

VETERINARY RESEARCH

UDC 636.09: 614.4: 614.9

DOI: 10.15587/2519-8025.2024.311824

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НОВОЇ СПОЛУКИ ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ ЩОДО ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ ПТИЦІ

Є. В. Ващик, А. А. Сафонов, Д. В. Демяненко, А. В. Захар'єв, О. В. Шаповалова

The aim: study of the antimicrobial activity of a new compound of 1,2,4-triazole derivatives against pathogens of poultry bacteriosis.

Materials and methods. Research was conducted on the bactericidal activity of a new compound of 1,2,4-triazole derivatives against pathogens of poultry bacteriosis. Dimethylsulfoxide was used to dissolve the ASP compound. In order to study the bactericidal activity of the compounds, reference and field strains of *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* were used. The study of the minimum inhibitory concentration (MIC) was carried out by the method of serial dilution in Muller-Hinton broth, the minimum bactericidal concentration (MBC) - by seeding from transparent tubes on Petri dishes with differential nutrient media.

The results. The inhibitory effect of the ASP compound at a concentration of 62.5 µg/ml against *E. coli*, *L. Monocytogenes*, *E. faecalis*, and at a concentration of 125 µg/ml against *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* was established. The bactericidal effect of the ASP compound was detected at a concentration of 62.5 µg/ml against *L. monocytogenes*, at a concentration of 125 µg/ml - against *E. coli*, *St. aureus*, *L. monocytogenes* and *E. faecalis*. The ASP compound at a concentration of 250 µg/ml has the inhibitory and bactericidal effect on all tested reference and field strains of poultry bacteriosis pathogens.

Conclusions. A new synthesized compound of 1,2,4 triazole derivatives of ASP exhibits the inhibitory effect at a concentration of 125 µg/ml - in relation to *E. coli*, *St. aureus*, *L. monocytogenes* and *E. faecalis* and the bactericidal effect against bacteriosis pathogens *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* at a concentration of 250 µg/ml.

Keywords: 1,2,4 triazole derivatives, antibiotic resistance, strains, MIC, MBC, antimicrobial activity, organic synthesis, heterocyclic compounds, bactericidal action, inhibitory action

How to cite:

Vashchyk, Y., Safonov, A., Demianenko, D., Zakhariev, A., Shapovalova, O. (2024). Antimicrobial activity of a new compound of 1,2,4-triazole derivatives against pathogens of poultry bacterial diseases. *ScienceRise: Biological Science*, 2 (39), 17-21. <http://doi.org/10.15587/2519-8025.2024.311824>

© The Author(s) 2024

This is an open access article under the Creative Commons CC BY license hydrate

1. Вступ

Відповідно до доповіді Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) під назвою «Глобальна боротьба з інфекціями, стійкими до ліків: Остаточний звіт і рекомендації», яка стала результатом масштабної роботи, проведеної незалежною комісією, стійкі до ліків інфекції можуть бути причиною 10 мільйонів смертей щорічно до 2050 року, що перевищує кількість смертей, пов'язаних із дорожньо-транспортними пригодами та навіть раком [1]. Це не дивно,

враховуючи виражений селекційний тиск, який чиниться на бактерії антибіотиками, якими надмірно зловживають для лікування людей та тварин, а також у сільському господарстві та харчових ланцюгах, що призвело до значного забруднення навколишнього середовища. Для подолання розвитку резистентності до лікарських засобів, вкрай важливо шукати нові антибактеріальні молекули з новим механізмом дії, а також структурну модифікацію або оптимізацію існуючих агентів шляхом покращення як афінності

зв'язування, так і спектру активності при збереженні біодоступності та профілів безпеки. Пошук нових терапевтичних можливостей у лікуванні резистентних бактеріальних інфекцій включає відкриття нових синтетичних сполук, а також природних речовин (наприклад, з ефірних олій, видобутих із рослин, речовини, що синтезуються комахами) [2, 3].

Для розробки фармацевтично важливих молекул вчені досліджують широкий спектр гетероциклических систем. Азотовмісні гетероцикли містяться в багатьох лікарських засобах. Особливо цікавими терапевтичними властивостями володіють похідні триазолу.

З моменту відкриття першого антибіотика (пеніциліну, 1928 р.) тривала «гонка» між вченими, які розробляють нові антибактеріальні засоби, і патогенними бактеріями, які мають різні механізми резистентності. У 2017 році Всесвітня організація охорони здоров'я опублікувала список із 12 бактерій, рівень резистентності яких до антибіотиків є таким, що вони викликають серйозне занепокоєння для громадського здоров'я, і згрупувала їх відповідно до пріоритету на критичні, високі та середні. Бактерії з критичним пріоритетом включали грамнегативні бактеріальні патогени, а саме стійкі до карбапенемів *Acinetobacter baumannii* та *Pseudomonas aeruginosa*, а також резистентні до карбапенемів і цефалоспоринов третью покоління *Enterobacteriaceae*.

Глобальне поширення стійкості бактерій до ліків вимагає нових потужних і безпечних антимікробних засобів. Сполуки, що містять у своїй структурі 1,2,4-триазольний цикл, характеризуються різноманітною біологічною активністю [4]. Тому вченими світу проводиться створення, синтез та вивчення антимікробної активності сполук похідних 1,2,4-триазолу.

Велика кількість гібридів 1,2,4-триазолу з фторхінолоновими препаратами були включені в терапевтично цікаві препарати-кандидати в світлі їх потужного антимікробного ефекту, особливо проти резистентних штамів бактерій [5]. Нові похідні 1,2,4-триазол-3-тіону на основі налідиксової кислоти були синтезовані Aggarwal et al. (2011) та проведено скринінг проти грамположитивних (*S. aureus*, *B. subtilis*) та грамнегативних бактерій (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*). Похідні азометину виявилися високоактивними проти *P. aeruginosa* з МІК 16 мкг/мл. Серед триазолотіадиазолів сполука 2 із хлорзамісником у 2-му положенні фенільного кільця продемонструвала максимальну антимікробну дію проти всіх досліджених мікроорганізмів із МІС 16 мкг/мл порівняно зі стандартним препаратом, стрептоміцином (МІС: 2–15 мкг/мл).

Muthal N. та ін. (2010) синтезували 5-заміщені-3-піридин-4-іл-1,2,4-триазоли як антибактеріальні та протизапальні засоби. Дослідження *in vitro* показало, що сполука з 4-гідроксифенільним фрагментом пригнічує ріст усіх бактерій (*B. subtilis*, *S. aureus*, *P. mirabilis* і *S. typhi*) до рівня, порівняного з левофлоксацином (зони інгібування сполуки — 26–27 мм, порівняно з 28 мм для левофлоксацину). *Proteus mirabilis* виявився найбільш чутливим до всіх досліджуваних сполук. Крім того, вибрані сполуки пока-

зали помірну протизапальну активність на моделі набряку лапи щура, викликаного карагеноном [6].

Singh R. та ін. (2013) синтезували асиметричні біс-1,2,4-триазоли та визначили їх *in vitro* антибактеріальну активність проти *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*. Серед досліджуваних сполук ряд із S-метильним лінкером (n = 1), зокрема 5-[(4,5-дифеніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)метил]-4-феніл(4-фторфеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолі, як виявилось, є найбільш потужними проти всіх штамів бактерій [7].

Аналіз даних наукових публікацій свідчить, що 1,2,4-триазоли та їх конденсовані гетероциклическі похідні демонструють широкий спектр біологічної активності. Ядро 1,2,4-триазолу було включено до складу широкого спектру терапевтично важливих агентів, доступних у клінічній терапії, таких як ітраконазол, посаконазол, вориконазол (протигрибковий), рибавірин (противірусний), ризатриптан (антимігренозний), алпразолам (анксиолітичний), тразодон (антидепресант), летрозол і анастразол (протиухлинний засіб). В останні кілька десятиліть вчені приділяють значну увагу синтезу похідних 1,2,4-триазолу, які виявляють таку комплексну біологічну активність, як протигрибкову, протитуберкульозну, антиоксидантну, протипухлинну, протизапальну, болезаспокійливу, протидіабетичну, протисудомну та анксиолітичну дію [8, 9].

Метою наших досліджень було вивчення антимікробної активності нової сполуки похідних 1,2,4-триазолу щодо збудників бактеріозів птиці.

2. Матеріали та методи

Дослідження проводили протягом 2022–2023 рр. на базі кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету, навчально-дослідної лабораторії факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету, Сумської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби. Проводили дослідження бактерицидної активності нової сполуки похідних 1,2,4-триазолу щодо збудників бактеріозів птиці. Авторським колективом Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович, Сафонов Андрій Андрійович, Гоцуля Андрій Сергійович, Поліщук Наталія Миколаївна кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії ЗДМФУ (м. Запоріжжя) було створено, синтезовано нову сполуку похідних 1,2,4-триазолу: 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол (АСП). Для розчинення сполуки АСП використовували диметилсульфоксид. Для вивчення бактерицидної активності сполуки використовували еталонні та польові штами *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*. Дослідження мінімальної інгібуючої концентрації (МІС) проводили методом серійного розведення в бульйоні Мюлер-Хінтона, мінімальної бактерицидної концентрації (МВС) – висівом з прозорих пробірок на чашках Петрі з поживними диференційними середовищами (гептадецилсульфатний агар, диференційному агарі з діамантовим зеленим, середовищі Ендо, лактозо-

цистиновому агарі, Мюллера-хінтон, ескуліновий агар з канаміцином і азидом натрію, бульйон Макконки, селенітовий агар) [10].

3. Результати дослідження

З широкого переліку фармакологічної дії похідних 1,2,4-триазолу в рамках вивчення проблематики боротьби з антибіотикорезистентністю нас зацікавило питання прояву антимікробної дії синтезованої сполуки.

Нашим колективом авторів проведено вивчення антимікробної активності похідних 1,2,4-триазолу, а саме сполуки 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол (АСП) щодо збудників бактеріозів птиці (Рис. 1). Сполука синтезована авторським колективом кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії ЗДМУ (м. Запоріжжя).

Антимікробну дію (MIC, MBC) сполуки АСП було визначено *in vitro* у різних концентраціях методом серійних розведень та подальшого висіву на щільні поживні середовища. В результаті проведених

досліджень встановлено, що сполука АСП проявляє інгібуючу та бактерицидну дію щодо еталонних та польових штамів *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*. Результати прояву антимікробної дії сполуки АСП наведено у табл.1.

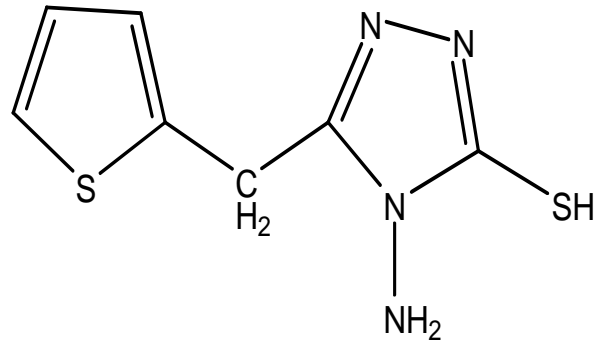


Рис. 1. 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол (АСП)

Таблиця 1

Антимікробна дія сполуки АСП щодо збудників бактеріозів птиці

Види мікроорганізмів	Антимікробна дія	Концентрація розчину, мкг/мл			
		31,25	62,5	125	250
<i>S. typhimurium</i>	MIC	+	+	–	–
	MBC	+	+	±	–
<i>E. coli</i>	MIC	+	–	–	–
	MBC	±	±	–	–
<i>St. aureus</i>	MIC	+	+	–	–
	MBC	+	+	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	MIC	+	+	–	–
	MBC	+	+	±	–
<i>P. vulgaris</i>	MIC	+	+	–	–
	MBC	+	+	±	–
<i>K. pneumoniae</i>	MIC	+	+	–	–
	MBC	+	+	+	–
<i>L. monocytogenes</i>	MIC	±	–	–	–
	MBC	+	–	–	–
<i>E. faecalis</i>	MIC	+	–	–	–
	MBC	+	±	–	–

Примітка: "–" – ріст відсутній, "+" – рясний ріст, "±" – поодинокий ріст

Аналіз наведених в табл. 1 даних свідчить про виявлену інгібуючу дію сполуки АСП в концентрації 62,5 мкг/мл у 38 % від числа досліджуваних культур, а саме щодо *E. coli*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, в концентрації 125 мкг/мл у 100 % дослідних культур – щодо *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*. Бактерицидна дія сполуки АСП встановлена в концентрації 62,5 мкг/мл у 25% від числа досліджуваних культур, а саме щодо *L. monocytogenes*, *E. faecalis*; в концентрації 125 мкг/мл у 50% дослідних культур - по відношенню до *E. coli*, *St. aureus*, *L. monocytogenes* та *E. faecalis*.

Сполука АСП в концентрації 250 мкг/мл проявляє інгібуючу та бактерицидну дію у 100% щодо всіх досліджуваних еталонних та польових штамів збудників бактеріозів птиці.

4. Обговорення результатів дослідження

Гетероциклічна органічна хімія є основним напрямом в органічній та медичній хімії. Азоли — нітрогеновмісні п'ятичленні гетероциклічні сполуки. Присутність азоту в гетероциклах має великий вплив на біологічну активність. Останнім часом азольні сполуки стали гарячою темою в усьому світі. Серед азолів, конденсованих як гетероциклічні сполуки, похідні 1,2,4-триазолу з молекулярною формулою (C₂H₃N₃) є найбільш стабільними сполуками [11]. 1,2,4-Триазолі показали широкий діапазон біологічної активності, наприклад, протималарійну, антиуреазну, протівірусну, протисудомну, антиоксидантну та протигрибкову, антибактеріальну.

Дані авторів дослідників вказують на те, що похідні 1,2,4-триазолу та його гібридів з хінолоновими препаратами, а також 4-аміно-, 3-меркапто- та конден-

сованими похідними 1,2,4-триазолу проявляють їх потужну антибактеріальну дію. Ці сполуки пригнічують ріст як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, і найбільш активні сполуки є такими ж або навіть більш потужними, ніж антибактеріальні препарати, які зазвичай використовуються на ринку. Крім того, деякі з 1,2,4-триазолів виявляють значну антибактеріальну активність проти лікарсько-стійких штамів бактерій (наприклад, MRSA, VRE, MDR *E. coli*) і антимікобактеріальну активність проти *Mycobacterium tuberculosis* [4].

Наші дослідження теж підтверджують антимікробну дію нової сполуки АСП похідної 1,2,4-триазолів. Інгібуюча та бактерицидна дія проявляється, починаючи з концентрації 125 мкг/мл, оптимальною за ефективністю є концентрація 250 мкг/мл щодо досліджуваних штамів збудників бактеріозів птиці, які було попередньо виділено з птахофабрик, та еталонних штамів.

Перевагами проведеного дослідження є те, що вивчено бактерицидну активність нової сполуки похідних 1,2,4 похідних триазолів, що надалі спрямовує на подальше вивчення властивостей сполуки АСП в рамках пошуку альтернатив антибіотикам.

Недоліком є те, що не всі штами, що використовувалися в дослідженні, були польовими. Застосовували і еталонні штами. Виділення та збирання повної колекції польових штамів надасть можливість дослідити антимікробну дію на ширшій виборці польових штамів збудників бактеріозів птиці.

Обмеження дослідження. Обмеженням було вивчення розчину сполуки на диметилсульфоксиді в клінічних випробовуваннях по причині імовірності токсичної дії розчинника.

Перспективи подальших досліджень. Перспективою подальших досліджень буде вивчення модифікацій сполуки для можливості розчинення у воді з метою подальшого випробовування в клінічних дослідженнях.

5. Висновки

Вивчення, створення, синтез нових сполук похідних 1,2,4 триазолів є перспективним напрямком в

рамках всесвітньої боротьби з антибіотикорезистентністю шляхом розробки альтернатив антибіотикам. Проведений огляд сучасних відкритих світових наукових джерел та результати власних досліджень свідчать, що різні замісники триазолового скелету мають помітний вплив на антибактеріальну активність.

Сполука АСП проявляє інгібуючу дію в концентрації 125 мкг/мл - по відношенню до *E. coli*, *St. aureus*, *L. monocytogenes* та *E. faecalis* та бактерицидну дію щодо збудників бактеріозів *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* в концентрації 250 мкг/мл.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють, що у них немає конфлікту інтересів у зв'язку з цим дослідженням, фінансового, особистого, авторського чи іншого, який міг би вплинути на дослідження та його результати, представлені в цій статті.

Фінансування

Дослідження проводилось без фінансової підтримки.

Доступність даних

Рукопис не має пов'язаних даних.

Використання засобів штучного інтелекту

Автори підтверджують, що не використовували технології штучного інтелекту при створенні представленої роботи.

Подяки

Висловлюємо подяку авторському колективу Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович, Сафонов Андрій Андрійович, Гоцуля Андрій Сергійович, Поліщук Наталія Миколаївна кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії ЗДМФУ (м. Запоріжжя) за розробку, консультативну допомогу та надання нової сполуки для досліджень.

Література

1. Duval, R. E., Grare, M., Demoré, B. (2019). Fight Against Antimicrobial Resistance: We Always Need New Antibacterials but for Right Bacteria. *Molecules*, 24 (17), 3152. <https://doi.org/10.3390/molecules24173152>
2. Palma, E., Tilocca, B., Roncada, P. (2020). Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (6), 1914. <https://doi.org/10.3390/ijms21061914>
3. Holmes, A. H., Moore, L. S. P., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A. et al. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387 (10014), 176–187. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00473-0)
4. Strzelecka, M., Świątek, P. (2021). 1,2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents. *Pharmaceuticals*, 14 (3), 224. <https://doi.org/10.3390/ph14030224>
5. Ezelarab, H. A. A., Abbas, S. H., Hassan, H. A., Abuo-Rahma, G. E. A. (2018). Recent updates of fluoroquinolones as antibacterial agents. *Archiv Der Pharmazie*, 351 (9). <https://doi.org/10.1002/ardp.201800141>
6. Muthal, N., Ahirwar, J., Ahriwar, D., Masih, P., Mahmdapure, T., Sivakumar, T. (2010). Synthesis, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activity of Some 5-Substituted-3-Pyridine-1, 2, 4-Triazoles. *International Journal of PharmTech Research*, 2, 2450–2455.
7. Singh, R., Pujar, G. V., Purohit, M. N., Chandrashekar, V. M. (2012). Synthesis, in vitro cytotoxicity, and antibacterial studies of new asymmetric bis-1,2,4-triazoles. *Medicinal Chemistry Research*, 22 (5), 2163–2173. <https://doi.org/10.1007/s00044-012-0209-5>
8. Peng, Z., Wang, G., Zeng, Q.-H., Li, Y., Wu, Y., Liu, H., Wang, J. J., Zhao, Y. (2021). Synthesis, antioxidant and anti-tyrosinase activity of 1,2,4-triazole hydrazones as antibrowning agents. *Food Chemistry*, 341, 128265. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128265>
9. Grytsai, O., Valiashko, O., Penco-Campillo, M., Dufies, M., Hagege, A., Demange, L. et al. (2020). Synthesis and biological evaluation of 3-amino-1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer compounds. *Bioorganic Chemistry*, 104, 104271. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104271>

10. Гаркавенко, Т. О., Неволько, О. М., Козицька, Т. Г. (2014). Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Київ: ДНДІЛДВСЕ, 54.

11. Cox, J. R., Woodcock, Stephen., Hillier, I. H., Vincent, M. A. (1990). Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-triazole in the gas phase and in aqueous solution: a combined ab initio quantum mechanics and free energy perturbation study. The Journal of Physical Chemistry, 94 (14), 5499–5501. <https://doi.org/10.1021/j100377a016>

Received date 09.05.2024

Accepted date 25.06.2024

Published date 30.06.2024

Євгенія Володимирівна Ващик*, доктор ветеринарних наук, доцент, кафедра «Біологічної хімії та ветеринарної медицини», Національний фармацевтичний університет, вул. Григорія Сковороди, 53, м. Харків, Україна, 61002

Андрій Андрійович Сафонов, доктор фармацевтичних наук, доцент, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69035

Андрій Вікторович Захар'єв, кандидат ветеринарних наук, доцент, кафедри «Біологічної хімії та ветеринарної медицини», Національний фармацевтичний університет, вул. Григорія Сковороди, 53, м. Харків, Україна, 61002

Ольга Вікторівна Шаповалова, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та імунології, Національний фармацевтичний університет, вул. Григорія Сковороди, 53, м. Харків, Україна, 61002

Денис Володимирович Демяненко, асистент, кафедра ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва, Сумський національний аграрний університет, вул. Герасима Кодратьєва, 160, м. Суми, Україна, 40000

**Corresponding author: Yevheniia Vashchyk, e-mail: yevgeniavashik@gmail.com*