

УДК 615.28:547.8:579.6

О.М. Щербак, І.Д. Андреева, В.В. Казмірчук, П.С. Русак, О.В. Менкус

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНУ ПРИ НОЗОКОМІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЯХ, ВИКЛИКАНИХ ГРАМНЕГАТИВНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України»

За методом серійних розведень у рідких поживних середовищах встановлено високу протимікробну активність окремих похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину щодо музейних та клінічних штамів грамнегативних мікроорганізмів. Результати досліджень свідчать про перспективність подальшого вивчення властивостей нових похідних конденсованих нітрогеновмісних сполук з піримідиновим фрагментом з метою створення на їх основі ефективних протимікробних засобів для профілактики та лікування інфекційних ускладнень.

Ключові слова: похідні 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину, грамнегативні мікроорганізми, протимікробна активність.

Нозокоміальні інфекції є однією із найважливіших проблем сучасної охорони здоров'я [4, 7, 9, 10]. Вони являються найбільш частими причинами ускладнень госпіталізації, продовження термінів перебування пацієнтів у стаціонарах різного профілю та летальності [7]. Понад 90% усіх нозокоміальних інфекцій має бактеріальне походження, і грамнегативні мікроорганізми серед них набувають чималого значення [4, 5, 7, 11]. Основними серед них є представники родини *Enterobacteriaceae*: *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*. З неферментуючих мікроорганізмів основне значення мають *P. aeruginosa* та *Acinetobacter spp.* [7, 10].

Структура нозокоміальних інфекцій залежить від профілю стаціонару, політики застосування антибактеріальних препаратів, контингенту пацієнтів [1, 4, 6, 7, 9]. За даними багаточислового дослідження грамнегативних збудників нозокоміальних інфекцій у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії в Росії на долю *E. coli* припадає 33,1% усіх виділених штамів, *P. aeruginosa* – 18%, *K. pneumoniae* – 14,4%, серед інших – *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Acinetobacter spp.* [8].

Лідуючі положення займають нозокоміальні інфекції сечовивідних шляхів, на долю яких припадає 40% усіх нозокоміальних інфекцій, причому більше 70% їх збудників припадає на долю грамнегативних мікроорганізмів, серед яких домінує *E. coli* [1, 4, 5, 7]. Нозокоміальні пневмонії, етіологічними чинниками яких є *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*,

Acinetobacter spp., займають друге за частотою місце серед усіх нозокоміальних інфекцій (25%) та супроводжуються високою летальністю (50-71%) [6, 7]. *E. coli* та інші представники родини *Enterobacteriaceae* є домінуючими збудниками в абдомінальній хірургії і при інфекціях в акушерстві та гінекології [1, 6, 7, 9, 11]. *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa* є одними з провідних причин нозокоміальних ангіогенних інфекцій [5, 7, 11]. Переважними збудниками при нозокоміальних інфекціях шлунково-кишкового тракту є *C. difficile*, *Salmonella spp.*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* [7].

Головним негативним явищем при лікуванні нозокоміальних інфекцій є постійно прогресуюча резистентність мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [3, 6, 10, 12]. На сьогодні складніше, ніж раніш, елімінувати інфекцію, що спричинена грамнегативними «супермікроорганізмами», полірезистентними до антибіотиків [10]. Найбільш відомими представниками полірезистентної грамнегативної флори є *P. aeruginosa* та *Acinetobacter spp.* [7, 10, 12]. Продовжує розвиватися стійкість представників родини *Enterobacteriaceae* до більшості сильнодіючих антибіотиків, у тому числі і у внутрішньолікарняних штамів *Klebsiella spp.*, *E. coli* та *Enterobacter spp.* [10, 12]. Полірезистентні грамнегативні мікроорганізми все частіш виявляються у пацієнтів і поза лікарні [10].

Обмеженість вітчизняних розробок нових препаратів з антибактеріальною активністю проти грамнегативних мікроорганізмів ускладнює вирішення цієї проблеми [7, 10, 12]. Перспективними у якості потенційних антибактеріальних засобів є похідні конденсованих нітрогеновмісних гетероциклів, що містять піримідиновий фрагмент.

Мета роботи – дослідження протимікробної активності похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину нового синтезу щодо грамнегативних мікроорганізмів і мікробіологічне обґрунтування можливостей подальшого створення на їх основі лікарських засобів з протимікробною дією.

Матеріал та методи

Об'єктом дослідження стали нові похідні 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину, які було синтезовано на кафедрі органічної хімії Національного фармацевтичного університету МОЗ України. Сполуки, що вивчалися, за хімічною будовою були умовно розподілені на чотири групи: *N*-арилацетаміди, тіони, 4-алкілсульфанілпохідні та ацетаміди. В залежності від радикалу, що вони містять, сполукам були надані власні коди. Було досліджено протимікробну активність низки відібраних за результатами первинного мікробіологічного скринінгу нових сполук, а саме похідних *N*-арилацетамідів речовин 4, 19, 20, 25, 30 та 33, похідної з групи тіонів сполуки 133 та 4-алкілсульфанілпохідної сполуки 136 щодо 22 штамів грамнегативних мікроорганізмів. У якості розчинника в досліді було використано диметилсульфоксид. Вихідні розчини сполук доводили до концентрації 1000 мкг/мл. Тестування протимікробної активності проведено з використанням штамів грамнегативних бактерій, які було одержано з філії музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ ім. І.І.Мечникова НАМН України», а саме: 1 штам *P. aeruginosa* та 21 штам мікроорганізмів, що належать до родини *Enterobacteriaceae*: *E.coli* – 1 штам, *S.enteritidis* – 1 штам, *Shigella spp.* – 2 штами, *K. pneumoniae* – 1 штам, *E. aerogenes* – 1 штам, *P. vulgaris* – 2 штами, *Yersinia spp.* – 9 штамів, *R. aquatilis* – 4 штами.

У якості контролю взяті діючі речовини протимікробних препаратів триметоприму та гексетидину, які є похідними піримідину. Визначення протимікробної дії досліджу-

ваних речовин проводили за допомогою стандартного методу двократних серійних розведень у рідких поживних середовищах з наступним висівом на тверді поживні середовища [3]. Мікробне навантаження становило 5×10^5 КУО/мл. Активність сполук оцінювали за мінімальними інгібуючими та бактерицидними концентраціями (МІК та МБ_цК). Дослідження проводили у трьох повтореннях. Додатково проводились контролю поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

Результати та обговорення

За результатами проведених досліджень було встановлено, що бактериостатична дія речовин нового синтезу щодо *P. aeruginosa* проявлялась у концентраціях 26,0-52,0 мкг/мл (МІК обох препаратів контролю $52,0 \pm 18,0$ мкг/мл). Серед усіх відібраних для поглибленого вивчення речовин нового синтезу у сполук 20 та 33 (похідні *N*-арилацетамідів) виявлена висока інгібуюча активність щодо *P. aeruginosa* у концентрації ($26,0 \pm 9,0$) мкг/мл. Бактерицидну активність нові синтетичні конденсовані нітрогеновмісні сполуки відносно *P. aeruginosa* проявили у МБ_цК у межах 41,6-62,5 мкг/мл (МБ_цК препаратів порівняння у діапазоні 52,0-125,0 мкг/мл).

Проведені досліді свідчать, що речовини нового синтезу володіють високою або помірною *in vitro* активністю щодо переважної більшості досліджених штамів ентеробактерій з показниками МІК в діапазоні 13,0-62,5 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у межах 41,6-62,5 мкг/мл). Бактерицидна дія нових сполук щодо ентеробактерій була вища за показники контролю (МБ_цК сполук у межах 20,8-62,5 мкг/мл, МБ_цК препаратів порівняння у межах 52,0-125,0 мкг/мл). За результатами проведених досліджень встановлено, що 87,5% відібраних для поглибленого вивчення нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук проявляли високу бактериостатичну активність щодо *E.coli* (МІК у межах 13,0-26,0 мкг/мл, МІК обох препаратів контролю ($41,6 \pm 18,0$) мкг/мл). Більше третини досліджених речовин проявляли відносно *E.coli* високу бактерицидну активність (МБ_цК сполук у межах 20,8-26,0 мкг/мл, МБ_цК обох препаратів порівняння ($52,0 \pm 18,0$) мкг/мл). Найактивнішою щодо *E.coli* виявилась похідна *N*-арилацетамідів сполука

25 (МІК та МБ_цК відповідно (13,0±4,5) мкг/мл та (20,8±9,0) мкг/мл).

Ступінь активності усіх досліджених речовин щодо *S. enteritidis* співвідносився з показниками контролю та був помірним: МІК сполук коливались у межах 41,6-52,0 мкг/мл (МІК обох препаратів контролю (52,0±18,0) мкг/мл), а МБ_цК – у межах 52,0-125,0 мкг/мл (МБ_цК контролю у діапазоні 62,5-125,0 мкг/мл).

Більш активними нові синтетичні конденсовані нітрогеновмісні сполуки виявились щодо *Shigella spp.* МІК речовин нового синтезу знаходилась у межах 13,0-52,0 мкг/мл, серед них у половини сполук встановлена бактеріостатична дія у концентраціях в діапазоні 13,0-26,0 мкг/мл (МІК обох препаратів порівняння (41,6±18,0) мкг/мл). Бактерицидно щодо *Shigella spp.* нові речовини діяли в концентраціях у діапазоні 26,0-62,5 мкг/мл (МБ_цК обох препаратів порівняння (52,0±18,0) мкг/мл). Найвища активність щодо *Shigella spp.* виявлена у похідних *N*-арилацетамідів сполуки 4 та 25 (МІК у діапазоні 13,0-20,0 мкг/мл, МБ_цК обох сполук (26,0±9,0) мкг/мл).

По відношенню до *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* та *P. vulgaris* усі досліджені сполуки нового синтезу проявили помірну протимікробну дію, яка співпадала з препаратами порівняння (МІК більшості сполук та препаратів порівняння у межах 41,6-52,0 мкг/мл, МБ_цК – у межах 52,0-125,0 мкг/мл).

Чутливість ієрсиній щодо нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук співвідносилась або була вища за препарати контролю. Отримані результати довели високу або помірну *in vitro* активність речовин нового синтезу щодо усіх досліджених штамів *Yersinia spp.* з показниками МІК у діапазоні 26,0-52,0 мкг/мл та МБ_цК у межах 31,2-125,0 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у діапазоні 41,6-62,5 мкг/мл, МБ_цК – 52,0-125,0 мкг/мл).

Відібрані для поглибленого дослідження речовини, а саме похідні *N*-арилацетамідів сполуки 4, 25, 33 та похідна тіонів сполука 133, виявили високу протимікробну активність щодо 50% досліджених штамів *Yersinia spp.* з показниками МІК в діапазоні 26,0-31,2 мкг/мл.

Майже аналогічну за ступенем протимікробну активність встановлено щодо *R. aquatilis*. Показники МІК нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук для усіх досліджених штамів *R. aquatilis* знаходи-

лись у діапазоні 20,8-41,6 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у межах 41,6-52,0 мкг/мл). Бактерицидно щодо *R. aquatilis* досліджені речовини діяли у діапазоні МБ_цК 26,0-52,0 мкг/мл (МБ_цК препаратів контролю у межах 52,0-125,0 мкг/мл). Серед досліджених речовин нового синтезу у 50%, а саме похідних *N*-арилацетамідів сполук 4, 20, 25 та похідної тіонів сполуки 133, встановлена висока протимікробна активність щодо усіх досліджених штамів *R. aquatilis* з показниками МІК у діапазоні 20,8-26,0 мкг/мл. Похідні *N*-арилацетамідів сполуки 20 та 25 проявили також високу бактерицидну дію щодо усіх досліджених штамів *R. aquatilis* у МБ_цК в діапазоні 26,0-31,2 мкг/мл. Близькою за ступенем активності щодо даного збудника була 4-алкілсульфанілпохідна сполука 136, МІК якої для 75% досліджених штамів *R. aquatilis* дорівнювала 26,0 мкг/мл.

Висновки

1. За результатами проведених досліджень встановлено достатньо високу *in vitro* активність нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук з піримідиновим фрагментом щодо грамнегативних мікроорганізмів – *P. aeruginosa* та переважної більшості обраних для дослідження ентеробактерій.

2. За ступенем *in vitro* активності щодо грамнегативних мікроорганізмів серед досліджених речовин нового синтезу встановлено сполуки – лідери, а саме похідні *N*-арилацетамідів сполуки 4, 20, 25, 33, та похідна тіонів сполука 133, серед яких найкращою визнана сполука 25.

3. Подальші дослідження протимікробних властивостей похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину відкривають перспективи для створення на їх основі ефективних протимікробних засобів для профілактики та лікування інфекцій, викликаних грамнегативними мікроорганізмами.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА ПРИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ, ВЫЗВАННЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

О.Н. Шербак, И.Д. Андреева, В.В. Казмирчук, П.С. Русак, Е.В. Менкус

Методом серийных разведений в жидких питательных средах установлена высокая противомикробная активность отдельных производных 4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина в отно-

пении музейных и клинических штаммов грамотрицательных микроорганизмов. Результаты исследований свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения свойств новых производных конденсированных азотсодержащих соединений с пиримидиновым фрагментом с целью создания на их основе эффективных противомикробных средств для профилактики и лечения инфекционных осложнений.

Ключевые слова: производные 4Н-пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина, грамотрицательные микроорганизмы, противомикробная активность.

PROSPECTS OF NEW PYRIMIDINE DERIVATIVES IN NOSOCOMIAL INFECTIONS CAUSED BY GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS

O.M. Shcherbak, I.D. Andreieva, V.V. Kazmirchuk, P.S. Rusak, E.V. Menkus

Method of serial dilutions in liquid nutrient mediums established high antimicrobial activity of some derivatives of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine on the museum and clinical strains of gram-negative microorganisms. The research results indicate the prospects of further investigation of the properties new derivatives of condensed nitrogen-containing compounds with pyrimidine fragment in order to create on their basis the effective antimicrobial agents for prophylaxis and treatment of infectious complications.

Keywords: derivatives of 4H-pyrido[4',3':5,6]pyrano[2,3-d]pyrimidine, gram-negative bacteria, antimicrobial activity.

ЛІТЕРАТУРА

1. Березняков И.Г. Особенности диагностики и лечения инфекций нижних мочевых путей у женщин [Текст] / И.Г. Березняков // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2006. – № 1. – С. 38-43.
2. Вивчення специфічної активності протимікробних

- лікарських засобів: Методичні рекомендації [Текст] / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Широбоков [та інш.]. – ДФЦ МОЗ України. – К, 2004. – 38 с.
3. Єршова І.Б. Резистентність мікроорганізмів і антибактеріальна терапія [Електронний ресурс] / І.Б. Єршова, О.О. Висоцький, Т.В. Ширина [та інш.] // Жіночий лікар. – 2008. – № 6. – С. 35.
 4. Заслонкін Ю.В. Актуальні питання профілактики внутрішньо лікарняних інфекцій (огляд літератури) [Електронний ресурс] / Ю.В. Заслонкін // Режим доступу: <http://dorses.lviv.ua/old/CONFER/2004virtual/articles/index.html>
 5. Митрохин С.Д. Значение энтеробактерий в инфекционной патологии человека [Електронний ресурс] / С.Д. Митрохин // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. – № 2. – Т. 7. – Режим доступа к журналу: <http://www.consilium-medicum.com/infectionandanty/article/8121>
 6. Перцева Т.А. Особенности этиологической диагностики и лечения нозокомиальной пневмонии [Текст] / Т.А. Перцева, Р.А. Бонцевич // Мистецтво лікування. – 2003. – № 4. – С. 31-34.
 7. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии [Текст] / Ред.: Л.С. Страчунский, Ю.Б. Белоусов, С.Н. Козлов. – М.: Боргес, 2002. – 384 с.
 8. Страчунский Л.С. Состояние резистентности к антиинфекционным химиопрепаратам в России [Текст] / Л.С. Страчунский, Т.М. Богданович, С.Н. Козлов, ред. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. – М.: Боргес, 2002. – С. 32-39.
 9. Яковлев С.В. Обзор антибактериальных препаратов для лечения хирургических инфекций [Текст] / С.В. Яковлев // Инфекции в хирургии. – 2003. – № 1 (3). – С. 73-80.
 10. Arias C.A. Антибиотикорезистентность – вызов клинической медицине XXI века [Електронний ресурс] / С.А. Arias, В.Е. Murray // New England Journal of Medicine. – 2009. – Vol. 360., № 5. — P. 439-443.
 11. Pitout J.D. Extended-spectrum b-lactama-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern [Text] / J.D. Pitout, K.B. Laupland // Lancet Infect. Dis. – 2008. – Vol. 8. – P. 159-166.
 12. Towner K.J. The problem of resistance [Text] / K.J. Towner // In: Greenwood D., editor. Antimicrobial chemotherapy. 4th ed. – Oxford, New York: Oxford University Press, 2001. – P. 137-155.

Стаття надійшла 06.07.2011