

УДК 547.792.1 + 547.792.3 + 547.792.9

Король Н.І., к.х.н., Бурмей С.А., маг., Головка-Камошенкова О.М., к.х.н.,
Сливка М.В., д.х.н.

ФЛУОРОВМІСНІ 1,2,4-ТРИАЗОЛИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ АНТАГОНІСТИЧНІ АГЕНТИ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», 88000.

м. Ужгород, вул. Фединця, 53

e-mail: nataliya.korol@uzhnu.edu.ua

Стаття описує дослідження антагоністичної активності нових флуоровмісних 1,2,4-триазол-3-тіонів на різних штаммах умовно-патогенних мікроорганізмів, включаючи *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia ficaria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та мікроскопічні гриби *Candida albicans*. Використано метод сумісного культивування з клінічними ізолятами згаданих мікроорганізмів, кількісно проаналізовано та оцінено чистоту культур за допомогою бактеріоскопії та мікроскопії.

Результати показали, що 4-феніл-5-трифлуороетил-1,2,4-триазол-3-тіон та 4-феніл-5-пентафлуороетил-1,2,4-триазол-3-тіон проявили найвищу ефективність у інгібуванні росту *Staphylococcus aureus* та *Serratia ficaria* відповідно. Дані сполуки виявилися перспективними антимікробними агентами, що вказує на їх потенційне застосування в різних сценаріях лікування та профілактики інфекцій. Отримані результати дають підставу для подальших досліджень з метою вдосконалення цих сполук, їхньої функціоналізації, пошуку оптимальних структур, доведення високої антимікробної та фунгіцидної дії, а також кінцевого впровадження в клінічну практику для боротьби з різноманітними патогенними мікроорганізмами та підтримки громадського здоров'я.

Ключові слова: флуорозаміщені 1,2,4-триазоли; антагоністична активність; сумісне культивування; антимікробні засоби.

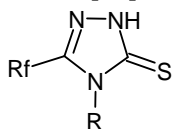
Дезінфекція є невід'ємною складовою системи інфекційного контролю, яка обов'язково застосовується в закладах охорони здоров'я. Забезпечення ефективності дезінфекційних заходів є надзвичайно важливим для всіх типів медичних установ, зокрема, хірургічних центрів, пологових будинків, інфекційних лікарень та відділень [1]. Використання антисептиків після хірургічних процедур сприяє успішному одужанню після операції, зменшує ризик ускладнень та іноді дозволяє відмовитися від системного застосування антибіотиків, запобігаючи формуванню мікроорганізмової резистентності [2]. Серед різноманітних методів дезінфекції особливо широке застосування мають хімічні засоби. Вони базуються на використанні різних хімічних речовин, які здатні усувати мікроорганізми як на поверхні, так і всередині різноманітних об'єктів та предметів навколишнього середовища. Хоча на ринку є великий асортимент дезінфікуючих засобів, проте

ідеальної все ж не існує, оскільки мікроорганізми швидко адаптуються до нових антимікробних речовин [3-6]. Впровадження в медичну практику великої кількості дезінфікуючих препаратів зробило актуальною проблему їх оптимального вибору [7, 8].

Метою даної праці є дослідження синтезованих флуоровмісних 1,2,4-триазолів **1-8** (Рис. 1) на предмет антагоністичної активності, яке проведено шляхом сумісного культивування з використанням клінічних ізолятів умовно-патогенних мікроорганізмів та мікроскопічних грибів [9]. Тестовані сполуки було отримано шляхом одностадійного методу синтезу, описаного в роботі [10], а попередній скринінг біологічної активності зареєстрований у патенті [11].

Біологічні ефекти усіх хімічних сполук оцінювали за наявністю в них антибактеріальної чи стимулювальної дії стосовно вибраних нами тест-мікроорганізмів. В роботі використали

клінічні ізоляти грамнегативні *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia ficaria*, *Pseudomonas aeruginosa* (3 різні ізоляти), грампозитивні *Staphylococcus aureus* та мікроскопічні гриби *Candida albicans*. Спільною ознакою вибраних мікроорганізмів є те, що вони найчастіше зумовлюють внутрішньо лікарняні інфекції та є частиною так званих ESKAPE-патогенів [12].



R_f = CF₃ (1, 3, 6), CF₂H (2, 5), CF₃CH₂ (4, 7), C₂F₅ (8)

R = H (1,2), Me (3,7), Ph (4-6,8)

P

ис. 1. Структурні формули сполук 1-8.

Дане тестування проводили кількісно. Для цього з 24-ти годинних бактеріальних культур готували суспензії зазначених вище мікроорганізмів з їх оптичною густиною 0,5 за МакФарландом, що відповідає концентрації $1,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. Для оцінки чистоти культури, зокрема її морфологічних та тинкторіальних властивостей, використовували метод бактеріоскопії (метод Грама) з застосуванням імерсійної мікроскопії, використовуючи світловий мікроскоп Primo Star iLED від Carl Zeiss. Потім, у кожен лунку стерильного пластикового планшету з 96 лунками додавали по 100 мкл готових бактеріальних суспензій та 100 мкл розчину кожної досліджуваної сполуки. В якості контролю використовували суспензії мікроорганізмів з

оптичною густиною 0,5 за шкалою МакФарланда без додавання препаратів, а також просто досліджувані препарати без бактеріальних суспензій. Планшет інкубували протягом 2 год в термостаті при 37 °С. Далі проводили титрування (методом серійних розведень) сумішей та відповідно суспензій мікроорганізмів, які слугували контролем з наступним висівом усіх тестованих штамів на чашки Петрі з відповідним типом поживного середовища (Ендо, манітоловий тощо). Чашки Петрі інкубували в термостаті при 37°С. Одиниці виміру концентрації мікроорганізму – КУО/мл (колонієутворюючі одиниці). Результати оцінювали після 24-48 годин інкубації. Опис результатів тестування, математичний аналіз та оцінку достовірності даних здійснювалися користуючись програмним забезпеченням Statistica (STATISTICA) та Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Office).

М'ясо-пептонний агар був застосований як універсальне поживне середовище для культивування мікроорганізмів за бактеріологічним протоколом визначення стерильності тестованих органічних сполук 1-8, згідно з яким 10 мкл розчинів досліджуваних речовин висівали на вищевказане поживне середовище.

Отримані результати дослідження на стерильність наданих препаратів свідчать, що надані зразки сполук вільні від мікроорганізмів.

Таблиця 1. Спектр дії розчинника на вибрану композицію мікроорганізмів

№	Тестовані мікроорганізми	Контроль, КУО/мл	Розчинник, КУО/мл
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$2 \cdot 10^6$	$< 10^{2*}$
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$5 \cdot 10^{10}$	$< 10^{2*}$
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$3 \cdot 10^7$	$< 10^{2*}$
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	$9 \cdot 10^{10}$	$8 \cdot 10^6$
5	<i>Serratia ficaria</i>	$3 \cdot 10^{10}$	$4 \cdot 10^{10}$
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^8$	$< 10^{2*}$
7	<i>Candida albicans</i>	$6 \cdot 10^6$	$< 10^{2*}$

Прим. *ліміт визначення.

Як видно з результатів, представлених у Таблиці 1, усі три штами – *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* та гриби *Candida albicans* інгібовані повністю

розчинником. *Staphylococcus aureus* частково пригнічений в рості. Однак, розчинник не інгібував *Serratia ficaria*, а навпаки стимулював ріст мікроорганізму.

Таблиця 2. Спектр дії хімічних сполук 1-8.

Тестовані мікроорганізми	Контроль, КУО/мл	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$2 \cdot 10^6$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$5 \cdot 10^{10}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$3 \cdot 10^7$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$9 \cdot 10^{10}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$6 \cdot 10^6$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$
<i>Serratia ficaria</i>	$3 \cdot 10^{10}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$2,1 \cdot 10^5$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^8$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$
<i>Candida albicans</i>	$3 \cdot 10^8$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$	$< 10^{2*}$

Прим. *ліміт визначення.

Результати дослідження показали, що до умовно-патогенного, грампозитивного *Staphylococcus aureus* сполука 4 проявила часткову інгібувальну дію (з $9 \cdot 10^{10}$ до $6 \cdot 10^6$ КУО/мл), а стосовно культури *Serratia ficaria* – часткову інгібувальну дію зумовила сполука 8 (Таблиця 2). Виявлена антибактеріальна дія даних сполук свідчить про перспективність їх подальшого вивчення.

Висновки

Результати проведеного дослідження підкреслюють необхідність систематичного застосування дезінфекційних заходів у медичних установах з метою ефективного контролю за поширенням інфекційних захворювань. Використання хімічних засобів дезінфекції, становить важливу складову такої системи, а розширення асортименту таких засобів є необхідним через зростаючу резистентність. Дослідження впливу флуоровмісних 1,2,4-триазолів на різні штами мікроорганізмів продемонструвало, що сполуки 4 та 8 мають потенціал ефективно інгібувати ріст патогенних мікроорганізмів. Це свідчить про необхідність подальших досліджень для розробки більш ефективних антимікробних засобів, задля боротьби з інфекційними

захворюваннями та збереження громадського здоров'я.

Список використаних джерел

- Marsak I.I., Skarlosh T.Y. Деякі аспекти застосування дезінфікуючих засобів у багатопрофільних лікувально-профілактичних закладах. *Медсестринство*. 2015, 4, 17–20.
- Кравченко В.Г., Кравченко А.В., Ємченко Я.О., Дудченко М.О. Локальні антибактерійні засоби в умовах антибіотикорезистентності мікробіому (аналітичний огляд проблеми і перспективи розроблення нових місцевих антибактерійних (антисептичних) засобів). *Проблеми екології і медицини*. 2022, 26, 44–50. DOI: 10.31718/mer.2022.26.3-4.07.
- Ярмак Т.В. Дезінфекція та стерилізація – інфекційна безпека пацієнтів та медичного персоналу в лікувально-профілактичних закладах. *Int. J. Sci. Educ.* 2019, 2. 62. DOI: 10.26697/ijes.2019.4.46.
- Кошова О.Ю., Шаповалова О.В., Філімонова Н.Ю., Тіщенко І.Ю., Дубініна Н.В. Розробка та дослідження біологічної активності і параметрів безпеки нового антисептичного засобу на основі комбінації антисептика та концентрату омега жирних кислот. *I Науково-практична дистанційна конференція «Сучасна антимікробна*

терапія: проблеми та шляхи вдосконалення», Харків, Україна. 2023, с. 84–85.

5. Loban' G., Faustova M., Dobrovolska O., Tkachenko P. War in Ukraine: incursion of antimicrobial resistance. *Irish J Med Sci.* 2023, 192, 2905–2907. DOI: 10.1007/s11845-023-03401-x.

6. Gattu R., Ramesh S.S., Ramesh S. Role of small molecules and nanoparticles in effective inhibition of microbial biofilms: A ray of hope in combating microbial resistance. *Microb. Pathog.* 2024, 188, 106543. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106543.

7. Zhang K.W., Hu H., Chen G. Mechanisms of microbial disinfectant resistanceю *Prog. Biochem. Biophys.* 2022, 49, 34–47. DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0300.

8. Жукорський О.М., Кривохижа Є.М., Лесик О.Б. Визначення фізико-хімічних властивостей та бактерицидної дії екологічно безпечного засобу санімола-л для санітарної обробки доїльного обладнання. *Науковий вісник Асканія-Нова.* 2018, 11, 83–93.

9. Король Н.І., Головка-Камошенкова О.М., Сливка М.В., Тимошук С.А., Бойко Н.В.

Порівняння фунгіцидної активності препарату флуконазол та синтезованих флюоромісних 1,2,4-триазолів *in vitro* та *in silico* методами. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Хімія"*. 2021, 46, 49–54. DOI: 10.24144/2414-0260.2021.2.49-54.

10. Holovko-Kamoshenkova O.M., Slivka M.V., Hrdina R., Baumer V.N., Korol N.I., Sokolenko L.V., Lendel V.G. An efficient catalyst-free direct approach to 5-polyfluoroalkyl-1,2,4-triazole-3-thiones. *Synthesis.* 2023, 55, 1221–1226. DOI: 10.1055/s-0042-1751401.

11. Патент на корисну модель № 150880. Застосування флуоромісних похідних 1,2,4-триазолу як бактерицидів. Головка-Камошенкова О.М., Король Н.І., Сливка М.В., Тимошук С.А., Бойко Н.В. Опубліковано бюлетень № 18 від 04.05.2022 р.

12. Pallah O., Meleshko T., Tymoshchuk S., Yusko L., Bugyna L. How to escape 'the ESKAPE pathogens' using plant extracts. *ScienceRise, Biol. sci.* 2019, 5–6, 30-37. DOI: 10.15587/2519-8025.2019.193155.

Стаття надійшла до редакції: 30.04.2024

DETERMINATION OF THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF FLUORINE-CONTAINING 1,2,4-TRIAZOLES

Korol N., Burmei S., Holovko-Kamoshenkova O., Slivka M.

Uzhhorod National University, Pidhirna St., 46, 88000 Uzhhorod, Ukraine
e-mail: nataliya.korol@uzhnu.edu.ua

The article describes the study of the antagonistic activity of new fluorine-containing 1,2,4-triazole-3-thiones on various strains of opportunistic pathogens, including *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia ficaria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and microscopic fungi *Candida albicans*. The method of co-cultivation with clinical isolates of the mentioned microorganisms was used, and the purity of the cultures was quantitatively analyzed and evaluated using bacterioscopy and microscopy.

The results showed that 4-phenyl-5-trifluoroethyl-1,2,4-triazole-3-thione and 4-phenyl-5-pentafluoroethyl-1,2,4-triazole-3-thione exhibited the highest efficiency in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Serratia ficaria*, respectively. These compounds turned out to be promising antimicrobial agents, indicating their potential application in various scenarios of treatment and prevention of infections. The obtained results provide a basis for further research aimed at improving these compounds, their functionalization, finding optimal structures, demonstrating high antimicrobial and fungicidal activity, as well as their eventual introduction into clinical practice to combat various pathogenic microorganisms and support public health.

Keywords: antagonistic activity; 1,2,4-triazoles; joint cultivation; antimicrobial agents.

References

1. Marsak I.I., Skarlosh T.Y. Some aspects of the use of disinfectants in multidisciplinary medical and preventive institutions. *Nursing*. 2015, 4, 17–20. (In Ukr.)
2. Kravchenko V., Kravchenko A., Yemchenko Y., Dudchenko M.. Topical antibacterial agents under conditions of antibiotic resistance of the microbiome (an analytical review of the problem and prospects for the development of new topical antibacterial (antiseptic) agents). *The Medical and Ecological Problems*. 2022, 26, 44–50. DOI: 10.31718/mep.2022.26.3-4.07. (In Ukr.)
3. Yarmak T. Disinfection and sterilization is a sure way to assure patient and staff safety in healthcare organizations. *Int. J. Sci. Educ.* 2019, 2. 62. DOI: 10.26697/ijes.2019.4.46.
4. Koshova O., Shapovalova O., Filimonova N., Tishchenko I., Dubinina N. Development and research of biological activity and safety parameters of a new antiseptic agent based on a combination of an antiseptic and a concentrate of omega fatty acids. *1st Scientific and Practical Remote Conference, «Modern antimicrobial therapy: problems and ways of improvement», Kharkiv, Ukraine*. 2023, P. 84–85. (In Ukr.)
5. Loban' G., Faustova M., Dobrovolska O., Tkachenko P. War in Ukraine: incursion of antimicrobial resistance. *Irish J Med Sci*. 2023, 192, 2905–2907. DOI: 10.1007/s11845-023-03401-x.
6. Gattu R., Ramesh S.S., Ramesh S. Role of small molecules and nanoparticles in effective inhibition of microbial biofilms: A ray of hope in combating microbial resistance. *Microb. Pathog.* 2024, 188. 106543. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106543.
7. Zhang K.W., Hu H., Chen G. Mechanisms of microbial disinfectant resistance. *Prog. Biochem. Biophys.* 2022, 49, 34–47. DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0300.
8. Zhukorskyi O., Kryvokhyzha Ye., Lesyk O. Determination of the physico-chemical properties and bactericidal effect of the environmentally safe agent sanimol-I for the sanitary treatment of milking equipment. *Scientific Bulletin Askaniia-Nova*. 2018, 11, 83–93. (In Ukr.)
9. Korol N., Holovko-Kamoshenkova O., Slivka M., Tymoshchuk S., Boyko N. Comparison of fungicidal activity of fluconazole and fluorine-containing 1,2,4-triazoles via *in vitro* and *in silico* methods. *Scientific Bulletin of the Uzhhorod University. Series «Chemistry»*. 2021, 46, 49–54. DOI: 10.24144/2414-0260.2021.2.49-54. (In Ukr.)
10. Holovko-Kamoshenkova O.M., Slivka M.V., Hrdina R., Baumer V.N., Korol N.I., Sokolenko L.V., Lendel V.G. An efficient catalyst-free direct approach to 5-polyfluoroalkyl-1,2,4-triazole-3-thiones. *Synthesis*. 2023, 55, 1221–1226. DOI: 10.1055/s-0042-1751401.
11. *Utility model patent № 150880*. Application of fluorine-containing derivatives of 1,2,4-triazole as bactericides. Holovko-Kamoshenkova O., Korol N., Slivka M., Tymoshchuk S., Boyko N. Published bulletin № 18 from 04.05.2022. (In Ukr.)
12. Pallah O., Meleshko T., Tymoshchuk S., Yusko L., Bugyna L. How to escape 'the ESKAPE pathogens' using plant extracts. *ScienceRise, Biol. sci.* 2019, 5-6, 30–37. DOI: 10.15587/2519-8025.2019.193155.