

Дыбкова С. Н.

**Резюме.** Изучена биосовместимость перспективных в биотехнологии, наночастиц золота и серебра путем оценки состояния микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Показано, что такой способ оценки биосовместимости наночастиц металлов является адекватным и высокопрогностичным при интегральной оценке биобезопасности и биосовместимости наноматериалов. Наночастицы золота размером 20 и 30 нм биосовместимы и биобезопасны для типичных штаммов-пробионтов — представителей нормофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Наночастицы золота размером 30 нм имеют более высокий уровень биосовместимости, чем наночастицы 20 нм. Наночастицы серебра размером 30 нм биосовместимы в концентрациях порядка  $10^{-5}$  мкг/мл по металлу.

**Ключевые слова:** наночастицы золота, наночастицы серебра, биосовместимость, биобезопасность, штаммы-пробионты.

**UDC** 579.864.1:577.151

**RISK ASSESSMENT of MICROFLORA of GASTROINTESTINAL TRACT at GOLG and SILVER NANOPARTICLES EXPOSE**

Dybko S. M.

**Summary.** Biocompatibility of gold and silver nanoparticles perspective for biotechnology was studied by assessing the microflora of the human gastrointestinal tract. It has been shown that the method of estimates metal nanoparticles biocompatibility is appropriate and highly prognostic in the integral assessment of nanomaterials biocompatibility and biosafety. Gold nanoparticles of 20 and 30 nm are biocompatible and biosafe for typical probiotics strains. Gold nanoparticles with size 30 nm have a higher level biocompatibility than 20 nm nanoparticles. Silver nanoparticles with size 30 nm is biocompatible in order concentrations  $10^{-5}$  mg/ml of metal.

**Key words:** gold nanoparticles, silver nanoparticles, biocompatibility, biosafety, probiotics strains.

Стаття надійшла 16.07.2010 р.

**УДК** 616.093–098:615.31

Н. М. Поліщук, І. Ю. Кучма \*, В. В. Казмірчук \*, О. М. Щербак \*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ТА ШВИДКОСТІ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ШТАМІВ *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ДО ПОХІДНИХ ПІРИДО[4<sub>r</sub>,3<sub>r</sub>:5,6]ПІРАНО[2,3-*D*]ПІРИМІДИНІВ

Запорізька обласна санітарно-епідеміологічна станція (м. Запоріжжя)  
\*Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України (м. Харків)

Дана робота є фрагментом наукової теми «Диференційна діагностика та прогнозування наслідків захворювань шлунково-кишкового тракту (інфекційного та неінфекційного генезу), що супроводжуються синдромом дисбактеріозу кишечника», № державної реєстрації 0105U001111.

**Вступ.** Боротьба з інфекційними захворюваннями впродовж багатьох років залишається однією з найважливіших проблем медичної науки і практики. Значну частину інфекційної патології складають захворювання, що викликаються *Y. enterocolitica* [4]. Поліморфізм клінічних проявів, збільшення кількості латентних форм, хронічний перебіг хвороби та несприятливі наслідки, примушують дивитися на ієрсиніоз як на серйозну проблему для лікарів і пацієнтів. Важливим аспектом в лікуванні ієрсиніозів є попередження розвитку рецидивів та ускладнень захворювання, які часто пов'язані з неефек-

тивною антибактеріальною терапією [1,7]. Останнім часом, в практиці для лікування кишкового ієрсиніозу використовуються фторхінолони, аміноглікозиди, цефалоспори́ни III покоління, хлорамфенікол [7,8]. Але значна частота виникнення незадовільних результатів антибактеріальної терапії, навіть, при використанні даних антибіотиків, потребує пошуку нових речовин, володіючих протиієрсиніозною активністю.

На даний час добре відомі сполуки піримідинового циклу із широким спектром фармакологічної дії. Серед даних сполук високою протимікробною активністю виділяється триметоприм, який пригнічує дигідрофолатредуктазу бактеріальної клітини, порушуючи тим самим перетворення бактеріального дигідрофолату в тетрагідрофолат [2,5]. Безумовною перевагою похідних піримідину являється їх низька токсичність. Широкий спектр фармакологічних властивостей пре-

паратів, що містять у своїй структурі ядро піримідину, свідчать про доцільність подальшого цілеспрямованого пошуку нових біологічно активних сполук [6]. В свою чергу, вивчення формування резистентності до антимікробних препаратів є вельми актуальним, особливо по відношенню до збудників зооантропонозних інфекцій.

**Метою дослідження** було вивчення чутливості та швидкості формування резистентності ієрсиній до сполук, синтезованих на основі заміщених піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Оцінку антибактеріальної активності похідних піримідину та вивчення швидкості формування резистентності штамів ієрсиній до них проводили згідно методичних рекомендацій «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів» МОЗ України від 30.10.2003р. (Київ, 2004.) [3].

В роботі використовували 21 штам *Y. enterocolitica*. Культури були виділені від хворих на кишковий ієрсиніоз та з різних об'єктів довкілля на території Запорізької області.

Протимікробна активність сполук, синтезованих на основі заміщених піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів, оцінювалась по мінімальній бактеріостатичній концентрації (МБ<sub>ст</sub>К) та мінімальній бактерицидній концентрації (МБ<sub>ц</sub>К). Визначення МБ<sub>ст</sub>К та МБ<sub>ц</sub>К проводили по загальноприйнятій методиці серійних розведень з коефіцієнтом

2 в рідкому живильному середовищі (МПБ). З даною метою готували початкове розведення досліджуваного препарату з концентрацією 1 мг/мл середовища, після чого проводилось двократне розведення до концентрації 500,250,125,62,5,31,25,15,6,7,8 мкг/мл. Для вивчення формування резистентності до протимікробних сполук було обрано 2 штами *Y. enterocolitica* біоварів 1А та 4. Дослідження проводилось методом пасажів тест-штамів на живильних середовищах, що містили зростаючі дози відповідних сполук. У якості препарату порівняння було обрано триметоприм. Всього було виконано по 20 пасажів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** При дослідженні антимікробних властивостей сполуки 1 (2-арил-4Н-піридо[4',3':5,6]пірано-[2,3-d]піримідин-4-тіоні) встановлено, що для всіх штамів *Y. enterocolitica* МБ<sub>ст</sub>К складала 125 мкг/мл середовища, при цьому мінімальні бактеріостатична та бактерицидна концентрації співпали у 6 штамів (28,6 %). Для більшості культур ієрсиній (71,4 %) МБ<sub>ц</sub>К дорівнювала 250 мкг/мл (табл.).

Вираженою протиієрсиніозною активністю володіла сполука 2 — похідна 4- алкілсульфаніл-2- арил-6- гідроксиметил-9- метил-5Н-піридо [4',3':5,6] пірано — [2,3-d] піримідинів. Бактеріостатичний ефект речовини щодо ієрсиній виявлявся при концентрації 31,25–62,5 мкг/мл. При цьому МБ<sub>ц</sub>К знаходилась в межах 125–250 мкг/мл середовища.

Таблиця

**Чутливість штамів *Y. enterocolitica* до сполук – похідних піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів, (n=21)**

Концентрація протимікробного препарату, мкг/мл	Хімічні сполуки / Кількість чутливих штамів (% , ( Абс.)							
	1		2		3		4	
	МБ <sub>ц</sub> К	МБ <sub>ст</sub> К	МБ <sub>ц</sub> К	МБ <sub>ст</sub> К	МБ <sub>ц</sub> К	МБ <sub>ст</sub> К	МБ <sub>ц</sub> К	МБ <sub>ст</sub> К
250,0	71,4 % (15)	-	28,6 % (6)	-	33,6% (7)	-	71,4 % (15)	-
125,0	28,6 % (6)	100 % (21)	71,4 % (15)	-	66,4% (14)	4,8% (1)	28,6 % (6)	-
62,5	-	-	-	80,9% (17%)	-	95,2% (20)	-	100 % (21)
31,25	-	-	-	19,1% (4)	-	-	-	-

Хімічна речовина, що відноситься до 2-(6-гідроксиметил-9-метил-2-арил-5Н-піридо[4',3':5,6]пірано-[2,3-d]піримідин-4-ілсульфаніл)ацетамідів (сполука 3) володіла достатньо високою протимікробною активністю, затримуючи зростання більшості штамів ієрсиній (95,2 %) при МБ<sub>ст</sub>К 62,5 мкг/мл. При мінімальній бактерицидній концентрації 125 мкг/мл повністю припинявся ріст

тільки 66,4 % культур, тоді як для 33,6 % МБ<sub>ц</sub>К складала 250 мкг/мл.

Сполука 4, приналежна до N- арил-2- (2-арил-6- гідроксиметил-9-метил-5Н-піридо[4',3':5,6]пірано-[2,3-d]піримідин-4- ілсульфаніл) ацетамідів, володіючи помірною антибактеріальною концентрацією, викликала пригнічення зростання всіх штамів ієрсиній при МБ<sub>ст</sub>К 62,5 мкг/мл, тоді як бактерицидний ефект для 71,4 % культур

виявлявся при 250 мкг/мл і тільки у 28,6 % — при 125 мкг/мл.

На підставі вищезазначеного, нами була вивчена швидкість формування резистентності ієрсиній до триметоприму та похідних піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів.

Формування резистентності ієрсиній до триметоприму відбувалось доволі швидко і нерівномірно. Так, початкова МБ<sub>ст</sub> К препарату для збудників ієрсиніозів складала 15,6 мкг/мл середовища. Після третього пасажу було зареєстровано зменшення чутливості штампів удвічі, а після четвертого — МБ<sub>ст</sub> К вже дорівнювала 62,5 мкг/мл. Проведенням подальших 15 пасажів нам вдалося ще удвічі знизити чутливість ієрсиній до триметоприму. Таким чином, в результаті проведення 19 пасажів мінімальна бактеріостатична концентрація триметоприму щодо штамів *Y. enterocolitica*, зросла від 15,6 до 125 мкг/мл середовища.

За результатами досліджень виявлено досить повільне формування резистентності ієрсиній до сполуки 1. Не дивлячись на те, що дана хімічна речовина проявила помірну антибактеріальну дію, її МБ<sub>ст</sub> К збільшилась удвічі (від 125 мкг/мл до 250 мкг/мл) тільки після 19 пасажів.

Вихідна бактеріостатична концентрація сполуки 2 для *Y. enterocolitica* 4-го біотипу складала 31,25 мкг/мл, для *Y. enterocolitica* біотипу 1А — 62,5 мкг/мл. Після трьох пасажів чутливість *Y. enterocolitica* біотипу 4 була знижена удвічі. На 16 пасажі нами було зареєстровано збільшення МБ<sub>ст</sub> К для обох штамів до 125 мкг/мл.

Проведенням 15 пасажів з 2-(6-гідроксиметил-9-метил-2-арил-5Н-піридо[4',3':5,6]пірано-[2,3-d]піримідині-4ілсульфаніл)ацетамідів (сполука 3) нам вдалось знизити чутливість ієрсиній у 2 рази. Таким чином, МБ<sub>ст</sub> К збільшилась від 62,5 до 125 мкг/мл середовища.

Нерівномірно зростала швидкість формування резистентності ієрсиній до сполуки 4. Якщо впродовж 7 пасажів МБ<sub>ст</sub> К не змінювалась і складала 62,5 мкг/мл, то вже на восьмому пасажі було відмічено зменшення чутливості культур удвічі. Проте при проведенні

13 та 14 пасажів була зареєстрована зворотна реакція штампів на препарат у вигляді зниження МБ<sub>ст</sub> К до початкових цифр. Та після 15-ого пасажу мінімальна бактеріостатична концентрація знову збільшилась до 125 мкг/мл.

#### Висновки.

1. Аналіз результатів дослідження чутливості циркулюючих на території Запорізької області штамів *Y. enterocolitica* до похідних піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів, свідчать за те, що дані сполуки проявили достатньо високу протиієрсиніозну активність (МБ<sub>ст</sub> К 31,25–125 мкг/мл).

2. В результаті багаторазових пересівів штамів *Y. enterocolitica* на середовищах, що містили зростаючі концентрації досліджених сполук нами було встановлено досить повільне формування резистентності культур до піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів у порівнянні з триметопримом.

#### Перспективи подальших досліджень.

Наведені в роботі дані дозволяють вважати за перспективне розробку на основі гетероциклічних похідних піримідину антисептичних препаратів протиієрсиніозної направленості.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березняков И. Г. Резистентность к антибиотикам: причины, механизмы, пути преодоления/И. Г. Березняков//Клин. антибиотикотер. — 2001. — № 4. — С. 18 — 22.
2. Від антибіотикограми до рецепта/[Жель Ф., Шомара М., Уебер М., Жерар А.]. — К.: Логос, 2007. — С.
3. «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів» МОЗ України від 30.10.2003р. — Київ. — 2004 — 16 с.
4. Головчак Г. С. Эпидемиологическая характеристика иерсиниозов в условиях урбанизированных территорий и усовершенствование системы эпидемиологического надзора.: дис. ...канд. мед. наук: 14.02.02/Головчак Григорий Семенович. — К., 2000. — 102 с.
5. Желдакова Р. А. Механизмы биосинтеза антибиотиков и их действие на клетки микроорганизмов/Р. А. Желдакова. Учебно-методический комплекс. — Минск, 2000. — С. 70–73.
6. Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов [Текст]: у 2 т. Т. 2/Ред. В. Г. Карцева. — М.: IBS PRESS, 2003. — С. 159 — 192.
7. Учайкин В. Ф. Иерсиниозы у детей/В. Ф. Учайкин, А. В. Гордеев, С. Н. Бениова. — М., «ГЭОТАР-Медиа». — 2005. — 163с.
8. Ценева Г. Я. Иерсинии и иерсиниозы/Г. Я. Ценева. — С.-Петербург, 2006. — С. 67–85.

**УДК** 616.093–098:615.31

### ДОСЛІДЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ТА ШВИДКОСТІ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ШТАМІВ *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ДО ПОХІДНИХ ПІРИДО[4',3':5,6]ПІРАНО[2,3-d]ПІРИМІДИНІВ

Поліщук Н. М., Кучма І. Ю., Казмірчук В. В., Щербак О. М.

**Резюме.** В роботі надані результати визначення чутливості культур *Y. enterocolitica* до піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів. Антибактеріальна активність оцінювалась по мінімальній бактерицидній та бактеріостатичній концентраціям. Проведено вивчення формування резистентності ієрсиній до протимікробних сполук піримідинового циклу.

**Ключові слова:** іерсинії, мінімальна бактерицидна і бактериостатична концентрації, похідні піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-d]піримідинів.

**УДК** 616.093–098:615.31

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СКОРОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАМОВ YERSINIA ENTEROCOLITICA К ПРОИЗВОДНЫМ ПИРИДО [4',3':5,6]ПИРАНО [2,3-d]ПИРИМИДИНОВ**

**Полищук Н. Н., Кучма И. Ю., Казмірчук В. В., Щербак О. Н.**

**Резюме.** В работе представлены результаты определения чувствительности культур *Y. enterocolitica* к производным пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидинов. Антибактериальная активность оценивалась по минимальной бактерицидной и бактериостатической концентрациям. Проведено изучение формирования резистентности иерсиний к противомикробным соединениям пиридинового цикла.

**Ключевые слова:** иерсинии, минимальная бактерицидная и бактериостатическая концентрации, производные пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидинов.

**UDC** 616.093–098:615.31

**ANALYSIS of SENSITIVITY and FORMATION of RESISTANS CULTURES YERSINIA to SUBSTANCE of PYRID[4',3':5,6]PYRAN[2,3-d]PYRIMIDIN**

**Polishchuk N. N., Kuchma I. Y., Kazmirchuk V. V., Shcherbak O. N.**

**Summary.** In work demonstration results of study of sensitivity on 21 cultures of *Yersinia* to substance of pyrid[4',3':5,6] pyran[2,3-d]pyrimidin. Antibacterial activity was estimated by minimal bactericidal and bacterium static concentrations. Studying formation of resistance *Yersinia* to pyrimidin cycle.

**Key words:** *Yersinia*, minimal bactericidal and bacterium static concentrations, pyrid[4',3':5,6] pyran[2,3-d]pyrimidin.

Стаття надійшла 20.08.2010 р.