

ВЛАСТИВОСТІ НАНОКОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ КРЕМНЕЗЕМНИХ МАТРИЦЬ МОДИФІКОВАНИХ АНТИМІКРОБНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Гайдай А.Р.¹, Вакулук П.В.¹, Фуртат І.М.¹, Мурланова Т.В.¹, Біляєва О.М.², Голуб О.А.¹

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія», alina.gaidai@ukma.edu.ua

²Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Створення біонаноконкомпозитів із запрограмованими властивостями на основі нанокремнеземів із подальшим введенням біологічно-активних сполук відкриває широкі можливості їхнього застосування у різних галузях біології та медицини. Перспективність їхнього застосування насамперед зумовлена тим, що високодисперсні кремнеземи характеризуються широким адсорбційним спектром стосовно білків і клітин мікроорганізмів незалежно від таксономічної приналежності останніх. Окрім того, препарати кремнезему є інертними неорганічними матрицями, стійкими до хімічних і бактеріальних впливів. Завдяки наявності на поверхні силанольних груп також можлива їхня модифікація різними за хімічною будовою сполуками. Одним із поширених способів є адсорбційне модифікування поверхні кремнезему різними лікарськими препаратами, зокрема антибіотиками, оскільки воно дозволяє регулювати комплекс запрограмованих якостей майбутніх наноконкомпозитів. Разом із тим для практичного застосування, особливо у медичній галузі, обов'язковим є з'ясування механізму дії новостворених наноконкомпозитів, що, своєю чергою, уможливує розробку нових ефективних стратегій подолання актуальних проблем сучасності, зокрема таких як нераціональна антимікробна терапія, ушкоджувальна дія біоплівки та забруднення довкілля. З огляду на вищевикладене метою роботи було одержання наноконкомпозитних матеріалів на основі кремнеземних матриць, модифікованих антимікробними сполуками, дослідження їхньої будови, кінетики десорбції адсорбатів, вивчення їхньої антимікробної активності та з'ясування можливості застосування як лікарських засобів для лікування ран різної етіології.

Наноконкомпозитні матеріали одержували методом імпрегнування орнідазолу на поверхні високодисперсного діоксиду силіцію. У якості носія використовували пірогенний кремнезем (аеросил А-300 «Силлард П») виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу МНТК «Хімія поверхні» з площею поверхні 290 м²/г (за низькотемпературною адсорбцією азоту методом BET). Концентрація силанольних груп, що є головними сорбційними центрами, становить приблизно 0,8 ммоль/г або 2,5 мкмоль/м². Як модифікатор застосовували орнідазол (1-(3-хлор-2-гідроксипропіл)-2-метил-5-нітроімідазол) (рис. 1) (Aarti Drugs Limited, Індія).

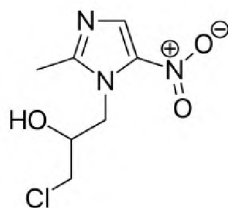


Рис. 1. Просторова будова молекули орнідазолу.

Вказаний препарат було обрано для імпрегнування з огляду на те, останній належить до третього покоління нітроімідазолів і активний щодо анаеробних бактерій та протозоа. Його висока ефективність визначається швидким бактерицидним ефектом, низькою пригнічувальною концентрацією щодо окремих груп бактерій, переважно анаеробних, низьким рівнем токсичності та тривалим антимікробним ефектом.

Модифікування проводили з водних розчинів орнідазолу таким чином, щоб кінцевий вміст активного компонента в сухому препараті складав від 1 до 12 %. Зпатентована назва наноконкомпозиту, створеного за такою методикою – орнідасил. Застосований у роботі метод імпрегнування орнідазолу на поверхні високодисперсного діоксиду силіцію є простим і одна з його особливостей полягає у слабкому закріпленні модифікатора на матриці, що дозволяє поступове вивільнення активного компоненту з поверхні носія у рану. Обрані для

імпрегнування концентрації орнідазолу вважали оптимальними на підставі того, що вміст активної речовини був цілком достатнім для виявлення антимікробної дії, а на поверхні нанокремнезему залишалось ще достатньо вільних від адсорбованих молекул активних центрів для адсорбції токсичних метаболітів, зокрема ранових деструктів поліпептидної природи.

У процесі одержання наноконкомпозиту формування адсорбційних комплексів молекул активної речовини з поверхнею кремнеземної матриці відбувається за рахунок утворення водневих зв'язків між нітрогрупою орнідазолу та силанольними групами аеросилу (рис. 2). Окрім того, не виключено утворення слабких зв'язків між орнідазолом та поверхнею матриці за рахунок фізичної адсорбції за участі диполь-дипольних взаємодій та водневих зв'язків з іншими полярними групами орнідазолу.

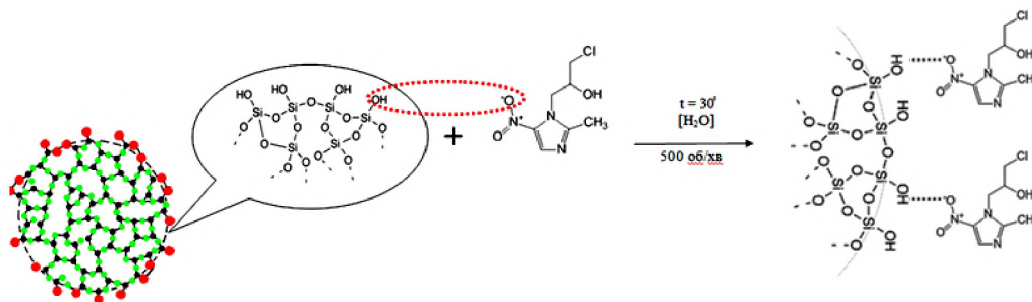


Рис. 2. Схема одержання наноконкомпозиту з орнідазолом

Зважаючи на те, що основними збудниками хірургічної інфекції м'яких тканин вважаються *Staphylococcus aureus* (43,5 %), *Proteus mirabilis* (23,1 %), *Escherichia coli* (12,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (7,9 %), *Staphylococcus epidermidis* (4,3 %), *Enterobacter spp.* (3,8 %), *Streptococcus pyogenes* (2,7 %) та *Acinetobacter baumannii* (2,1 %), антибактеріальну активність створеного наноконкомпозиту визначали щодо грампозитивних (*Staphylococcus aureus* шт. ATCC 25923) і грамнегативних (штами *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 і *Escherichia coli* ATCC 25922) бактерій. Визначення антимікробної активності здійснювали із застосуванням стандартизованих за МакФарландом суспензій клітин добових культур згаданих вище бактерій. Після цього визначали кількість клітин, що вижили після впливу орнідазолу за різних часових проміжків, розраховуючи індекс виживаності. А також встановлювали ефективність впливу орнідазолу, зважаючи на те, що ефективними новостворені сполуки вважаються лише у тому випадку, якщо кількість клітин тест-культури зменшувалася більше, ніж на - 4,0 lg КУО/мл.

Дослідження антибактеріальної активності ефективності наноконкомпозиту з кінцевою концентрацією орнідазолу орнідазол 1% засвідчило, що йому притаманна активність щодо клітин грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus*, позаяк за контакту упродовж 2 годин з вищезгаданим наноконкомпозитом загинуло 99,0% клітин стафілококів. При цьому подовження дії наноконкомпозиту до 24 годин не супроводжувалось підвищенням антибактеріального ефекту (рис. 3).

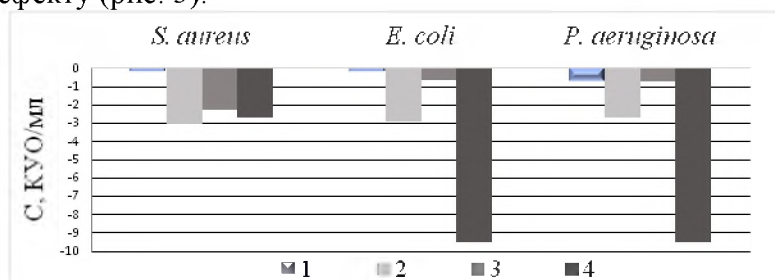


Рис. 3. Вплив орнідазолу у складі фармакопейного препарату Орнігілу та у складі орнідазолу на виживаність грампозитивних та грамнегативних бактерій: упродовж 2 годин: 1 – фармакопейний препарат Орнігіл; 3 – водна форма НК (орнідазолу); упродовж 24 годин: 2 – фармакопейний препарат Орнігіл; 4 – водна форма НК (орнідазолу).

Також було з'ясовано, що за короткотривалої дії орнідасил виявився менш ефективним щодо клітин грамнегативних бактерій. Зокрема, за контакту упродовж 2 годин загинуло < 90 % клітин штамів *Pseudomonas aeruginosa* і *Escherichia coli*. Натомість за подовження контакту до 24 годин спостерігали стовідсоткову загибель клітин обох досліджених штамів грамнегативних тест-культур бактерій. Підвищення ефективності нанокompозиту за умов подовження його контакту з тест-культурами може бути зумовлено пролонгуванням вивільнення активної речовини, що забезпечує більш ефективну дію нанокompозиту, порівняно з чистою речовиною. На підставі отриманих даних ми можемо стверджувати, що найвищий бактерицидний ефект щодо грамнегативних бактерій забезпечувався за умови застосування композиту довше, ніж 24 години. Окрім визначення антибактеріальної активності нанокompозитних матеріалів з орнідазолом, було досліджено їхню антиадгезивну активність після контакту клітин тест-культур упродовж 2 та 24 годин. Нами встановлено, що максимальна дієвість нанокompозиту з орнідазолом як інгібітору адгезії спостерігалася за контакту з клітинами тест-культур упродовж 24 годин та концентрації діючої речовини 4% у випадку штаму *Staphylococcus aureus* та концентрації 2% щодо *Escherichia coli*. У випадку штаму *Pseudomonas aeruginosa* пригнічення адгезії до еритроцитів груп крові 00+, А0+ та В0+ було максимальним за впливу нанокompозитів на бактеріальні клітини упродовж 24 годин, а у разі прикріплення до еритроцитів групи АВ+ контакт впродовж 2 годин був більш ефективним.

Окрім того, було досліджено лікувальну дію препарату «Орнідасилу» щодо ускладнених ран різної етіології та показано його ефективність, порівняно з традиційно застосовуваними препаратами. Так, за даними клінічних досліджень (рис. 4) купірування больового синдрому за умови застосування орнідасилу відбувається в 2,1 рази швидше, очищення рани – в 1,7 разів, поява грануляцій – в 2,5 разів, крайова епітелізація – в 2,4 разів, порівняно з традиційними методами лікування Гентаксаном та Левомеколем.

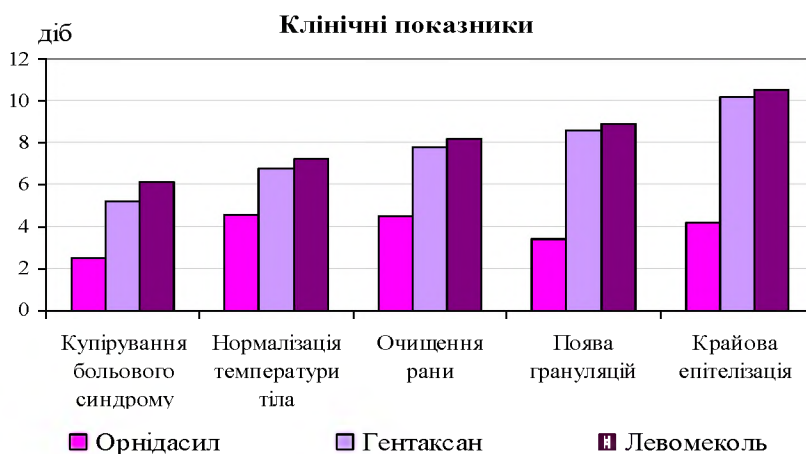


Рис. 4. Перебіг ранового процесу у групах клінічного дослідження

Отримані результати свідчать, що створені біосумісні нанокompозити на основі пірогенного діоксиду силіцію з іммобілізованим на його поверхні антибактеріальними агентами, у подальшому можуть бути використані для безпосереднього застосування з метою прискорення загоювання ускладнених ран та як носії для спрямованої доставки традиційних лікарських засобів, з метою профілактики інфекційних процесів, лікування опіків, гнійних ран, синдрому діабетичної стопи та інших ран складної етіології.