



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **144413** (13) **U**
(51) МПК (2020.01)
C07D 249/00
C12Q 1/18 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

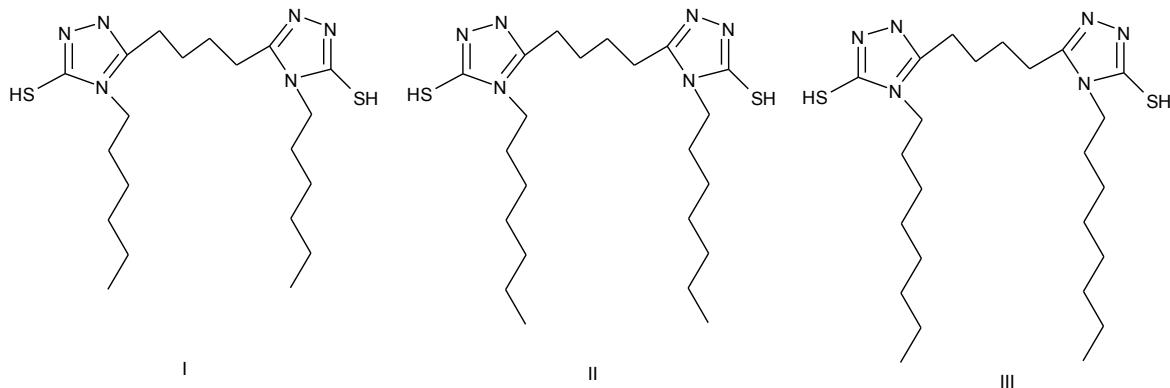
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2020 02850</p> <p>(22) Дата подання заявки: 12.05.2020</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 26.09.2020</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 25.09.2020, Бюл.№ 18</p>	<p>(72) Винахідник(и): Король Наталія Іванівна (UA), Головко-Камошенкова Оксана Миколаївна (UA), Сливка Михайло Васильович (UA), Паллаг Олександра Володимирівна (UA), Бойко Надія Володимирівна (UA), Лендел Василь Георгійович (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000 (UA)</p>
---	---

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ БІС-1,2,4-ТРИАЗОЛУ ІЗ ДОВГОЛАНЦЮГОВИМИ ЗАМІСНИКАМИ ЯК БАКТЕРИЦИДІВ

(57) Реферат:

Застосування похідних біс-1,2,4-триазолу із довголанцюговими замісниками загальної формули (I-III):



як бактерицидів.

UA 144413 U

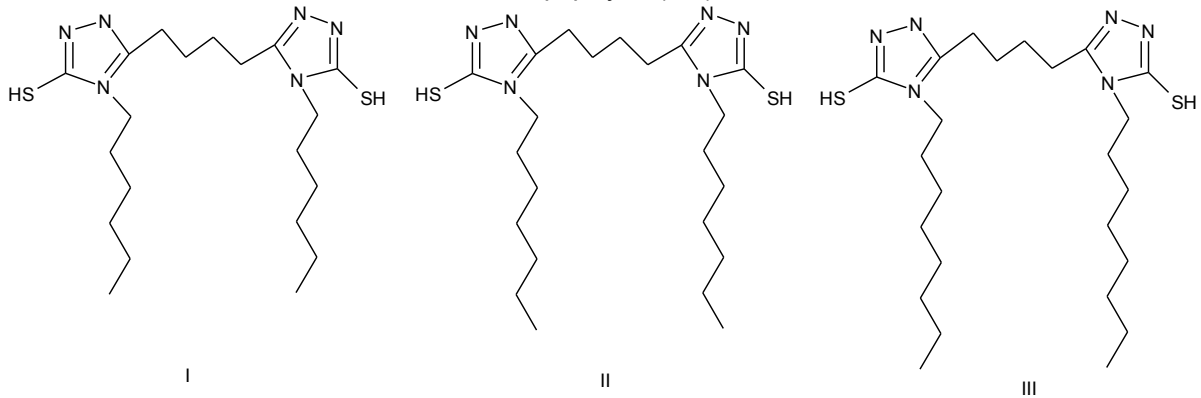
Корисна модель належить органічній хімії, а саме до застосування похідних біс-1,2,4-триазолу як бактерицидів.

Відомі бактерицидні речовини, які містять в своєму складі фрагмент 1,2,4-триазол-3-тіолу, але вони характеризуються складним багатоступінчастим синтезом і використанням важко доступних вихідних реагентів [1-3].

Найбільш близькою за технічною суто та ефектом, який досягається є сполука 3,3'-бутан-1,4-діїлбіс[4-аміно-1Н-1,2,4-триазол5-(4Н)-тіон] (ВВАТТ), що містить аміногрупу, однак її антимікробна активність не вивчена, а лише описана можливість застосування як інгібітора корозії сплавів [4].

Задачею корисної моделі є пошук речовин класу 1,2,4-триазолу, а саме похідних біс-1,2,4-триазолу із довголанцюговими замісниками, які характеризуються доступністю та мають високу бактерицидну та бактериостатичну активність по відношенню до всіх прокариотичних і еукариотичних мікроорганізмів.

Постановлена задача вирішується застосуванням похідних біс-1,2,4-триазолу із довголанцюговими замісниками загальної формули (I-III):



як бактерицидів.

Суть корисної моделі досягається таким чином.

Для дослідження бактерицидної та бактериостатичної активності синтезованих сполук (5,5'-бутан-1,4-діїлбіс(4-гексил-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол) (I), 5,5'-бутан-1,4-діїлбіс(4-гептил-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол) (II), 5,5'-бутан-1,4-діїлбіс(4-октил-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол) (III)) використовували наступні культури мікроорганізмів: колекційні тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, а також клінічні ізоляти *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* subsp. *Enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*.

Синьо-гнійну паличку культивували на м'ясо-пептонному агарі (МПА), для культивування ентеробактерій використовували середовище Ендо, золотистий стафілокок культивували на жовтково-сольовому агарі (ЖСА), фекальний ентерокок вирощували на селективному середовищі для ентерококів, а бактерії виду *Salmonella enterica* культивували на вісмут-сульфат агарі [5]. Культивування мікроорганізмів проводили в термостаті при температурі 37 °С протягом 18-24 год.

Для проведення дослідження були використані методичні вказівки, затверджені МОЗ України Наказом № 167 від 05.04.2007 р. "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" та рекомендації Європейського комітету для тестування чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST) [6].

Первинний скринінг антимікробної активності нових хімічних сполук вивчали, згідно з методичними вказівками диско-дифузійним методом на середовищі Мюллер-Хінтона. Щільне поживне середовище готували, відповідно до інструкції виробника. Чашки Петрі залишали при кімнатній температурі для застигання. Перед інокуляцією чашки підсушували у термостаті при температурі 37 °С протягом 10-20 хв.

Диски з антибіотиками й протигрибковими засобами для визначення чутливості диско-дифузійним методом використовували стандартизовані.

Стандартизовані бактерійні суспензії готували денситометрично 0,5 mF ($1,5 \times 10^8$ КУО/мл). Інокулюм (бактеріальна суспензія) використовувалась протягом 15 хв. з моменту приготування. Для інокуляції чашок з агаром наносили суспензію бактерій на поверхню чашки Петрі з поживним середовищем Мюллер-Хінтона в об'ємі 1-2 см³. При відкритті чашки підсушували при кімнатній температурі протягом 10-15 хв. Після цього наносили диски на поверхню поживного середовища за допомогою стерильного пінцета. Відстань від диска до краю чашки і між дисками

була 15-20 мм. Диски рівномірно контактували з поверхнею агару. Відразу після апікації дисків чашки Петрі поміщали в термостат догори дном та інкубували при температурі 37 °С протягом 18-24 год.

Облік результатів. Після інкубації чашки поміщали догори дном на темну матову поверхню так, щоб світло падало на них під кутом 45°. В залежності від діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів штами відносили до різних груп: високочутливих (++++, більше 25 мм), чутливих (+++, від 15 до 25 мм), помірно стійких (++, від 5 до 15 мм), стійких (резистентних) - зона затримки росту бактерій практично відсутня (+, до 5 мм) та "0" - при відсутності бактерицидної дії тестованих сполук.

Таблиця

Антимікробна активність сполук (I-III) та стандартних розчинів порівняння (IV-VII)* щодо грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів

Вид бактерій Сполука	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staph. Aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas acruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enteritidis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
I	++	++	0	+	++	+++	0	++++
II	++	+++	++	0	+++	++++	+	++++
III	+++	+++	++	+	+++	++++	++	++++
IV	++	-	+++	+	-	-	+++	-
V	+++	-	++++	++	-	-	+++	-
VI	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: концентрація сполук I-III складає 100 мкг/мл; як стандартні розчини порівняння використовували диски антибіотиків: IV - пеніцилін, V - цефатоксим, VI - ністатин, VII - клотримазол.

Діаметр зон затримки росту виміряли з точністю до 1 мм, використовуючи для цього лінійку Ні Antibiotic Zone Scale - С виробника Himedia. При вимірюванні зон затримки росту орієнтувалися на зону повного пригнічення видимого росту. Результати дії розчинів сполук та стандартних розчинів порівняння на ряди бактерій, результати якої представлено в таблиці.

Як видно із таблиці, практично всі сполуки (I-III) виявили високий антимікробний ефект по відношенню до росту і розмноження мікроорганізмів *Enterobacter cloacae* та *Salmonella enterica* subsp. *Enteritidis*.

Таким чином, позитивний ефект корисної моделі полягає в розширенні асортименту антимікробних препаратів, які мають високу активність по відношенню до прокаріотних і еукаріотних грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, як музейних, так і клінічних ізолятів.

Пропоновані сполуки можуть бути використані у фармації для створення нових препаратів та засобів дезінфекції, як антисептики для боротьби з умовно-патогенними мікроорганізмами, збудниками госпітальних інфекцій.

Джерела інформації:

1. Esra Tatar, Şükriye Güniz Küçüküzgel, Sevgi Karakuş, Eric De Clercq, Gracielia Andrei, Robert Snocck, Christophe Pannecouque, Sinem Öktem-Okullu, Nihal Ünübol, Tanil Kocagöz, Sadik Kalayci, Fikrettin Şahin, İlkey Küçüküzgel. Synthesis and biological evaluation of some new 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives from L-methionine as antituberculosis and antiviral agents. // *Marmara Pharmaceutical Journal*. - 2015. - № 2. - P. 88-102. - Аналог.

2. Alayunt, N.Ö., Çelik, S., Koparir, M. and Karatepe, M. The effects of 5,5'-butane-1,4-diylbis[4-allyl-2-({4-[3-(trifluoromethyl)phenyl]piperazin-1-yl)methyl}-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione] compound on MDA level and vitamins in serum, liver and kidney of rats. // *NWSA-Physical Sciences*. - 2015. - № 10 (2). - P. 14-20. - Аналог.

3. Muhammad Hanif, Muhammad Salcem, Muhammad Tahir Hussain, Nasim Hasan Rama, Sumera Zaib, Muhammad Adil M. Aslam, Peter G. Jonesd and Jamshed Iqbal. Synthesis, Urease Inhibition, Antioxidant and Antibacterial Studies of Some 4-Amino-5-aryl-3H-1,2,4-triazole-3-thiones and their 3,6-Disubstituted 1,2,4-Triazololo[3,4-b]1,3,4-thiadiazole Derivatives. // *1. Bra/. Chem. Soc.* - 2012. - № 23 (5). - P. 854-860. - Аналог.

4. Sam John, Abraham Jozeph. Eleetroanalytical and Theoretical Investigations of the Corrosion Inhibition Behavior of Bis-1,2,4-Triazole Precursors HBATT and BBATT on Mild Steel in 0.1 N HNO₃. // Industrial & Engineering Chemistry Research. - 2012. - № 51. - P. 16633-16642. - близький аналог.

5 Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. - М.: Медицина, 1982. - 264 с.

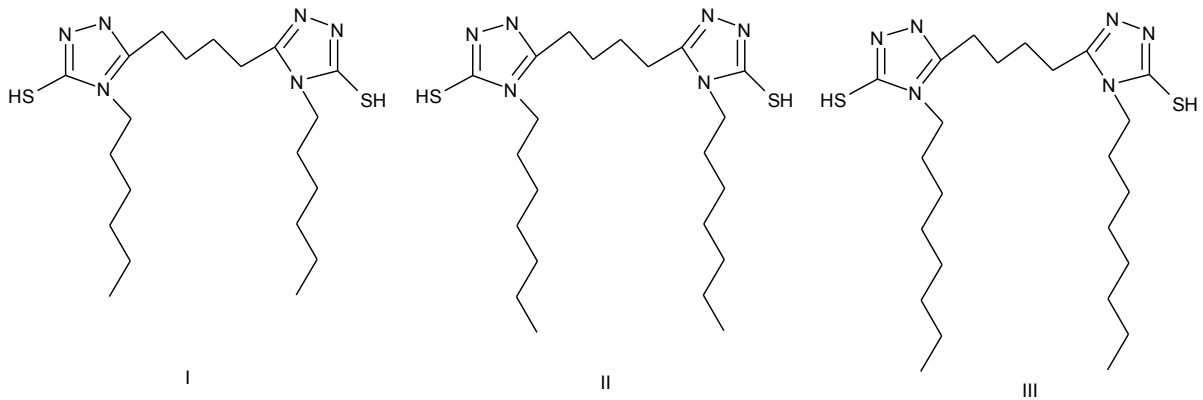
6. EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method summary. Version 1.0. // European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Режим доступу до журн.: www.eucast.org (26.06.2009).

10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Застосування похідних біс-1,2,4-триазолу із довголанцюговими замісниками загальної формули (I-III):

15



як бактерицидів.

Комп'ютерна верстка М. Шамо́ніна

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601