



О. М. Щербак, І. Д. Андрєєва,  
В. В. Казмірчук, П. С. Русак,  
С. В. Пономаренко

## АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ КОНДЕНСОВАНИХ НІТРОГЕНОВМІСНИХ СПОЛУК ІЗ ПІРИМІДИНОВИМ ФРАГМЕНТОМ ЩОДО ГРАМПОЗИТИВНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

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

© Колектив авторів

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

**Ключові слова:** похідні конденсованих нітрогеновмісних сполук із піримідиновим фрагментом, грамполозитивні мікроорганізми, протимікробна активність.

### Вступ

Грамполозитивні мікроорганізми — найпоширеніші інфекційні агенти при нозокоміальних, позалікарняних та післяопераційних інфекціях [2, 6, 7, 8, 9]. *S. pneumonia* вважається найбільш розповсюдженим позалікарняним патогеном [2, 9]. Метицилінорезистентний *S. aureus* (MRSA) та *E. faecium* серед грамполозитивної флори становлять найбільшу терапевтичну складність [2, 3, 5—7, 10]. Стафілококи є частими етіологічними патогенами при нозокоміальних інфекціях [3, 5, 6]. На сьогодні 50—60% випадків лікарняної бактеріемії зумовлені коагулазонегативними стафілококами (CoNS), *S. aureus* та ентерококами [2].

Збільшення кількості резистентних до антибіотиків штамів грамполозитивних мікроорганізмів, що спостерігається за останні десятиліття, стає серйозною проблемою в усьому світі [2, 3, 5]. За минулі десять років частота резистентності *S. pneumonia* збільшилася з 2,2 до 17,0% [2]. Усе більшу розповсюдженість у світі набувають резистентні форми стафілококів [2, 3, 6, 7, 8, 9]. На сьогодні MRSA вважається головним нозокоміальним інфекційним агентом та все частіше трапляється в амбулаторних пацієнтів [2, 4, 9]. Проблему становить виникнення штамів MRSA із збільшеною МІК, проміжною чутливістю та клінічною резистентністю до глікопептидів [2, 7]. Нозокоміальна інфекція MRSA частіше, ніж MSSA, стає причиною летальних наслідків [2]. Разом зі стафілококами ентерококи є найчастішими грамполозитивними збудниками нозокоміальних інфекцій [2, 10, 11].

Летальність при інфекціях, спричинених резистентними штамми грамполозитивних мікроорганізмів, значна кількість ускладнень та соціальне занепокоєння спонукають до пошуку нових протимікробних препаратів, котрі займуть місце ліків, від яких доводиться відмовлятися через зни-

ження їхньої ефективності, пов'язаної з набуттям мікроорганізмами стійкості [2, 8, 9]. Як потенційні антибактеріальні засоби перспективними є похідні конденсованих нітрогеновмісних гетероциклів, що містять піримідиновий фрагмент.

Метою роботи стало дослідження протимікробної активності похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину щодо грамполозитивних мікроорганізмів і мікробіологічне обґрунтування можливостей подальшого створення на їх основі лікарських засобів із протимікробною дією.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були нові похідні 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину, які було синтезовано у Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на кафедрі органічної хімії. Сполуки, що вивчалися, за хімічною будовою були умовно розподілені на чотири групи: N-арилацетаміди, тіони, 4-алкілсульфанілпохідні та ацетаміди. Залежно від радикала, який вони містять, речовинам було надано власні коди. В експериментах *in vitro* досліджено протимікробну дію низки найактивніших за результатами первинного мікробіологічного скринінгу сполук нового синтезу, а саме — похідних N-арилацетамідів — 4, 19, 20, 25, 30 та 33, похідної тіонів сполуки 133 та 4-алкілсульфанілпохідної сполуки 136 щодо 17 штамів грамполозитивних мікроорганізмів. Як розчинник у дослідах було використано диметилсульфоксид. Вихідні розчини сполук доводили до концентрації 1000 мкг/мл. Тестування протимікробної активності проведено з використанням одного штаму *S. pneumonia*, двох штамів *Bacillus spp.* та 14 штамів *Staphylococcus spp.*, які було одержано з філії музею мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України». Загалом досліджено 10 штамів *S. aureus* та 4 штами коагу-

лазонегативних стафілококів — *S. epidermidis* та *S. haemolyticus*, серед них: 7 штамів метициліночутливих та 3 метицилінорезистентних *S. aureus*, 1 метициліночутливий та 1 метицилінорезистентний *S. epidermidis*, 1 метициліночутливий та 1 метицилінорезистентний *S. haemolyticus*. Метицилінорезистентними вважалися штами, для яких МІК оксациліну дорівнювала або перевищувала 32 мкг/мл, при МІК оксациліну 8—16 мкг/мл штами розцінювали як із проміжною чутливістю та при МІК до 8 мкг/мл — як метициліночутливі.

Як контроль застосовано субстанції протимікробних препаратів «Триметоприм» та «Гексетидин» (похідні піримідину). Визначення протимікробної дії нових речовин проводили за допомогою методу дворазових серійних розведень у рідких поживних середовищах із наступним висівом на тверді середовища [1]. Мікробне навантаження становило  $5 \times 10^5$  КУО/мл. Активність сполук визначали за мінімальними інгібуючими та бактерицидними концентраціями (МІК та МБ<sub>ц</sub>К). Усі дослідження проводили у трьох повтореннях. Додатково здійснювали контроль поживних середовищ та розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

#### Результати дослідження та їх обговорення

Установлено вищу або співвідносну з показниками речовин контролю активність щодо усіх досліджених штамів грамполозитивних мікроорганізмів із рівнями МІК у межах 13,0—62,5 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у діапазоні 26,0—62,5 мкг/мл).

У результаті проведених досліджень було визначено, що бактериостатична дія речовин нового синтезу щодо *S. pneumoniae* виявлялася у концентраціях 20,8—41,6 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у діапазоні 26,0—62,5 мкг/мл). Більше половини відібраних для поглибленого вивчення нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук (62,5%) мають високу інгібуючу активність щодо *S. pneumoniae* в МІК у діапазоні 20,8—26,0 мкг/мл, бактерицидна дія досліджених речовин установлена в МБ<sub>ц</sub>К у межах 26,0—62,5 мкг/мл (МБ<sub>ц</sub>К препаратів порівняння 41,6—125,0 мкг/мл). Слід зазначити, що у половини дослідних сполук МБ<sub>ц</sub>К відносно *S. pneumoniae* виявилася в межах 26,0—31,2 мкг/мл. Найактивнішими щодо *S. pneumoniae* були похідні N-арилацетамідів сполуки 25 та 33 та похідна групи тіонів сполука 133, МІК та МБ<sub>ц</sub>К яких дорівнювали відповідно  $(20,8 \pm 9,0)$  мкг/мл та  $(26,0 \pm 9,0)$  мкг/мл.

У дослідях установлено, що нові синтетичні конденсовані нітрогеновмісні сполуки виявляли достатньо високу інгібуючу активність щодо *Bacillus spp.* (МІК сполук у межах 15,6—41,6 мкг/мл), вищу за таку препаратів порівняння (МІК обох препаратів контролю 52,0 мкг/мл); МБ<sub>ц</sub>К сполук варіювала у межах 26,0—52,0 мкг/мл

у порівнянні з показниками МБ<sub>ц</sub>К контрольних препаратів у діапазоні 62,5—125,0 мкг/мл. Найактивнішою щодо *Bacillus spp.* виявилася речовина 133 з групи тіонів (МІК у межах 15,6—26,0 мкг/мл та МБ<sub>ц</sub>К — у межах 26,0—31,2 мкг/мл). Близькою до сполуки 133 за ступенем *in vitro* активності щодо *Bacillus spp.* була похідна N-арилацетамідів сполука 33 (МІК у межах 20,8—26,0 мкг/мл та МБ<sub>ц</sub>К — у межах 26,0—31,2 мкг/мл).

Проведено також дослідження протимікробної дії речовин нового синтезу щодо *Staphylococcus spp.*, а саме — відносно 10 штамів *S. aureus* та 4 штамів коагулазонегативних стафілококів — *S. epidermidis* та *S. haemolyticus*. За результатами експериментів установлено більш високу або співвідносну з триметопримом і гексетидином *in vitro* активність нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук відносно штамів *Staphylococcus spp.* із показниками МІК у діапазоні 13,0—62,5 мкг/мл (МІК препаратів порівняння у діапазоні 41,6—62,5 мкг/мл) та МБ<sub>ц</sub>К у межах 20,8—62,5 мкг/мл, у порівнянні з показниками МБ<sub>ц</sub>К контрольних препаратів у діапазоні 62,5—125,0 мкг/мл.

Мінімальні інгібуючі концентрації нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук відносно штамів *S. aureus* перебувала у межах 13,0—52,0 мкг/мл (МІК препаратів порівняння 41,6—62,5 мкг/мл). Бактерицидна активність речовин нового синтезу перевищувала показники контролю (МБ<sub>ц</sub>К сполук у межах 20,8—62,5 мкг/мл, МБ<sub>ц</sub>К препаратів порівняння у межах 52,0—125,0 мкг/мл).

Серед нових речовин найактивнішою щодо *S. aureus* виявилася похідна тіонів сполука 133, МІК якої щодо 80% досліджених штамів варіювалася у межах 13,0—26,0 мкг/мл та МБ<sub>ц</sub>К — щодо 60% штамів *S. aureus* — у межах 20,8—31,2 мкг/мл. Близьку протистафілококову активність мала похідна N-арилацетамідів сполука 25, МІК якої для 80% досліджених штамів *S. aureus* була у діапазоні 20,8—26,0 мкг/мл та МБ<sub>ц</sub>К для 50% штамів *S. aureus* — у межах 26,0—31,2 мкг/мл. Майже подібною активністю щодо *S. aureus* також мала похідна N-арилацетамідів сполука 20, МІК якої для 70% досліджених штамів *S. aureus* перебувала у діапазоні 20,8—31,2 мкг/мл, хоча її бактерицидна дія була дещо нижчою (МБ<sub>ц</sub>К у межах 26,0—31,2 мкг/мл відносно 30% штамів *S. aureus*).

Ступінь активності нових синтетичних конденсованих гетероциклів із піримідиновим фрагментом до метициліночутливих та метицилінорезистентних штамів *S. aureus* виявився практично однаковим та відповідав показникам щодо *S. aureus* взагалі.

Активність нових синтетичних сполук щодо коагулазонегативних стафілококів практично не відрізнялася від такої відносно *S. aureus*. МІК досліджених речовин щодо штамів *S. epidermidis* та *S. haemolyticus* перебувала у межах



20,8—41,6 мкг/мл (МІК препаратів порівняння 41,6—62,5 мкг/мл). Бактерицидно досліджені нові синтетичні конденсовані нітрогеновмісні сполуки відносно *S. epidermidis* та *S. haemolyticus* діяли у МБ<sub>ц</sub>К у межах 26,0—62,5 мкг/мл (МБ<sub>ц</sub>К препаратів порівняння у межах 41,6—125,0 мкг/мл). Максимальну активність щодо всіх досліджених штамів коагулазонегативних стафілококів виявила похідна тіонів сполука 133, МІК та МБ<sub>ц</sub>К якої, відповідно, дорівнювали 20,8±9,0 мкг/мл та 26,0±9,0 мкг/мл. Близьку активність щодо коагулазонегативних штамів стафілококів виявляла похідна N-арилацетамідів сполука 25, МІК якої для 75% досліджених штамів перебувала у діапазоні 20,8—26,0 мкг/мл та МБ<sub>ц</sub>К для 50% штамів дорівнювала 26,0±9,0 мкг/мл.

Суттєвої залежності між чутливістю до нових сполук та рівнем метицилінорезистентності коагулазонегативних стафілококів також не було виявлено.

## Висновки

1. Тестування *in vitro* нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину дозволили встановити їх достатньо високу протимікробну активність щодо ряду грамположитивних мікроорганізмів.

2. Доведено, що сполуки нового синтезу однаково активні як відносно метициліночутливих, так і щодо метицилінорезистентних штамів *Staphylococcus spp.*

3. Серед досліджених нових синтетичних конденсованих нітрогеновмісних сполук із піримідиновим фрагментом за ступенем активності щодо грамположитивних мікроорганізмів встановлено сполуки-лідери, а саме — похідні N-арилацетамідів сполуки 20, 25, 33 та похідна тіонів сполука 133.

4. Подальше вивчення протимікробних властивостей похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідину відкриває перспективи для створення на їх основі ефективних протимікробних засобів для профілактики та лікування інфекційних і гнійно-запальних захворювань, спричинених грамположитивними мікроорганізмами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод рекомендації / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов [та ін.]; ДФЦ МОЗ України. — К., 2004. — 38 с.

2. Глумчер Ф.С. Грамположительная полирезистентная инфекция [Електронний ресурс] / Ф. С. Глумчер // Режим доступу: <http://www.health-ua.org/article/urgent/111.html>.

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

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

5. Резистентність мікроорганізмів і антибактеріальна терапія [Електронний ресурс] / І. Б. Єршова, О. О. Висоцький, Т. В. Ширина [та ін.] // Жіночий лікар. — 2008. — №6. — С. 35. — Режим доступу: <http://z-l.com.ua/ua/article/239>.

6. 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.

7. 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. химиотер. — 2005. — Т. 7, №2, прил. 1. — С. 23.

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

9. 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. // Режим доступу: <http://woman.health-ua.com/article/288.html>.

10. Arias C.A. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections / С. А. Arias, В. Е. Murray // Expert Rev. Anti Infect. Ther. — 2008. — Vol. 6. — P. 637—655.

11. Schwartz B.S. Daptomycin treatment failure for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infective endocarditis: impact of protein binding? / B. S. Schwartz, P. D. Ngo, B. J. Guglielmo // Ann. Pharmacother. — 2008. — Vol. 42. — P. 289—290.



АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ НИТРОГЕНСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПИРИМИДИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

*О. Н. Щербак, И. Д. Андреева,  
В. В. Казмирчук, П. С. Русак,  
С. В. Пономаренко*

ACTIVITY OF CONDENSED NITROCONTAINING HETEROCYCLES DERIVATES WITH THE PYRIMIDIN FRAGMENT AGAINST GRAM-POSITIVE BACTERIA

*O. M. Shcherbak, I. D. Andreyeva,  
V. V. Kazmirchuk, P. S. Rusak,  
S. V. Ponomarenko*

**Резюме.** 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 отношении музейных и клинических штаммов грамположительных микроорганизмов — *S. pneumonia*, *Bacillus spp.* и *Staphylococcus spp.* 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 в хирургии.

**Ключевые слова:** производные конденсированных нитрогенсодержащих соединений с пиримидиновым фрагментом, грамположительные микроорганизмы, противомикробная активность.

**Summary.** By 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-positive bacteria — *S. pneumonia*, *Bacillus spp.* and *Staphylococcus spp.* 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 in surgery.

**Key words:** condensed nitrocontaining heterocycles with the pyrimidin fragment derivatives, gram-positive bacteria, antimicrobial activity.