

УДК 547.78+547.789

DOI <https://doi.org/10.32782/pcsd-2022-1-9>

Наталія СИРОТА

інженер відділу механізмів органічних реакцій, Інститут органічної хімії Національної академії наук України, вул. Мурманська, 5, м. Київ, Україна, 02660

ORCID: 0000-0001-8275-7514

Сергій КЕМСЬКИЙ

кандидат хімічних наук, науковий співробітник відділу механізмів органічних реакцій, Інститут органічної хімії Національної академії наук України, вул. Мурманська, 5, м. Київ, Україна, 02660

ORCID: 0000-0003-4313-0991

Ніна ЯКОВИЧУК

кандидат медичних наук, доцент кафедри мікробіології, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 57000

ORCID: 0000-0003-1332-9510

Аліна ГРОЗАВ

кандидат хімічних наук, доцент кафедри медичної та фармацевтичної хімії, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 57000

ORCID: 0000-0001-9821-0695

Леся САЛІЄВА

кандидат хімічних наук, старший викладач кафедри органічної хімії та фармації, Волинський національний університет імені Лесі Українки, просп. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025

ORCID: 0000-0002-1047-8652

Наталія СЛИВКА

кандидат хімічних наук, доцент, завідувач кафедри органічної хімії та фармації, Волинський національний університет імені Лесі Українки, просп. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025

ORCID: 0000-0002-3811-7138

Михайло БОВК

доктор хімічних наук, професор, член-кореспондент Національної академії наук України, завідувач відділу механізмів органічних реакцій, директор Інституту органічної хімії Національної академії наук України, вул. Мурманська, 5, м. Київ, Україна, 02660

ORCID: 0000-0003-1753-3535

Бібліографічний опис статті: Сирота, Н., Кемський, С., Яковичук, Н., Грозав, А., Салієва, Л., Сливка, Н., Вовк, М. (2022). Оцінка протимікробної активності 5-гідрокси(сульфаніл)[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів. *Проблеми хімії та сталого розвитку*, 1, 64–70, doi: <https://doi.org/10.32782/pcsd-2022-1-9>

**ОЦІНКА ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ 5-ГІДРОКСИ(СУЛЬФАНІЛ)[1,2,3]
ТРИАЗОЛО[4,5-*e*][1,4]ДІАЗЕПІНІВ**

В короткій літературній довідці статті зацентована увага на серйозній небезпеці інфекційних хвороб, які приводять до високої захворюваності і смертності. Відзначено, що поява резистентності бактеріальних патогенів до старих і нових антибіотиків викликала в останні десятиліття потребу в нових типах антибактеріальних агентів. Саме тому як нові об'єкти для дослідження протимікробної дії були використані функціонально заміщені триазолодіазепінові системи – 5-гідрокси[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепіни, рані-

ше синтезовані авторами внутрішньомолекулярною циклоконденсацією 5-аміно-*N*-(2,2-диметоксиетил)-1*H*-1,2,3-триазоло-4-карбоксамідів у мурашиній кислоті та їх 5-сульфанілпохідні, отримані із 5-гідроксипохідних дією *S*-нуклеофілів. Отримані результати біоскринінгу похідних 5-гідрокси-[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів показують, що вони виявляють помірну протибактеріальну активність (мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) становила 31.25-125 мкг/мл) та помірну протигрибкову дію (МІК становила 31.25-62.5 мкг/мл). В той же час активність по відношенню до тест-штамів бактерій *Staphylococcus aureus* та *Bacillus cereus* для дослідженої серії сполук не є вибірковою МІК = 125 мкг/мл (*Staphylococcus aureus*) та МІК = 62.5 мкг/мл (*Bacillus cereus*). 5-Сульфанилзаміщені [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепіни проявляють бактеріостатичну дію в діапазоні концентрації 31.25-125 мкг/мл та фунгістатичний ефект із МІК = 31.25 мкг/мл. Відносно їх активності до тест-штамів бактерій *Bacillus cereus* та грибків *Candida albicans* і *Aspergillus niger* K9, то вона не є вибірковою, мінімальна інгібуюча концентрація становить 31.25 мкг/мл для всіх трьох типів вказаних мікробів. Натомість по відношенню до тест-штамів *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* 25922 на особливу увагу заслуговують сполуки із фрагментом тіоалкілкарбонових кислот, які проявляють на порядок вищу активність, ніж їхні аналоги з досліджуваної серії.

Ключові слова: 5-аміно-*N*-(2,2-диметоксиетил)-1*H*-1,2,3-триазоло-4-карбоксаміди, 5-гідрокси(сульфаніл) [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепіни, *S*-нуклеофіли, біоскринінг, протибактеріальна активність, фунгістатичний ефект, мінімальна інгібуюча концентрація.

Nataliia SYROTA

Engineer of the Department of Mechanisms of Organic Reactions, Institute of Organic Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 5 Murmanska str., Kyiv, Ukraine, 02660

ORCID: 0000-0001-8275-7514

Serhiy KEMSKIY

Candidate of Chemistry Sciences, Researcher of the Department of Mechanisms of Organic Reactions, Institute of Organic Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 5 Murmanska str., Kyiv, Ukraine, 02660

ORCID: 0000-0003-4313-0991

Nina YAKOVYCHUK

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Bukovinian State Medical University, 2 Teatralna Square, Chernivtsi, Ukraine, 58000

ORCID: 0000-0003-1332-9510

Alina GROZAV

Candidate of Chemistry Sciences, Associate Professor of the Department of Medical and Pharmaceutical Chemistry, Bukovinian State Medical University, 2 Teatralna Square, Chernivtsi, Ukraine, 58000

ORCID: 0000-0003-1332-9510

Lesya SALIYEVA

Candidate of Chemistry Sciences, Senior Lecturer at the Department of Organic Chemistry and Pharmacy, Lesya Ukrainka Volyn National University, 13 Voli Avenue, Lutsk, Ukraine, 43025

ORCID: 0000-0002-1047-8652

Nataliia SLYVKA

Candidate of Chemistry Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Organic Chemistry and Pharmacy, Lesya Ukrainka Volyn National University, 13 Voli Avenue, Lutsk, Ukraine, 43025

ORCID: 0000-0002-3811-7138

Mykhailo VOVK

Doctor of Chemistry, Professor, Corresponding Member of National Academy of Sciences of Ukraine, Head of the Department of Mechanisms of Organic Reactions, Director of Institute of Organic Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 5 Murmanska str., Kyiv, Ukraine, 02660

ORCID: 0000-0003-1753-3535

To cite this article: Syrota, N., Kemskyi, S., Yakovychuk, N., Grozav, N., Saliyeva, L., Slyvka, N., Vovk, M. (2022) Otsinka protymikrobnoyi aktyvnosti 5-hidroksy(sulfanyl) [1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepiniv [Evaluation of the antimicrobial activity of 5-hydroxy(sulfanyl) [1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines]. *Problems of Chemistry and Sustainable Development*, 1, 64–70, doi : <https://doi.org/10.32782/pcsd-2022-1-9>

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 5-HYDROXY(SULFANYL) [1,2,3]TRIAZOLO[4,5-*e*][1,4]DIAZEPINES

*A short literary summary of the article focuses on the grave danger of infectious diseases, which lead to high morbidity and mortality. It is noted that the emergence of resistance of bacterial pathogens to old and new antibiotics has led to the need for new types of antibacterial agents in the last decade. That is why 5-hydroxy[1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines were used as new objects for investigation of antimicrobial action, were previously synthesized by the authors by intramolecular cyclocondensation of 5-amino-*N*-(2,2-dimethoxyethyl)-1*H*-1,2,3-triazolo-4-carboxamide in muric acid and their 5-sulfanyl derivatives obtained from 5-hydroxy derivatives action by *S*-nucleophiles. The results of bioscreening of 5-hydroxy[1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines derivatives show that they exhibit moderate antimicrobial activity (minimum inhibitory concentration (MIC) was 31.25-125 mcg/ml) and moderate antifungal activity (MIC was 31.25-62.5 mcg/ml). At the same time, the activity in relation to test strains of bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* for the tested series of spores is not selective: MIK = 125 µg/ml (*Staphylococcus aureus*) and MIK = 62.5 µg/ml (*Bacillus cereus*). 5-Sulfanylsubstituted [1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines exhibit bacteriostatic activity in the concentration range of 31.25-125 µg/ml and fungistatic effect at MIK = 31.25 µg/ml. Regarding their activity to test strains of bacteria *Bacillus cereus* and fungi *Candida albicans* and *Aspergillus niger* K9, it is not selective, the minimum inhibitory concentration is 31.25 µg/ml for all three types of these microbes. In relation to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* 25922 test strains, the spores with the thioalkylcarboxylic acid fragment deserve special attention as they exhibit an order of magnitude higher activity than their analogues of the studied series.*

Key words: 5-amino-*N*-(2,2-dimethoxyethyl)-1*H*-1,2,3-triazolo-4-carboxamides, 5-hydroxy(sulfanyl) [1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines, *S*-nucleophiles, bioscreening, antibacterial activity, fungistatic effect, minimum inhibitory concentration.

Інфекційні хвороби, викликані бактеріальними патогенами, є серйозною небезпекою для людства, оскільки приводять до високої захворюваності і смертності у всьому світі (Moore, Carter, Bronstrup, 2017). Їх лікування залишається важливою і складною проблемою, яка набуває особливого значення для пацієнтів із пригніченим імунітетом, хворих на СНІД та тих, які проходять протиракову та трансплантаційну терапію. Не дивлячись на те, що значна кількість антибіотиків та хіміотерапевтичних препаратів є доступними для медичного використання, поява стійкості до старих і нових антибіотиків викликала в останні десятиліття суттєву потребу в нових типах антибактеріальних агентів. Перспективним підходом до розв'язання проблеми резистентності є розроблення інноваційних агентів з іншим способом дії, щоб таким чином не виникала перехресна резистентність із існуючими препаратами (Drapak et al., 2020). В контексті сказаного особливу цікавість виявляють гетероциклічні сполуки, які є одними із найцінніших джерел нових хімічних речовин із різноманітною біологічною дією, завдяки унікальній здатності імітувати структуру пептидів та оборотно зв'язуватись з різними біомішенями (Piggott, Karuso, 2004). В ролі нового типу об'єктів для дослідження протимікробної

дії були використані нещодавно (Кемський і др., 2018) синтезовані нами перші представники функціонально заміщених триазолодіазепінових систем – 5-гідрокси[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепіни **1a-m** та їх 5-сульфанілзаміщені аналоги – **2a-e**. Вагомою підставою для вибору саме такого типу конденсованих гетероциклічних структур став виражений фармакологічний профіль як 1,2,3-триазольного циклу (Dhall et al., 2018), так і 1,4-діазепінового ядра (Roshid et al., 2019). Можна було очікувати, що поєднання в одній молекулярній платформі таких двох фармакофорних фрагментів буде сприяти прояву нових типів біоактивності.

Для одержання 5-гідроксипохідних **1a-m** придатною виявилась ефективна схема внутрішньомолекулярної циклоконденсації 5-аміно-*N*-(2,2-диметоксиетил)-1*H*-1,2,3-триазоло-4-карбоксамідів у мурашиній кислоті, а для 5-сульфанілзаміщених **2a-e** – послідовна дія на 5-гідроксипохідні **1a-e** *S*-нуклеофільних реагентів.

Скринінг протибактеріальної та протигрибової активності проводили мікрометодом дворазових серійних розведень (Crowley, Gallagher, 2014) у рідкому живильному середовищі згідно з діючими рекомендаціями щодо визначення

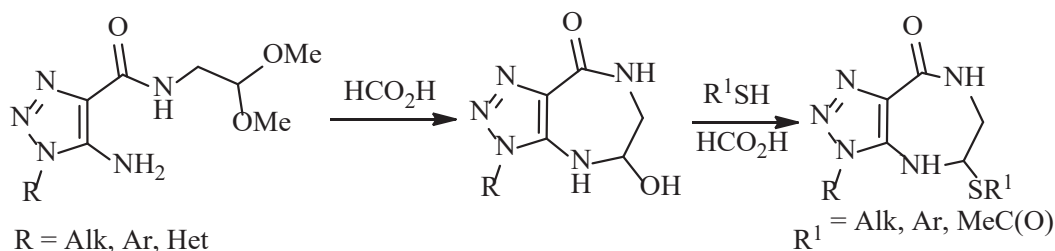


Схема 1. Загальна схема синтезу 5-гідрокси(сульфаніл)[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів

чутливостей мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів (Yakovychuk et al., 2019; Некрасова, Свита, Глушкевич та ін, 2007). Мінімальні інгібуючі концентрації 5-гідроксизаміщених **1a-m** та 5-сульфанілфункціоналізованих **2a-e** [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів визначали щодо референс-штамів бактерій (*Staphylococcus aureus* 25923, *Escherichia coli* 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10702) та грибів (*Candida albicans* ATCC 885/653, *Aspergillus niger* K9). Як контроль використовували відомий протимікробний препарат «Клотримазол» (Волянський, Гриценко, Ширококов та ін., 2004), а як розчинник – диметилсульфоксид (ДМСО).

Отримані результати біоскринінгу похідних 5-гідрокси-[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів **1a-m** (рис.1) свідчать, що вони виявляють помірну протибактеріальну активність (мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) становила

31.25-125 мкг/мл) та помірну протигрибкову дію (МІК становила 31.25-62.5 мкг/мл) (табл. 1).

Що стосується активності по відношенню до тест-штамів бактерій *Staphylococcus aureus* та *Bacillus cereus* то можна побачити, що вона для цілої серії сполук **1a-m** не є вибірковою: МІК = 125 мкг/мл (*Staphylococcus aureus*) та МІК = 62.5 мкг/мл (*Bacillus cereus*). Такі результати, найвірогідніше, пов'язані з тим, що основний вклад в прояв бактериостатичної активності привносить саме [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]-діазепіновий скафолд. Аналогічна ситуація має місце і у випадку фунгіцидної дії відносно грибка *Aspergillus niger*: МІК = 31.25 мкг/мл. При дослідженні протибактеріальних властивостей відносно *Escherichia coli* найактивнішими виявилися 5-гідрокситриазолодіазепіни **1e,f,g** (МІК = 31.25 мкг/мл), проти МІК = 62.5 мкг/мл для інших сполук серії.

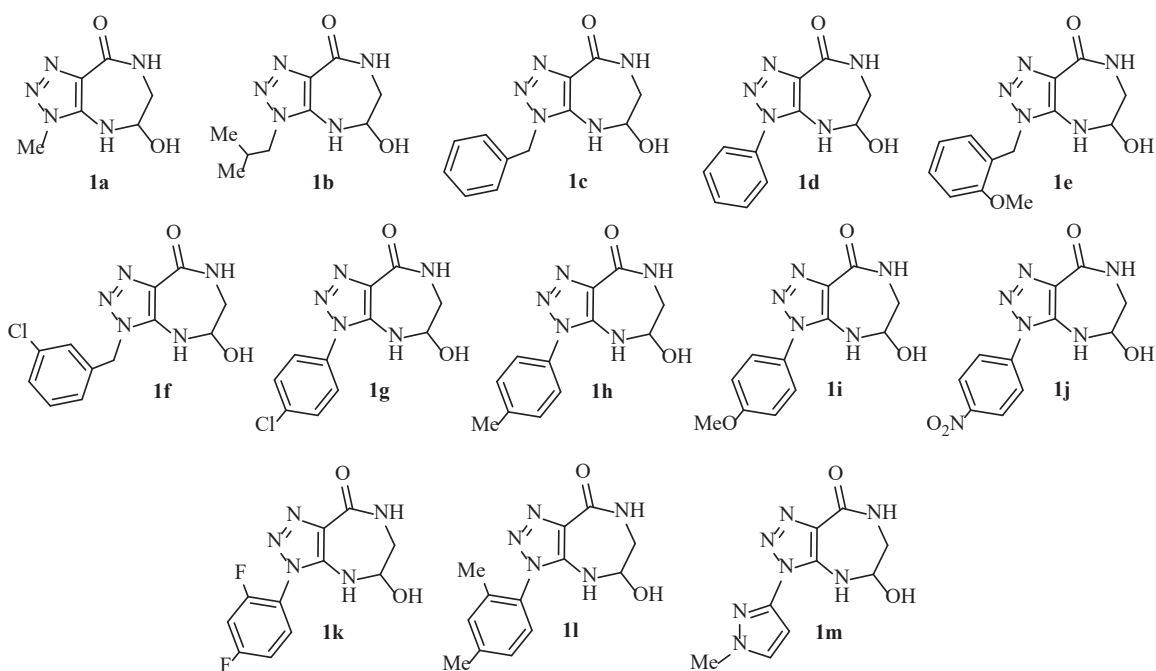


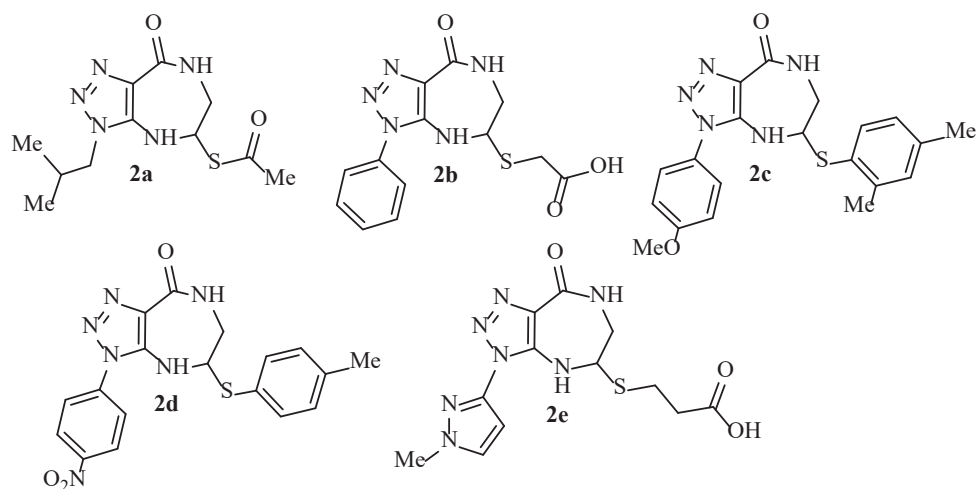
Рис. 1. Приклади тестованих 5-гідрокси[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів **1a-m**

Протимікробна активність 5-гідрокси-[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів **1a-m**

№	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Bacillus cereus</i> 10702	<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	<i>Aspergillus niger</i> K9
	МІК (мкг/мл)				
1a	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1b	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1c	125	62,5	62.5	62.5	31.25
1d	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1e	125	31.25	62.5	62.5	31.25
1f	125	31.25	62.5	62.5	31.25
1g	125	31.25	62.5	31.25	31.25
1h	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1i	125	62,5	62.5	31.25	31.25
1j	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1k	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1l	125	62.5	62.5	31.25	31.25
1m	125	62.5	62.5	31.25	31.25
DMSO*	+	+	+	+	+
K**	7.8	3.9	3.9	7.8	0.9

* спостерігається ріст бактерії

** як контроль використовували препарат «Клотримазол» виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод»

Рис. 2. Приклади тестованих 5-сульфаніл[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів **2a-e**

Біоскринінговими дослідженнями похідних 5-сульфанілзаміщених [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів **2a-e** встановлено, що вони проявляють бактериостатичну дію в діапазоні концентрацій 31.25-125 мкг/мл та фунгістатичний ефект із МІК = 31.25 мкг/мл (табл. 2). Відносно активності до тест-штамів бактерій *Bacillus cereus* та грибків *Candida albicans* і *Aspergillus niger* K9, то можна побачити, що вона для цілої серії сполук **2a-e**, аналогічно до 5-гідрокси-заміщених похідних **1a-m**, не є вибірковою,

мінімальна інгібуюча концентрація становить 31.25 мкг/мл для всіх трьох типів вказаних мікробів. У випадку ж тестування 5-сульфанілзаміщених похідних по відношенню до тест-штамів *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* 25922, то на особливу увагу заслуговують сполуки, які містять у 5-ому положенні фрагмент тіоалкілкарбонових кислот **2b,e**, що проявляють на порядок вищу активність, ніж їхні тіоаналоги з досліджуваної серії **2a,c,d**.

ЛІТЕРАТУРА:

Протимікробна активність 5-сульфанілзаміщених[1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінів 2а-е.

№	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Bacillus cereus</i> 10702	<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	<i>Aspergillus niger</i> K9
	МІК (мкг/мл)				
2a	125	62.5	31.25	31.25	31.25
2b	62.5	31.25	31.25	31.25	31.25
2c	125	62.5	31.25	31.25	31.25
2d	125	62.5	31.25	31.25	31.25
2e	62.5	31.25	31.25	31.25	31.25
DMSO*	+	+	+	+	+
K**	7.8	3.9	3.9	7.8	0.9

* спостерігається ріст бактерії

** як контроль використовували препарат «Клотримазол» виробництва ЗАТ НВЦ «Борцагівський хіміко-фармацевтичний завод»

1. Moore B.S., Carter G.T., Bronstup M. Editorial: Are natural products the solution to antimicrobial resistance? *Nat. Prod. Rep.* 2017. № 34. P. 685–686.

2. Drapak I.V. et al. Synthesis and antimicrobial activity of 5-R-benzyl-2-(arylidenehydrazono)thiazolidin-4-ones. *Biopolimers and Cell.* 2020. № 36 (6). P. 457–465.

3. Piggott A.M., Karuso P. Quality, not quantity: the role of natural products and chemical proteomics in modern drug. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 2004. № 7 (7). P. 607–630.

4. Синтез 5-гідрокси- и 5-сульфанілзаміщених [1,2,3]триазоло[4,5-*e*][1,4]діазепінов / С.В. Кемський и др. *Хімія гетероцикл. соед.* 2018. № 54 (8). С. 789–795.

5. Dhall E. et al. Synthesis of Triazole Derivatives Manifesting Antimicrobial and Anti-Tubercular Activities. *Mini-Review in Organic Chemistry.* 2018. № 15. P. 291–314.

6. Roshid M.A. et al. 1,4-Diazepines: A Review on Synthesis, Reactions and Biological Significance. *Curr. Org. Synt.* 2019. № 16 (5). P. 709–729.

7. Crowley P.D., Gallagher H.C. Clotrimazole as a pharmaceutical: past, present and future. *J. Appl. Microbiol.* 2014. № 117 (3). P. 611–617.

8. Yakovychuk N.D. et al. Antifungal activity of 5-(2-nitrovinyl)imidazoles and their derivatives against the causative agents of vulvovaginal candidiasis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* 2018. № 9 (3). P. 369–373.

9. Некрасова Л.С., Світа В.М., Глушкевич Т.Г. та ін. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-200. Київ : МОЗ України, Державна сан.-епід. служба., 2007. 79 с.

10. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Ширококов В.П. та ін.. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек. Київ : ДФЦ МОЗ України, 2004. 38 с.

REFERENCES:

1. Moore B.S., Carter G.T., Bronstup M. (2017) Editorial: Are natural products the solution to antimicrobial resistance? *Nat. Prod. Rep.* No. 34. P. 685-686. [in English].

2. Drapak I.V. et al. (2020) Synthesis and antimicrobial activity of 5-R-benzyl-2-(arylidenehydrazono)thiazolidin-4-ones. *Biopolimers and Cell.* No. 36 (6). P. 457-465. [in English].

3. Piggott A.M., Karuso P. (2004) Quality, not quantity: the role of natural products and chemical proteomics in modern drug. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* No. 7 (7). P. 607-630. [in English].

4. Kemsii S. et al. (2018) Synthesis 5-hydroxy- and 5-sulfanyl substituted [1,2,3]triazolo[4,5-*e*][1,4]diazepines. *Chem. Heterocycl. Compd.* No. 54 (8). P. 789-795. [in English].

5. Dhall E. et al. (2018) Synthesis of Triazole Derivatives Manifesting Antimicrobial and Anti-Tubercular Activities. *Mini-Review in Organic Chemistry.* No. 15. P. 291-314. [in English].

6. Roshid M.A. et al. (2019). 1,4-Diazepines: A Review on Synthesis, Reactions and Biological Significance. *Curr. Org. Synt.* No. 16 (5). P. 709-729. [in English].

7. Crowley P.D., Gallagher H.C. (2014) Clotrimazole as a pharmaceutical: past, present and future. *J. Appl. Microbiol.* No. 117 (3). P. 611-617. [in English].

8. Yakovychuk N.D. et al. (2018) Antifungal activity of 5-(2-nitrovinyl)imidazoles and their derivatives against the

causative agents of vulvovaginal candidiasis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. No. 9 (3). P. 369-373. [in English].

9. Nekrasova L.S., Svyta V.M., Hlushkevych T.H. at al. (2007). Vyznachennia chutlyvosti mikroorganizmiv do antybioantymicrobial'nykh preparativ. Metodychni vказivky MV 9.9.5-143-2007 [Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Methodical instructions MV 9.9.5-143-2007]. Kyiv: MOZ Ukrainy, Derzhvna san.-epid. sluzhba. [in Ukrainian].

10. Volianskyi Iu.L., Hrytsenko I.S., Shyrokobokov V.P. at al. (2004). Vyvchennia spetsyfychnoi actyvnosti protymicrobnykh likars'kykh zasobiv [Study of the specific activity of antimicrobial drugs]. Kyiv : DFTS MOZ Ukraine [in Ukrainian].