

УДК 582.282.23.045

**О.Ю. Зінченко, Н.В. Шматкова, І.І. Сейфулліна, Б.М. Галкін,
Т.О. Філіпова**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: +38 (0482) 68 79 64,
e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua,

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ІЗОНІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ ТА КОМПЛЕКСІВ СТАНУМУ (IV) НА ЇХ ОСНОВІ

*Досліджено вплив гідразиду ізонікотинової кислоти, ізонікотиноїлгідразонів 4-диметиламінобенз-, 2-гідроксибенз-, 2-гідрокси-1-нафтальдегідів та нових комплексів стануму (IV) на основі перелічених сполук на ріст тест-штамів умовно-патогенних бактерій *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*. Показано, що досліджені сполуки в концентраціях 25, 50 та 100 мкг/мл здатні негативно впливати на ріст бактерій. Найбільш активними щодо більшості мікроорганізмів виявилися ізонікотиноїлгідразон 2-гідрокси-1-нафтальдегіду та комплекс стануму (IV) на його основі, які за концентрації 50 мкг/мл та 100 мкг/мл відповідно практично повністю пригнічують ріст умовно-патогенних бактерій. Найчутливішим до похідних ізонікотинової кислоти та комплексів стануму (IV) на їх основі є штам *Proteus vulgaris*.*

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

Формування у мікроорганізмів стійкості до антибіотиків — одна з найактуальніших проблем клінічної медицини. Вона обумовлена, з одного боку, безконтрольним застосуванням хіміотерапевтичних засобів, а з іншого — широким використанням антибіотиків у тваринництві, харчовій промисловості та ін. Сучасна наука розглядає декілька шляхів вирішення цієї проблеми, серед яких один із найперспективніших, — спрямований синтез сполук, що виявляють специфічну активність.

Останнім часом велика увага з боку дослідників надається координаційним сполукам біологічно активних металів та лігандів, що, як правило, виявляють синергізм дії та низьку токсичність [4]. У цьому відношенні дуже цікаві комплекси гідразонів, для яких встановлені різні види фізіологічної активності: антибактеріальна [1, 2, 6], протизапальна [7], а також протипухлинна активності [3, 5]. Раніше авторами була виявлена висока антибактеріальна активність та її широкий спектр у комплексів

© О.Ю. Зінченко, Н.В. Шматкова, І.І. Сейфулліна, Б.М. Галкін, Т.О. Філіпова, 2012



стануму(IV) з нікотиніолгідразонами [2]. Отримані результати підтвердили відомі з літератури дані про антимікробну активність сполук стануму, які тривалий час застосовуються в медицині, зокрема, в стоматологічній практиці [10], тому синтез та дослідження антимікробних властивостей нових координаційних сполук стануму(IV) з біологічно активними лігандами є актуальним.

Метою даної роботи було вивчення впливу гідразиду ізонікотинової кислоти та продуктів його конденсації з різними альдегідами, а також комплексів стануму (IV) на їх основі на ріст умовно-патогенних бактерій *S. aureus*, *M. luteus*, *P. vulgaris* та *P. aeruginosa* для визначення їх потенційної антимікробної активності.

Матеріали і методи

У роботі використані гідразид ізонікотинової кислоти (HL¹) кваліфікації «осч». Ізонікотиніолгідразони отримані реакцією конденсації (HL¹) з 4-N,N-диметиламінобенз- (HL²), 2-гідроксибенз- (H₂L³) і 2-гідрокси-1-нафтальдегідами (H₂L⁴) за загальною методикою [11]. Їх чистоту та індивідуальність контролювали методом тонкошарової хроматографії та за $t_{пл.}$. Комплекси стануму(IV) вперше синтезовані на кафедрі загальної хімії та хімії полімерів ОНУ імені І.І. Мечникова взаємодією SnCl₄ з HL^{1,2} та HL^{3,4} за розробленими методиками [11]. Отримані сполуки [SnCl₄(L·H¹)] (1), [SnCl₄(L·H²)] (2) [SnCl₃(HL·H³)] (3), [SnCl₃(HL·H⁴)] (4) характеризували за показниками сукупності фізико-хімічних методів дослідження: вимір електропровідності, мас-спектрометрія, термогравіметрія, інфрачервона спектроскопія, рентгено-структурний аналіз (сполуки 1, 3, 4). Схеми будови HL¹⁻⁴ та відповідних комплексів наведені в табл. 1.

Як тест-мікроорганізми використовували штами бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, отримані з музею культур мікроорганізмів Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського АМН України. Зберігання тест-штамів здійснювали на м'ясо-пептонному агарі (МПА) при температурі 4 °С. Для досліджень використовували добові культури, вирощені на МПА при 37 °С.

Для визначення антибактеріальної активності HL¹⁻⁴ і комплексів 1–4 готували робочі розчини, що містили по 1,25; 2,5 та 5,0 мг кожної сполуки в 1 мл диметилсульфоксиду. У дослідні пробірки відбирали по 20 мкл робочих розчинів і доводили об'єм до 1 мл рідким середовищем Гісса з глюкозою без індикатора Андреде [8]. Кінцева концентрація сполук в середовищі складала 25; 50 і 100 мкг/мл. Кількість паралелей для кожної концентрації дорівнювала 5. Усі експерименти проводили в 3-х повторях.

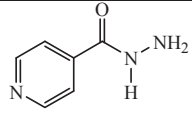
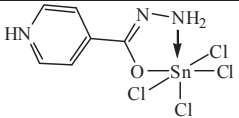
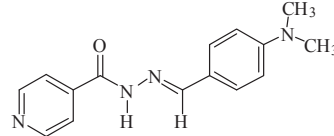
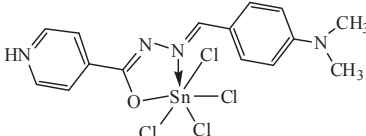
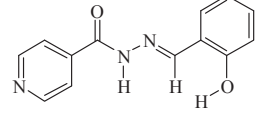
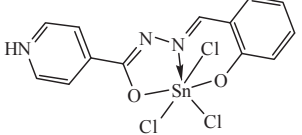
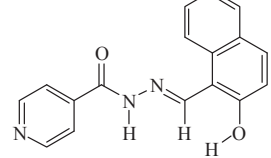
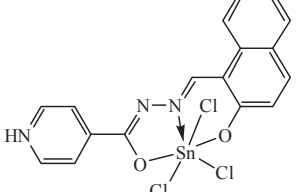
Культури тест-мікроорганізмів змивали з МПА стерильним фізіологічним розчином і вносили в пробірки з досліджуваними сполуками до кінцевої концентрації $1 \cdot 10^3$ КУО/мл. Культури інкубували при температурі 37 °С протягом 24 год. Оптичну щільність культури вимірювали



Будова HL¹⁻⁴ та комплексів 1-4

Table 1

The structure of HL¹⁻⁴ and complexes 1-4

		HL ¹	1
		HL ²	2
		H ₂ L ³	3
		H ₂ L ⁴	4

на спектрофотометрі «Spekol-10» (Німеччина) за 540 нм. Контролем слугували культури мікроорганізмів, вирощені в середовищі Гісса без досліджуваних сполук.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційного та кореляційного аналізу. Розраховували середні значення показників (\bar{X}) та їх стандартну помилку ($S\bar{X}$). Вірогідність відмінностей між середніми визначали за критерієм Стьюдента, оцінюючи вірогідність отриманих результатів на рівні значимості не менше 95% ($p \leq 0,05$).

Результати та їх обговорення

Вивчення впливу гідразиду ізонікотинової кислоти на ріст тест-штамів показало, що дана сполука в досліджених концентраціях стимулювала накопичення біомаси всіх мікроорганізмів, за виключенням *M. luteus* (рис. 1). На відміну від нього, комплекс 1 виявляв інгібувальну активність щодо усіх тест-штамів. При цьому ріст *M. luteus* і *P. vulgaris* пригнічувався практично повністю. Максимальний інгібувальний ефект за використаних концентрацій сполуки на культури *S. aureus* та *P. aeruginosa* складав 10–35% і 30–54% відповідно.

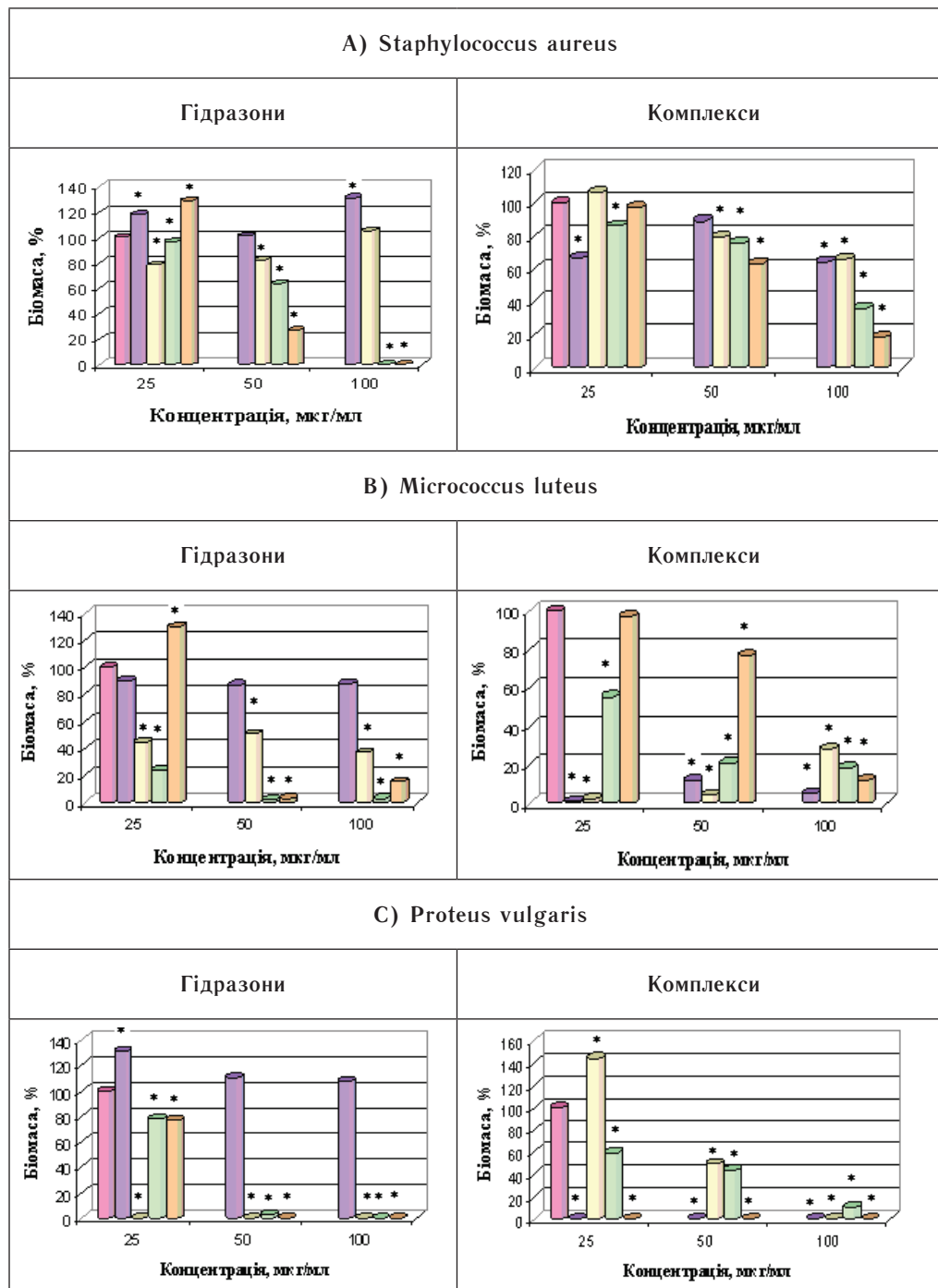
Гідразон HL² не виявив помітної пригнічувальної дії на *S. aureus* і *P. aeruginosa*, а за концентрації 100 мкг/мл уповільнював ріст *M. luteus* на 63,1% у порівнянні з контролем та повністю пригнічував ріст *P. vulgaris* за всіх концентрацій. Комплекс 2 спричинив слабку антимікробну дію на *S. aureus* і досить значну (до 55%) на культуру *P. aeruginosa*. Щодо *M. luteus* ця сполука була активнішою, ніж HL², і практично повністю пригнічувала ріст мікроорганізму. Цікаво зазначити, що, на відміну від HL², ріст *P. vulgaris* за концентрації цього комплексу 25 мкг/мл був інтенсивнішим. За вмісту сполуки 50 мкг/мл і 100 мкг/мл спостерігали пригнічувальний ефект на рівні 50,6% і 100%, відповідно.

Заміна замісника в альдегідному фрагменті ізонікотиноїлгідразону HL² (-N(CH₃)₂ на -OH) призвела до прояву у HL³ пригнічувальної дії на ріст усіх тест-штамів. Найбільш чутливою була культура *M. luteus*, в якій значне уповільнення росту спостерігалось за всіх концентраціях сполуки і складало від 76,4% до 96,9%. Ріст *P. vulgaris* пригнічувався на 97,1% в присутності 50 мкг/мл HL³ і повністю припинявся при концентрації 100 мкг/мл. *S. aureus* і *P. aeruginosa* проявляли помітну чутливість лише до максимальної концентрації цієї сполуки, при цьому ріст вказаних тест-штамів пригнічувався на 100% і 44,1% відповідно. Комплекс 3 мав більш слабку, у порівнянні з HL³, інгібувальну активність щодо *M. luteus*, *P. vulgaris*. і *S. aureus*: пригнічення росту було на рівні 81,4%, 89,4% та 63,4% відповідно. Антимікробна дія сполуки 3 на клітини *P. aeruginosa* залишалася подібною до активності вихідного гідразону.

Заміна альдегідного фрагмента в HL³ (2-гідроксибенз- на 2-гідроксинафт-) призвела до зміни активності гідразону. Так, присутність у живильному середовищі мінімальної з досліджених концентрацій HL⁴ викликала помітну стимуляцію росту всіх тест-штамів, за винятком *P. vulgaris*. Однак при підвищенні вмісту сполуки в середовищі до 50 та 100 мкг ріст *S. aureus* пригнічувався на 73,3% та 100%, *P. vulgaris* – 100%, *M. luteus* – на 96,9% і 84,3%, *P. aeruginosa* – 100% та 91,9% відповідно. Слід зазначити, що у двох останніх випадках збільшення концентрації призводило до зниження пригнічувального ефекту. Ця сполука єдина з усіх вивчених гідразонів в концентрації 50 мкг/мл повністю пригнічувала ріст бактерій *P. aeruginosa*, відомих своєю виключною природною стійкістю до антимікробних препаратів [9].

Комплекс 4, на відміну від HL⁴, в усіх концентраціях викликав уповільнення росту тест-штамів. Однак у випадку грампозитивних бактерій значний ефект виявлено за максимальної концентрації, і він був меншим у порівнянні з тим, що викликається гідразоном. Затримка росту *S. aureus* і *M. luteus* становила близько 80%. Ріст *P. vulgaris* повністю припинявся за наявності даної сполуки. Слід зазначити, що комплекс 4, єдиний з усіх досліджених комплексів, подібно до вихідного гідразону повністю пригнічував ріст *P. aeruginosa* за максимальної концентрації.





Продовження рис. див. на стор. 74.

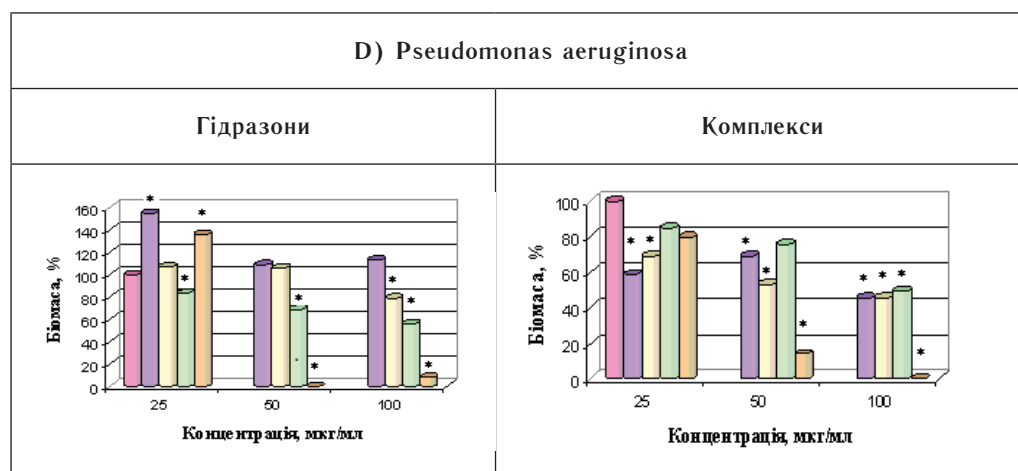


Рис. 1. Ріст тест-штамів *S. aureus*, *M. luteus*, *P. vulgaris* та *P. aeruginosa* за присутності сполук HL¹, HL², HL³, HL⁴ і комплексів 1–4

Примітка: * – різниця вірогідна ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем,

гідразони: ■ – контроль, ■ – HL¹, ■ – HL², ■ – HL³, ■ – HL⁴;

комплекси: ■ – контроль, ■ – комплекс 1, ■ – комплекс 2, ■ – комплекс 3, ■ – комплекс 4.

Fig. 1. The growth of the test-strains *S. aureus*, *M. luteus*, *P. vulgaris* and *P. aeruginosa* in the presence of HL¹, HL², HL³, HL⁴ and complexes 1–4

Note: * – the difference is reliable in comparison with control,

hydrazones: ■ – control, ■ – HL¹, ■ – HL², ■ – HL³, ■ – HL⁴;

complexes: ■ – control, ■ – complex 1, ■ – complex 2, ■ – complex 3, ■ – complex 4.

Порівнюючи активність досліджуваних сполук у відношенні окремих штамів (табл. 2), можна стверджувати, що найвищою активністю щодо клітин стафілокока вирізняються H₂L⁴ і його комплекс 4, які за максимальної концентрації викликали пригнічення росту *S. aureus* більш ніж на 80%. Ріст *M. luteus* найефективніше інгібували HL², комплекси 1 і 2. Представляє інтерес те, що ріст *P. vulgaris* – мікроорганізму, відомого своєю резистентністю до широкого кола антимікробних засобів [12], – повністю пригнічували усі досліджені сполуки, крім HL¹. До того ж HL² та комплекс 4 виявляли цей ефект за мінімальної концентрації. У цілому, зазначений мікроорганізм проявив найбільшу чутливість до досліджених речовин серед досліджуваних тест-штамів. Сполуки H₂L⁴ та 4 ефективно пригнічували ріст штаму бактерій *P. aeruginosa*, які також характеризуються високим рівнем антибіотикорезистентності.



Таблиця 2

Концентрації досліджуваних сполук (мкг/мл), які викликають максимальне інгібування росту (%) тест-штамів

Table 2

The concentrations of the studied compounds ($\mu\text{g/ml}$) causing maximum inhibitory effect (%) on test-strain growth

Гідразон і сполука	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>
HL¹	*	13,2/50**	*	*
1	35,9/100	99,4/25	100/25	54,3/100
HL²	21,6/25	63,1/100	100/25	63,6/100
2	34,2/100	97,8/25	100/100	54,6/100
H₂L³	100/100	96,9/50	100/50	44,1/50
3	63,9/100	81,5/100	89,4/100	50,5/100
H₂L⁴	100/100	97/50	100/50	100/50
4	81,6/100	87,8/100	100/25	100/100

Примітка: * — стимуляція росту мікроорганізму при додаванні досліджуваної сполуки в середовище, ** — максимальне пригнічення росту (%)/концентрація (мкг/мл)

Аналіз антимікробного спектра кожної сполуки показав, що найактивнішими щодо всіх тест-штамів були H₂L⁴ та його комплекс 4. При цьому інгібувальний ефект H₂L⁴ був вищим. Таким чином, показано, що специфіку впливу на ріст умовно-патогенних бактерій визначають особливості складу і будови гідразонів та комплексів.

Отримані дані дозволяють розглядати досліджені сполуки як перспективні для створення на їх основі синтетичних антимікробних препаратів. Особливо привертає увагу антимікробна активність щодо *P. aeruginosa* з огляду на обмежену кількість сполук, здатних ефективно інгібувати ріст цього мікроорганізму [9].

ЛІТЕРАТУРА

1. Зеленин К.Н., Хорсеева Л.А., Алексеев В.В. Физиологически активные комплексы гидразонов // Хим.-фарм. журн. — 1992. — Т. 26, № 5. — С. 30–36.

2. Зінченко О.Ю., Шматкова Н.В., Філіпова Т.О., Сейфулліна І.Й., Подуст В.С. Антибактеріальна активність нікотиніолгідразону саліци-



лового альдегіду та його комплексів // Мікробіологія і біотехнологія. — 2009. — №1(5). — С. 44–55.

3. Китаев Ю.П., Бузыкин Б.И. Гидразоны. — М.: Наука, 1974. — 416 с.

4. Крисс Е.Е., Волченкова И.И., Григорьева А.С. Координационные соединения металлов в медицине. — Киев: Наук. думка, 1986. — 216 с.

5. Нікітін О.В., Галкін Б.М., Сейфулліна І.Й., Шматкова Н.В. Вивчення впливу комплексів германію (IV) з саліцилальгідрозонами хлорбензойної та гідроксибензойної кислоти на ексудативне запалення, яке викликано різними флогогенними агентами // Biomedical and Biosocial Anthropology. — 2004. — № 3. — С. 81–83.

6. Самуць К.М., Цапков В.И., Бурденко Т.А., Бурачева С.А., Тонгай М.М., Сохан Ш.И. Синтез и противомикробная активность координационных соединений 3d-элементов с бензоилгидразоном салицилового альдегида // Проблемы фармакологии. — 1990. — № 3. — С. 41–45.

7. Сейфулліна І.Й., Нікітін О.В., Галкін Б.М., Шматкова Н.В. та ін. Протизапальна активність комплексів германію з саліцилальгідрозонами нітробензойної кислоти // Одеськ. мед. журнал. — 2003. — № 3 (77). — С. 21–23.

8. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. — М.: Медицина, 1972. — С. 175–177.

9. Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Стецюк О.У., Андреева А.С., Щербников А.Г. Сравнительная активность антисинегнойных антибиотиков в отношении нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии России // Журнал КМАХ. — 2003. — № 5. — С. 35–46.

10. Vacchi A., Bonarti A., Carcelli M. Organotin complexes pyrrole-2,5-dikarboxaldehyde bis (acylhydrazones). Synthesis, structure antimicrobial activity and genotoxicity // J. Inorg. Biochem. — 1998. — Vol. 69. — P. 101–112.

11. Jadon Gunjan, Bhadauria R.S., Diwaker A.k. Synthesis, spectral and biological evaluation of some hydrazone derivatives // IJARPB. — 2012. — Vol. 1, № 1. — P. 25–38.

12. Yang Y.J., Livermore D.M. Chromosomal beta-lactamase expression and resistance to beta-lactam antibiotics in *Proteus vulgaris* and *Morganella morganii* // Antimicrob. Agents Chemother. — 1988. — Vol. 32, № 9. — P. 1385–1391.

Стаття надійшла до редакції 17.05.2012 р.



**О.Ю. Зинченко, Н.В. Шматкова, И.И. Сейфуллина, Б.Н. Галкин,
Т.О. Филиппова**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: +38 (0482) 68 79 64,
e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua,

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ
ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ И КОМПЛЕКСОВ ОЛОВА(IV)
НА ИХ ОСНОВЕ**

Реферат

Исследовано влияние гидразида изоникотиновой кислоты (HL^1), изоникотиноилгидразонов 4-диметиламинобенз- (HL^2), 2-гидроксibenз- (H_2L^3), 2-гидрокси-1-нафтальдегидов (H_2L^4) и новых комплексов $[SnCl_4(L \cdot H^1)]$ (1), $[SnCl_4(L \cdot H^2)]$ (2) $[SnCl_3(HL \cdot H^3)]$ (3), $[SnCl_3(HL \cdot H^4)]$ (4) на рост тест-штаммов условно-патогенных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*. Показано, что исследованные соединения в концентрациях 25, 50 и 100 мкг/мл способны значительно подавлять рост тест-штаммов. Наиболее активным в отношении большинства микроорганизмов оказались соединения (H_2L^4) и его комплекс 4: при концентрации 50 мкг/мл (H_2L^4) и 100 мкг/мл (комплекс 4) практически полностью подавлялось накопление биомассы всех тест-штаммов. Наиболее чувствительным к исследованным веществам среди всех тест-штаммов оказался *Proteus vulgaris*.

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

**O. Yu. Zinchenko, N.V. Shmatkova, I.I. Seifullina, B.M. Galkin,
T.O. Philipova**

Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082,
Ukraine, tel.: +38 (0482) 68 79 64, e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF IZONICOTINIC ACID
DERIVATIVES AND STANNUM (IV) COMPLEXES
ON THEIR BASIS**

Summary

It has been studied the influence of izonicotinic acid hydrazide (HL^1), izonicotinhydrazones 4-dimethylaminobenz (HL^2), 2-hydroxybenz- (H_2L^3), 2-hydroxy-1-naphthaldehydes (H_2L^4) and new complexes $[SnCl_4(L \cdot H^1)]$ (1), $[SnCl_4(L \cdot H^2)]$ (2) $[SnCl_3(HL \cdot H^3)]$ (3), $[SnCl_3(HL \cdot H^4)]$ (4) on the opportunistic bacterial strain *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* growth. It has been shown, that studied compounds at the concentrations 25, 50 и 100 $\mu\text{g/ml}$ are able to inhibit significantly the test-strain biomass increase. The most active were compounds (H_2L^4) and its complex 4: at the concentration 50 $\mu\text{g/ml}$ (H_2L^4) and 100 $\mu\text{g/ml}$ (complex 4) it was observed almost complete inhibition of all test-strain growth. The most sensible to studied compounds among all test-microorganisms was *Proteus vulgaris*.

Key words: hydrazide, izonycotinoylhydrazone, stannum(IV) complexes, opportunistic bacteria, antimicrobial effect.

