І. Д. Андреєва

ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова АМН України», м. Харків

© І. Д. Андреєва

МОЖЛИВОСТІ ПОХІДНИХ 2*H*-ПІРАНО[2,3-*c*]ПІРИДИНІВ ПРИ УСКЛАДНЕННЯХ СТАФІЛОКОКОВОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Резюме. За методом серійних розведень у рідких поживних середовищах встановлено значну бактеріостатичну активність 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів відносно музейних та клінічних штамів стафілококів, включаючи метицилінрезистентні ізоляти. Результати досліджень свідчать про перспективність подальшого вивчення властивостей похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів із метою створення на їх основі ефективних протимікробних засобів для профілактики та лікування захворювань стафілококової етіології.

Ключові слова: *похідні 2H-пірано[2,3-c]піридинів, стафілококи, протимікробна активність.*

Вступ

Мікроорганізми роду Staphylococcus посідають одне з провідних місць серед збудників інфекційних захворювань. Стафілококи є збудниками значної частини позалікарняних та нозокоміальних бактеріємій, пневмоній, інфекцій шкіри та м'яких тканин, кісток й суглобів [5, 8, 9, 10, 13]. На сьогодні стафілокок є одним із головних нозокоміальних патогенів [5, 6, 8, 9], що спричиняє 20—50 % нозокоміальних пневмоній, 80—100 % післяінфекційних абсцесів, у 19 % випадків — інфікування післяопераційних ран.

Найважливішу роль у патології людини відіграє Staphylococcus aureus [4, 9, 13]. Він вважається одним з основних пневмотропних агентів і часто є збудником захворювань органів дихання, як правило, з ускладненим перебігом [7]. У стаціонарах Staphylococcus aureus — один із «лідерів» збудників шпитальних пневмоній [1, 4, 7, 9]. Staphylococcus aureus та коагулазонегативному Staphylococcus epidermidis належить провідна роль у розвитку ангіогенних інфекцій [6]. Типовими для Staphylococcus epidermidis вважаються катетерасоційовані інфекції, які обумовлені колонізацією цими мікроорганізмами катетерів, протезів, дренажів або гематогенним диссемінуванням збудника після хірургічних утручань [7, 10].

Збільшення частки грампозитивної мікрофлори у структурі інфекційних ускладнень супроводжується диспропорційним зростанням резистентної флори, що значно ускладнює вибір адекватної протимікробної терапії [1, 4]. Результат більшості досліджень свідчить про наявність резистентності у 25 % Staphylococcus aureus та у 50 % коагулазонегативних стафілококів [1, 4, 6, 7, 9]. Факторами ризику інфекцій, що спричинені резистентними стафілококами, є тривале лікування у стаціонарі, застосування антибіотиків широкого спектра та повторних курсів антибактеріальної терапії, раньова інфекція, штучна вентиляція легень, катетеризація центральних вен, катетеризація сечового міхура тощо [1, 4, 6].

У теперішній час майже 70 % позалікарняних та більше 95 % внутрішньолікарняних штамів Staphylococcus aureus виробляють специфічні β-лактамази, які руйнують природні та більшість напівсинтетичних пеніцилінів [1, 6, 9]. Важлива особливість метицилінрезистентних стафілококів — велика частота асоційованої стійкості до антибактерійних препаратів різних груп [6, 10, 14]. Спостерігаються формування й зростання кількості полірезистентних шпитальних штамів, які циркулюють у пологових, інфекційних та хірургічних відділеннях лікарень [1, 4, 9, 10]. Широке розповсюдження полірезистентних штамів стафілококів вимагає розробки заходів, які обмежують їх циркуляцію. Перспективними напрямками у боротьбі із полірезистентністю стають відновлення пошуку протимікробних препаратів та розробка шляхів і засобів направленого синтезу антибіотичних речовин, які не мають структурної подібності з існуючими антибіотиками і тому не будуть мішенню для вже існуючих механізмів резистентності [11].

Метою роботи стало дослідження протимікробної активності похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів і мікробіологічне обґрунтування подальшого створення на їхній основі лікарських засобів із протимікробною дією.

Матеріали та методи

Було досліджено 54 похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*] піридинів, що синтезовані у Національному фармацевтичному університеті (м. Харків) на кафедрі органічної хімії.

Сполуки за хімічною будовою були умовно розподілені на п'ять груп:
1 група — 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арикарбоксаміди; *2 група* — 2-N^2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-N^1-арикарбоксаміди; *3 група* — 2-*N*-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-карбоксаміди; *4 група* — 5-гідроксиметил-8-метил-2-оксо-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арилкарбоксаміди; *5 група* — 2-N^2-ариліміно-3-N^1-арилкарбоксамідо-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-5-іл)-метилацетати.

Залежно від радикалу, що вони містять, сполукам були надані власні коди. Як розчинники в дослідженнях нами було використано поліпропіленгліколь, вихідні розчини якого доводили до концентрації 1 мг/мл. Мікробне навантаження до музейних штамів становило 10^6 та 10^7 колонієутворюючих одиниць на мл (КУО/мл). Визначення протимікробної дії досліджуваних речовин проводили за допомогою методу серійних розведень у рідких поживних середовищах [2]. Результати враховували за відсутності зростання в останній пробірці, що відповідає мінімальній бактеріостатичній концентрації (МБстК). Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБцК) із двох-трьох останніх пробірок ряду здійснювали висівання 0,1 мл у чашці Петрі з твердим поживним середовищем. Після 18—24 годин інкубування при t = 37 °С відзначали ту мінімальну концентрацію, яка не давала зростання на агарі, що відповідала значенню МБцК. Як контроль було застосовано відомий антибактерійний препарат «Триметоприм». Додатково проведено контроль поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

Тестування протимікробної активності виконувалося з використанням 14 музейних та 13 клінічних ізолятів стафілококів від пацієнтів із гнійно-септичними захворюваннями, що були надані філією музею мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова АМН України»: Staphylococcus aureus ATCC 25923, Staphylococcus aureus № 16580, Staphylococcus aureus № 16581, Staphylococcus aureus № 16583, Staphylococcus aureus № 16586, Staphylococcus aureus № 16588, Staphylococcus epidermidis № 16589, Staphylococcus aureus № 16590, Staphylococus haemolyticus № 16591, Staphylococcus aureus № 16592, Staphylococcus epidermidis № 16593, Staphylococcus aureus № 16594, Staphylococcus haemolyticus № 16595, Staphylococcus aureus № 16561. Загалом досліджено 10 тест-штамів S. aureus та 4 тест-штами коагулазонегативних стафілококів — Staphylococcus enteritidis та Staphylococcus haemolyticus. Серед досліджених тест-штамів Staphylococcus aureus було 5 метицилінчутливих та 5 метицилінрезистентних, серед коагулозонегативних стафілококів — 1 метициліночутливий та 3 метицилінрезистентних. Метицилінрезистентними вважалися тест-штами, для яких МБстК оксациліну дорівнювала або перевищувала 32 мкг/мл, при МБстК оксациліну 8—16 мкг/мл штами розцінювали як із пограничною чутливістю та при МБстК до 8 мкг/мл — як метициліночутливі. При проведенні досліджень використовували однодобові культури мікроорганізмів, які вирощували на відповідних поживних середовищах, зазначених у ДФ України [3]. Усі дослідження відбувалися у п'яти повтореннях.

Результати дослідження та їх обговорення

У попередніх дослідженях [12] при первинному мікробіологічному скринінгу 54 похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів було встановлено порівняно високу чутливість до 29,6 % досліджених сполук колекційного тест-штаму Staphylococcus aureus ATCC 25923 [12], що стало підставою для подальших досліджень протистафілококової дії найактивніших похідних даного синтезу на розширеному колі музейних і клінічних тест-штамів стафілококу.

При дослідженні протистафілококової активності похідних 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арикарбоксамідів (1 дослідна група) встановлено, що бактеріостатична дія сполук даної групи була вираженою у концентраціях 25,0—50,0 мкг/мл щодо 53 % досліджених тест-штамів стафілококу. За ступенем бактеріостатичної дії найактивнішими були сполуки 1(18) та 1(19), МБстК яких для більшості досліджених штамів дорівнювала 25,0 мкг/мл (МБстК контролю у межах 50,0—100,0 мкг/мл). Найбільший діапазон бактеріостатичної дії щодо досліджених музейних та клінічних тест-штамів Staphylococcus aureus мали сполуки 1(19) та 1(22), МБстК яких зафіксовано у межах 25,0—50,0 мкг/мл щодо 85,7 та 78,6 % тест-штамів Staphylococcus aureus відповідно. Протимікробна активність сполук 1(8), 1(20) та 1(23) співвідносилася з контролем.

Найвищу активність відносно тест-штамів Staphylococcus aureus встановлено у похідних 2-N^2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-N^1-арикарбоксамідів (2 дослідна група). Встановлено, що МБстК відносно 50 % досліджуваних музейних та клінічних тест-штамів Staphylococcus aureus перебувала у межах 12,5—25,0 мкг/мл, а МБстК 50,0 мкг/мл — відносно 57 % досліджуваних штамів. Помірну бактерицидну активність сполук другої групи досліджено щодо 47,7 % тест-штамів Staphylococcus aureus. Найактивнішою речовиною даної групи була сполука 2(2), МБстК якої щодо 64 % досліджених тест-штамів Staphylococcus aureus становила 12,5 мкг/мл та МБцК — 25,0 мкг/мл щодо 50 % тест-штамів.

Близьку за ступенем протистафілококової активності мала сполука 5(7) із групи похідних 2-N^2-ариліміно-3-N^1-арилкарбоксамідо-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-5-іл)-метилацетатів (5 дослідна група). Встановлено, що МБцК сполуки 5(7) відносно 83 % тест-штамів Staphylococcus aureus була у межах 25,0—50,0 мкг/мл, а МБстК даної сполуки щодо 71 % досліджених штамів Staphylococcus aureus — у межах 12,5—25,0 мкг/мл та відносно 29 % штамів — 50,0 мкг/мл. Порівняння рівня протистафілококової активності сполук 2(2) та 5(7) із контролем показало, що вони пе-

реважають триметоприм (МБцК триметоприму 100,0 мкг/мл, МБстК триметоприму відносно 64% штамів Staphylococcus aureus 50,0 мкг/мл та відносно 36% — 100,0 мкг/мл).

Похідні 2-*N*-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-с]піридин-3-карбоксамідів (3 дослідна група) виявили помірну бактеріостатичну активність щодо 50% штамів Staphylococcus aureus. Аналогічною була активність похідних 5-гідроксиметил-8-метил-2-оксо-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арилкарбоксамідів (4 дослідна група). За протимікробною активністю щодо тест-штамів Staphylococcus aureus сполуки 3 та 4 груп співвідносилися з показниками контролю.

Ступінь чутливості до похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів метициліночутливих та метицилінрезистентних штамів Staphylococcus aureus виявився практично однаковим.

Що стосується коагулазонегативних тест-штамів Staphylococus haemolyticus та Staphylococcus epidermidis, то максимальну активність виявила сполука 2(2) з 2 дослідної групи (похідні 2-N^2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-N^1-арикарбоксамідів) (МБстК та МБцК відповідно 12,5 та 25,0 мкг/мл у порівнянні із МБстК та МБцК контролю 100,0 мкг/мл). Дещо менша активність щодо коагулазонегативних штамів мікроорганізмів спостерігалася у сполук 1(18), 1(19) — похідні 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арикарбоксамідів (1 дослідна група) та 2(1), 2(3) — із 2 дослідної групи (МбстК та МбцК у межах 25,0—50,0 мкг/мл у порівнянні із МБстК та МБцК контролю 100,0 мкг/мл). Серед похідних 5-гідроксиметил-8-метил-2-оксо-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арилкарбоксамідів (4 дослідна група) сполука 4(9) мала помірну бактеріостатичну та бактерицидну дію щодо Staphylococus haemolyticus № 16595, а сполука 4(10) — аналогічну за ступенем рівноактивну бактеріостатичну та бактерицидну дію щодо Staphylococcus epidermidis № 16589 (МБстК та МБцК сполук 50,0 мкг/мл у порівнянні з МБстК та МБцК контролю 100,0 мкг/мл).

Попередніми дослідженнями суттєвої залежності між чутливістю до похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів та рівнем метицилінорезистентності коагулазонегативних тест-штамів стафілококів не виявлено.

Висновки

1. Тестування похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів методом серійних розведень у рідких поживних середовищах дозволило встановити їхню значну бактеріостатичну та помірну бактерицидну активність відносно 14 колекційних і клінічних тест-штамів стафілококу, включаючи метицилінорезистентні ізоляти.

2. Найбільш виражену активність відносно штамів Staphylococcus aureus виявили похідні 2-N^2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-N^1-арикарбоксаміди та 2-N^2-ариліміно-3-N^1-арилкарбоксамідо-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-5-іл)-метилацетатів, а відносно коагулазонегативних штамів Staphylococcus epidermidis та Staphylococcus haemolyticus — похідні 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арикарбоксаміди та 2-N^2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-N^1-арикарбоксамідів.

3. Подальші дослідження протимікробних властивостей похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів відкривають перспективи для створення на їх основі ефективних протимікробних засобів для профілактики та лікування стафілококових інфекцій.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Веретельникова И.Ю.* Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных от медицинского персонала / И. Ю. Веретельникова, Ю. В. Захарова // Медицина в Кузбассе. — 2007. — № 2. — С. 39—40.

2. *Вивчення* специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Методичні вказівки / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Широбоков [та ін.]; ДФЦ МОЗ України. — К., 2004. — 38 с.

3. *Державна* фармакопея України / ДП «Науково-експериментальний центр». — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

4. *Дехнич А.В.* Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов Staphylococcus aureus в России: результаты многоцентрового исследования / А. В. Дехнич, И. А. Эйдельштейн, А. Д. Нарезкина // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапія. — 2002. — № 4 (4). — С. 325—336.

5. *Дмитренко О.А.* Эпидемиология нозокомиальных инфекций, вызванных метициллинрезистентными Staphylococcus aureus, в стационарах России / О. А. Дмитренко, И. А. Шагинян, В. Я. Прохоров, А. Л. Гинцбург // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапія. — 2005. — Т. 7, № 2. — Прил. 1. — С. 23.

6. *Дроздова О.М.* Эпидемиологический мониторинг внутрибольничных инфекций у медицинского персонала: метод. реком. / О. М. Дроздова, Е. Б. Брусина, Ю. В. Захарова. — Кемерово, 2007. — 56 с.

7. *Лазикова Г.Ф.* Метициллинрезистентные стафилококки — возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование: метод. реком. / Г. Ф. Лазикова, А. А. Мельникова, Н. В. Фролова. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. — 43 с.

8. *Мухамедов И.М.* Этиологические аспекты внутрибольничных хирургических раневых инфекций в детской хирургии / И. М. Мухамедов, М. Ф. Абдукаххарова, Л. Ж. Алекешева, Н. А. Писецкая // Инфекция, иммунитет и фармакология. — 2000. — №3. — С. 39—41.

9. *Перцева Т.А.* Особенности этиологической диагностики и лечения нозокомиальной пневмонии / Т. А. Перцева, Р. А. Бонцевич // Мистецтво лікування. — 2003. — №4. — С. 31—34.

10. *Флуер Ф.С.* Частота выделения энтеротоксигенных стафилококков среди больных сепсисом, пневмонией и ожогами / Ф. С. Флуер, В. Я. Прохоров, В. М. Бондаренко // ЖМЕИ. — 2005. — №5. — С. 3—6.

11. *Яковлев С.В.* Обзор антибактериальных препаратов для лечения хирургических инфекций / С. В. Яковлев // Инфекции в хирургии. — 2003. — №1 (3). — С. 73—80.

12. *Antimicrobial* activity of synthetic derivates of condensed heterocyclic compounds with pyridine fragment / V. Y. Evsukova, I. D. Andreieva, V. V. Kazmirchuk [et al.] // Annals of Mechnikov Institute. — 2009. — №1. — P. 14—16.

13. *Fluit A.C.* Epidemiology and Susceptibility of 3.051 Staphylococcus aureus Isolates from 25 Univercity Hospitals Partisipating in the European SENTRY Study / A. C. Fluit, C. L. C. Wielders, J. Verhoef, F. J. Schmitz // J. Clin. Microbiol. — 2001. — №39 (10). — P. 3727—3732.

14. *Hiramatsu K.* Vancomycin —resistant Staphylococcus aureus: a new model of antibiotic resistance / K. Hiramatsu // Lancet Infect. Dis. — 2001. — №1. — P. 14—16.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 2*H*-ПИРАНО[2,3-*c*]ПИРИДИНОВ ПРИ ОСЛОЖНЕНИЯХ СТАФИЛОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

И. Д. Андреева

Резюме. Методом серийных разведений в жидких питательных средах установлена высокая бактериостатическая активность производных 2*H*-пирано[2,3-*c*]пиридинов относительно музейних и клинических штаммов стафилококков, включая метицилинорезистентные изоляты. Результаты исследований свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения свойств производных 2*H*-пирано[2,3-*c*]пиридинов с целью создания на их основе эффективных противомикробных средств для профилактики и лечения заболеваний стафилококковой этиологии.

Ключевые слова: *производные 2H-пирано[2,3-c]пиридинов, стафилококки, противомикробная активность.*

POTENTIAL OF 2*H*-PYRAN[2,3-*a*]PYRIDINES DERIVATIVES ON THE BACKGROUND OF STAPHYLOCOCCI COMPLICATIONS

I. D. Andreyeva

Summary. The significant bacteriostatic activity of 2*H*-pyrano[2,3-*c*] pyridines derivates against museum and clinical strains of staphylococci including methicillin-resistant isolates by serial delutions method in liquid mediums was established. The results of studies of the properties of 2*H*-pyrano[2,3-*c*]pyridines derivates and development of the antimicrobial compounds on their basis for prophylaxis and treatment of diseases of staphylococci etiology could be promising.

Key words: *2H-pyrano[2,3-c]pyridines, staphylococci, antimicrobial activity.*