

УДК: 619:615.26

Філатова Г.В. ©

Луганський національний аграрний університет

**ВИЗНАЧЕННЯ МІНІМАЛЬНОЇ ІНГІБУЮЧОЇ ДОЗИ НОВОЇ ПОХІДНОЇ СПОЛУКИ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ ГК-96 ДО БАКТЕРІАЛЬНИХ ТЕСТ КУЛЬТУР**

Визначено мінімальну інгібуючу дозу похідної сполуки 1,2,4-триазолу ГК-96 до тест-культур *Salmonella typhimorium* 144, *Esherichia coli* ATCC № 3912/4, *Klebsiella pneumoniae* K 56 та *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 у порівнянні з цефтриаксоном за методом серійних розведень.

**Ключові слова:** похідні 1,2,4-триазолу, *Salmonella typhimorium* 144, *Esherichia coli* ATCC № 3912/4, *Klebsiella pneumoniae* K 56 та *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923, цефтриаксон, ДМФА.

**Вступ.** Похідні 1,2,4-триазолу зумовлюють протибактеріальну, протигрибкову, протималярійну активність, а також викликають інгібіцію росту мікроорганізмів [5,1].

За даними Вологіної І.В. із 250 вивчених сполук, що є похідними класу каркасних гетероциклів груп аза- (моно-, ді-, три-, тетра- – азаадамантанів), азагомо- (ді-, три-, тетра-азагомоадамантанів) і азадігомоадамантанів (тетраазадігомоадамантанів) із різними заміниками у білковому ланцюгу, бактерицидна активність у концентрації 10 мг/см<sup>3</sup> була встановлена у 8 % досліджуваних сполук. Найбільш перспективними виявилися сполуки 3-[4-(4-Phenyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4] triazol-3-yl-methoxy)-phenyl]-2-phenyl-3H-guinazolin-4-one; 3-[4-[4-(4-Fluoro-phenyl)-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl-methoxy]-phenyl]-2-phenyl-3H-guinazolin-4-one; 3-[4-[4-(4-Nitro-phenyl)-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl-methoxy]-phenyl]-2-phenyl-3H-guinazolin-4-one; 3-[4-[4-(4-Difluoro-phenyl)-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl-ethoxy]-phenyl]-2-phenyl-3H-guinazolin-4-one [2].

**Матеріал і методи досліджень.** Визначали антибактеріальну активність нової сполуки ГК-96 у різних концентраціях, що є похідним 1,2,4-триазолу. Визначення чутливості *Salmonella typhimorium* 144, *Esherichia coli* ATCC № 3912/4, *Klebsiella pneumoniae* K 56 та *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 до вказаних сполук проводили методом серійних подвійних розведень препаратів у м'ясопептонному бульйоні (МПБ) [3,4]. Метод серійних розведень у бульйоні супроводжувався контролем росту тест культур у МПБ без сполуки ГК-96, ДМФА (диметилформамід) та антибіотика цефтриаксон. Чистоту суспензії мікроорганізмів оцінювали висівом на поживні середовища із наступною

© Пархоменко Л. І. – науковий керівник, кандидат ветеринарних наук, доцент ЛНАУ  
Філатова Г.В., 2013

мікроскопією та фарбуванням за Грамом. Концентрації дослідних речовин занесені до таблиці 1.

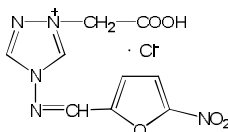
Таблиця 1

### Концентрації дослідних речовин та мікроорганізмів

Номер пробірки	Мікроорганізми, 0,5 MF	Розведення речовин		
		ДМФА 1:40	ГК-96 1:40	Цефтриаксон 50 ОД
1	$1,5 \times 10^8$	1:20	1:20	1:25
2	$1,5 \times 10^8$	1:10	1:10	1:12,5
3	$1,5 \times 10^8$	1:5	1:5	1:6,25
4	$1,5 \times 10^8$	1:2,5	1:2,5	1:3,125
5	$1,5 \times 10^8$	1:1,25	1:1,25	1:1,562
6	$1,5 \times 10^8$	1:0,625	1:0,625	1:0,781
7	$1,5 \times 10^8$	1:0,3125	1:0,3125	1:0,399
8	$1,5 \times 10^8$	1:0,156	1:0,156	1:0,195
9	$1,5 \times 10^8$	1:0,078	1:0,078	1:0,097
10	$1,5 \times 10^8$	1:0,039	1:0,039	1:0,048

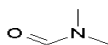
Порівняльну оцінку чутливості мікроорганізмів до досліджуваних сполук проводили за показником мінімальної бактерицидної концентрації (МБцК) та мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Концентрація 12-годинної бульйонної культури музейних штамів становила  $1,5 \times 10^8$  колонієутворюючих одиниць КУО/см, що при денситометричному контролі відповідає стандарту мутності 0,5 за МакФарландом.

Брутто-формула сполуки ГК-96-(carboxymethyl)-4-((5-nitrofur-2-yl)methyleneamino)-4H-1,2,4-triazol-1-ium chloride.



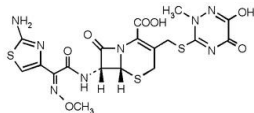
Формула 1

Брутто-формула диметилформаміду (ДМФА), що є розчинником для ГК-96):  $C_3H_7NO$



Формула 2

Цефтриаксон - антибіотик цефалоспоринового ряду III покоління, у нормальних умовах - білий або біло-жовтий кристалічний порошок, легкорозчинний у воді. Брутто-формула: (Z)-(6R,7R)-7-[2-(2-аміно-1,3-тіазол-4-іл)-2-(метоксиіміно) ацетамідо]-8-оксо-3-[(2,5-дигідро-2-метил-6-оксидо-5-оксо-1,2,4-триазин-3-іл) тіометил]-5-тіа-1-азабіцикло[4.2.0]окт-2-ене-2-карбоксилату динатрієва сіль



Формула 3

**Результати дослідження.** Врахування результатів дослідів проводилося після оцінювання контролю дослідних інокулюмів, які знаходилися в умовах з низькою температурою ( $t+4^{\circ}\text{C}$ ) та в умовах термостату ( $t+37^{\circ}\text{C}$ ) Результати з визначення чутливості мікроорганізмів до дослідних речовин наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

**Чутливості музейних штамів мікроорганізмів до ГК-96, ДМФА та цефтриаксону**

Назва культури та дослідної сполуки	Номер пробірки									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Salmonella typh. 144+ГК-96	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++
E.coli ATCC+ ГК-96	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++
Klebsiella pneumonia K 56+ ГК-96	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++
Klebsiella pneumonia K56+ ДМФА	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Staph. aureus ATCC№ 25923+ ГК-96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staph. aureus ATCC№ 25923+ ДМФА	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Salmonella typh. 144+ ДМФА	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
E.coli ATCC+ ДМФА	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Klebsiella pneumonia K56+ цефтриаксон	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staph. aureus ATCC№ 25923+ цефтриаксон	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітки: – прозора рідина; ++ – помутніння та опалесценція; +++ - стійке помутніння та опалесценція з випаданням осаду

Оцінка впливу сполуки ГК-96 на музейні штами деяких мікроорганізмів свідчить про різний ступінь бактерицидної активності до вибраних тест культур.

Найбільш чутливою до дії сполуки ГК-96 в усіх досліджуваних концентраціях (1:20-1:0,3125) виявилася культура *Staphylococcus aureus* ATCC№ 25923. Аналогічну дію викликав антибіотик цефтриаксон, який вплинув бактерицидно у вибраних концентраціях.

Більш низькою виявилася чутливість *Klebsiella pneumonia* K 56 та *Escherichia coli* ATCC № 3912/4 до ГК-96. При цьому бактерицидний ефект від дії ГК-96 відбувся до розведення 1:0,625 включно. Поряд з цим встановлено більш високу чутливість *Klebsiella pneumonia* K 56 до цефтриаксону, на що

вказує повна відсутність росту даної культури при культивуванні з усіма дослідними концентраціями антибіотика (25 ОД - 0,048 ОД).

Бактеріостатично сполука ГК-96 вплинула на ріст *Esherichia coli* ATCC № 3912/4 та *Klebsiella pneumonia* К 56 у розведенні 1:0,3125. Повну затримку росту *Salmonella typhimorium* 144 забезпечує ГК-96 до розведення 1:0,3125 та бактеріостатичну дію – до розведення 1:0,039. Підтвердженням бактерицидної та бактеріостатичної дії ГК-96 та дослідних речовин порівняння була відсутність росту мікроорганізмів при пересіві з пробірок, в яких не виявили росту або спостерігали слабку опалесценцію.

Результати контрольних висівів на МПА та МПБ співпадали з результатами основного дослідження, що вказує на нездатність до росту після культивування у присутності ГК-96 та цефтриаксону, у відповідних розведеннях.

Додатковий контроль відсутності росту тест культур у мазках, пофарбованих за Грамом, також підтвердив бактеріостатичний або бактерицидний ефект, зумовлений ГК-96 та антибіотиком цефтриаксоном.

У висівах тест культур із розведеннями ДМФА (в якості контролю дії розчинника сполуки ГК-96) виявляли бактерицидну його дію у розведенні 1:20 та 1:10 по відношенню до тест культур.

#### **Висновки.**

1. Встановлено, що дослідна сполука ГК - 96 має досить високі інгібуючі властивості проти тест культури *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 в концентрації сполуки 0,039% серійного розведення, що є аутентичним до дії цефтриаксону, концентрація якого дорівнює 0,048 ОД/мл.
2. Мінімальну інгібуючу дію ГК - 96 щодо *Salmonella typhimorium* 144 встановлено в концентрації 0,3125 %, до *Klebsiella pneumonia* К 56 та *Esherichia coli* ATCC – у концентрації 0,625 % серійного розведення, тоді як цефтриаксон діяв бактерицидно до концентрації 0,048 ОД/мл.

#### **Література**

1. Бакуменко, М.Г. Исследования антимикробной активности тиозамещеных 1,2,4-триазола / М.Г. Бакуменко, Б.А. Самура, А.И. Панасенко [и др.] // Тез. докл. X. рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». – М., 2003. – С. 578.
2. Вологина, И.В. Антимикробные свойства химических соединений классов азаадамантанов и четвертичных аминов / И.В. Вологина // Автореферат дисс... канд. вет.наук.-Покров .-2008.-26с.
3. МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки. - К., 2007.- с.43-67.
4. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / Н.А.Семина, С.В. Сидоренко, С.П.Резван [и др.] // Методические указания МУК 4.21890-04.-2004.-54с.
5. Navaldar, F.H. Syntheses of 1,2,4 - triazole Derivatives and their Biological Activity/ F.H. Navaldar, A.R Patil // E -Journal of Chemistry, Vol.5, №2, pp. 347 - 354.

**Summary**

**Filatova G. V.**

*Lugansk National Agrarian University, Lugansk, Ukraine*

**DETERMINATION OF THE MINIMAL INHIBITORY DOSE OF  
NEW 1,2,4-TRIAZOLE COMPOUNDS GK-96 FOR BACTERIAL CULTURES**

*The minimal inhibitory dose derivative of 1,2,4-triazole GK to test cultures Salmonella typhimorium 144, Esherichia coli ATCC № 3912/4, Klebsiella pneumonia K 56 and Staphylococcus aureus ATCC № 25923v compared with ceftriaxone and DMF according to the method of serial dilutions.*

**Keywords:** *Salmonella typhimorium 144, Esherichia coli ATCC № 3912/4, Klebsiella pneumonia K 56, Staphylococcus aureus ATCC № 25923 and Klebsiella pneumoniae K № 56, CC, inhibitory dose, ceftriaxone, DMF.*

Рецензент – к.б.н., доцент Турко І.Б.