

Комплексы цефалоспоринов с красителем метиленовым синим и их применение при хирургическом лечении инфекционного эндокардита

И. Ю. Понеделькина,^{а*} Н. Г. Сибгатуллин^б

^аИнститут нефтехимии и катализа Российской академии наук,
Российская Федерация, 450075 Уфа, просп. Октября, 141.

Факс: (347) 284 2750. E-mail: ink@anrb.ru, ponedelkina@rambler.ru

^бМедико-санитарная часть ОАО «Татнефть» г. Альметьевска,
Российская Федерация, 423450 Альметьевск, ул. Радищева, 67

Исследовано комплексобразование антибиотиков цефазолина и цефоперазона с тиазиновым красителем метиленовым синим. Определены состав (1 : 1), константы устойчивости ($150 \pm 30 M^{-1}$) и растворимость комплексов.

Ключевые слова: цефалоспорины, цефазолин, цефоперазон, метиленовый синий, комплексы, инфекционный эндокардит.

Инфекционный эндокардит относится к числу тяжелых и распространенных заболеваний сердца. За последние 20 лет заболеваемость инфекционным эндокардитом выросла в ~3 раза и составила от 3.1 до 16 случаев на 100 тысяч населения^{1–3}. Несмотря на возрастающий арсенал эффективных антибиотиков широкого спектра действия, до последнего времени не решены вопросы успешного прерывания инфекционного процесса при помощи антибактериальной терапии. При хирургическом лечении (в сочетании с антибактериальной терапией) летальность от инфекционного эндокардита остается высокой — от 11 до 40%. Наиболее частой причиной неудовлетворительных результатов хирургического лечения является рецидив инфекции в виде протезного эндокардита, который наблюдается в 3.1—18% случаев, что в 3—5 раз превышает частоту подобных осложнений после операций по замещению сердечного клапана при пороках сердца другой этиологии. Послеоперационная летальность при хирургических вмешательствах по поводу протезного эндокардита достигает 20—60%. Очагом микробной инвазии при инфекционном эндокардите является нативный клапан сердца, при протезном — протез клапана, поэтому в последние годы значительное внимание уделяется местному применению антибактериальных и антисептических средств. При этом увеличение продолжительности их действия является главной проблемой, решить которую можно, создав депо лекарственных средств (путем снижения их растворимости) непосредственно в тканях эндокарда и манжеты протеза клапана сердца.

Основными препаратами при лечении эндокардита являются антибиотики цефалоспоринового ряда — цефазолин (1) и цефоперазон (2)⁴. Вместе с тем тиазиновый краситель метиленовый синий (МС, 3) об-

ладает антисептическими свойствами, разрешен для внутривенного введения⁴ и образует комплексы с солями органических кислот^{5,6}. Поскольку цефазолин и цефоперазон представляют собой натриевые соли органических кислот, целью настоящей работы являлось изучение комплексобразования цефазолина и цефоперазона с красителем МС, определение состава и констант устойчивости комплексов, а также растворимости в физиологических условиях.

Экспериментальная часть

Спектры в УФ- и видимой области регистрировали на спектрофотометре «Specord M-40». В работе применяли цефазолин и цефоперазон (натриевые соли) фармакопейной чистоты, метиленовый синий фирмы «Мерк».

Константы устойчивости ($K_{уст}$) комплексов и стехиометрические коэффициенты реакций комплексобразования определяли по методикам, приведенным в работах^{6,7}.

Комплекс цефазолин—метиленовый синий (4). К 1 г (2.1 ммоль) цефазолина в 20 мл H_2O при перемешивании приливали раствор 0.747 г (2.0 ммоль) кристаллогидрата $3 \cdot 3H_2O$ в 40 мл H_2O . Осадок отделяли центрифугированием, несколько раз промывали водой при 0 °С. Осадок сушили сначала на воздухе, затем доводили до постоянной массы при 105 °С. Получили 1.4 г (выход 95%) комплекса 4 в виде ярко-фиолетовых кристаллов, плохо растворимых в H_2O и EtOH. Найдено (%): С, 46.98; Н, 4.68; N, 19.99; O, 11.05 (рассчитано по остатку); S, 17.30. Вычислено (%): С, 48.84; Н, 4.21; N, 20.90; O, 8.68; S, 17.37.

Комплекс цефоперазон—метиленовый синий (5). К 1 г (1.5 ммоль) цефоперазона в 15 мл H_2O при перемешивании приливали раствор 0.523 г (1.4 ммоль) кристаллогидрата $3 \cdot 3H_2O$ в 30 мл H_2O . Далее обрабатывали как комплекс 4. Получили 1.20 г (выход 92%) комплекса 5 в виде пластинок фиолетового цвета, плохо растворимых в H_2O и EtOH. Найдено (%): С, 54.00; Н, 5.21; N, 15.90; O, 14.88 (рассчитано по остатку); S, 10.01. Вычислено (%): С, 54.37; Н, 4.85; N, 16.61; O, 13.81; S, 10.36.

Определение состава комплексов 4 и 5. Точную навеску (5–10 мг) соответствующего комплекса растворяли в известном объеме H_2O (5–10 мл) и определяли содержание 3 согласно Государственной Фармакопее XI: к раствору комплекса прибавляли избыток водного раствора бихромата калия, образовавшийся осадок центрифугировали, не вступивший в реакцию бихромат калия определяли йодометрически. По разнице между навеской и содержанием красителя 3 определяли содержание цефалоспорины.

Определение растворимости комплексов. Готовили насыщенные при 37°C растворы комплексов в 0.15 M NaCl , из этих растворов отбирали аликвоту и количественно определяли содержание красителя 3 с помощью бихромата калия.

Обсуждение полученных результатов

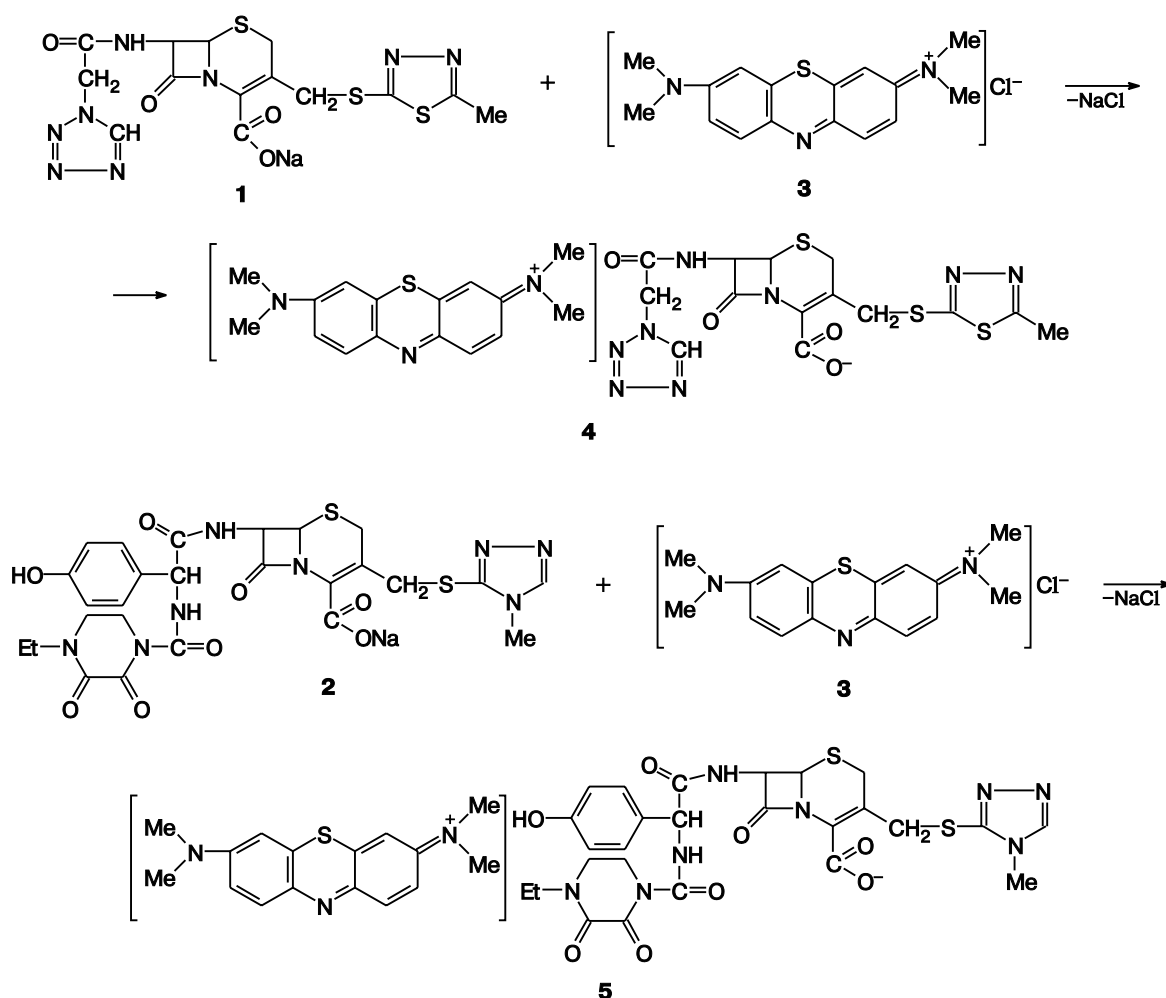
Электронный спектр МС при его концентрации в водном растворе 10^{-4} моль \cdot л $^{-1}$ характеризуется наличием двух максимумов поглощения — при 600 и 665 нм (рис. 1, кривая 1). Первый максимум принадлежит молекулам МС в димерной форме, второй — молекулам МС в мономерной форме⁸. При добавлении в раствор МС избытка другого компонента — цефазолина (или цефоперазона), пик поглощения димера заметно уменьшается, максимум поглощения

мономера сначала увеличивается (рис. 1, кривая 2), а затем, с увеличением концентрации антибиотика, уменьшается, при этом появляется новая полоса поглощения при 675–680 нм (рис. 1, кривые 3 и 4). Спектральные изменения свидетельствуют о сильном влиянии аниона цефазолина на π -электронную систему МС и образовании комплекса с переносом заряда (схема 1). Как видно из рисунка 1, коэффициент экстинкции комплекса 4 меньше, чем у красителя.

При концентрации МС 10^{-5} – 10^{-6} моль \cdot л $^{-1}$ димер красителя в растворе практически отсутствует⁶, и в этом случае становится возможным определить $K_{\text{уст}}$ и стехиометрический коэффициент реакции комплексообразования методом молярных отношений⁷.

При постоянной концентрации МС ($4.74 \cdot 10^{-5}$ моль \cdot л $^{-1}$, при этой концентрации $A_{665} = 0.39$), а также пренебрежении существованием димера в очень разбавленных растворах и в условиях большого избытка переменной концентрации второго компонента R ($5.30 \cdot 10^{-4}$ – $5.30 \cdot 10^{-3}$ моль \cdot л $^{-1}$) из графика зависимости $[\text{MC}]_0/A - A_0$ от $1/[\text{R}]$ ^{7,8} $K_{\text{уст}}$ для обоих комплексов была найдена равной $150 \pm 30\text{ M}^{-1}$ (A и A_0 — поглощение растворов в присутствии и в отсутствие компонента R соответственно, $[\text{MC}]_0$ — начальная концентрация МС, $[\text{R}]$ — концентрация цефазолина

Схема 1



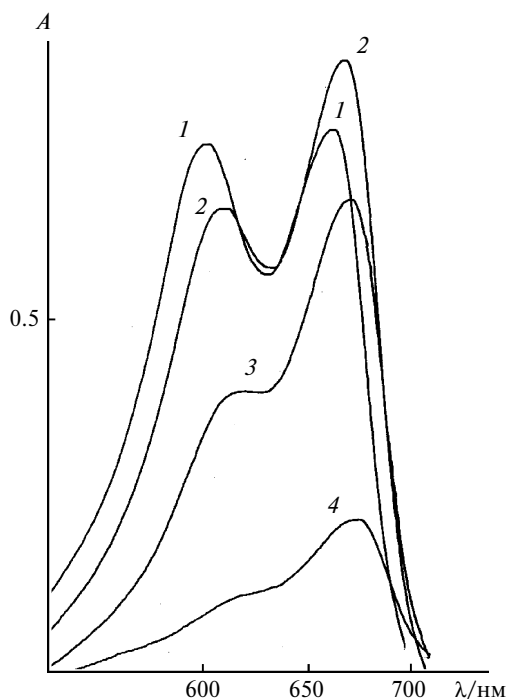


Рис. 1. Спектры в видимой области водных растворов МС (1) ($[MC] = 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$) в присутствии возрастающих концентраций цефазолина (1): $5 \cdot 10^{-4}$ (2), 10^{-3} (3), $4 \cdot 10^{-3}$ (4).

или цефоперазона). Стехиометрический коэффициент⁷ реакции комплексообразования равнялся ~ 0.8 .

При концентрации МС $> 10^{-3}$ моль·л $^{-1}$ добавление водного раствора соответствующего цефалоспорины к раствору МС приводило к образованию комплексов (см. схему 1) с выпадением из растворов осадков ярко-фиолетового цвета. Результаты элементного анализа и определения МС бихроматным методом показали, что в каждом из комплексов содержание МС и цефалоспорины эквимольное.

В условиях, близких к физиологическим, растворимость комплекса 4 составила $8.5 \cdot 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$, 5 — $1.9 \cdot 10^{-4}$ моль·л $^{-1}$. С учетом состава комплексов 1:1 соответствующие произведения растворимости равнялись $7.2 \cdot 10^{-7}$ и $3.6 \cdot 10^{-8}$ моль 2 ·л $^{-2}$.

В водной среде оба комплекса показали способность образовывать ассоциаты: в видимой области электронных спектров наряду с максимумом поглощения мономерной формы при 665 нм наблюдался второй максимум при 600 нм, характерный для димерной формы ($[\text{комплекс}] > 10^{-5}$ моль·л $^{-1}$). Из этого следует, что комплексы, как и МС, обладают свойствами красителей. В УФ-области спектры комплексов претерпели изменения, но относительно исходных МС и соответствующего цефалоспорины эти из-

менения были аддитивными. Это свидетельствовало о том, что структуры цефазолина и цефоперазона не изменились. При испытаниях комплексы проявляли такую же антимикробную активность, как и сами цефалоспорины⁹.

Таким образом, физико-химические характеристики комплексов 4 и 5 позволяют использовать их в качестве красителей и пролонгированных форм антибиотиков.

Для обработки тканей эндокарда и протеза клапана сердца реакция комплексообразования цефазолина с МС применялась *in situ*. Сначала ткань окрашивали 1%-ным раствором МС, затем наносили раствор антибиотика (0.25 г·мл $^{-1}$) и снова МС. Таким образом достигалась высокая концентрация комплекса на поверхности эндокарда или ткани протеза клапана сердца. Методика была внедрена в клиническую практику хирургического лечения больных с активной формой инфекционного эндокардита и для профилактики протезного эндокардита у плановых больных с приобретенными пороками клапана сердца (Республиканский кардиологический диспансер, г. Уфа). С 2002 года по настоящее время после хирургических операций с использованием нашей методики у 87 больных с инфекционным эндокардитом (возраст от 10 до 64 лет) наблюдалось удовлетворительное излечение без рецидивов, случаев развития протезного эндокардита (у более чем 200 оперированных пациентов) также не отмечалось.

Список литературы

1. Л. А. Бокерия, Н. В. Белобородова, *Инфекции в кардиохирургии*, Москва, Научный центр сердечно-сосудистой хирургии РАМН, 2007, 572 с.
2. Н. Г. Гатауллин, В. В. Плечев, Н. Г. Сибгатуллин, *Инфекционный эндокардит*, Уфа, Гилем, 2006, 24 с.
3. М. А. Гуревич, С. Я. Тазина, К. И. Савицкая, *Современный инфекционный эндокардит*, Москва, МОНКИ, 2001, 229 с.
4. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, 2011, 1216 с.
5. E. Touitou, P. Fisher, *J. Pharm. Sci.*, 1986, **75**, 384.
6. S. Hamai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1985, **58**, 2099.
7. М. И. Булатов, И. П. Калинин, *Практическое руководство по фотометрическим методам анализа*, Ленинград, Химия, 1986, 432 с.
8. K. Bergmann, C. T. O'Konski, *J. Phys. Chem.*, 1963, **67**, 2169.
9. Пат. РФ 2157244, *Бюл. изобрет.*, 2000, 28.

Поступила в редакцию 14 марта 2011;
после доработки — 11 апреля 2011