

УДК 616-022.369-085.281

Сімонов П.В., Дорошенко А.І., Горчакова Н.О., Зайченко Г.В., Чекман І.С., Віжунов В.Л.

## ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ КОН'ЮГАТУ НАНОЧАСТИНОК МІДІ З ЦЕФТРІАКСОНОМ ТА КОМПЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДОМ

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

*В статті представлені результати дослідження протимікробної активності водної дисперсії кон'югату наночастинок нуль-валентної міді з цефтріаксоном і композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом. Субстанції, що вивчалися, пригнічували ріст стандартних тестштамів мікроорганізмів – Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Candida albicans. Отримані дані вказують на доцільність подальшого вивчення даних наночастинок з метою їх застосування в якості активних фармацевтичних інгредієнтів в протимікробних лікарських засобах для лікування інфекційно-запальних процесів різної етіології.*

Ключові слова: кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном, композит нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом, мінімальні інгібуючі концентрації.

Дана робота є фрагментом НДР кафедри фармакології «Дослідження фармакологічних та токсикологічних властивостей наночастинок металів та композитів нанодисперсного кремнезему з органічними речовинами» (№ держреєстрації 0116U004905).

### Вступ

Після інтенсивних досліджень, революційних відкриттів і зміни структури захворюваності населення на користь хронічних неінфекційних хвороб, інфекційні хвороби, їх патогенез і лікування залишаються актуальною проблемою у всіх країнах світу, являють загрозу розвитку людства, тому що є причиною третини смертей від загальної смертності за рік [5, 14].

Незважаючи на успіхи в галузі клінічної медицини, проблема інфекційних захворювань продовжує залишатися достатньо складною у всіх країнах світу. Особливістю інфекційних захворювань сучасності є мутація збудників та поява резистентності до хіміотерапії [4, 11].

Перспективним напрямком сучасної медицини з метою подолання резистентності до хіміотерапії є створення нових препаратів за допомогою нанотехнологій [2,3]. Завдяки впливу наночастинок може підвищуватися ефективність фармакотерапії захворювань, що обумовлено унікальними властивостями наноматеріалів [1]. У лікуванні інфекційних захворювань приділяється увага як і наночастинкам, так і нанокон'югатам та нанокон'югатам [12,17].

Одним з прикладів є кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном (НЧМЦ) [8]. Цефалоспорины III покоління мають широкий спектр впливу, особливо щодо грамнегативних збудників [13]. Крім того, певна увага дослідників спрямована на високомолекулярні катіонно-поверхневоактивні речовини через їх протимікробні, протигрибкові властивості [15]. Серед цих субстанцій виявлена протимікробна активність у полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (ПГМГ-ГХ), полімеру з незначною токсичністю [16]. Щоб отримати нанокон'югати, які б мали кращі протимікробні властивості ПГМГ-ГХ поєднували з нанодисперсним кремнеземом, який також має протимікробні властивості [6].

Завданням дослідження було порівняння за протимікробними властивостями кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном (НЧМЦ) та композиту нанодисперсного кремнезему з ПГМГ-ГХ щодо вибраних 6 збудників інфекційно-запальних процесів.

### Мета дослідження

Провести порівняльні експериментальні дослідження протимікробної активності кон'югату НЧМЦ та композиту нанодисперсного кремнезему з ПГМГ-ГХ.

### Матеріали і методи дослідження

Для дослідження антимікробних властивостей кон'югату і композиту були отримані штами мікроорганізмів: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Candida albicans з Української колекції мікроорганізмів, Інституту мікробіології з вірусології ім. Заболотного НАН України і з колекції ДНК і біотехнології і штамів мікроорганізмів Мінагрополітики України, що є тестовими для дослідження протимікробної активності агентів [10].

У дослідженні застосовували водну дисперсію кон'югату наночастинок нуль-валентної міді з цефтріаксоном (НЧМЦ) середнього розміру  $4,9 \pm 1,2$  нм, що були отримані з Інституту біологічної хімії імені Ф.Д. Овчаренка НАН України. Композит нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом (ПГМГ-ГХ) розробили на кафедрі фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця спільно з Інститутом хімії поверхні імені О.О. Чуйка НАН України. Цей композит являє собою 5% суспензію нанодисперсного кремнезему, модифікованого полімером ПГМГ-ГХ, внесеним у

концентрації 200 мг/г щодо суспензії. Дослідження протимікробної активності кон'югату НЧМЦ та композиції нанодисперсного кремнезему з ПГМГ-ГХ проводили згідно з методичними вказівками «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» затвердженими Наказом МОЗ України №167 від 05.04.2007. Встановлення мінімальних інгібуючих концентрацій проводили з застосуванням щільного поживного середовища LB (Lurio-Bertcur medium, Merck, Німеччина) та середовища Мюллера-Хінтона в чашках Петрі. Приготування вихідних і робочих суспензій мікроорганізмів та препаратів, визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) досліджуваних речовин проводили у рідкому середовищі LB та середовищі Мюллера-Хінтона. Спочатку в робочі пробірки вносили розчин поживного середовища по 0,5 мл. Потім розчин кон'югату НЧМЦ або нанокремнезему з ПГМГ-ГХ під умовною назвою «СМУ-211», що являє 5% суспензію нанодисперсного кремнезему, модифіковану ПГМГ-ГХ. Вплив препарату «СМУ-211» на мікроорганізми розпочинали досліджувати із концентрації 12,5 мг/мл суспензії нанодисперсного кремнезему та 2,5 мг/мл ПГМГ-ГХ. Кінцевою досліджуваною

концентрацією препарату «СМУ-211» були 6,1 мкг/мл суспензії нанодисперсного кремнезему та 1,22 мкг/мл ПГМГ-ГХ. Одночасно з дослідними зразками в проведених експериментах також готували контрольні зразки. Для отримання позитивних контролів росту мікроорганізмів у пробірки з 0,5 мл середовища вносили аналогічні об'єми кожної з використаних культур без додавання досліджуваних препаратів. Негативними контролями чистоти середовища слугували пробірки з 1 мл середовища без додавання бактеріальних суспензій і препаратів. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм BioStat 2009 for Windows (Analyst Soft Inc, Канада) та Microsoft Excel 2007 (Microsoft, США). Відмінності показників вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

### Результати досліджень та їх обговорення

При визначенні МІК для кон'югату НЧМЦ встановили, що даний показник знаходиться у діапазоні 800-3200 мкг/мл. Спостерігалось розширення спектру активності порівняно з цефтріаксоном – пригнічення росту *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, метициклінрезистентного *Staphylococcus aureus* (табл. 1).

Таблиця 1  
Визначення МІК кон'югату НЧМЦ для стандартних штамів мікроорганізмів

Тест-штами	МІК, мкг/мл
<i>Escherichia coli</i> , ATCC 2592	3200
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA, ATCC 43300	3200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , ATCC 27853	3200
<i>Salmonella typhimurium</i> , 144	800
<i>Candida albicans</i> , ATCC 885-653	3200

Таблиця 2  
Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) препарату «СМУ-211» щодо досліджуваних мікроорганізмів

Тест-штами	МІК композиту нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ, мкг/мл		МІК ПГМГ-ГХ, мкг/мл	МІК нанодисперсного кремнезему, мкг/мл
	Речовини	Перерахунок на ПГМГ-ГХ		
<i>Escherichia coli</i> , УКМ В-906	117,19	19,53	19,53	Більше 12500
<i>Staphylococcus aureus</i> , УКМ В-918	58,6	9,77	4,88	Більше 12500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , УКМ В-900	234,37	39,06	39,06	Більше 12500
<i>Salmonella enterica</i> , УКМ В-921	234,34	39,06	19,53	Більше 12500
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , УКМ В-920	468,76	78,13	39,06	Більше 12500
<i>Candida albicans</i> , УКМ Y-1918	58,6	9,77	4,88	Більше 12500

У попередніх дослідженнях встановили знану протимікробну активність кон'югату НЧМЦ стосовно мультирезистентних ізолятів [9].

Проведені дослідження свідчать про наявність у кон'югату НЧМЦ широкого спектру дії і можливість призначення при сепсисі. Механізм антибактеріальної дії кон'югату НЧМЦ реалізується завдяки аддитивному ефекту. Мідь, взаємодіючи з білками мікробної клітини, утворює альбумінати, викликаючи деполімеризацію білка. Цефтріаксон, як і інші бета-лактамі антибіотики, утворює комплекс з транс- та карбоксипеп-

тидазами, порушуючи синтез головного компоненту клітинної оболонки – пептидоглікану.

У таблиці 2 представлені результати визначення протимікробної дії «СМУ-211». Найнижчими були показники МІК щодо *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Дещо вищими були визначені показники препарату «СМУ-211» відносно *Escherichia coli*. З представників родини Enterobacteriaceae найвищою чутливістю до дії «СМУ-211» характеризувалися ешерихії. Мікроорганізми *Klebsiella pneumoniae* та *Pseudomonas aeruginosa* були більш стійкими: для пригнічення

розмноження мікроорганізмів була внесена більша кількість препарату. Таким чином, препарат «СМУ-211» найбільш ефективно пригнічував розмноження *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, найменше – *Klebsiella pneumoniae*. Перевірка самого ПГМГ-ГХ також показала його протимікробну активність. Показник МІК був найнижчим для *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Менша чутливість до «СМУ-211» була у *Escherichia coli*.

Механізми протимікробної дії ПГМГ-ГХ пов'язані з пошкодженням клітинної стінки і мембрани, вивільненням внутрішньоклітинного вмісту [16]. Бактерицидна функція полімеру обумовлена властивостями позитивно заряджених молекул дезинфектанту швидко зв'язуватися з цитоплазматичною мембраною та мукополісахаридами, муреїновими компонентами клітинної стінки, що веде до руйнування стінки і лізосом клітин [7].

Отримані дані свідчать про те, що кон'югати НМЦ та «СМУ-211» володіють протимікробною та протигрибковою активністю. Їх протимікробна дія подібна нуль-валентній міді [18]. Протимікробна активність «СМУ-211» співставима з ПГМГ-ГХ, тобто нанодисперсний кремнезем не зменшує дію «СМУ-211».

### Висновки

1. Водна дисперсія кон'югату НМЦ володіє МІК стосовно *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* в діапазоні 800-3250 мкг/мл.

2. «СМУ-211» характеризується МІК стосовно вищезазначених збудників в діапазоні 58,6-468,76 мкг/мл.

### Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується порівняти вплив нанокompозиту та нанокон'югату на життєво важливі органи – міокард, печінку та нервову систему.

### Література

1. Андрусишина І.Н. Наночастиці металлов, способи получения, физико-химические свойства, методы исследования и

оценка токсичности / И.Н. Андрусишина // Современные проблемы токсикологии – 2011. – №1. – С. 5–14.

2. Григорьев М.Г. Использование наночастиц серебра против социально значимых заболеваний / М.Г. Григорьев, Л.Н. Бабичев // Молодой ученый. – 2015. – №9. – С.396-401
3. Егорова Е.М. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез, свойства и применение : дис. д-ра мед. наук: спец. 03.01.06 «Биотехнология» / Е. М. Егорова. – М., 2011. – 295с.
4. Куракин Э.С. Многоуровневая система эпидемиологического надзора за внутрибольничными инфекциями – современная альтернатива неизбежности внутрибольничных инфекций? / Э.С. Куракин // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 1. – С. 16-20
5. Пономарев С.И. Инфекционные заболевания как медико-социальная проблема / С.И. Пономарев, С.А. Яковлев // Синергия. – 2017. – №1. – С. 110-118
6. Савченко Д.С. Дослідження протимікробних властивостей нанокompозиту «Високодисперсного кремнезему-кластерів срібла», препарату «Силікс», срібла нітрату / Д.С. Савченко // Запорожский мед. журнал. – 2012. – №4. – С.124-128
7. Салманов А.Г. Порівняльний аналіз основних збудників інфекцій ділянки хірургічного втручання у стаціонарах м. Києва / А.Г. Салманов, В.Ф. Марієвський, О.І. Поліщук, О.В. Показ // Хірургія України. – 2009. – №1. – С.32-35
8. Симонов П. В. Исследование острой токсичности наночастиц меди и конъюгата наночастиц меди с цефтриаксоном при внутривенном введении / П. В. Симонов // Рецепт. – 2015. – № 3. – С. 66–83
9. Симонов П.В. Экспериментальні дослідження фармакологічних властивостей наночастинок міді та їх кон'югату з цефтриаксоном : дис. кандидата фарм. Наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / П. В. Симонов. – К., 2016. – 207с.
10. Украинская коллекция микроорганизмов. Каталог культур / Под ред. В.С. Подгорского, О.М. Конофляк, Е.А.Киприанова, О.П. Гвоздяк. – К: Наукова думка, 2007. – 270с.
11. Фещенко Ю.І. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи її вирішення / Ю.І. Фещенко, М.І. Гуменюк, О.С. Денисов // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2010. – №1-2(23). – С. 4–10
12. Чекман І. С. Природні наноструктури та наномеханізми / І. С. Чекман, П. В. Симонов. – Київ : Задруга, 2012. – 104 с.
13. Юлиш Е. И. Цефалоспорины III поколения в лечении внебольничной пневмонии у детей / Е. И. Юлиш, О. Е. Чернышева, Ю. А. Сорока [и др.] // Соврем. педиатрия. - 2010. - № 5. - С. 120-125.
14. Яковлев С.А. Инфекционные заболевания как глобальная проблема современности / С.А. Яковлев // Территория науки. – 2017. – №1. – С.20-23
15. Müller, G. Effect of selected wound antiseptics on adult articular cartilage (bovine sesamoid bone) in the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. / G. Müller, A. Kramer // J. Orthop. Res. – 2005. – Vol. 23. – P.127–133.
16. Oulé M. K. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections / M. K. Oulé, R. Azinwi, A.-M. Bernier [et al] // J. Med. Microbiol. – 2008. – Vol.57. – P.1523–1528
17. Rizzello L. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines / L. Rizzello, P.P. Pompa // Chemical Society Reviews. – 2014. – Vol.43. – P.1501-1518
18. Rudenko A. V. The antibacterial and antifungal action of copper nanoparticles in vitro in relation to pathogenic test strains and clinical isolates of microorganisms – causative agents of infectious and inflammatory processes of different localization / A. V. Rudenko, P. V. Simonov, L. S. Rieznicenko [et al] // Вісник фармації. – 2015. – № 4. – С. 65-69.

### Реферат

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЪЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ С ЦЕФТРИАКСОНОМ И КОМПЗИТА НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА С ПОЛИГЕКСАМЕТИЛГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДОМ

Симонов П.В., Дорошенко А.И., Горчакова Н.А., Зайченко А.В., Чекман И.С., Вижунов В.Л.

Ключевые слова: конъюгат наночастиц меди с цефтриаксоном, композит нанодисперсного кремнезема с полигексаметилгуанидина гидрохлоридом, минимальные ингибирующие концентрации.

В статье представлены результаты исследования противомикробной активности водной дисперсии конъюгата наночастиц нуль-валентной меди с цефтриаксоном и композита нанодисперсного кремнезема с полигексаметилгуанидина гидрохлоридом. Изучаемые субстанции подавляли рост стандартных тест-штаммов микроорганизмов – *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*. Полученные данные указывают на целесообразность дальнейшего изучения данных наночастиц с целью их применения в качестве активных фармацевтических ингредиентов в противомикробных лекарственных средствах для лечения инфекционно-воспалительных процессов различной этиологии.

### Summary

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF COPPER NANOPARTICLE – CEFTRIAXONE CONJUGATE AND NANODISPERSED SILICA – POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE HYDROCHLORIDE COMPOSITE

Simonov P.V., Doroshenko A.I., Gorchakova N.A., Zaichenko A.V., Chekman I.S., Vizhunov V.L.

Key words: conjugated copper nanoparticles with ceftriaxone, composite of nanodisperse silica with polyhexamethylene guanidine hydrochloride, minimal inhibitory concentrations.

This paper describes antimicrobial action of the water dispersion of zero valence copper nanoparticle – ceftriaxone conjugate and nanodispersed silica – polyhexamethylene guanidine hydrochloride composite. The substances studied have been observed to suppress the growth of standart test strains of microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*. The results obtained point out the appropriateness of the future study of the nanoparticles on order to use them as active antimicrobial agents for therapy of infectious and inflammatory processes of different etiology.

УДК 613:632.95.028:633.15

**Ставніченко П.В., Антоненко А.М.**

## **ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ПРОФЕСІЙНОГО РИЗИКУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОМБІНОВАНИХ ФУНГІЦИДІВ НА ОСНОВІ ДИФЕНОКОНАЗОЛУ ТА НОВОЇ ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ ЦИФЛУФЕНАМІДУ**

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

*Застосування пестицидів у сільському господарстві на сьогодні є безумовно важливим для отримання високих врожаїв, але при недотриманні встановлених нормативів та регламентів може становити серйозну загрозу для здоров'я людей і, в першу чергу, працівників сільського господарства. Мета – гігієнічна оцінка безпечності умов праці персоналу, задіяного при обробці сільськогосподарських культур препаратами Диналі та Циделі Топ. Натурні дослідження проводили в Миколаївській і Черкаській областях. Умови праці робітників оцінювали за результатами визначення дифеноконазолу та цифлуфенаміду в повітрі робочої зони, змивах з відкритих ділянок шкіри та шкіри під спецодягом, нашивках на спецодязі. Було об'єднано величину орієнтовно безпечного рівню впливу в повітрі робочої зони цифлуфенаміду на рівні 1,0 мг/м<sup>3</sup>. Після завершення обприскування сільськогосподарських культур досліджуваними препаратами надходження в повітря робочої зони їх діючих речовин не спостерігалось. Встановлено, що при використанні досліджуваних комбінованих препаратів потенційний ризик шкідливого впливу на організм заправника та тракториста при комплексному надходженні через дихальні шляхи та шкіру, в тому числі комбінований, не перевищує 1 у.о., тобто був допустимим, а умови праці робітників задовільними.*

Ключові слова: комбіновані фунгіциди, професійний ризик, гігієнічний норматив.

### **Вступ**

Застосування пестицидів у сільському господарстві на сьогоднішній день є безумовно важливим для отримання високих врожаїв сільськогосподарських культур, але при недотриманні правил безпеки, встановлених нормативів та регламентів для кожного конкретного препарату може становити серйозну загрозу для здоров'я людей і, в першу чергу, працівників сільського господарства, які безпосередньо контактують з пестицидами [1]. В світі щорічно реєструють більше 1 млн отруєнь пестицидами, з яких 3-5 % закінчуються летально [2,3].

За даними Фонду соціального страхування, економічні втрати України від нещасних випадків на виробництві та професійних захворювань щорічно становлять майже 1 млрд грн. [4,5]. В останні десятиріччя в структурі професійних захворювань робітників сільського господарства отруєння хімічними речовинами становили 14,7-43,5 % [6,7].

Крім безпосереднього впливу на дихальну систему та шкіру працівників сільського господарства при контакті з пестицидами [8], постійна

їх дія на організм призводять до зниження його захисних властивостей, виникнення захворювань або ускладнення перебігу вже існуючих хронічних хвороб [8,9,10].

Однак, на сьогоднішній день відмовитись від використання пестицидів в сільському господарстві неможливо. Їх використання забезпечує високу біологічну та економічну ефективність останнього, знижує втрати врожаю [6,7].

### **Мета роботи**

Гігієнічна оцінка безпечності умов праці персоналу, задіяного при обробці сільськогосподарських культур новими комбінованими препаратами на основі дифеноконазолу та нової діючої речовини цифлуфенаміду Диналі та Циделі Топ.

### **Матеріали та методи дослідження**

Натурні дослідження з вивчення умов праці при застосуванні препаратів, що містять комбінацію дифеноконазолу з новою діючою речовиною – цифлуфенамідом, Диналі та Циделі Топ проводили в Миколаївській і Черкаській областях, відповідно, при допустимих метеорологічних