

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТРИАЗИНІВ СТОСОВНО *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

М. М. Бабкіна^{1,4}, О. В. Васильченко², О. М. Дерябін³, О. А. Тарасов⁴,
А. М. Головка³, Л. Г. Пальчиковська²
pharmwork@ukr.net

¹Інститут біології тварин НААН,
вул. В.Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна

³Державний науково-контрольний інститут біотехнології та штамів мікроорганізмів,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

⁴Інститут ветеринарної медицини НААН,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

У статті наведено результати дослідження антибіотичної активності та визначення мінімальних інгібуючих концентрацій речовин класів триазинів методом серійних розведень стосовно *Salmonella typhimurium*. Антибіотичну активність речовин класів триазинів досліджували диско-дифузійним методом. Встановлено антибактеріальну активність триазинів до музейної тест-культури *Salmonella typhimurium*, а також відсутність проявів резистентності у *Salmonella typhimurium* до досліджуваних сполук класів триазинів.

У роботі були використані речовини класів моноциклічних і трициклічних триазинів. Для досліджень було відібрано одинадцять сполук, що відрізнялись між собою положенням та природою радикала.

Результати проведених досліджень дозволили визначити мінімальну інгібуючу концентрацію і вірогідний діаметр зон затримки росту речовин класів моноциклічних триазинів та трициклічних триазинів, що становили, відповідно, від $0,41 \pm 0,005$ мг/см³ до $0,0041 \pm 0,00007$ мг/см³, та від $9,3 \pm 0,49$ мм до $24 \pm 0,36$ мм.

Найбільшу активність щодо *Salmonella typhimurium* проявили сполуки ОДИ-8 (6-[(4-амінофеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2Н,4Н)-діон), ОДИ-13 (6-[(4-ізопропоксифеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2Н,4Н)-діон), ОДИ-45 (7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1Н-[1,2,4]триазино-[5,6-б][1,4]бензотіазин-9-карбонова кислота) та ОДИ-60 (7-метил-3-оксо-N-піримідин-2-ил-2,3-дигідро-1Н-[1,2,4]триазино-[5,6-б][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід) з мінімальною інгібуючою концентрацією $0,0041$ мг/см³ та зонами затримки росту від $22,6 \pm 0,61$ мм до $24 \pm 0,36$ мм та ОДИ-11 з мінімальною інгібуючою концентрацією $0,041$ мг/см³ та діаметром зон затримки росту $21,1 \pm 0,47$ мм. Сполуки ОДИ-5, ОДИ-10, ОДИ-14, ОДИ-15, ОДИ-50 та ОДИ-58, що відрізнялись між собою положенням та природою радикалів, у мінімальній концентрації $0,41$ мг/см³ проявляли низьку антибактеріальну активність, а діаметр зон затримки росту цих сполук становив від $9,3 \pm 0,49$ мм до $11,3 \pm 0,49$ мм.

Сполуки ОДИ-1, ОДИ-2, ОДИ-3, ОДИ-4, ОДИ-6, ОДИ-7, ОДИ-9, ОДИ-12, ОДИ-46, ОДИ-47, ОДИ-48, ОДИ-49, ОДИ-51, ОДИ-52, ОДИ-53, ОДИ-54, ОДИ-55, ОДИ-56, ОДИ-57, ОДИ-59 виявились неактивними щодо *Salmonella typhimurium*.

Ключові слова: МІКРООРГАНІЗМ, *SALMONELLA TYPHIMURIUM*, МІНІМАЛЬНА ІНГІБУЮЧА КОНЦЕНТРАЦІЯ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ, ТРИАЗИНИ

DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF TRIAZINES IN REGARDS TO *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

М. М. Babkina^{1,4}, О. В. Vasylychenko², О. М. Deriabin³, А. А. Tarasov⁴,
А. М. Golovko³, L. G. Palchykovska²
pharmwork@ukr.net

¹Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv 79034, Ukraine

²Institute of Molecular Biology and Genetics National Academy of Sciences of Ukraine,
150 Akademika Zabolotnoho str., Kyiv 03680, Ukraine

³State Scientific Control Institute of Biotechnology and States of Microorganisms,
30 Donetska str., Kyiv 03151, Ukraine

⁴Institute of Veterinary Medicine NAAS,
30 Donetska str., Kyiv 03151, Ukraine

The results of the study of antibacterial activity and determining minimum inhibitory concentrations triazines classes by microdilution method against a Salmonella typhimurium are described in the article. The antimicrobial activity of the triazines class substances was investigated by disk diffusion method. An antibacterial activity of triazines to museum strain Salmonella typhimurium was established. The presence of the susceptibility of Salmonella typhimurium to the tested compounds has been revealed.

The monocyclic and threecyclic triazines compounds classes were used. We chose eleven the most perspective substances with some difference due to position of radical groups and its composition recording the results of the research.

As result of investigations the Minimal Inhibitory Concentration and growth inhibition zone of monocyclic and threecyclic triazines class substances were identified. The Minimal Inhibitory Concentration was detected at range from $0.41 \pm 0.005 \text{ mg/cm}^3$ to $0.0041 \pm 0.00007 \text{ mg/cm}^3$ and growth zone diameter from $9.3 \pm 0.49 \text{ mm}$ to $24 \pm 0.36 \text{ mm}$.

The most active compounds tested of substances regards to Salmonella typhimurium were ODI-8 (6-[(4-aminophenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2H,4H)-dione), ODI-13 (6-[(4-isopropoxyphenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2H,4H)-dione), ODI-45 (7-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-1H-[1,2,4]triazino[5,6-b][1,4]benzothiazine-9-carboxylic acid) and ODI-60 (7-methyl-3-oxo-N-pyrimidin-2-yl-2,3-dihydro-1H-[1,2,4]triazino[5,6-b][1,4]benzothiazine-9-carboxamide) with a minimum inhibitory concentration 0.0041 mg/cm^3 and the diameter of growth inhibition zone from $22.6 \pm 0.61 \text{ mm}$ to $24 \pm 0.36 \text{ mm}$. ODI-11 has activity with a minimum inhibitory concentration 0.041 mg/cm^3 and the diameter of growth inhibition zone $21.1 \pm 0.47 \text{ mm}$.

The compounds ODI-5, ODI-10, ODI-14, ODI-15, ODI-50 and ODI-58 which differ by nature and position of the radicals, demonstrated low level of antibacterial activity with a minimal concentration 0.41 mg/cm^3 . The diameter of the zones of growth inhibition for these compounds was from $9.3 \pm 0.49 \text{ mm}$ to $11.3 \pm 0.49 \text{ mm}$.

The compounds ODI-1, ODI-2, ODI-3, ODI-4, ODI-6, ODI-7, ODI-9, ODI-12, ODI-46, ODI-47, ODI-48, ODI-49, ODI-51, ODI-52, ODI-53, ODI-54, ODI-55, ODI-56, ODI-57, ODI-59 did not demonstrate any activity against Salmonella typhimurium.

Keywords: MICROORGANISM, SALMONELLA TYPHIMURIUM, MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION, ANTIBACTERIAL PROPERTIES, TRIAZINES

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ТРИАЗИНОВ В ОТНОШЕНИИ SALMONELLA TYPHIMURIUM

М. М. Бабкина^{1,4}, А. В. Васильченко², О. Н. Дерябин³, А. А. Тарасов⁴,
А. Н. Головкин³, Л. И. Пальчиковская²
pharmwork@ukr.net

¹Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

²Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 150, г. Киев, 03680, Украина

³Государственный научно-контрольный институт
биотехнологии и штаммов микроорганизмов,
ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

⁴Институт ветеринарной медицины НААН,
ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

В статье приведены результаты исследования антибактериальной активности и определения минимальных ингибирующих концентраций веществ классов триазинов методом серийных разведений в отношении Salmonella typhimurium. Антибактериальная активность веществ классов триазинов исследовалась диско-диффузионным методом. Установлено антибактериальную активность триазинов к музейной тест-культуре Salmonella typhimurium, а также отсутствие проявлений резистентности

у *Salmonella typhimurium* к исследуемым веществам классов триазинов.

В работе использованы вещества классов моноциклических и трициклических триазинов. В процессе исследований было отобрано одиннадцать соединений, отличающихся между собой положением и природой радикала-заместителя.

В результате проведенных исследований была определена минимальная ингибирующая концентрация и зоны задержки роста веществ классов моноциклических триазинов и трициклических триазинов. Минимальная ингибирующая концентрация составляла от $0,41 \pm 0,005$ мг/см³ до $0,0041 \pm 0,00007$ мг/см³ и диаметр зон задержки роста имел значения от $9,3 \pm 0,49$ мм до $24 \pm 0,36$ мм.

Наибольшую активность по отношению к *Salmonella typhimurium* проявили соединения ОДИ-8 (6-[(4-аминофенил)амино]-1,2,4-триазин-3,5(2Н,4Н)-дион), ОДИ-13 (6-[(4-изопропоксифенил)амино]-1,2,4-триазин-3,5(2Н,4Н)-дион), ОДИ-45 (7-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-[1,2,4]триазино-[5,6-б][1,4]бензотиазин-9-карбоновая кислота) и ОДИ-60 (7-метил-3-оксо-N-пириимидин-2-ил-2,3-дигидро-1Н-[1,2,4]триазино-[5,6-б][1,4]бензотиазин-9-карбоксамид) с минимальной ингибирующей концентрацией $0,0041$ мг/см³ и зонами задержки роста от $22,6 \pm 0,61$ мм до $24 \pm 0,36$ мм и ОДИ-11 в минимальной ингибирующей концентрации $0,041$ мг/см³ и с диаметром зоны задержки роста $21,1 \pm 0,47$ мм. Соединения ОДИ-5, ОДИ-10, ОДИ-14, ОДИ-15, ОДИ-50 и ОДИ-58, отличающиеся между собой положением и природой радикалов, в минимальной концентрации $0,41$ мг/см³ имели низкую антибактериальную активность, а диаметр зон задержки роста этих соединений составил от $9,3 \pm 0,49$ мм до $11,3 \pm 0,49$ мм.

Соединения ОДИ-1, ОДИ-2, ОДИ-3, ОДИ-4, ОДИ-6, ОДИ-7, ОДИ-9, ОДИ-12, ОДИ-46, ОДИ-47, ОДИ-48, ОДИ-49, ОДИ-51, ОДИ-52, ОДИ-53, ОДИ-54, ОДИ-55, ОДИ-56, ОДИ-57, ОДИ-59 оказались неактивными по отношению к *Salmonella typhimurium*.

Ключевые слова: МИКРООРГАНИЗМ, *SALMONELLA TYPHIMURIUM*, МИНИМАЛЬНАЯ ИНГИБИРУЮЩАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, ТРИАЗИНЫ

У зв'язку з широким застосуванням антибіотиків та антибактеріальних препаратів сьогодні дедалі частіше виникають штами мікроорганізмів, що характеризуються резистентністю та полірезистентністю до антибіотиків першого вибору [16, 18, 27].

На початку 1990-х рр. стали з'являтися штами *Salmonella*, стійкі до цілої низки протимікробних препаратів, які в наш час є серйозною проблемою для охорони здоров'я.

90 % випадків сальмонельозів припадає на *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella panama*, *Salmonella infantis*, *Salmonella newport*, *Salmonella agona*, *Salmonella derby* та *Salmonella london*. Ці штами зазвичай викликають гастроентерит, котрий часто минає без ускладнень та не потребує оперативного лікування, однак може проходити й у тяжкій формі. Тяжкість хвороби залежить від віку та фізіологічного стану людини. Понад 50 % випадків усіх захворювань, пов'язаних із сальмонелою, припадає на серотипи *S. typhimurium* і *S. enteritidis*. Це два найбільш агресивні серотипи сальмонел, які передаються від тварин до людини.

До того ж, кількість хворих на сальмонельоз, у тому числі в розвинених країнах, останніми роками зростає. Це пов'язано з по-

вою резистентних до сучасних антибіотиків штамів сальмонел *S. typhimurium* та *S. enteritidis* та розповсюдженням цих штамів по всьому світу. Внутрішньолікарняний сальмонельоз є однією з серйозних проблем сучасної охорони здоров'я. Наприклад, за офіційною статистикою США, у цій країні щорічно реєструється понад 40000 випадків сальмонельозу. Вмирає 500 хворих, при цьому інфекція завдає країні збитків у розмірі приблизно 50 млн. доларів. В етіологічній структурі летальності від гострих кишкових інфекцій внутрішньолікарняний сальмонельоз становив третину всіх випадків ураження цієї хворобою [26].

У 80 % випадків збудником внутрішньолікарняного сальмонельозу є *S. typhimurium* [9, 23]. Тому здійснюється постійний пошук нових антибіотичних препаратів, зокрема комбінованих. Пошук ведеться і серед відомих класів речовин з метою одержання більш активних сполук шляхом хімічної модифікації молекул сучасних антимікробних засобів, у тому числі комбінацій антибіотиків, які широко використовуються у клінічній практиці [3, 10, 25, 28].

Наприклад, 1,2,4-триазинові мають широкий спектр властивостей, їхньому синтезу

присвячено велику кількість оглядів та монографій [5–8, 12, 13, 15, 19–22]. Так, моноциклічні 1,2,4-триазини проявили властивості як реагенти в аналітичній хімії, протисудомних препаратах (наприклад, «Ламотриджин»). У низці конденсованих 1,2,4-триазинів знайдені сполуки, які проявляють різні види біологічної активності: анагетичну активність [14], антифламаторну та антиперітичну дію [24], протитромбозний ефект [17], діуретичні властивості [1], анти-ВІЛ активність [11] та виражену протипухлинну дію, зокрема антилейкімічну [4, 2].

Успіх антибактеріальної терапії залежить від використання антибіотиків першого вибору, зокрема визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів та вибору найефективнішого з них. Для цього визначати чутливість до антибіотиків та проводити пошук нових сполук із антибактеріальною активністю потрібно постійно.

Тому, на нашу думку, пошук та дослідження нових речовин серед класу триазинів з антибактеріальними властивостями є дуже перспективним напрямом досліджень. Мета роботи полягала у порівнянні антимікробної активності новосинтезованих речовин класів моноциклічних та трициклічних триазинів стосовно *S. typhimurium*.

Матеріали і методи

Для досліджень було використано культуру грамнегативного мікроорганізму *S. typhimurium* (штам 144) з колекції Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів. Для культивування *S. typhimurium*, а також для досліджень методом серійних мікророзведень використовували бульйон Мюллера-Хінтона (МХБ).

Сполуки були синтезовані авторами статті в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України.

Дослідження розпочали з вирощування добової культури мікроорганізму. Згодом її стандартизували, довівши концентрацію 0,9 % розчином NaCl до 0,5 за стандартом МакФарленда ($1,5 \times 10^8$ КУО/см³).

Хімічні сполуки попередньо розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО) до початкової концентрації $0,41 \pm 0,003$ мг/см³. Досліди проводили з використанням полістиролових планшетів на 96 лунок (*Sarstedt*, Німеччина) та чашок Петрі. У перший ряд планшету (A₁–H₁) вносили контроль бульйону в кількості $0,1 \pm 0,002$ см³, у другий (A₂–H₂) — контроль культури в кількості $0,09 \pm 0,005$ см³, у третій ряд (A₃–H₃) — суміш бульйону, культури та ДМСО у співвідношенні 10:9:1. У дванадцятий ряд (A₁₂–H₁₂) вносили суміш поживного середовища, культури та антибіотика «Норфлоксацин» в якості позитивного контролю у співвідношенні 10:9:1, в усі інші ряди — суміш бульйону, культури та досліджуваної речовини у співвідношенні 10:9:1.

Для досліджень диско-дифузійним методом використовували агар Мюллера-Хінтона (МХА). У чашку Петрі наливали 20 ± 1 см³ агару та давали застигнути впродовж 2–3 годин. Далі додавали $1,5 \pm 0,1$ см³ культури мікроорганізму *S. typhimurium* у концентрації 0,5 за стандартом МакФарленда ($1,5 \times 10^8$ КУО/см³) та рівномірно розподіляли по всій поверхні чашки Петрі, відстоювали чашки 20–30 хвилин для застигання агару. Після цього на стерильні диски діаметром 6 мм з фільтрувального паперу з діаметром пор 0,22 мкм наносили по $0,01 \pm 0,00002$ см³ досліджуваних речовин у концентраціях $0,41 \pm 0,0003$ мг/см³, $0,041 \pm 0,0002$ мг/см³, $0,0041 \pm 0,00001$ мг/см³ та $0,00041 \pm 0,0000002$ мг/см³ (похибка дозатора) та розкладали на чашки в кількості по 6 дисків на чашку. Далі інкубували чашки Петрі впродовж 2–3 годин за температури 25 ± 2 °C для дифундування антимікробних речовин в агар.

Після цього планшети та чашки Петрі інкубували у термостаті за температури 35 ± 2 °C впродовж 20–24 годин.

Результати й обговорення

У результаті проведених нами досліджень встановлено антибактеріальну активність досліджуваних речовин стосовно *S. typhimurium* (табл. 1, 2). Встановлено їх мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) та діаметр зон затримки росту для грамнегативної тест-культури *S. typhimurium*.

Таблиця 1

Результати визначення мінімальної інгібуючої концентрації триазинів на культурі *Salmonella typhimurium* методом серійних мікророзведень, $M \pm m$, $n=6^*$
Determination of the minimum inhibitory concentration of triazines in culture of *Salmonella typhimurium* by serial microdilution method, $M \pm m$, $n=6^*$

| Номер речовини Number of compound | Назва Name | МІК, мг/см ³ MIC, mg/cm ³ | МІК «Норфлоксацину», мг/см ³ MIC "Norfloxacin", mg/cm ³ | МІК ДМСО, мг/см ³ MIC DMSO, mg/cm ³ |
|-----------------------------------|--|---|---|---|
| ОДІ-5 | 6-[(4-фторфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-5 | 6-[(4-фторфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-8 | 6-[(4-амінофеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-8 | 6-[(4-амінофеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-10 | 6-[(4-етилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-10 | 6-[(4-етилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-11 | 6-[(3,4-диметилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-11 | 6-[(3,4-диметилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-13 | 6-[(4-ізопропоксифеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-13 | 6-[(4-ізопропоксифеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-14 | 6-[(4-трет-бутилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-14 | 6-[(4-ізообутилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-15 | 6-[[4-(пентилокси)феніл]аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-15 | 6-[[4-(пентилокси)феніл]аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-45 | 7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбонова кислота | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-45 | 7-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxylic acid | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-50 | 3-оксо- <i>N</i> -[3-(трифторметил)феніл]-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-7-карбоксамід | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-50 | 3-oxo- <i>N</i> -[3-(trifluoromethyl)phenyl]-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-7-carboxamide | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-58 | 7-метил-3-оксо- <i>N</i> -пиримідин-2-ил-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-58 | 7-methyl-3-oxo- <i>N</i> -pyrimidin-2-yl-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxamide | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-60 | 7-метил-3-оксо- <i>N</i> -пиримідин-2-ил-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід | 0,41±0,005 | 0,0004±0,000001 | >1 |
| ОДІ-60 | 7-methyl-3-oxo- <i>N</i> -pyrimidin-2-yl-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxamide | 0,0041±0,00007 | 0,0004±0,000001 | >1 |

Примітка: у цій та наступній таблиці — ступінь вірогідності ($P \leq 0,05$) порівняно з контролем (за критерієм Стьюдента)
 Note: in this and the following table — the difference between control and tested group is statistically significant ($P \leq 0,05$)

Таблиця 2

Результати визначення антибактеріальної дії сполук класів триазинів на *Salmonella typhimurium* диско-дифузійним методом, M±m, n=6
The results of determination of antibacterial action of triazines classes towards *Salmonella typhimurium* using disco-diffusion method, M±m, n=6*

| Номер речовини Number of compound | Назва Name | Діаметр зон затримки росту, мм Diameter of growth inhibition zones, mm | Діаметр зон затримки росту «Норфлоксацин», мм Diameter of growth inhibition zones of «Norfloxacin», mm | Діаметр зон затримки росту ДМСО, мм Diameter of growth inhibition zones of DMSO, mm |
|--------------------------------------|--|---|---|--|
| ОДИ-5 | 6-[(4-фторфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 9,3±0,49 | 27,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-5 | 6-[(4-fluorophenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-8 | 6-[(4-амінофеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 22,6±0,61 | 29,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-8 | 6-[(4-aminophenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-10 | 6-[(4-етилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 10,5±0,42 | 27,0±1 | <6 |
| ОДИ-10 | 6-[(4-ethylphenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-11 | 6-[(3,4-диметилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 21,1±0,47 | 29,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-11 | 6-[(3,4-dimethylphenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-13 | 6-[(4-ізопропоксифеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 23,6±0,33 | 30,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-13 | 6-[(4-isopropoxyphenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-14 | 6-[(4-трет-бутилфеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 11,1±0,22 | 27,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-14 | 6-[(4-isobutylphenyl)amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-15 | 6-[[4-(пентилокси)феніл]аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-діон | 11,3±0,49 | 27,0±1 | <6 |
| ОДИ-15 | 6-[[4-(pentyloxy)phenyl]amino]-1,2,4-triazine-3,5(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i>)-dione | | | |
| ОДИ-45 | 7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбонова кислота | 23,3±0,21 | 28,0±1 | <6 |
| ОДИ-45 | 7-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxylic acid | | | |
| ОДИ-50 | 3-оксо- <i>N</i> -[3-(трифторметил)феніл]-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-7-карбоксамід | 10,5±0,56 | 28,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-50 | 3-oxo- <i>N</i> -[3-(trifluoromethyl)phenyl]-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-7-carboxamide | | | |
| ОДИ-58 | 7-метил-3-оксо- <i>N</i> -піридин-2-ил-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід | 10,1±0,47 | 27,0±0,5 | <6 |
| ОДИ-58 | 7-methyl-3-oxo- <i>N</i> -pyridin-2-yl-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxamide | | | |
| ОДИ-60 | 7-метил-3-оксо- <i>N</i> -піримідин-2-ил-2,3-дигідро-1 <i>H</i> -[1,2,4]триазино-[5,6- <i>b</i>][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід | 24±0,36 | 30,0±0,8 | <6 |
| ОДИ-60 | 7-methyl-3-oxo- <i>N</i> -pyrimidin-2-yl-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -[1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>][1,4]benzothiazine-9-carboxamide | | | |

Отримані результати свідчать про те, що досліджувані сполуки класів моноциклічних та трициклічних триазинів проявили антибактеріальну дію стосовно *S. typhimurium* (пригнічували ріст культури досліджуваного мікроорганізму).

Також було встановлено, що із 32 досліджуваних речовин найбільш виражене пригнічування росту *S. typhimurium* методом серійних розведень проявили речовини ОДИ-8, ОДИ-13, ОДИ-45 та ОДИ-60, що становить 12 % від усіх сполук, які вивчали. Мінімальна інгібуюча концентрація активних речовин становила $0,0041 \pm 0,00007$ мг/см³. Крім того, 6 речовин (19 % від усіх представлених для дослідження сполук) проявили слабку протимікробну дію на *S. typhimurium* зі значенням МК $0,41 \pm 0,005$ мг/см³. Крім того, сполука ОДИ-11 проявила активність у концентрації $0,041 \pm 0,0006$ мг/см³. Значення мінімальної інгібуючої концентрації антибіотика «Норфлуксацин» стосовно *S. typhimurium* становило $0,0004 \pm 0,000001$ мг/см³, МК ДМСО — >1 мг/см³.

Дослідженнями антибіотичних речовин класів моноциклічних та трициклічних триазинів диско-дифузійним методом встановлено, що найбільш активними були речовини ОДИ-8, ОДИ-13, ОДИ-45 та ОДИ-60, що проявлялось формуванням зон затримки росту діаметром від $26,0 \pm 0,6$ мм до $28,0 \pm 0,8$ мм. Шість сполук зі спектру досліджуваних речовин проявили значно слабшу активність — діаметр зон затримки росту у них становив від $9,3 \pm 0,49$ мм до $11,3 \pm 0,49$ мм, а значення діаметру зон затримки росту ДМСО склало <6 мм.

На основі отриманих даних встановлено, що хімічні особливості сполук ОДИ-8, ОДИ-13, ОДИ-45 та ОДИ-60 обумовили мінімальну інгібуючу концентрацію $0,0041$ мг/см³ та зони затримки росту від $22,6 \pm 0,61$ мм до $24 \pm 0,36$ мм.

Висновки

1. Встановлено антибіотичну активність хімічних сполук класів триазинів стосовно *S. typhimurium*

2. Мінімальні інгібуючі концентрації речовин груп триазинів мали значення від

$0,0041 \pm 0,00006$ мг/см³ до $0,410 \pm 0,005$ мг/см³, діаметри зон затримки росту — від $20,0 \pm 0,5$ мм до $28,0 \pm 0,8$ мм.

3. Сполуки 6-[(4-амінофеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2*H*,4*H*)-діон, 6-[(4-ізопропоксифеніл)аміно]-1,2,4-триазин-3,5(2*H*,4*H*)-діон, 7-метил-3-оксо-2,3-дигідро-1*H*-[1,2,4]триазино-[5,6-*b*][1,4]бензотіазин-9-карбонова кислота та 7-метил-3-оксо-*N*-піримідин-2-ил-2,3-дигідро-1*H*-[1,2,4]триазино-[5,6-*b*][1,4]бензотіазин-9-карбоксамід є найбільш перспективними речовинами для подальшого дослідження як основні діючі речовини антибактеріального препарату широкого спектру дії.

Перспективи подальших досліджень.

Означене дозволяє зробити висновок, що пошук новосинтезованих хімічних сполук із протимікробною дією є достатньо перспективним напрямом в умовах зростання антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Тому подальші дослідження будуть спрямовані на пошук нових речовин із антибактеріальними властивостями стосовно *S. typhimurium*.

1. Abdel-Rahman R. M., Morsy J. M., Hanafy F., Amene H. A. Synthesis of heterobicyclic nitrogen systems bearing the 1,2,4-triazine moiety as anti-HIV and anticancer drugs: part I. *Pharmazie*, 1999, vol. 54, pp. 347–351.

2. Alekseev S. G., Charushin V. N., Chupakhin O. N., Aleksandrov G. G., Shorshnev S. V., Chernishev A. I. Cyclizations of azine's cations with bifunctional nucleophiles, 1989, vol. 7, p. 16–37. (in Russian)

3. ASM Task Force on Antibiotic Resistance. In: *Report of the American Society for Microbiology Task Force on Antibiotic Resistance*. American Society for Microbiology, Washington, DC; 1994: pp. 3–6. <http://www.asm.org/ASM/files/CCPAGE-CONTENT/DOCFILENAME/0000005962/antibiot%5B1%5D.pdf>.

4. Barraja P., Diana P., Lauria A., Almerico A. M., Dattolo G., Cirrincione G. 2-Diazoindoles: building blocks for the synthesis of antineoplastic agents. *Farmaco*, 2002, vol. 57, pp. 97–100.

5. Charushin V. N., Chupakhin O. N., van der Plas H. C. Reactions of azines with bifunctional nucleophiles. Cyclizations and ring transformations. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 1988, vol. 43, pp. 301–353.

6. Charushin V. N., Alexeev S. G., Chupakhin O. N., van der Plas H. C. Behavior of monocyclic 1,2,4-Triazines in reactions with C-, N-, O- and S-Nucleophiles. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 1989, vol. 46, pp. 73–142.

7. Chupakhin O. N., Alexeev S. G., Rudakov B. V., Charushin V. N. Recent advances in the chemistry of as triazinium salts. *Heterocycles*, 1992, vol. 33, pp. 931–972. (in Russian)
8. Chupakhin O. N., Beresenev D. N. The nucleophilic attack on an unsubstituted atom of carbon of azines and nitroarenes — effective methodology for construction heterocyclic system. *Success of chemistry*, 2002, vol. 71, no. 9, pp. 803–818. (in Russian)
9. Classification of salmonells. *Functional gastroenterology*. Available at: <http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3287>. (in Russian)
10. Devasahayam G., Scheld W. M., Hoffman P. S. Newer antibacterial drugs for a new century. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2010, 9, pp. 215–234.
11. Diana P., Barraja P., Lauria A., Montalbano A., Almerico A. M., Dattolo G., Cirrincione G. Pyrrolo-2,1-c-[1,2,4]triazines from 2-diazopyrroles: synthesis and antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, vol. 37, pp. 267–272.
12. Elashry Esh., Rashed N., Taha M., Ramadan E. Condensed 1,2,4-triazines. Fused to heterocycles with 3-membered, 4-membered and 5-membered rings. *Advances in heterocyclic chemistry*, 1994, vol. 59, pp. 39–177.
13. Elashry Esh., Rashed N., Mousaad A., Ramadan E. Condensed 1,2,4-triazines. Fused to heterocycles with 6-membered and 7-membered rings and fused to 2 heterocyclic rings. *Advances in heterocyclic chemistry*, 1994, vol. 61, pp. 207–328.
14. Issartel V., Coudert P., Rubat C., Nhamias S., Couquelet J. Synthesis of thiazolotriazine derivatives and their antinociceptive effects in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1998, vol. 50, pp. 575–582.
15. Kozhevnikov D. N., Rusinov V. L., Chupakhin O. N. 1,2,4-triazine N-oxides. *Advances in heterocyclic chemistry*, 2002, vol. 82, pp. 261–305. (in Russian)
16. Lorian V. *Antibiotics in laboratory medicine*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1996, 642 p.
17. Monge A., Martinezmerino V., Sanmartin C., Ochoa M. C., Fernan-Dezalvarez E. New 5H-1,3-thiazolo[3,2-*z*]pyrido[3,2-*e*]pyrimidine derivatives as diuretics. *Arzneimittelforschung*, 1990, vol. 42, pp. 1349–1352.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 4th Edition, Approved Standard M2-A4. NCCLS, Villanova, PA, 1990.
19. Neunhoeffer H. 1,2,4-Triazines in the chemistry of 1,2,3-triazines and 1,2,4-triazines, tetrazines and pentazines. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 1978, p. 189.
20. Neunhoeffer H. 1,2,4-triazines and their benzo derivatives. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 1984, p. 385.
21. Neunhoeffer H. 1,2,4-triazines and their benzo derivatives. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, 1996, vol. 6, p. 507.
22. Ochoa C., Coya P. Six-membered ring systems: triazines and fused ring polyaza systems. *Progress in Heterocyclic Chemistry*, 2002, 14, pp. 310–331.
23. Salmonella (not-typhoid). Information bulletin of WHO. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/ru>. (in Russian)
24. Sanemitsu Y., Mizutani M., Nakayama Y. A synthetic approach to novel S,N-heterocycles with biological activities. *Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan*, 1992, vol. 50, pp. 875–886.
25. Sobko A. I., Pavlov E. G. Veterinary technology in the industrial pig production: a practical handbook. Kyiv, UkrINITEI, 1994, p. 192. (in Ukrainian)
26. Vasilev V. S., Volosach O. S., Malanova V. S., Pivovarchik R. A., Pozniak S. B., Poluden I. N., Tsyrunov V. M. *Hospital (intranspecial) salmonellosis nosoparazitizm in children: (instructions for use)*. 2002, 21 p (in Russian).
27. Weidemann B. Evaluation of data from susceptibility testing. *International journal of antimicrobial agent*, 1998, 10, pp. 218–219.
28. Yakovlev V. P., Yakovlev S. V. Prospects for establishment and implementation of new antimicrobial drugs. *Inflectional and antimicrobial therapy*, 2002, vol. 4, no. 2, pp. 24–30. (in Russian)