

УДК 582.282.23.045

**Н. В. Шматкова<sup>1</sup>, О. Ю. Зінченко<sup>2</sup>, І. Й. Сейфулліна<sup>1</sup>, Т. О. Філіпова<sup>2</sup>,  
В. А. Лерер<sup>2</sup>**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

<sup>1</sup>хімічний факультет, кафедра загальної хімії та полімерів,  
e-mail: nshmatkova@ukr.net, тел.(0482)32-61-70

<sup>2</sup>біологічний факультет, кафедра мікробіології і вірусології,  
e-mail: farmikr@mail.ru, тел.(0482)68-79-64  
Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

### **ВПЛИВ ІЗОНІКОТИНОЇЛГІДРАЗОНІВ 2-ГІДРОКСИНАФТ-, 4-ДИМЕТИЛАМІНОБЕНЗАЛЬДЕГІДІВ ТА ЇХ КОМПЛЕКСІВ ЗІ Sn(IV) НА РІСТ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ**

Досліджено вплив ізонікотиноїлгідрозонів 2-гідроксинафт-(H<sub>2</sub>Inf, I), 4-диметиламінобензальдегідів HIdb(II) і відповідних комплексів стануму [SnCl<sub>3</sub>(Inf·H)] (III), [H<sub>2</sub>Inf·H]<sub>2</sub>[SnCl<sub>6</sub>] (IV), [SnCl<sub>3</sub>(Idb·H)] (V) на ріст умовно-патогенних бактерій. Показано, що досліджені сполуки у концентраціях 25, 50 та 100 мкг/мл здатні значно пригнічувати накопичення біомаси тест-штамів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* та *M. luteus*. У всіх сполук виявлено високу інгібувальну дію щодо культури *P. Vulgaris* та найменшу чутливість до *E. coli*. Найвищу активність щодо більшості мікроорганізмів виявили сполуки I та IV.

Ключові слова: ізонікотиноїлгідрозони, комплекси стануму(IV), умовно-патогенні бактерії, антимікробний ефект.

Раніше нами було виявлено, що комплекси германію(IV) та стануму (IV) з ізонікотинілгідрозоном 2-гідроксибензальдегіду здатні пригнічувати ріст умовно-патогенних мікроорганізмів, причому найбільш високу антибактеріальну активність та найширший її спектр проявляє вихідний гідрозон, а дещо нижчу комплекс Sn(IV).[1]. Отримані дані підтвердили відоме з літератури, що комплекси гідрозонів, зокрема Sn(IV) [2], характеризуються антибактеріальними властивостями, на які суттєво впливає природа центрального атому та наявність і положення замісників в молекулі гідрозонів [3]. Останнім також притаманна різноманітна фізіологічна дія [4]. Необхідність подолання мікробної резистентності обумовила продовження сумісного (хіміків та мікробіологів) дослідження антимікробної активності нових комплексів Sn(IV) з гідрозонами. Була сформульована мета даної роботи — визначити вплив заміни альдегідного фрагменту в молекулі ізонікотиноїлгідрозону, комплексоутворювача стануму (IV) та будови відповідних комплексів на ріст умовно-патогенних бактерій.

### **Матеріали та методи дослідження**

Ізонікотиноїлгідрозони отримано реакцією конденсації гідразиду ізонікотинової кислоти з 2-гідроксинафталальдегідом (I) та 4-диметиламінобензальдегідом (II) за загальною методикою [5]. Комплекси стануму(IV) складу

[SnCl<sub>3</sub>(Inf·H)] (III), [H<sub>2</sub>Inf·H]<sub>2</sub>[SnCl<sub>6</sub>] (IV), [SnCl<sub>4</sub>(Idb·H)] (V) вперше синтезовано на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова взаємодією SnCl<sub>4</sub> з гідразонами в неводних середовищах [6]. Отримані сполуки охарактеризовано сукупністю фізико-хімічних методів дослідження: ІЧ та ПМР спектроскопія, мас-спектрометрія, електропровідність, термогравіметрія, рентгено-структурний аналіз (комплекси III, IV) [6]. Схеми будови гідразонів і комплексів наведені на рис. 1.

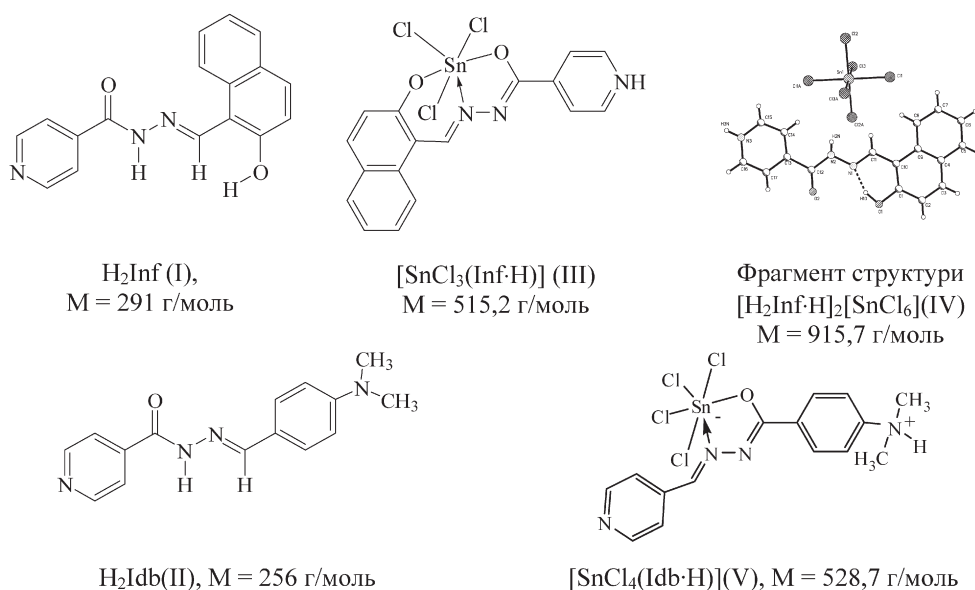


Рис. 1. Будова гідразонів та відповідних комплексів стануму(IV)

При вивченні антибактеріальних властивостей досліджених сполук як тест-мікроорганізми використовували штами бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та *Micrococcus luteus* ATCC 4698, отримані з музею культур мікроорганізмів Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського АМН України. Зберігання тест-штамів здійснювали на поверхні скошеного м'ясопептонного агару (МПА) за температури 4 °С. Для досліджень використовували добові культури, вирощені в пробірках на скошеному МПА при 37 °С.

Для визначення антибактеріальної активності сполук I–V готували робочі розчини, які містили по 5,0 мг, 2,5 мг та 1,25 мг кожної речовини в 1 мл диметилсульфоксиду. У дослідні пробірки відбирали по 20 мкл робочих розчинів та доводили об'єм до 1 мл рідким середовищем Гісса з глюкозою без індикатора Андреде.

Таким чином, кінцева концентрація сполук у середовищі становила 25, 50 та 100 мкг/мл. Кількість паралелей для кожної концентрації дорівнювала 5. Пробірки з середовищем стерилізували в автоклаві при 0,5 атм [7]. Усі експерименти проводили у 3 повторах.

Культури тест-мікроорганізмів змивали стерильним фізіологічним розчином. Концентрацію отриманої суспензії визначали за калібрувальною кривою, вимірюючи оптичну густину за допомогою спектрофотометру «Spekol-10» (Німеччина). Суспензію клітин розводили фізіологічним розчином до концентрації  $2 \cdot 10^4$  клітин/мл. З отриманого інокуляту відбирали по 50 мкл та вносили до кожної експериментальної пробірки, отримуючи кінцеву концентрацію  $1 \cdot 10^3$  КУО/мл. Культури інкубували в термостаті при температурі 37 °С протягом 24 годин. Інтенсивність росту тест-штамів визначали за оптичною густиною культури, яку вимірювали на спектрофотометрі «Spekol-10» при довжині хвилі 540 нм. За контроль правили культури мікроорганізмів, паралельно вирощені в середовищі Гісса без додавання досліджуваних речовин.

### Результати дослідження

Встановлено, що сполуки (I–V) по різному впливають на ріст умовно-патогенних бактерій в залежності від концентрації (25, 50, 100 мкг/мл) і культури тест-штамів бактерій. Вони здатні викликати як пригнічувальний, так і стимулюючий ефекти. В табл. 1 зведено результати проведеного дослідження.

Таблиця 1

Вплив (інгібувальний або стимулюючий\*) сполук I–V (%) на ріст тест-штамів бактерій

| Сполука                                                      | Концентрація, мкг/мл | Тест-штам |             |           |         |             |               |
|--------------------------------------------------------------|----------------------|-----------|-------------|-----------|---------|-------------|---------------|
|                                                              |                      | S. aureus | B. subtilis | M. luteus | E. coli | P. vulgaris | P. aeruginosa |
| H <sub>2</sub> Inf (I)                                       | 25                   | 29,3*     | 72,0*       | 29,8*     | 46,0*   | 23,3        | 35,8*         |
|                                                              | 50                   | 73,3      | 3,7         | 97,0      | 2,7*    | 100         | 100           |
|                                                              | 100                  | 100       | 91,4        | 84,8      | 72,3    | 100         | 91,9          |
| H <sub>2</sub> Idb(II)                                       | 25                   | 21,6      | 67,3        | 55,4      | 0,7     | 100         | 6,9*          |
|                                                              | 50                   | 17,5      | 55,8        | 49,3      | 6,1     | 100         | 6,3*          |
|                                                              | 100                  | 5,6*      | 100         | 63,1      | 20,3    | 100         | 20,8          |
| [SnCl <sub>3</sub> (HInf·H)](III)                            | 25                   | 2,9       | 30,3        | 2,8       | 13,4*   | 100         | 20,6          |
|                                                              | 50                   | 37,0      | 31,8        | 23,3      | 1,8     | 100         | 85,9          |
|                                                              | 100                  | 81,6      | 61,6        | 87,8      | 41,3    | 100         | 100           |
| [H <sub>2</sub> Inf·H] <sub>2</sub> [SnCl <sub>6</sub> ](IV) | 25                   | 28,4      | 13,4*       | 10,9      | 4,5*    | 100         | 2,3           |
|                                                              | 50                   | 18,1      | 20,6*       | 43,6      | 18,0*   | 100         | 84,7          |
|                                                              | 100                  | 89,2      | 61,6        | 75,0      | 55,1    | 100         | 85,8          |
| [SnCl <sub>4</sub> (Idb·H)](V)                               | 25                   | 6,4*      | 81,7        | 97,8      | 13,6*   | 44,6*       | 31,4          |
|                                                              | 50                   | 20,4      | 92,0        | 95,5      | 1,3     | 50,6        | 46,7          |
|                                                              | 100                  | 34,2      | 100         | 71,6      | 12,5    | 100         | 54,6          |

Примітка: \* — стимуляція росту.

Виявлено, що гідразон  $H_2Inf$  (I) в максимальній з використаних концентрацій викликає 100% пригнічення росту культури *S. aureus*. (табл. 1, рис. 2). При цьому спостерігається така залежність: зі зменшенням концентрації  $H_2Inf$  інгібуючий ефект дещо знижується, а при 25 мкг/мл спостерігається стимуляція росту бактерій на 29,3%. Повністю інша залежність спостерігається при введенні  $HIdb$ (II): при максимальній концентрації відбувається незначна стимуляція росту цієї культури, а при її зменшенні — інгібування. Слід відмітити, що сполука II по відношенню до всіх останніх культур при концентрації 100 мкг/мл є інгібітором, при цьому зменшення біомаси (%) відбувається у залежності: *B. subtilis* = *P. vulgaris* > *M. luteus* > *P. aeruginosa* ≈ *E. coli*. При додаванні до поживного середовища з *S. aureus* 100 мкг комплексів  $[SnCl_3(Inf \cdot H)]$ (III),  $[H_2Inf \cdot H_2][SnCl_6]$ (IV) також спостерігається пригнічувальний вплив, однак у дещо меншому ступені у порівнянні з вихідним гідразоном (II). Зі зменшенням концентрації інгібуючий вплив по різному змінюється в залежності від комплексу: у випадку (III) він зменшується при концентрації 25 мкг/мл, а у випадку (IV) він проходить через мінімум при 50 мкг/мл, а потім збільшується при 25 мкг/мл до рівня 28,4%. Інгібуюча активність комплексу  $[SnCl_4(Idb \cdot H)]$  (V) змінюється антибатно у порівнянні з активністю вихідного гідразону(II): в максимальній концентрації він пригнічує ріст культури, а в мінімальній незначно стимулює (рис. 2).

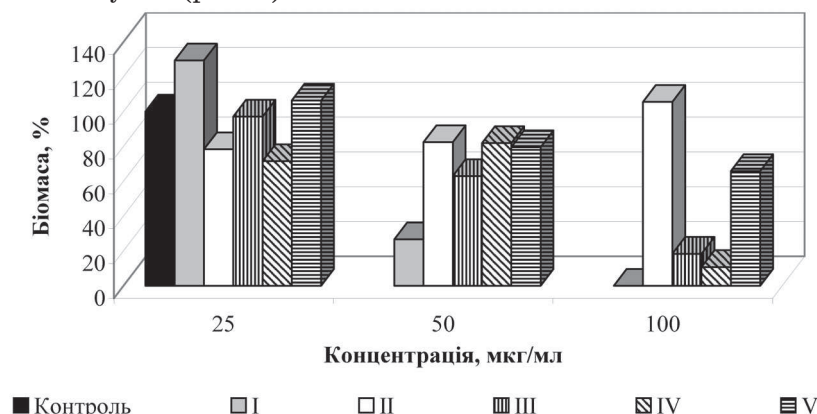


Рис. 2. Накопичення біомаси тест-штаму *S. aureus* за присутності сполук I–V

У випадку культури *B. subtilis* гідразони  $H_2Inf$  (I),  $HIdb$  (II) при максимальній концентрації проявляють високу активність (91,4 (I), 100 % (II)) (рис. 3). Однак, при зниженні їх вмісту в середовищі до 50 мкг/мл інгібуючий ефект зменшується до 3,7% і 55,8 % для I, II відповідно. При мінімальній концентрації (I) виявляє вже стимулюючий ефект (72 %), а (II) дещо збільшує інгібуючий до 67,3 %. При концентрації 100 мкг/мл комплекси III, IV однаково інгібують цю культуру (зменшення біомаси на 61,6 %), але, у порівнянні з вихідним гідразоном (II), значно менше. Різниця між III та IV простежується при концентраціях 50 та 25 мкг/мл:

III викликає зменшення біомаси, а IV, навпаки, збільшення. Активність комплексу V при 100 мкг/мл, так само, як і вихідного гідразону, зберігається на рівні 100%, але, на відміну від нього, залишається високою при зниженні концентрації.

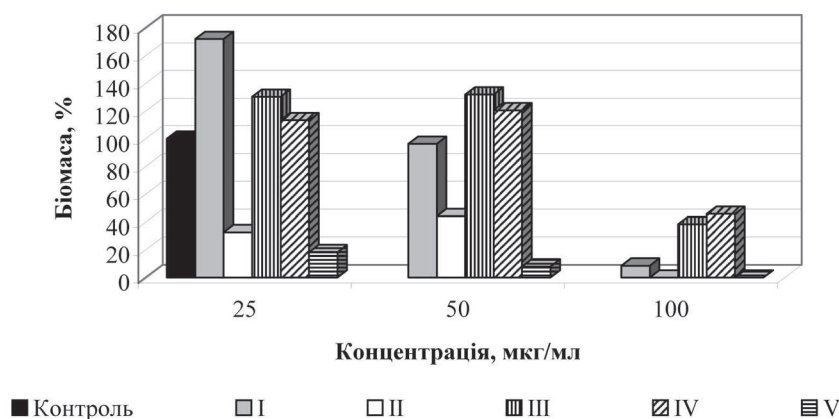


Рис. 3. Накопичення біомаси тест-штаму *B. subtilis* за присутності сполук I–V

На прикладі бактеріального середовища з *M. luteus* простежується різниця дії  $H_2Inf(I)$  та  $H_2Idb(II)$ : у першого при концентраціях 100 та 50 мкг/мл спостерігається високий інгібувальний ефект, а при 25 мкг/мл стимулюючий, у той час, як у другого за всіх вказаних концентрацій спостерігається приблизно однакове інгібування на рівні 63–55 % (рис. 4). Комплекси III, IV, так само, як і  $H_2Inf$ , при концентрації 100 мкг/мл демонструють достатньо високу активність 87,8 % (III) та 75 % (IV), а при 25 мкг/мл різко втрачають її. Комплекс (V) спричиняє більш сильний, у порівнянні з відповідним гідразоном(II), пригнічувальний ефект, який навіть дещо збільшується при зменшенні концентрації (V): 71,6 % (100 мкг/мл), 95,5 % (50 мкг/мл) та 97,8 % (25 мкг/мл).

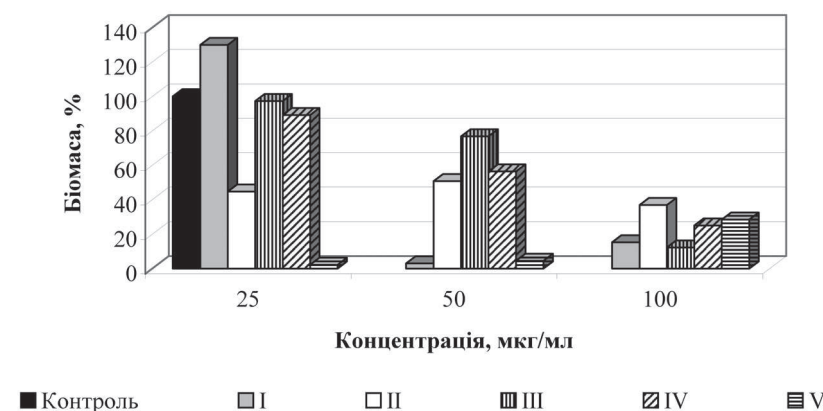


Рис. 4. Накопичення біомаси тест-штаму *M. luteus* за присутності сполук I–V

При порівнянні впливу  $H_2Inf(I)$  і відповідних комплексів III, IV на ріст культури *E. coli* (рис. 5) було виявлено, що вони зі зменшенням концентрації однаково викликають інгібуючий ефект, який змінюється на стимулюючий, правда активність гідразону дещо більша, ніж у комплексів. Гідразон  $H_2Idb(II)$  незалежно від концентрації не спричиняє помітного впливу на *E. coli*, а активність відповідного комплексу (V) навіть знижується.

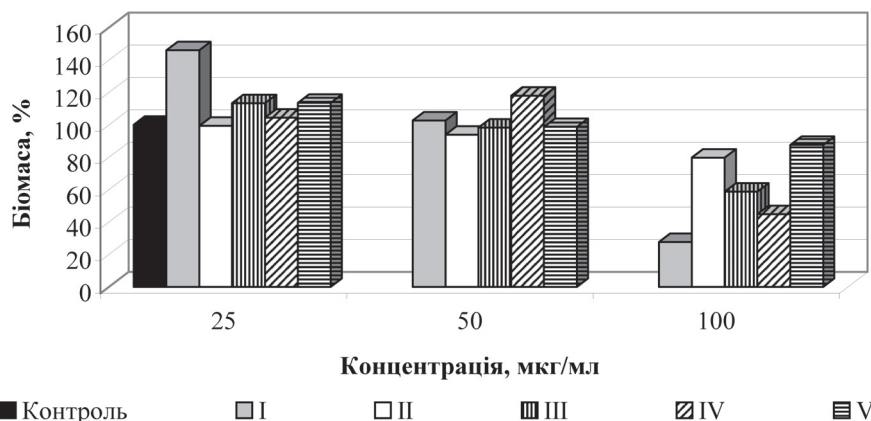


Рис. 5. Накопичення біомаси тест-штаму *E. coli* за присутності сполук I–V

Обидва гідразони повністю інгібують ріст культури *P. vulgaris* у максимальній концентрації. Ефект зберігається на тому ж рівні у випадку  $H_2Inf$  при концентрації 50 мкг/мл, а для  $H_2Idb$  і при 25 мкг/мл (рис. 6). У цьому випадку активність комплексів III, IV виявилась вищою, ніж у вихідного гідразону(I): 100 %-ве пригнічення росту незалежно від концентрації комплексів. Комплекс (V) спричиняє таку ж дію, але тільки у концентрації 100 мкг/мл.

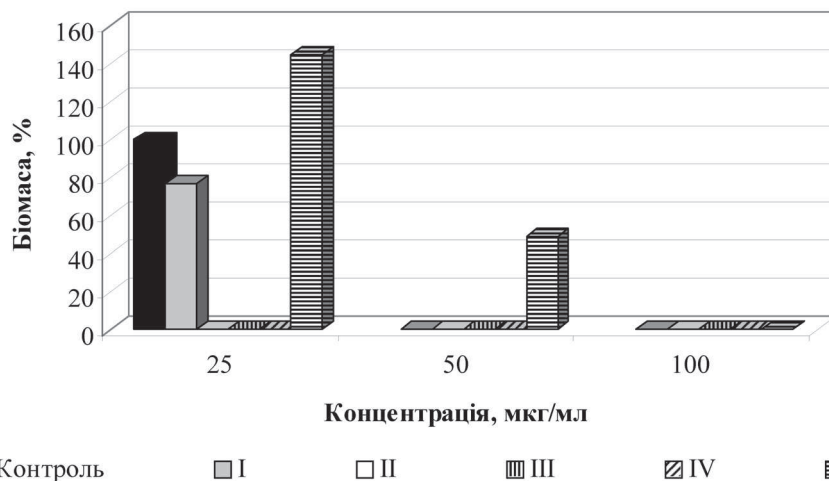


Рис. 6. Накопичення біомаси тест-штаму *P. vulgaris* за присутності сполук I–V

По відношенню до культури *P. aeruginosa* H<sub>2</sub>Inf також виявляє високий інгібувальний ефект у концентрації 100 та 50 мкг/мл, однак, у мінімальній концентрації спричиняє стимулювальний (рис. 7). У порівнянні з H<sub>2</sub>Inf комплекси III, IV ефективно інгібують ріст цієї культури як при 100 мкг/мл — 100 % (III), 85,8 % (IV), так і при 50 мкг/мл — 85,9 % (III), 84,3 (IV). На відміну від H<sub>2</sub>Inf, гідразон HIdb практично не діє на цей мікроорганізм навіть у максимальній концентрації, а при зниженні спричиняє вже стимулювальний ефект. Для відповідного комплексу (V) останнє не притаманно, однак його інгібувальна активність не перевищує 54,6 % навіть при концентрації 100 мкг/мл.

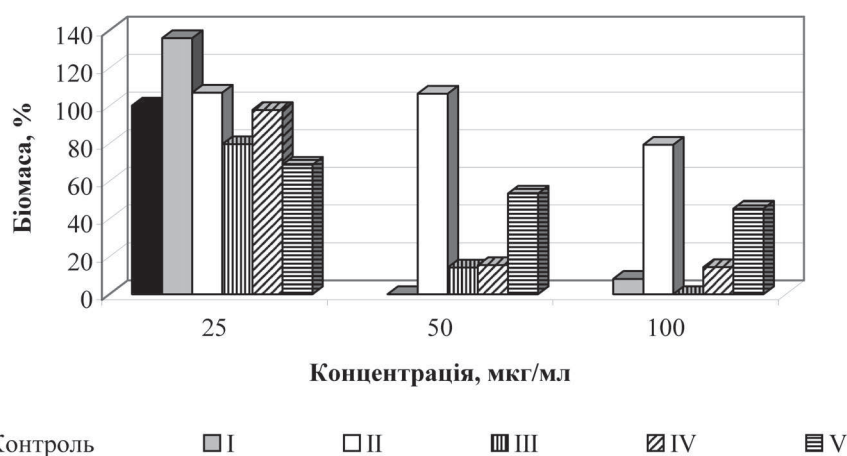


Рис. 7. Накопичення біомаси тест-штаму *P. aeruginosa* за присутності сполук I–V

## Висновки

Порівнюючи активність досліджених сполук щодо окремих штамів (табл. 2), можна стверджувати, що найбільш високою активністю по відношенню до клітин стафілокока відрізнялися I, III та IV, які у максимальній концентрації викликали пригнічення росту *S. aureus* більше, ніж на 80 %. Культура *B. subtilis* найвищу чутливість виявила до I, II та V (пригнічення росту більше 90 %). Ріст *M. luteus* найефективніше пригнічували I, III та V, причому I та II у концентраціях 50 та 25 мкг/мл відповідно викликали більш потужний ефект, ніж сполука V у максимальній концентрації. Клітини *E. coli* в цілому виявилися найменш чутливими до досліджених сполук: так, найбільш значне інгібування, яке становило 72,3 %, спостерігалось лише у присутності сполуки I в максимальній концентрації. Цікаво, що ріст *P. vulgaris*, відомого своєю резистентністю до широкого кола антимікробних засобів, повністю пригнічували всі досліджені сполуки, причому II, III та IV у мінімальній концентрації. Сполуки I, III та IV ефективно пригнічували ріст *P. aeruginosa*, яка також характеризується високим рівнем антибіотикорезистентності.

Таблиця 2

**Концентрація досліджуваних сполук (мкг/мл), що викликає  
максимальне інгібування росту (%) тест-штамів**

| Сполука<br>Штам | H <sub>2</sub> Inf(I)                                                        | H <sub>2</sub> Idb(II) | [SnCl <sub>3</sub><br>(HInfH)](III) | [H <sub>2</sub> Inf H] <sub>2</sub><br>[SnCl <sub>6</sub> ](IV) | [SnCl <sub>4</sub><br>(Idb·H)](V) |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|                 | Концентрація (мкг/мл) / максимальне інгібування росту (%)<br>штамів бактерій |                        |                                     |                                                                 |                                   |
| S. aureus       | 100 / 100                                                                    | 25 / 21,6              | 100 / 81,6                          | 100 / 89,2                                                      | 100 / 34,2                        |
| B. subtilis     | 100 / 91,4                                                                   | 100 / 100              | 100 / 61,6                          | 100 / 61,6                                                      | 100 / 100                         |
| M. luteus       | 50 / 97,0                                                                    | 100 / 63,1             | 100 / 87,8                          | 100 / 75,0                                                      | 25 / 97,8                         |
| E. coli         | 100 / 72,3                                                                   | 100 / 20,3             | 100 / 41,3                          | 100 / 55,1                                                      | 100 / 12,5                        |
| P. vulgaris     | 50 / 100                                                                     | 25 / 100               | 25 / 100                            | 25 / 100                                                        | 100 / 100                         |
| P. aeruginosa   | 50 / 100                                                                     | 100 / 20,8             | 100 / 100                           | 100 / 85,8                                                      | 100 / 54,6                        |

Аналіз антимікробного спектру кожної сполуки показав, що найбільш активними щодо усіх тест-штамів були I та IV. При цьому, інгібувальний ефект першої був вищим. Таким чином, було доведено, що специфіку впливу на ріст умовно-патогенних бактерій визначають особливості складу і будови I–V та ступінь їх комплементарності до кожного з розглянутих тест-штамів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Шматкова Н. В., Зінченко О. Ю., Сейфулліна І. Й., Філіпова Т. О., Подуст В. С. Вплив ізонікотиноїлгідрозона 2-гідроксибензальдегіду та його комплексів на ріст умовно-патогенних бактерій // Вісник ОНУ. 2009. — Т. 14, № 4 — С. 67–73.
2. Malhotra Rajesh, Kumar Sudhir, Dhindsa Kuldip Singh. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of organotin and organosilicon complexes of substituted hydrazones // Indian J. Chem. — 1997. — Vol. 4A. — P. 321–323.
3. Зеленин К. Н. Физиологически активные комплексы гидразонов // СОЖ. — 1996. — № 12. — С. 41–46.
4. Зеленин К. Н., Хорсеева Л. А., Алексеев В. В. Физиологически активные комплексы гидразонов // Хим.-фарм. журн. — 1992. — Т. 26, № 5. — С. 30–36.
5. Вейганд-Хильгетаг. Методы эксперимента в органической химии: Пер. с нем. — М.: Химия, 1968. — 944 с.
6. Сейфулліна І. Й., Шматкова Н. В. Новый этап в развитии координационной химии ароил-(пиридинойл)гидразонов замещенных бенз-(1-нафт)альдегидов // Вісник ОНУ. — 2007. — Т. 13, № 2. — С. 5–26.
7. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Биргера. — М.: Медицина, 1972. — С. 175–177.

Н. В. Шматкова<sup>1</sup>, О. Ю. Зинченко<sup>2</sup>, І. Й. Сейфулліна<sup>1</sup>, Т. О. Филиппова<sup>2</sup>,  
В. А. Лерер<sup>2</sup>

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

<sup>1</sup> химический факультет, кафедра общей химии и полимеров,

<sup>2</sup> биологический факультет, кафедра микробиологии и вирусологии,

Дворянская, 2, Одесса 65082, Украина

#### ВЛИЯНИЕ ИЗОНИКОТИНОИЛГИДРАЗОНОВ 2-ГИДРОКСИНАФТ-, 4-ДИМЕТИЛАМИНОБЕНЗАЛЬДЕГИДОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С SN (IV) НА РОСТ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

##### Резюме

Исследовано влияние изоникотиноилгидразонов 2-гидроксинафт-(H<sub>2</sub>Inf, I), 4-диметиламинобензальдегидов (HIdb(II)) и соответствующих комплексов олова [SnCl<sub>3</sub>(Inf-H)] (III), [H<sub>2</sub>Inf H]<sub>2</sub>[SnCl<sub>6</sub>] (IV), [SnCl<sub>3</sub>(Idb-H)] (V) на рост условно-патогенных бактерий. Показано, что соединения I–V при концентрациях 25, 50 и 100 мкг/мл способны значительно угнетать накопление биомассы тест-штаммов *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* та *M. luteus*. Все соединения обладают высоким ингибирующим действием на культуру *P. Vulgaris* и наименее чувствительны к *E. coli*. Наибольшую активность к большинству микроорганизмам проявили соединения I, IV.

**Ключевые слова:** изоникотиноилгидразоны, комплексы олова(IV), условно-патогенные бактерии, антимикробный эффект.

N. V. Shmatkova<sup>1</sup>, O.Yu. Zinchenko<sup>2</sup>, I. I. Seifullina<sup>1</sup>, T. O. Philippova<sup>2</sup>,  
V. A. Lerer<sup>2</sup>

Odesa National Mechnykov University

<sup>1</sup> Chemical Department, general chemistry and polymers chair,

<sup>2</sup> Biological Department, microbiology and virology chair

Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65082

#### THE INFLUENCE OF IZONICOTINOILHYDRAZONE 2- HYDROXYNAPHT-, 4-DIMETHILAMINOBENZALDEHYDES AND ITS SN(IV) COMPLEXES ON OPPORTUNISTIC BACTERIA GROWTH

##### Summary

The influence of izonicotinoilhydrazone 2-hydroxynapht-(H<sub>2</sub>Inf, I), 4-dimethylaminobenzaldehydes (HIdb(II)) and its complexes with tin(IV) [SnCl<sub>3</sub>(Inf-H)] (III), [H<sub>2</sub>Inf H]<sub>2</sub>[SnCl<sub>6</sub>] (IV), [SnCl<sub>3</sub>(Idb-H)] (V) on the opportunistic bacteria growth has been investigated. It has been shown that studied compounds are able to suppress the biomass increase of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *M. luteus* and *P. vulgaris* test-strains at concentrations 25, 50 and 100 µg per ml. All compounds have demonstrated the highest activity towards *P. vulgaris*. The most wide spectrum of antimicrobial activity have demonstrated compounds I, IV.

**Key words:** izonicotinoilhydrazone, complexes of tin(IV), opportunistic bacteria, antimicrobial effect.