

УДК 615.281

**В.Ф. Марієвський¹, Б.О. Мовчан², І.С. Чекман³,
Ж.Е. В'ялих¹, Н.М. Кролевецька¹, Н.М. Рубан¹, С.Б. Білоус⁴**

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ НОВОГО АКТИВНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ІНГРЕДІЄНТА — НАНОКОМПОЗИЦІЇ СРІБЛА

¹ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В.Громашевського НАМНУ”, Київ

²Інститут електрозварювання імені Є.О. Патона НАНУ, м. Київ

³Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

⁴Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

На основі проведення мікробіологічних досліджень встановлено виражену антимікробну дію наноконпозиції срібла, розробленої “Лабораторією електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини” Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України. Мінімальна бактерицидна концентрація наноконпозиції срібла щодо тест-штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa* становить 10 мг/л. Нижчі концентрації наноконпозиції виявляють бактеріостатичну дію щодо вказаних видів мікроорганізмів.

Ключові слова: активний фармацевтичний інгредієнт, наночастинки срібла, мікробіологічні дослідження, лікарські засоби.

З активним розвитком нанотехнологій зростають дослідження щодо створення нових наноматеріалів та застосування їх як активних фармацевтичних інгредієнтів у складі лікарських засобів [2, 3, 8, 14, 15]. Важливий інтерес у цьому напрямку становлять наночастинки металів, які мають антимікробні властивості. Це зумовлено тим, що на сьогодні в медицині надзвичайно гостро стоїть питання боротьби зі зростанням резистентності мікроорганізмів до протимікробних препаратів [1, 6, 9]. Розвиток резистентності мікроорганізмів — одне із складних питань сучасної антибіотикотерапії; з метою його вирішення впроваджуються антимікробні засоби нових хімічних груп та застосовуються комбіновані препарати [11, 13, 16]. Однак стійкість мікроорганізмів росте у багато разів швидше, ніж створюються нові антимікробні засоби. На фоні значного росту набутої бактеріальної стійкості, в світову клінічну практику за останні роки введена дуже обмежена кількість нових антибактеріальних препаратів. Це пов'язано зі зниженням активності фармацевтичних компаній щодо розробки та дослідження нових антибіотиків [4, 12].

Численні літературні дані останніх років свідчать про ефективність дії наночастинок металів,

зокрема срібла, проти широкого ряду аеробних, анаеробних, грам-позитивних та грам-негативних бактерій, дріжджових грибів, нитчастих грибів та вірусів, про відсутність виникнення резистентності до них з боку мікроорганізмів та про актуальність застосування наночастинок срібла як антимікробного засобу для лікування різних інфекційних уражень [7, 10, 17–21].

Мета роботи — вивчити антимікробну дію нового активного фармацевтичного інгредієнта — наноконпозиції срібла та визначити його мінімальну бактерицидну концентрацію щодо тест-штамів мікроорганізмів з метою подальшого його застосування для фармацевтичної розробки нових лікарських засобів.

Матеріали і методи. Для дослідження антимікробної активності наночастинок срібла нами використано наноконпозицію, розроблену “Лабораторією електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини” Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України [5]. Досліджувана наноконпозиція представляє собою композицію наночастинок оксиду срібла у матриці наночастинок натрію хлориду з вмістом наночастинок оксиду срібла 25%. Досліджено антимікробну дію наноконпозиції срібла в різних концентраціях — 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 мг/л. Дослідження антимікробної активності проводили по відношенню до тест-штаму *S. aureus* ATCC 10832 та свіжовиділеного полірезистентного до антибіотиків штаму *P. aeruginosa* 35, отриманого з Музею патогенних для людини мікроорганізмів ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В. Громашевського НАМНУ”.

Результати дослідження

Срібло вперше одержало схвалення для застосування як антимікробний засіб у 20-х роках минулого століття, але його використання зменшилось із початком застосування антибіотиків

© В.Ф. Марієвський, Б.О. Мовчан, І.С. Чекман, Ж.Е. В'ялих, Н.М. Кролевецька, Н.М. Рубан, С.Б. Білоус

для лікування бактерійних інфекцій починаючи з 40-років минулого століття. Останнім часом срібло знову набуло популярності, особливо у лікуванні відкритих ран з поширенням метицилін-резистентного золотистого стафілококу [19].

Одним із принципів раціональної антибактеріальної терапії є забезпечення введення хворому антимікробного засобу у відповідних дозах та часовому режимі, які сприяють створенню постійної терапевтичної протимікробної концентрації в крові або в органах та тканинах, де розвивається інфекційний процес [13, 16]. Із зростанням застосування срібла для місцевого лікування виникають проблеми пов'язані із вивченням їх антимікробної дії [19]. З того часу, коли вперше було встановлено, що знищення патогенних мікроорганізмів припиняється, коли концентрація пеніциліну у плазмі падає нижче мінімальної інгібуючої концентрації (МІК), визначення фармакологічного індексу стало основним параметром при порівнянні антимікробних засобів і розробці оптимальних режимів дозування. МІК срібла активно вивчається у різних галузях його застосування, проте отримані результати не є однозначними [19]. Визначення МІК₅₀ та МІС₉₀, які найчастіше вивчаються при оцінці чутливості мікроорганізмів до антибіотиків не адаптовані для вивчення дії срібловмісних засобів. При вивченні чутливості мікроорганізмів до срібла в різних препаратах автори визначають різні рівні чутливості штамів. Так, МІК срібла по відношенню до *St. aureus* (близько 100 штамів) знаходиться в межах від 8 до 80 мг/л, по відношенню до *Ps. aeruginosa* (близько 100 штамів) — в межах 8 до 70 мг/л. Різниця у результатах досліджень спостерігається через те, що немає стандартизованих методів досліджень для вивчення антимікробної дії препаратів срібла [19].

Нами проведено дослідження антимікробної активності наноконпозиції срібла при струшуванні на "Plate shake PS 4" при температурі 37°C. Тест-штами золотистого стафілокока та синьогнійної палички інкубували протягом 18 год на твердому

та в рідкому поживному середовищі. У роботі використовували випробні бактеріальні суспензії обох штамів у концентрації 3·10⁴–3·10⁸ КУО/см³. у фізіологічному розчині.

Результати дослідження антибактеріальної дії розчинів з різними концентраціями наноконпозиції срібла в рідкому поживному середовищі на штам *S. aureus* ATCC 10832 наведені в табл. 1.

Як видно з таблиці, антимікробна дія розчинів з наноконпозицією срібла щодо досліджуваного штаму стафілокока виявлялась при концентраціях 10 мг/л та 20 мг/л протягом 96 год спостереження.

Для дослідження динаміки відмирання штаму стафілокока під дією наноконпозиції срібла в різних концентраціях, через 2 та 4 години були зроблені висіви 0,1 мл бактеріальної суспензії на тверде поживне середовище. Результати вивчення дії різних концентрацій наноконпозиції срібла на ріст штаму стафілокока представлено на рис. 1.

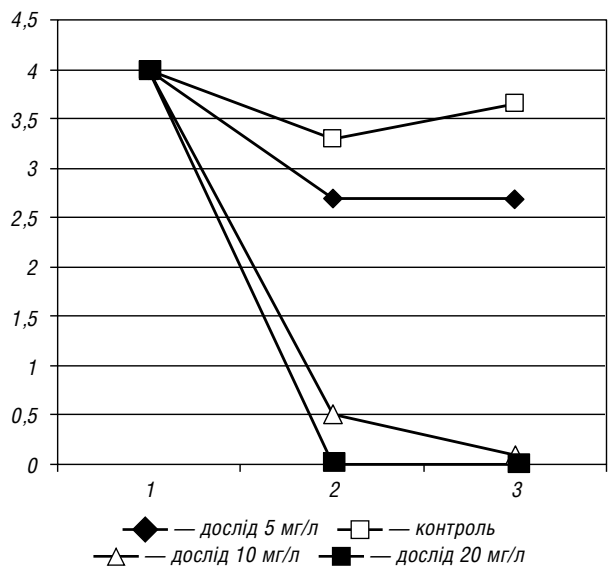


Рисунок 1. Динаміка відмирання *S. aureus* під впливом різних концентрацій наноконпозиції срібла при експозиції 2 та 4 години

Таблиця 1. Антибактеріальна активність наноконпозиції срібла щодо штаму *S. aureus* ATCC 10832

Експозиція у годинах	Концентрація наноконпозиції в мг/л			Контрольний розчин
	5	10	20	
24 год	++++	-----	-----	++
48 год	++++	-----	-----	++
72 год	++++	-----	-----	++
96 год	++++	-----	-----	++

Примітка: + наявність росту бактерій; — відсутність росту бактерій.

Результати досліджень показали, що при збільшенні концентрації наноконпозиції срібла посилюється її бактерицидна дія та наростає динаміка відмирання стафілокока. Необхідно відмітити, що бактерії зазнавали помітної інгібуючої дії наноконпозиції, що виявлялося у затримці росту бактерій і помітному зменшенні розмірів вирослих колоній на твердому поживному середовищі (спостереження через 18, 48 год.) в порівнянні з контрольними. Бактерії відновлювали розміри та форму колоній в порівнянні з контрольними лише через 3 і більше діб інкубування на твердому середовищі.

Проведено також дослідження впливу наноконпозиції срібла у робочій концентрації 10 мг/л на зростаючі дози бактеріальної культури золотистого стафілокока, результати дослідження представлені в табл. 2, де показано що наноконпозиція срібла у концентрації 10 мг/л при експозиції 24–96 год. стабільно проявляла бактерицидну дію на досліджуваній тест-штам незалежно від дози золотистого стафілокока.

Враховуючи, що бактерії синьогнійної палички мають більш високу стійкість до антибактеріальних речовин, для дослідження використовували концентрації наноконпозиції, починаючи з 10 мг/л для бактеріальної суспензії $3 \cdot 10^7$ КУО/см³. Результати вивчення впливу різних концентрацій наноконпозиції на штам *P. aeruginosa* 35 в рідкому середовищі представлені в табл. 3.

Як видно із таблиці 3, під дією наноконпозиції срібла в концентраціях 10, 20 та 50 мг/л відбувалося повне знешкодження тест-штаму синьогнійної палички уже через 24 год. експозиції. Стерильність посівів зберігалася впродовж 3 діб (період спостереження). Найменшою бактерицидною концентрацією наноконпозиції срібла для даного штаму синьогнійної палички була концентрація 10 мг/л.

Таким чином, досліджувана наноконпозиція срібла виявляє антимікробну дію щодо тест-штамів золотистого стафілокока та синьогнійної палички.

Висновки

1. Новий активний фармацевтичний інгредієнт — наноконпозиція срібла, розроблена “Лабораторією електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини” Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України, має виражену антимікробну дію щодо тест-штамів золотистого стафілокока і синьогнійної палички — широко розповсюджених збудників інфекційних захворювань.

2. Мінімальна бактерицидна концентрація наноконпозиції срібла щодо тест-штамів золотистого стафілокока та синьогнійної палички становить 10 мг/л.

Таблиця 2. Вплив наноконпозиції срібла у концентрації 10 мг/л на зростаючі дози тест-штаму *S. aureus* ATCC 10832

Експозиція у годинах	Кількість КУО/ см ³ бактерій в розчині з наноконпозицією срібла			
	3·10 ⁴	3·10 ⁵	3·10 ⁶	3·10 ⁷
24 год	—	—	—	—
48 год	—	—	—	—
72 год	—	—	—	—
96 год	—	—	—	—

Примітка: результати 5 паралельних досліджень.

Таблиця 3. Антибактеріальна дія наноконпозиції срібла в різних концентраціях на штам *P. aeruginosa* 35

Експозиція у годинах	Концентрація наноконпозиції в мг/л			Контрольний розчин
	10	20	50	
24 год	- - - - -	- - - - -	- - - - -	+ +
48 год	- - - - -	- - - - -	- - - - -	+ +
72 год	- - - - -	- - - - -	- - - - -	+ +

3. Наноконпозиція срібла у концентраціях нижчих, ніж 10 мг/л виявляє бактеріостатичну дію щодо тест-штамів золотистого стафілокока та синьо-гнійної палички.

Перспективи подальших досліджень: одержані результати ляжуть в основу фармацевтичної розробки нових антибактеріальних лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антибиотикорезистентность: что нас ждет? / Еженедельник Аптека. — 2010. — № 765 (44) Режим доступа: www.apteka.ua
2. Білоус С.Б. Від нанорозмірних речовин до інноваційних лікарських засобів / С.Б. Білоус, Т.Г. Калинюк, Н.І. Гудзь // Нанотехнології у фармації та медицині: Матер. Міжн. наук. — практ. конф. — Харків, 2011. — С. 35–36.
3. Білоус С.Б. Особливості фармацевтичної розробки лікарських засобів з діючими речовинами, одержаними методами нанотехнології / С.Б. Білоус, Т.Г. Калинюк, Н.І. Гудзь // Фармація України. Погляд у майбутнє. Матеріали VII Національного з'їзду фармацевтів України. — Харків.: Вид-во НфаУ, 2010. — С. 443.
4. Колбин А.С. Исследования и разработки (R&D) новых антибактериальных средств. Есть ли ограничения в этом направлении? / А.С. Колбин, Ю.Е. Балыкина, С.В. Сидоренко // Ремедиум. — 2010. — № 12. — С. 44–48. Режим доступа: //http://remedium-journal.ru/arhiv
5. Мовчан Б. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине — первые шаги / Б. Мовчан // Вісн. фармакології та фармації. — 2007. — № 12. — С. 5–15.
6. Мокієнко А.В. Стіійкість бактерій як міждисциплінарна проблема / А.В. Мокієнко, Н.Ф. Петренко, А.С. Боженко // Вісник НАНУ. — 2010. — № 8. — С. 49–55.
7. Наносеребро: технологии получения, фармакологические свойства, показания к применению / И.С. Чекман, Б.А. Мовчан, М.И. Загородный, Ю.В. Гапонов и др. // МЛ. — 2008. — № 5(51). — С. 32–34.
8. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження у медичну практику / В.Ф. Москаленко, Л.Г. Розенфельд, Б.О. Мовчан, І.С. Чекман // Перший національний конгрес “Человек и Лекарство — Украина”. Тез. допов. — Київ, 2008. — С. 167–168.
9. Рецептурний відпуск: проблема потребує негайного вирішення! / Еженедельник Аптека. — 2010. — № 766 (45) Режим доступа: www.apteka.ua
10. Рибачук А.В. Протимікробні властивості наносрібла / А.В. Рибачук., І.С. Чекман // Український науково — медичний молодіжний журн. — 2009. — № 2. — С. 32–36.
11. Савченкова Л. Проблема антибиотикорезистентности в современной медицине / Л. Савченкова, В. Лукьянчук // Вісник фармакології та фармації. — 2005. — № 1. — С. 2–7.
12. Уварова Ю. Рынок антибактериальных препаратов системного использования / Ю. Уварова // Ремедиум. — 2010. — № 6. — С. Режим доступа: //http://remedium-journal.ru/arhiv
13. Чекман І.С. Антибіотики: проблеми ефективності та раціонального використання / І.С. Чекман // Вісник фармакології та фармації. — 2007. — № 8. — С. 24–27.
14. Чекман І.С. Нанофармакологія. — К.: Задруга, 2011. — 424 с.
15. Чекман І.С. Основи наномедицини. / І.С. Чекман, В.О. Маланчук, А.В. Рибачук. — К.: Логос, 2011. — 250 с.
16. Ширококов В. Антибіотики: одержання та застосування / В. Ширококов // Вісник фармакології та фармації. — 2007. — № 8. — С. 19–23.
17. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli / W.K. Jung, H.C. Koo, K.W. Kim et al. // Appl. Environ. Microbiol. — 2008. — Vol. 74. — P. 2171–2178.
18. Antimicrobial effects of silver nanoparticles / J.S. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, et al. // Nanomedicine. — 2007. — Vol. 3 (№ 1). — P. 95–101.
19. Chopra I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: useful development or a cause for concern? / I. Chopra // J. Antimicrob. Chem. — 2007. — Vol. 59. — P. 587–590.
20. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity / A. Panacek, L. Kvitek, R. Prucek, et al. // J. Phys. Chem. — 2007. — Vol. 110 (№ 33). — P. 16248–16250.
21. The bactericidal effect of silver nanoparticles / J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho et al. // Nanotechnology. — 2005. — Vol. 16. — P. 2346–2353.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО АКТИВНОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ИНГРЕДИЕНТА — НАНОКОМПОЗИЦИИ СЕРЕБРА

В.Ф. Мариевский¹, Б.А. Мовчан², И.С. Чекман³, Ж.Е. Вялых¹, Н.М. Кролевецкая¹, Н.М. Рубан¹, С.Б. Білоус⁴

¹ДУ “Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМНУ”, Киев

²Институт электросварки им. Е.О. Патона НАНУ, Киев

³Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца, Киев

⁴Львовский национальный медицинский университет им. Данилы Галицкого

На основании проведения микробиологических исследований установлено выраженное антимикробное действие наноконпозиции серебра, разработанной “Лабораторией электронно-лучевой нанотехнологии неорганических материалов для медицины” Института электросварки имени Е.О. Патона НАН Украины. Наименьшая бактерицидная концентрация наноконпозиции серебра по отношению к тестовым штаммам *S. aureus* и *Ps. aeruginosa* составляет 10 мг/л. Меньшие концентрации

нанокомпозиції оказують бактериостатичне дієвство по відношенню до вказаних видів мікрорганізмів.

Ключевые слова: активний фармацевтичний інгредієнт, наночастиці срібра, мікробіологічні дослідження, лікарські засоби.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NEW ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT — SILVER NANOCOMPOSITION

V.F. Marievsky¹, B.O. Movchan², I.S. Chekman³, Zh.E. Vyalyh¹, N.M. Krolevetska¹, N.M. Ruban¹, S.B. Bilous⁴

¹SI “The L.V. Gromashevsky Institute” of Epidemiology and Infectious diseases of NAMS of Ukraine, Kiev

²E.O. Paton Electric Welding Institute of NAS of Ukraine, Kiev

³A.A. Bogomoletz National Medical University, Kiev

⁴Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv

On the basis of microbiological research the antimicrobial action of silver nanocomposition, obtained in “Laboratory of Electron-Ray Nanotechnology of Inorganic Materials for Medicine” of Paton Electric Welding Institute of NAS of Ukraine, is determined. The least bactericidal concentration of silver composition concerning to the testing strains of *S. aureus* and *Ps. aeruginosa* is 10 mg/l. The lower concentrations of nanocomposition have bacteriostatic action concerning to the indicated strains of microorganisms.

Key words: active pharmaceutical ingredient, silver nanoparticles, microbiological research, drugs.

УДК 616.9.579.828.:616.921.5.:616.9.578.8.25.12-07

М.Г. Люльчук

МОНІТОРИНГ ПОШИРЕННЯ РЕЗИСТЕНТНИХ ШТАМІВ ВІЛ В УКРАЇНІ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ПАЦІЄНТІВ З РІЗНОЮ ТРИВАЛІСТЮ АРТ

ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”, м. Київ

Встановлено частоту формування мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів у ВІЛ-інфікованих пацієнтів з різною тривалістю антиретровірусної терапії.

Ключові слова: антиретровірусна терапія (АРТ), нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (НІЗТ), нунуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (ННІЗТ), інгібітори протеази (ІП), мутації резистентності ВІЛ.

Розробка принципів високоактивної антиретровірусної терапії, яка полягає в одночасному застосуванні трьох або чотирьох антиретровірусних препаратів, дозволила більш ефективно контролювати прогресування хвороби та суттєво знизити смертність від СНІДу.

Разом з тим, в процесі лікування великого значення набуває проблема формування медикаментозної резистентності, однієї з найважливіших причин неефективності антиретровірусної терапії, яка

проявляється у спроможності вірусу активно репродукуватися в присутності застосованих препаратів, а отже, може ставити під загрозу тривалість життя ВІЛ-інфікованих та формувати епідемічні, резистентні до лікування штами ВІЛ. На сьогоднішній день існують дані стосовно резистентності ВІЛ практично до всіх класів препаратів, що використовуються у АРВ-терапії [1, 7, 8, 12].

Метою роботи було визначити частоту формування резистентності ВІЛ при різній тривалості антиретровірусної терапії ВІЛ-інфікованих пацієнтів в Україні.

Матеріали та методи

Дослідження проводились в рамках наукового співробітництва між ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМНУ” та ДУ “Український центр контролю за соцхворобами МОЗ України”.

© М.Г. Люльчук