

Т.С. Гоцуля¹, О.І. Панасенко¹, Є.Г. Книш¹, О.М. Ачкасова²

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ ТА ПРОТИГРИБКОВОЇ АКТИВНОСТІ СЕРЕД ГАЛОГЕНІДІВ 1-АЛКІЛ-4-(5-НІТРОФУРАН-2-ІЛ)-МЕТИЛЕНАМІНО-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛУ ТА ЇХ ДИМЕТИЛЬНИХ АНАЛОГІВ

¹Запорізький державний медичний університет,

²Запорізька обласна клінічна лікарня

Ключові слова: 4-аміно-1,2,4-тріазоли, антимікробна активність, нітрофурани.

Ключевые слова: 4-амино-1,2,4-триазолы, противомикробная активность, нитрофураны.

Key words: 4-amino-1,2,4-triazole, antimicrobial activity, nitrofurans.

Досліджено чутливість тест-штамів мікроорганізмів до галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу та їх диметильних аналогів з використанням диско-дифузійного методу на середовищі Мюллера-Хінтона. Встановлено, що введення в структуру сполук похідних 4-аміно-1,2,4-тріазолу нітрофуранового радикалу значно впливає на антимікробну активність.

Изучена чувствительность тест-штамов микроорганизмов к галогенидам 1-алкил-4-(5-нитрофуран-2-ил)-метиленамино-4Н-1,2,4-триазола и их диметильным аналогам с использованием диско-дифузионного метода в среде Мюллера-Хинтона. Установлено, что введение в структуру соединений производных 4-амино-1,2,4-триазола нитрофуранового радикала значительно влияет на антимикробную активность.

The sensitivity of the synthesized 1-alkyl-4-(5-nitrofuranyl)-metylenamino-4Н-1,2,4-triazole halogenides and their dimethylated analoges was investigated to test microorganisms via disco-diffusion method in the Mueller-Hinton agar. It has been established that introduction of nitrofuranyl radical in structure of substance 4-amino-1,2,4-triazole derivatives considerably influences the antimicrobial activity.

Нині існує проблема отримання препаратів антимікробної дії, оскільки масове використання антибіотиків та інших антимікробних засобів спричинює виникнення та поширення досить стійких штамів мікроорганізмів. Тому пошук біологічно активних сполук з бактерицидною та бактериостатичною активністю на сьогодні має важливе значення. Особливе місце серед антибактеріальних препаратів посідають похідні нітрофурану (нітрофурантоїн, фуразидин, фурадонін, фуразолідон, ніфуроксазид, ніфурател). Нітрофурани посідають друге місце після сульфаніламідів (норсульфазол, уросульфам, фталазол), класів синтетичних антибактеріальних препаратів, запропонованих для широкого застосування у медичній практиці. Як свідчать дані спеціальної літератури [1,2,5], похідні 4-аміно-1,2,4-тріазолу проявляють помірну бактериостатичну активність, а введення нітрофуранового радикалу в їх структуру дозволяє значно підвищити антимікробну активність.

МЕТА РОБОТИ

Пошук антимікробних і протигрибкових біологічно активних сполук серед похідних 4-аміно-1,2,4-тріазолу та встановлення закономірностей між досліджуваною біологічною активністю й особливостями їх хімічної будови.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчено антимікробну активність галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу та їх диметильних аналогів, синтезованих на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету. Одним із методів визначення антимікробної чутливості мікроорганізмів є метод дифузії в агар з використанням дисків з антибіотиками. Дослідження антимікробної та протигрибкової дії проводили в бактеріологічній лабораторії

Запорізької обласної клінічної лікарні диско-дифузійним методом [3] на середовищі Мюллера-Хінтона, використовуючи такі тест-штами мікроорганізмів: грампозитивні коки (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), грамнегативні палички (*Pseudomonas aeruginosa* ПСС27853, *Escherichia coli* ATCC 25922), факультативно-анаеробні грамнегативні палички (*Klebsiella pneumonia*) та гриби (*Candida albicans* ATCC 88563). При визначенні чутливості використано стандартний інкулюм, що відповідає 0,5 за стандартом Мак-Фарланда, тобто містить приблизно $1,5 \cdot 10^8$ КУО/см³. Стандартний інкулюм наносили піпеткою на поверхню чашки Петрі з поживним середовищем в об'ємі 1–2 см³, рівномірно розподіляючи на поверхні похитуванням, надлишок інкулюма видаляли піпеткою.

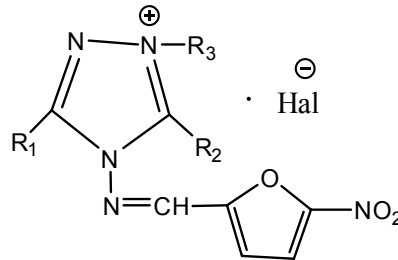
На поверхню агара нанесено стандартні стерилізовані паперові диски (6 мм діаметром), які імпрегновано розчином синтезованих сполук у диметильсульфоксиді (ДМСО) (100 мкг/диск). Тривалість інкубації чашок з бактеріями – 24 год за температури 35°C, з грибами – 48–72 год за температури 28–30°C. Діаметр зон затримки росту вимірювали з точністю до 1 мм. Диск тільки з ДМСО не викликав інгібування росту зазначених мікроорганізмів.

Ступінь активності синтезованих сполук оцінювали за величиною зон пригнічення росту мікроорганізмів згідно параметрів:

1. Зона затримки росту діаметром до 10 мм або її відсутність вказує на те, що мікроорганізми не чутливі до внесеного у лунку препарату;

2. Зона затримки росту діаметром 11–15 мм вказує на малу чутливість культури;

Антимікробна й протигрибкова активність галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу та їх диметильних аналогів (1–10)



№ сполуки	R ₁	R ₂	R ₃	Hal	Конц, мкг	Діаметр зон інгібування росту тест-культур синтезованих сполук, мм						
						ЕС	РА	КР	ЕА	ЕФ	СА	СА
1	H	H	C ₃ H ₇	Br	100	24	6	18	21	18	26	6
2	H	H	C ₄ H ₉	Br	100	19	6	13	15	16	21	6
3	H	H	C ₅ H ₁₁	Br	100	11	6	12	20	6	19	6
4	H	H	C ₈ H ₁₇	Br	100	19	6	16	16	6	22	6
5	H	H	CH ₂ COOH	Cl	100	19	6	6	15	6	22	6
6	H	H	CH ₃ -C(=O)NH ₂	Cl	100	6	6	6	6	6	6	8
7	CH ₃	CH ₃	C ₅ H ₁₁	Br	100	18	6	18	19	20	24	6
8	CH ₃	CH ₃	C ₈ H ₁₇	Br	100	18	6	6	16	17	20	12
9	CH ₃	CH ₃	C ₁₀ H ₂₁	Cl	100	25	6	22	21	16	24	6
10	CH ₃	CH ₃	CH ₂ COOH	Cl	100	20	6	17	6	18	24	6
11	Фуразолідон				100	25	-	-	-	-	22	-
12	Фурадонін				50	22	-	-	-	-	22	-
13	Флуконазол				25	-	-	-	-	-	-	19

Примітки: Escherichia coli – ЕС, Pseudomonas aeruginosa – РА, Klebsiella pneumonia – КР, Enterobacter aerogenes – ЕА, Enterococcus faecalis – ЕФ, Staphylococcus aureus – СА, Candida albicans – СА; * – діаметр паперового диску 6 мм.

3. Зона затримки росту діаметром 15–25 мм вважається показником чутливості мікроорганізмів;

4. Зона затримки росту діаметром більше 25 мм свідчить про високу чутливість мікробів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що похідні 5-нітрофурану активні відносно більшості збудників кишкових інфекцій [4,6,7], а похідні 4-аміно-1,2,4-тріазолу знаходять своє застосування як інсектициди, протимікробні та протигрибкові засоби [2,5,7]. Тому перспективним є синтез нових галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу й дослідження їх антимікробної та протигрибкової активності.

Для порівняння активності вказаних сполук використано такі відомі антимікробні препарати, як фурадонін і фуразолідон [8]. У якості еталону порівняння з протигрибковою активність використовували флуконазол [8].

Як вихідні речовини для виявлення потенційних антимікробних засобів використовували синтезовані галогеніди 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу та їх диметильні аналоги.

Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Аналіз наведених даних показує, що більшість галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу виявляють виражену антимікробну активність.



Так, бромід 4-((5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-1-пропіл-4Н-1,2,4-тріазолу (1) виявився чутливим до тест-штамів кишкової палички (*E. coli*), золотистого стафілококу (*S. aureus*), фекального ентерококу (*E. faecalis*) і палички Фридлендера (*Kl. pneumoniae*) та нечутливим до синьогнійної палички (*P. aeruginosa*). З таблиці 1 також видно, що подовження алкільного радикалу призводить до зниження активності досліджуваних сполук. Однак введення 2 метильних груп у 3 і 5 положенні, як правило, призводить до збільшення активності сполук. Ця закономірність спостерігається і при введенні залишку оцтової кислоти. Так, наприклад, хлорид 1-(карбоксиметил)-3,5-диметил-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу (сполука 10) чутливіша до тест-штамів мікроорганізмів, ніж хлорид 1-(карбоксиметил)-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу (сполука 5). Слід звернути увагу, що введення амідної групи в структуру 4-аміно-1,2,4-тріазолу призводить до повної інактивації сполук відносно всіх тест-штамів досліджуваних мікроорганізмів.

Особливої уваги заслуговують хлориди 1-децил- та 1-(карбоксо-метил)-3,5-диметил-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу (сполуки 9 та 10), що виявились чутливими відносно до дріжджоподібного гриба *Candida albicans ATCC 885653*.

ВИСНОВКИ

Вивчено бактеріостатичну активність галогенідів 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу та їх диметильних аналогів відносно тест-штамів мікроорганізмів кишкової групи (*Escherichia coli ATCC 25922*, *Enterobacter aerogenes №12*), синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa ПСС27853*), палички Фридлендера (*Klebsiella pneumoniae №68*), золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus ATCC25923*), а також протигрибкову активність відносно

дріжджоподібних грибів (*Candida albicans ATCC 885653*).

Галогеніди 1-алкіл-4-(5-нітрофуран-2-іл)-метиленаміно-4Н-1,2,4-тріазолу є чутливими до використаних штамів мікроорганізмів за винятком синьогнійної палички (*P. aeruginosa*) і можуть бути використані для подальшого глибшого вивчення антимікробної активності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бакуменко М.Г. Исследование антимикробной активности тризамещенных 1,2,4-триазола / Бакуменко М.Г., Самура Б.А., Панасенко А.И. [и др.] // X Рос. нац. конгресс «Человек и лекарство»: тез. докл. – М., 2002. – С. 725–726.
2. Каплаушенко А.Г. Пошук речовин з протимікробною активністю серед 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-триазоліл-3-тіонів та їх похідних / Каплаушенко А.Г., Книш Є.Г., Панасенко О.І., Леснічя А.М. // Запороз. мед. журн. – 2005. – №4 (31). – С. 148–150.
3. Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»».
4. Немытина Ю.В. Антимикробные и противогрибковые лекарственные средства / Немытина Ю.В. – М.: Ремедиум, 2002. – 324 с.
5. Парченко В.В. Изучение противомикробной противогрибковой активности некоторых производных 5-гетерил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов, 2-бензилиден-1,2,4-триазоло-(3,4-В)-тиазол-3-(2Н)-онов и бензилиденгидразидов-5-гетерил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-меркапто-уксусных кислот / Парченко В.В., Маковик Ю.В., Книш Е.Г. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2004. – Вип. XII. – С. 72–76.
6. Alka Mital. Synthetic Nitroimidazoles: Biological Activities and Mutagenicity Relationships / Alka Mital // Sci Pharm. – 2009. – Vol. 77. – P. 497–520.
7. Shivananda M.K. Antifungal activity studies of some mannich bases carrying nitrofuranyl moiety / M.K. Shivananda, Shet Prakash M. // J. Chem. Pharm. Res. – 2011. – Vol. 3, №2. – P. 303–307.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; tenth informational supplement. NCCLS Document M100-S12. – 2002. – P. 136.

Відомості про авторів:

Гоцуля Т.С., асистент каф. УЕФ медичного та фармацевтичного товарознавства ЗДМУ.

Панасенко О.І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.

Книш Є.Г., д. фарм. н., професор, зав. каф. УЕФ медичного та фармацевтичного товарознавства ЗДМУ.

Ачкасова О. М., зав. бактеріологічної лабораторії ЗОКЛ.

Адреса для листування:

Гоцуля Тетяна Сергіївна. 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.

Тел.: (0612) 36 22 48.