

УДК: 549.731.1:620.3:615.454.1:615.832.9

**БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ НАНОКОМПОЗИТУ $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$,
ЯК МАГНІТНОГО НАПОВНЮВАЧА ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ЗАСОБІВ****Чан Т.М., Криськів О.С., Левітін Є.Я., Шпичак О.С., Марченко М.В.****Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна**

Вступ. Формування композиційних структур $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ типу «ядро-оболонка», дозволяє поєднувати магнітні властивості ядра з бактерицидними та бактеріостатичними властивостями оболонки, що є перспективним для подальшого їх використання у фармації та медицині.

Мета. Вивчення мікробіологічних властивостей магнітокерованого нанокompозиту типу «ядро-оболонка» $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ з острівковим срібним покриттям для створення на його основі м'яких лікарських форм для використання у дерматології.

Для досягнення зазначеної мети, необхідно було дослідити протимікробну активність наночастинок (НЧ) одержаних зразків в умовах *in vitro* та за результатами проведених досліджень обрати найбільш перспективний зразок магнітокерованого нанокompозиту $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$.

Матеріали і методи. Для розробки магнітокерованого фармацевтичного засобу з використанням синтезованого композиту $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ за основу брали дані мікробіологічних випробувань синтезованих композитів $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ з різним співвідношенням ядро : оболонка.

Для визначення зразка з необхідними властивостями, оцінювали антибактеріальну дію нових речовин, випробування проводили на базі лабораторії біохімії мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова» АМНУ (м. Харків).

Первинний мікробіологічний скринінг проведено на еталонних тест-культурах мікроорганізмів, що належать до різних таксономічних груп: *S. aureus* ATCC 25923, *Str. pneumoniae* ATCC 49619, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885-653. Зазначений набір тест-штамів, для первинного вивчення бактерицидного та бактеріостатичного впливу випробуваних зразків на мікроорганізми є загальновизнаним. Антибактеріальну та антикандидозну дії визначали згідно наказу МОЗ України від 05.04.2007 № 167 [1].

Скринінг антимікробної активності проводили методом дифузії в агар – «метод колодязів».

Під час оцінки дії нових антибактеріальних речовин та для вивчення стійких до антибіотиків речовин застосовували такі критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку препарату або певної концентрації антибіотика; зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на помірну чутливість культури до випробуваної концентрації антибактеріальної речовини;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму до випробуваного лікарського засобу;

– зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних препаратів (ДФУ 2.0, п. 2.6.1 [2]).

Результати досліджень. Основними критеріями для обґрунтування вибору зразка композиту Ag@Fe₃O₄ для подальшого введення до лікарської форми стали:

- ✓ протимікробна активність,
- ✓ розмір НЧ,
- ✓ магнітокерованість.

Результати мікробіологічних, розмірних та магнітних досліджень зведено у таблиці.

Таблиця

Склад, фізичні та мікробіологічні характеристики синтезованих зразків

Критерії відбору	Зразок / мольне відношення Fe ₃ O ₄ : Ag					
	1	2	3	4	5	
	1 : 2	1 : 1	1 : 0,5	1 : 0,25	1 : 0,125	
Мікробіологічні дослідження	Діаметр зон затримки росту, мм (n = 5; P = 95 %)					
<i>S. aureus</i>	ріст	ріст	11,6±0,7*	10,8±1,0*	10,3±0,9*	
<i>Str. pneumoniae</i>	ріст	ріст	15,0±1,1*	14,8±1,0*	11,6±0,8*	
<i>B. subtilis</i>	10,8±1,0*	ріст	14,9±0,9*	9,8±1,2*	14,8±0,9*	
<i>P. aeruginosa</i>	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	
<i>C. albicans</i>	11,8±0,8*	11,7±0,9*	15,0±0,7*	14,9±1,0*	15,6±1,1*	
Вміст компонентів у досліджуваній дозі		Концентрація мікроорганізмів у чашці Петрі 1×10 ⁻⁷ , КУО. Маса зразків для проведення дослідів 1×10 ⁻⁴ , г				
К-сть моль	Ag	4,1×10 ⁻⁷	2,63×10 ⁻⁷	1,53×10 ⁻⁷	8,36×10 ⁻⁸	4,38×10 ⁻⁸
Маса, г		4,43×10 ⁻⁵	2,84×10 ⁻⁵	1,66×10 ⁻⁵	9,03×10 ⁻⁶	4,73×10 ⁻⁶
Масова частка, %		44,26	28,42	16,56	9,03	4,73
К-сть моль	Fe ₃ O ₄	2,05×10 ⁻⁷	2,63×10 ⁻⁷	3,07×10 ⁻⁷	3,34×10 ⁻⁷	3,50×10 ⁻⁷
Маса, г		5,57×10 ⁻⁵	7,61×10 ⁻⁵	8,34×10 ⁻⁵	9,10×10 ⁻⁵	9,53×10 ⁻⁵
Масова частка, %		55,74	71,58	83,44	90,97	95,27
Середній розмір частинок, нм		~140 (вкраплення Ag)		~23	>400 (агломерати Fe ₃ O ₄)	
Намагніченість насичення, σ _{max} , ему/г		42,49	46,97	62,5	66,19	75,90

Примітка. *Бактерицидна дія.

При порівнянні результатів мікробіологічного дослідження зразків (табл.) встановлено, що за максимального вмісту срібла у зразках №1 та 2 відносно грампозитивних (*S. aureus*, *Str. pneumoniae*) та грамнегативних (*P. aeruginosa*) виявляється резистентність, а за мінімального (зразки №4 та 5) – помірна чутливість; при збільшенні вмісту срібла протимікробна активність зразків зменшується.

Усі зразки показали резистентність до *P. aeruginosa*. Щодо дріжджоподібного гриба *C. albicans* зразки №1 і 2 виявили помірну антифунгальну дію, а зразки №3 – 5 – високу. Незважаючи на те, що у невеликих концентраціях НЧ срібла (НЧС) можуть стимулювати ріст бактерійної мікрофлори [3], бактеріостатична

активність зразків № 4 і 5 зі зменшенням масової частки срібла (у перерахунку на металічне срібло) незначно відрізняється та характеризується помірною чутливістю. Зразки № 3 – 5 – виявили бактерицидну дію щодо всіх мікроорганізмів (крім *P. aeruginosa*), що вважається важливим показником, який суттєво впливає на характеристики матеріалу в цілому.

Як відомо, концентрація НЧС практично не впливає на виявлення антибактеріального ефекту [4]. Сучасні дослідження впливу НЧ срібла на біооб'єкти свідчать, що при малих концентраціях та розмірах НЧ відбувається зворотний ефект – стимуляція росту та розвитку бактерій [5]. Питома площа поверхні НЧС безпосередньо відповідає за вивільнення іонів Ag^+ , тим самим забезпечуючи даний вплив.

Дані табл. щодо розмірів НЧ композитів різного складу одержані SEM, показують, що при масовій частці срібла 28,42 – 44,46 % більша частина срібла знаходиться у вільному стані та НЧ магнетиту частково агломеровані, при 4,73 – 9,03 % усе внесене срібло знаходиться на поверхні магнітних ядер, при цьому ~80 % їх поверхні не мають срібного покриття і без внесення стабілізаторів спостерігається надмірна агломерація НЧ. У зразку №3 (містить 16,56 % срібла), майже усе срібло знаходиться у вигляді острівців на поверхні магнітних ядер, при цьому зберігається магнітокерованість композиту.

Аналізуючи одержані результати мікробіологічних, розмірних та магнітних досліджень НЧ композитів (табл.), для подальшого використання його у створенні керованого магнітного лікарського засобу обрано зразок № 3.

Висновок. Мікробіологічні дослідження зразків $\text{Ag}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ з різним співвідношенням компонентів показали, що оптимальні антимікробні характеристики виявляє зразок зі співвідношенням $\text{Ag} : \text{Fe}_3\text{O}_4 = 0,5 : 1$, що дало можливість рекомендувати його для подальших досліджень.

Література

1. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : наказ МОЗ України від 05.04.2007 № 167 // *Новости медицины и фармации*. – 2007. – № 18. – С. 1–7.
2. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 1 допов. – Х. : РІРЕГ, 2004. – 494 с.
3. Радциг, М. А. Взаимодействие клеток бактерий с соединениями серебра и золота: влияние на рост, образование биопленок, механизмы действия, биогенез наночастиц : автореф. дис. канд. биолог, наук: 03.01.06 / М. А. Радциг, Гос. учред. Науч.-исслед. инст. эпидем. и микробиол. им. Н. Ф. Гамалеи Рос. ак. мед. наук. – М., 2013. – 34 с.
4. Quantifying the Origin of Released Ag^+ Ions from Nanosilver / Georgios A. Sotiriou, Andreas Meyer, Jesper T. N. Knijnenburg et al. // *Langmuir*. – 2012. – Vol. 28. – P. 15929–15936.
5. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles / Zongming Xiu, Qingbo Zhang, Hema L. Puppala et al. // *Alvarez Nano Lett.* – 2012. – Vol. 12, № 8. – P. 4271–4275.