

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



**СУЧАСНА ФАРМАЦІЯ:
ІСТОРІЯ, РЕАЛІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ**

**Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю,
присвяченої 20-й річниці заснування
Дня фармацевтичного працівника України**

19-20 вересня 2019 р.
м. Харків

У 2 томах
Том 1

**MODERN PHARMACY:
HISTORY, REALITIES AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT**

**Proceedings of the scientific-practical conference
with international participation, dedicated to the 20th anniversary
of the founding of the Day of the Pharmaceutical Worker of Ukraine**

September 19-20, 2019
Kharkiv

In two volumes
Volume 1

Харків
НФаУ
2019

ОПЫТ КОНСТРУИРОВАНИЯ МАГНИТНЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ НАНОЧАСТИЦ С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМ ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Важничая Е.М., Девяткина Т.А., Власенко Н.А., Девяткина Н.Н., Боброва Н.А.

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина

Кафедра экспериментальной и клинической фармакологии,

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

vazhnichaya@ukr.net

Известно, что грибковые инфекции являются распространенными заболеваниями. Они были на четвертом месте среди наиболее распространенных болезней кожи в 2010 году [3]. По оценкам специалистов, ежегодно 1,6 миллиона человек умирают от тяжелых микозов. Риску грибковых заболеваний подвержены люди с ослабленной иммунной системой, что касается лиц, пораженных синдромом приобретенного иммунодефицита, больных, получающих стероидные препараты, химио- и радиотерапию онкологических заболеваний. Микозы, особенно кандидоз, являются характерными побочными эффектами антибиотиков широкого спектра действия, возникающими в результате угнетения нормальной микрофлоры. Как правило, их профилактика достигается комбинированием антибиотиков с противогрибковыми средствами, но существуют и другие возможности, связанные с наночастицами (НЧ) магнетита (оксида железа II, III).

Цель исследования – изучить противогрибковые свойства НЧ магнетита, конъюгированных с ампициллином и стабилизированных поливинилпирролидоном (ПВП) или хитозаном.

Использовали порошкообразный конденсат наномангнетита с размером частиц 5-8 нм, полученный методом электронно-лучевого осаждения из паровой фазы в кристаллы натрия хлорида (Институт электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины, г. Киев) [2]. Для получения НЧ «мангнетит-ПВП-ампициллин» конденсат растворяли в дистиллированной воде в присутствии низкомолекулярного ПВП и ампициллина при 60°C и постоянном встряхивании в течение 2 часов. Композитные НЧ отделяли магнитной седиментацией, высушивали при комнатной температуре и взвешивали. Конструирование НЧ «мангнетит-хитозан-ампициллин» проводили в два этапа. Покрытые хитозаном НЧ готовили, смешивая конденсат НЧ мангнетита и раствор хитозана в уксусной кислоте в течение 18 часов. НЧ отделяли от жидкой фазы с помощью постоянного магнита и высушивали 2 часа при 70°C. Наноконкомпозит «мангнетит-хитозан-ампициллин» был приготовлен путем смешивания раствора ампициллина с частицами, покрытыми хитозаном, при комнатной температуре и постоянном встряхивании в течение 18 часов. Частицы, нагруженные ампициллином, были выделены путем магнитной седиментации, высушены и взвешены. Для последующего исследования композитные НЧ ресуспендировали в воде для инъекций. Параметры этих коллоидных растворов контролировали с помощью лазерной корреляционной спектроскопии [5]. Полиеновый антибиотик амфотерицин В (ОАО «Синтез», РФ) использовали в качестве препарата сравнения в микробиологических исследованиях. Противогрибковую активность композитных НЧ изучали стандартным методом серийных разведений, используя эталонный штамм *Candida albicans* ATCC 10231 и клинический изолят *Candida albicans* [1]. Перед тестированием каждую культуру выращивали на агаре Сабуро в течение 24 часов при 35°C. Разведения исследуемых растворов композитных НЧ и препарата сравнения готовили на среде RPMI 1640 и инкубировали 24 часа при 35°C. Результаты регистрировали визуально. Концентрацию НЧ в последней лабораторной пробирке, где отсутствовал рост микроорганизмов, оценивали как минимальную фунгистатическую концентрацию (МФК). Определение повторяли трижды и получили идентичные результаты.

В случае НЧ «мангнетит-ПВП-ампициллин», когда исходное содержание ингредиентов составляло 10 мг конденсата, 20 мг ампициллина и 30 мг ПВП в 1 мл, масса осадка из 5 мл

такой жидкости была равна 11,5 мг. Концентрация раствора после ресуспендирования составляла 2,3 мг/мл. В образцах с ПВП и ампициллином средний гидродинамический размер частиц был 640 нм, что значительно больше, чем размер ядра наномангнетита и, по-видимому, связано с образованием слоев покрывающего агента (ПВП) и конъюгированного антибиотика. Для композитных НЧ «магнетит-хитозан-ампициллин», если первоначальное содержание ингредиентов составляло 10 мг конденсата, 50 мг хитозана (на 1-й стадии) и 50 мг ампициллина в 1 мл (на 2-й стадии), масса осадка из 5 мл такой жидкости была равна 14 мг. Концентрация раствора после ресуспендирования осадка – 2,8 мг/мл. Средний гидродинамический размер частиц в этом коллоидном растворе был равен 410 нм.

В методе серийных разведений референс-препарат амфотерицин В действовал как на эталонный, так и на клинический штамм *Candida albicans* с МФК 2,24 мкг/мл и 1,12 мкг/мл соответственно. НЧ магнетита, покрытые ПВП и конъюгированные с ампициллином, не ингибировали рост тест-культур стандартного штамма и клинического изолята *Candida albicans*. Когда для стабилизации использовали хитозан, композитные НЧ обладали противогрибковой активностью с МФК в диапазоне 10,9-5,5 мкг/мл, что проявлялось и в отношении эталонного штамма, и в отношении клинического изолята. МФК НЧ «магнетит-хитозан-ампициллин» была больше, чем МФК водного раствора амфотерицина В, но, согласно нашим предыдущим исследованиям и данным литературы [4], магнитные НЧ, конъюгированные с ампициллином, одновременно обладают антимикробным действием против эталонных штаммов *S. aureus* и *E. coli*, а чувствительность обоих этих бактериальных штаммов к нанокompозиту выше, чем у самого ампициллина.

Таким образом, возможно конструирование композитных НЧ, содержащих магнетит, ампициллин и ПВП или хитозан, с гидродинамическими размерами 410-640 нм и способностью к магнитному управлению. При этом НЧ «магнетит-хитозан-ампициллин» имеют дополнительный противогрибковый эффект, который, по-видимому, обусловлен хитозаном, который сам обладает противогрибковыми свойствами. Такой фармакологический агент может обеспечить как обычное антибактериальное действие ампициллина, так и предотвратить развитие кандидоза, что очень выгодно для клиники. Исследуемый композитный материал нуждается в дальнейшей разработке, направленной на создание наноантибиотика с повышенной фармакологической активностью и противогрибковой защитой.

Литература

1. Вринчану НО, Бурмака ОВ, Дронова МЛ, Дудікова ДМ, Суворова ЗС. Вивчення специфічної активності антифунгальних лікарських засобів. Методичні рекомендації. ДП «Державний експертний центр МОЗ України». Київ, 2018, 76 с.
2. Патон БС, Мовчан БО, Курапов ЮА, Яковчук КЮ, винахідники; Astromont Limited, патентовласник. Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі. Патент України № 92556. 2010 Лист 10.
3. Hay RJ, Johns NE, Williams HC, Bolliger IW, Dellavalle RP, Margolis DJ et al. The Global Burden of Skin Disease in 2010: An Analysis of the Prevalence and Impact of Skin Conditions. *JID*. 2013 Oct 28; 134(6):1527–34.
4. Hussein-Al-Ali SH, El Zowalaty ME, Hussein MZ, Geilich BM, Webster TJ. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of an ampicillin-conjugated magnetic nanoantibiotic for medical applications. *Int J Nanomedicine*. 2014; 9: 3801–14.
5. Provencher SW. Inverse Problems in Polymer Characterization: Direct Analysis of Polydispersity with Photon Correlation Spectroscopy. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 1979;180(1):201-9.