



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **137432** (13) **U**  
(51) МПК (2019.01)  
**A61K 31/33** (2006.01)  
**A61K 33/00**  
A61P 23/00  
B82Y 30/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 02390</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>11.03.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.10.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.10.2019, Бюл.№ 20</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Скрипник Максим Ігорович (UA), Непорада Каріне Степанівна (UA), Петрушанко Тетяна Олексіївна (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (UA), Тимошок Наталія Олександрівна (UA), Бабенко Лідія Павлівна (UA), Кривцова Марина Валеріївна (UA), Щербаков Олександр Борисович (UA), Співак Микола Якович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</b></p>
--	---

**(54) СПОСІБ ПІДСИЛЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ ДІЇ АНТИСЕПТИКІВ ГРУПИ ЧЕТВЕРТИННИХ АМОНІЄВИХ СПОЛУК**

**(57) Реферат:**

Спосіб підсилення антимікробної дії антисептика групи четвертинних амонієвих сполук, що включає сумісне застосування антисептиків та наночастинок металів, причому як антиоксидант використовується підсилюючий засіб - наночастинки діоксиду церію розміром 2-7 нм, що стабілізовані цитратом натрію.

**UA 137432 U**



Спосіб належить до галузі медицини та фармації, а саме стосується підсилення антимікробної активності синтетичних неспецифічних протимікробних засобів та наночастинок металів.

5 Антибіотикорезистентність в наш час являє величезну проблему для галузі охорони здоров'я, харчової промисловості та ін. За останніми даними ВООЗ 2016 року близько 490000 осіб мали мультирезистентну форму туберкульозу, що спричинена не раціональною антибіотикотерапією [<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>]. Враховуючи вищенаведені факти необхідно розширити сферу використання місцевих неспецифічних протимікробних препаратів - антисептиків, до яких майже не розвивається резистентність мікроорганізмів. Підвищення ефективності протимікробних засобів можна досягти шляхом одночасного застосування препаратів різних фармакологічних груп, їх комбінації з наночастинками металів, ефірними оліями та іншими речовинами [Kay, Katherine and Ian M Hastings. "Improving pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to investigate anti-infective chemotherapy with application to the current generation of antimalarial drugs" PLoS computational biology vol. 9,7 (2013): e1003151].

10 У досліді [Şimşek, Merih and Reşat Duman. "Investigation of Effect of 1,8-cineole on Antimicrobial Activity of Chlorhexidine Gluconate" Pharmacognosy research vol. 9,3 (2017): 234-237] було досліджено підсилення антимікробної дії антисептика хлоргексидину біглюконату шляхом додавання 99 % розчину 1,8 - цинеолу, розчинником якого слугував розчин диметилсульфоксид. Синергічну дію препаратів була виявлена проти наступних мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, метицилін - резистентний *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* та *Candida albicans*, натомість на *Pseudomonas aeruginosa* дана композиція препаратів мала індивідуальний вплив. 1,8 - Цинеол є речовиною, що погано розчинна у воді, при високих концентраціях виявляє токсичну дію. Погана розчинність у воді 1,8 - цинеолу не дає змогу його використовувати у складі водних розчинів або потребує органічного розчинника наприклад диметилсульфоксиду.

20 У науковому дослідженні Н.В. Павлова [Павлова Н.В. Микробиологическое обоснование сочетанного действия мирамистина и антибиотиков при стафилококковой раневой инфекции: автореф. дис. на получение науч. степени кандидата медицинских наук: спец. 03.00.07. "Микробиология" / Н.В. Павлова. - Харьков, 2000. - 18 с.] як підсилювач дії антисептика розглянуто сумісне використання антибіотиків різних фармакологічних груп з 0,1 % розчином мірамістину. Дана комбінація лікарських препаратів була ефективною лише з певною групою антибіотиків (пеніциліни, аміноглікозиди) натомість з макролідами виявляв індивідуальну дію. Суміжне застосування 0,5 мінімальної терапевтичної дози пеніциліну з мірамістином підвищувало протимікробну активність лише у 2-3 рази порівняно з контролем. Невмотивоване та часте застосування антибіотиків сприяє виникненню антибіотикорезистентних мікроорганізмів. Застосування антибіотикопрепаратів є обмеженим через те, що вони мають високу резорбтивну дію та є гаптенами, що сприяє сенсibiliзації організму.

30 Найближчим аналогом є підсилення протимікробної активності антисептика фармакологічної групи детергентів 2 % розчину хлоргексидину біглюконату шляхом його комбінації з наночастинками срібла, екстрагованих з листя водної рослини *Cassia roxburghii* [Charannya, Seetharam et al. "Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles and 2 % Chlorhexidine Gluconate When Used Alone and in Combination Assessed Using Agar Diffusion Method: An In vitro Study" Contemporary clinical dentistry vol. 9, Suppl 2 (2018): S204-S209]. Автори пропонують використовувати дану методику для медикаментозної обробки кореневих каналів, було досліджено лише вплив 2 % розчину хлоргексидину, так висока концентрація препарату значно звужує діапазон його застосування, препарат наночастинок срібла є дороговартісним та потребує приготування шляхом розчинення срібної пудри у розчиннику при температурі 55° упродовж 15 хв. - це обмежує застосування даного методу, так як потребує додаткового обладнання та є неергономічним.

45 Недоліками усіх відомих способів є неможливість їх широкого застосування у медицині, токсичність агентів, вузький спектр дії запропонованих речовин, необхідність спеціального обладнання для їх приготування.

55 Задачею корисної моделі є підсилення активності існуючих та розробка нових антимікробних лікарських препаратів шляхом комбінованого застосування антиоксиданту нанокристалічного діоксиду церію, стабілізованого цитратом натрію, розміром частинок 2-7 нм, як синергіста антисептика групи детергентів мірамістину.

60 Поставлена задача вирішується шляхом комбінованого застосування антисептика мірамістину та антиоксиданта - нанокристалічного діоксиду церію, стабілізованого цитратом натрію, розміром частинок 2-7 нм, що підсилює його протимікробну дію.

Спосіб виконується наступним чином: до антисептика 0,1 % розчину мірамістину додавали антиоксидантну добавку "Церера", діючою речовиною якої є нанокристалічний діоксид церію ( $\text{CeO}_2$ ) розміром частинок 2-7 нм, що стабілізований цитратом натрію (з вмістом наноцерію 140 мкг в 1 мл речовини). Одержану композицію готують, змішуючи обидві речовини, для

дослідження їх впливу на культури мікроорганізмів на поживних середовищах.  
 Антиоксидантна біодобавка "Церера" - є водним розчином нанокристалічного діоксиду церію, що стабілізований цитратом натрію розміром частинок 2-7 нм, випускається у формі крапель [ТУУ 10.8-2960512097-004:2015]. Нанокристалічний діоксид церію ( $\text{CeO}_2$ ), як потужний антиоксидант, гальмує розвиток передчасного старіння організму та запобігає виникненню різних захворювань, що пов'язані з розвитком оксидативного та нітрозативного стресу, також має ряд інших позитивних ефектів [Щербаков А.Б. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия / А.Б. Щербаков, О.С. Иванова, Н.Я. Спивак [и др.] // - Томск: Изд-во Том. унта. - 2016. - 206-465 с.]. Як антисептик використовували 0,1 % розчин мірамістину [ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна, 02093, м. Київ, вул. Бориспільська, 13. Номер реєстраційного посвідчення: UA/1804/02/01].

Мірамістин - антисептик фармакологічної групи детергентів, в основі дії якого лежить пряма гідрофобна взаємодія молекули з ліпідами мембран мікроорганізмів, що призводить до їх фрагментації і руйнування. При цьому частина молекули мірамістину, занурюючись у гідрофобну ділянку мембрани, руйнує надмембранний шар, розпушує мембрану, підвищує її проникність для високомолекулярних речовин, змінює ферментну активність мікробної клітини, інгібуючи ферментні системи, що призводить до пригнічення життєдіяльності мікроорганізмів та їх цитолізу. На відміну від інших антисептиків, мірамістин має високу вибірковість дії відносно мікроорганізмів, оскільки практично не діє на оболонки клітин людини. Цей ефект пов'язаний з іншою структурою клітинних мембран людини (значно більшою довжиною ліпідних радикалів, що різко обмежують можливість гідрофобної взаємодії мірамістину з клітинами). Мірамістин чинить виражену антимікробну дію відносно грампозитивних і грамнегативних, аеробних і анаеробних, спороутворюючих та аспорогенних бактерій у вигляді монокультур і мікробних асоціацій, включаючи госпітальні штами [<http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=39598>].

Антимікробну дію композиції перевіряли на культурах грам позитивних коків, які були виділені з пародонтальних карманів хворих на хронічний генералізований пародонтит методом серійних розведень.

Корисна модель ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. Визначення протимікробної активності харчової біодобавки "Церера"- діючою речовиною якої є нанокристалічний діоксид церію ( $\text{CeO}_2$ ) розміром частинок 2-7 нм, що стабілізований цитратом натрію методом серійних розведень у бульйоні (макрометодом) відповідно до [Наказ МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - [Електронний ресурс]. - Режим доступу до документу: <http://www.moz.gov.ua>]. Нами було виявлено, що біодобавка "Церера" у 8-ми послідовних розведеннях з поживним бульйоном не виявляє бактеріостатичної дії у жодному з них. При пересіві кожного розведення на кров'яний агар у кожному секторі з восьми розведень також був виявлений рясний ріст культури мікроорганізмів.

Отже, біодобавка "Церера" на основі нанокристалічного діоксиду церію сама по собі ніякої бактеріостатичної та бактерицидної дії на культури мікроорганізмів концентрацією ( $10^6$  бактерій/мл), виділених з пародонтальних карманів пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом, не виявляє.

Приклад 2. Визначення мінімальної інгібуючої та мінімальної бактерицидної концентрації композиції "Церера" з мірамістином [ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця"] та окремо для порівняння мірамістину [ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця"] (у якості порівняння). Визначення мінімальної пригнічуваної концентрації вищенаведеної композиції проводили в рідкому середовищі за стандартним методом серійних розведень [Наказ МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - [Електронний ресурс]. - Режим доступу до документу: <http://www.moz.gov.ua>]. Вміст нанокристалічного діоксиду церію в композиції з мірамістином у першому розведенні становив 46,6 мкг у 1 мл композиції, чистої речовини мірамістину 33 мкг у 1 мл композиції. У серійних розведеннях мірамістину його вміст у першому розведенні як чистої речовини 50 мкг у 1 мл композиції. Тест культурами у обох дослідах були кокові мікроорганізми виділені з пародонтальних карманів пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом, концентрацією ( $10^6$  бактерій/мл). Остання пробірка з прозорим

середовищем вказувала на затримку росту мікроорганізмів під впливом мінімальної пригнічувальної концентрації досліджуваної речовини.

Мінімальну бактерицидну концентрацію знаходили шляхом висіву матеріалу з пробірок з серійними розведеннями на сектори агару в чашки Петрі і відмічали найменшу концентрацію, посів з якої не дав росту. [Практична мікробіологія: [посібник] / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. - 440 с.]

Нами визначено мінімальну бактериостатичну концентрацію препаратів, що визначається за відсутністю видимого росту культури мікроорганізмів у розведеннях 1:1-1:9 для суміші мірамістину та "Церера", що відповідала концентрації нанокристалічного церію 46,6 мкг/мл, а мірамістину (чистої речовини) 33 мкг/мл для першого розведення та концентрації нанокристалічного діоксиду церію 0,55 мкг/мл і мірамістину 0,34 мкг/мл у восьмому розведенні відповідно. Та у контролі (розчин мірамістину) відсутність видимого росту культури мікроорганізмів була виявлена у розведеннях 1:1-1:4, що відповідала концентрації чистої речовини мірамістину 50 мкг/мл у першому розведенні та 6,25 мкг/мл у четвертому розведенні.

Нами було визначено мінімальну бактерицидну концентрацію розчину мірамістину та нанокристалічного діоксиду церію та окремо мірамістину (як порівняння) шляхом пересіву вмісту пробірок кожного розведення на агар. Сектор з останнім розведенням де не було виявлено ознак росту мікроорганізмів й свідчив про мінімальну бактерицидну концентрацію препарату. Для композиції "Церера" та мірамістину відсутність росту визначалася у розведеннях 1:1-1:6, що відповідало концентрації нанокристалічного церію 46,6 мкг/мл, а мірамістину (чистої речовини) 50 мкг/мл для першого розведення та концентрації нанокристалічного діоксиду церію 1,09 мкг/мл і мірамістину 0,774 мкг/мл у сьомому розведенні відповідно. Натомість у контролі з мірамістином відсутність росту на агарі було зафіксовано у розведеннях 1:1-1:4, що відповідало концентрації мірамістину у першому розведенні 50 мкг/мл, у четвертому - 6,25 мкг/мл.

Отже, композиція наночастинок церію розміром 2-7 нм значно підсилює протимікробні властивості мірамістину. Про що свідчить зменшення мінімальної бактериостатичної концентрації даного комплексу на культури грампозитивних коків, яка виявлялася за концентрації наноцерію 0,55 мкг/мл, мірамістину 0,34 мкг/мл, в порівнянні з мірамістином, де мінімальна пригнічувальна концентрація складала 6,25 мкг/мл. Натомість при застосуванні даної композиції зменшувалася і мінімальна бактерицидна концентрація, що виявлялася для композиції препаратів при концентрації наноцерію 1,09 мкг/мл, мірамістину 0,774 мкг/мл, порівняно з мірамістином, де мінімальна бактерицидна дія виявлялася за концентрації 6,25 мкг/мл.

### 35 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підсилення антимікробної дії антисептика групи четвертинних амонієвих сполук, що включає сумісне застосування антисептиків та наночастинок металів, який **відрізняється** тим, що як антиоксидант використовується підсилюючий засіб - наночастинок діоксиду церію розміром 2-7 нм, що стабілізовані цитратом натрію.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601