarskykh zasobiv [Studying of the specific activity of antimicrobial drugs]. [in Ukrainian].

Відомості про автора:

Одинцова В. М., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет,
E-mail: odinvera@yandex.ru.

Сведения об авторе:

Одинцова В. Н., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет,
E-mail: odinvera@yandex.ru.

Information about author:

Odynsova V. M., Ph.D., Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University,
E-mail: odinvera@yandex.ru.

Надійшла в редакцію 25.11.2014 р.