

УДК 615+579.61

О. М. Важнича, д-р мед. наук,
Н. О. Боброва, канд. мед. наук

НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА, СТАБІЛІЗОВАНІ ЕТИЛМЕТИЛГІДРОКСИПІРИДИНУ СУКЦИНАТОМ ТА ПОЛІВІНІЛПІРОЛІДОНОМ, І ЇХ ВПЛИВ НА РОЗВИТОК ЕТАЛОННИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна

УДК 615+579.61

О. М. Важнича, Н. О. Боброва
НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА, СТАБІЛІЗОВАНІ
ЕТИЛМЕТИЛГІДРОКСИПІРИДИНУ СУКЦИНАТОМ ТА ПОЛІВІНІЛПІРОЛІДОНОМ,
І ЇХ ВПЛИВ НА РОЗВИТОК ЕТАЛОННИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна

В експериментах *in vitro* показано, що наночастинки (НЧ) оксиду заліза (II, III), стабілізовані етилметилгідроксипіридину сукцинатом та полівінілпіролідоном низькомолекулярним, мають гідродинамічний розмір 14–70 нм і виявляють антимікробну дію проти еталонних штамів грам-позитивних і грам-негативних бактерій та дріжджеподібних грибів. Цей ефект перевищує дію нестабілізованих НЧ і може бути пов'язаний з наявністю в їх складі етилметилгідроксипіридину сукцинату. Слід припустити, що зазначений стабілізуючий агент підвищує антимікробну активність НЧ оксиду заліза шляхом модифікації їх взаємодії з поверхнею мікробної клітини та змін продукції активних метаболітів кисню.
Ключові слова: наночастинки оксиду заліза, антимікробна дія.

UDC 615+579.61

О. М. Vazhnycha, N. O. Bobrova
IRON OXIDE NANOPARTICLES STABILIZED BY ETHYLMETHYLHYDROXYPYRIDINE
SUCCINATE AND POLYVINYLPIRROLIDON AND THEIR IMPACT ON THE ETALON
STRAINS OF MICROORGANISMS

Higher state education establishment of Ukraine
“Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava, Ukraine

In the *in vitro* experiments, it is shown that nanoparticles (NPs) of iron oxide (II, III) stabilized by ethylmethylhydroxypyridine succinate and low molecular weight polyvinylpyrrolidone have hydrodynamic size of 14–70 nm and exhibit antimicrobial activity against the standard strains of gram-positive and gram-negative bacteria, and yeast fungi. This effect exceeds the action of non-stabilized NPs and may be associated with the presence of ethylmethylhydroxypyridine succinate in the formulation. It is suggesting that the stabilizing agent enhances the antimicrobial activity of iron oxide NPs by modifying of their interaction with the surface of microbial cell and changes in the production of active oxygen metabolites.

Key words: nanoparticles of iron oxide, antimicrobial action.

Відомо, що наночастинки (НЧ) оксидів заліза нині можуть бути одержані в достатній кількості, стабілізовані та фракціоновані [1, 2]. Їх фармакологічні властивості залежать як від ядерної структури, так і від стабілізуючих речовин [3]. У попередніх дослідженнях нами показано, що може бути створена стабільна рідина, яка містить НЧ оксиду заліза (II, III), покриті етилметилгідроксипіридину сукцинатом та полівінілпіролідоном (ПВП) низькомолекулярним [4]. Вона виявляє протианемічні властивості при гострій крововтраті та має перспективи іншого застосування, характерного для магнітних НЧ [5]. Однією з таких перспектив є використання протимікробних властивостей НЧ оксидів заліза, що спирається на їх спроможність проникати всередину планктонних бактерій та біоплівки [6]. Водночас автори вказують, що НЧ оксидів заліза можуть не тільки інгібувати мікробний

ріст, а й стимулювати його залежно від виду мікроорганізму, концентрації та поверхневих характеристик НЧ [7; 8]. Це створює необхідність дослідження протимікробної активності в кожному разі конструювання нових покритих НЧ оксидів заліза нарівні з вивченням їх транспортної, гіпертермічної та протианемічної дії.

Мета роботи — вивчити вплив НЧ оксиду заліза (II, III), стабілізованих етилметилгідроксипіридину сукцинатом та ПВП низькомолекулярним, на розвиток еталонних штамів мікроорганізмів.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використані НЧ оксиду заліза (II, III) розмірами 4–5 нм, осаджені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології [9]. Конденсат цих НЧ був наданий для дослідження старшим науковим співробітником

Ю. А. Кураповим (Інститут електрозварювання імені Є. О. Патона НАН України, Київ). Його розчиняли разом з етилметилгідроксипіридину сукцинатом (Бион, РФ) та ПВП низькомолекулярним (АК Синтвита, РФ) у співвідношенні 1 : 20 : 30 мг у водно-іонному середовищі [10]. Одночасно готували розчин нестабілізованих НЧ оксиду заліза (1 мг конденсату НЧ/мл). Осад відокремлювали шляхом гравітаційної седиментації, у подальшому працювали з надосадовою рідиною. Нанорозмірність частинок у ній контролювали за допомогою лазерно-кореляційної спектроскопії [11]. Вміст заліза визначали у трьох зразках кожного розчину методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою [12]. Цифровий матеріал при визначенні концентрації заліза статистично обробляли за допомогою комп'ютерних програм Statistica for Windows 8.0.

Виготовлені розчини НЧ вивчали щодо їх впливу на розвиток робочих культур еталонних штамів мікроорганізмів. Використовували штами *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 та *C. albicans* ATCC 10231, одержані з Державної установи «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України» (Київ). Дослідження проводили стандартним методом серійних розведень, визначаючи мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) НЧ для кожної тест-культури [13]. Результати оцінювали візуально. Дослідження повторювали тричі за повного збігу результатів.

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні розчину з нестабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III) визначалося дві фракції, перша з яких була утворена частинками з гідродинамічним розміром 13–120 нм. Максимальна кількість НЧ цієї фракції мала розмір 23 нм. Представництво НЧ першої фракції становило 99,9 %, а маса — 46 %. Друга фракція містила

частинки розміром від 209 до 3270 нм з максимумом при 209 нм. Кількість таких частинок становила 0,1 %, а масова частка — 54 %. Вміст заліза у цій рідкій дисперсній системі у день виготовлення дорівнював $(2,37 \pm 0,30)$ мкг/мл.

У розчині зі стабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III) також визначалося дві фракції НЧ. Перша фракція містила частинки з гідродинамічним розміром 14–70 нм. Максимальна їх кількість була розміром 25 нм. Таких НЧ у розчині 99,9 %, а їх маса — менше 5 %. Більші частинки другої фракції в рідині мали середній діаметр близько 4500 нм. Ці великі частинки переважали за масою, але їх кількість була менше 0,1 %. Вміст заліза у даній нанорідині у день виготовлення становив $(70,7 \pm 2,5)$ мкг/мл і був вірогідно вищим ($p < 0,001$), ніж у розчині з нестабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III).

Виявлено, що рідина зі стабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III) справляла бактеріостатичну дію на *E. coli* ATCC 25922 за МІК, що відповідала 500 мкг конденсату НЧ разом з 10 000 мкг етилметилгідроксипіридину сукцинату та 15 000 мкг ПВП в 1 мл на момент приготування (табл. 1). З урахуванням переходу НЧ у розчин це становило 35,4 мкг заліза/мл. Нестабілізовані НЧ оксиду заліза не виявили антимікробної дії стосовно еталонного штаму *E. coli*.

У культурі *S. aureus* ATCC 25923 МІК рідини зі стабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III) була нижчою, ніж у попередньому випадку, і відповідала 125 мкг конденсату НЧ за 2500 мкг етилметилгідроксипіридину сукцинату та 3250 мкг ПВП в 1 мл розчину (див. табл. 1). У перерахунку на нанозалізо це становило 8,6 мкг заліза/мл. Слабку антимікробну дію проти *S. aureus* мали й самі нестабілізовані НЧ оксиду заліза. Їх МІК становила 500 мкг конденсату/мл, або 35,4 мкг заліза/мл.

У тест-культурі *C. albicans* ATCC 10231 МІК рідини зі стабілізованими НЧ оксиду заліза (II, III) відповідала 250 мкг конденсату НЧ за 5000 мкг етилметилгідроксипіридину сукцинату

Таблиця 1

Вплив наночастинок оксиду заліза (II, III) на стандартні штами мікроорганізмів у рідкому середовищі

| Стандартний штам | Наночастинки оксиду заліза (II, III) | Концентрація конденсату наночастинок оксиду заліза при виготовленні розчину, мкг/мл | | | | | | | | |
|------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|------|------|------|-----|-----|
| | | 1000 | 500 | 250 | 125 | 62,5 | 31,3 | 15,7 | 7,9 | 4,0 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | Без стабілізації | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | стабілізовані | – | – | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | Без стабілізації | – | – | + | + | + | + | + | + | + |
| | стабілізовані | – | – | – | – | + | + | + | + | + |
| <i>C. albicans</i> ATCC10231 | Без стабілізації | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | стабілізовані | – | – | – | + | + | + | + | + | + |

Примітка. У таблиці «–» — відсутність росту мікроорганізмів; «+» — звичайне накопичення мікробної маси.

та 7500 мкг ПВП в 1 мл розчину (див. табл. 1). У перерахунку на нанозалізо в розчині це становило 17,6 мкг/мл. Нестабілізовані НЧ оксиду заліза не впливали на розвиток тест-культури *S. albicans*.

Отже, НЧ оксиду заліза (II, III), стабілізовані етилметилгідроксипіридину сукцинатом та ПВП, у розчині виявляють антимікробну дію проти еталонних штамів грамполозитивних і грамнегативних бактерій та дріжджоподібних грибів, що перевищує ефект нестабілізованих НЧ і може бути пов'язаним з наявністю в їх складі етилметилгідроксипіридину сукцинату. Це узгоджується з даними літератури щодо ролі стабілізуючих речовин у підвищенні власної антимікробної активності магнітних НЧ шляхом модифікації їх взаємодії з поверхнею мікробної клітини та змін продукції активних метаболітів кисню [14].

Висновки

1. Наночастинки оксиду заліза (II, III), одержані шляхом електронно-променевої технології і стабілізовані етилметилгідроксипіридину сукцинатом та ПВП низькомолекулярним, у розчині мають гідродинамічний розмір 14–70 нм, виявляють антимікробну дію проти еталонних штамів грамполозитивних і грамнегативних бактерій та дріжджоподібних грибів, яка найбільше виражена стосовно *S. aureus* АТСС 25923.

2. Антимікробна дія НЧ оксиду заліза (II, III), стабілізованих етилметилгідроксипіридину сукцинатом та ПВП низькомолекулярним, на всі досліджені еталонні штами (*E. coli* АТСС 25922, *S. aureus* АТСС 25923 та *C. albicans* АТСС 10231) перевершує ефект нестабілізованих НЧ оксиду заліза.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Нанонаука*, нанобіологія, нанофармація : монографія / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук [та ін.]. – К. : Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
2. *Santhosh P. B.* Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promising tools in cancer theranostics / P. B. Santhosh, N. P. Ulrih // *Cancer Lett.* – 2013. – Vol. 336, N 1. – P. 8–17.
3. *Studying the effect of particle size and coating type on the blood kinetics of superparamagnetic iron oxide nanoparticles* / F. Roohi, J. Lohrke, A. Ide [et al.] // *Int. J. Nanomedicine.* – 2012. – Vol. 7. – P. 4447–4458.
4. *Роль мексидола (2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцината) в отлучении стабилизированных наночастиц магнетита для биомедицинского применения* / Е. М. Важничая, Е. В. Мокляк, Ю. А. Курапов [и др.] // *Биомедицинская химия.* – 2015. – Т. 61, вып. 3. – С. 384–388.
5. *Важничая Е. М.* Эффективность наночастиц магнетита, стабилизированных производным 3-гідроксипіридину и поливинилпирролидоном в экспериментальной терапии острой кровопотери / Е. М. Важничая, Е. В. Мокляк, А. А. Забозлаев // *Современные технологии в медицине.* – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 84–91.
6. *Azhar S. L.* Magnetic nanoparticles for antimicrobial drug delivery / S. L. Azhar, F. Lotfipour // *Pharmazie.* – 2012. – Vol. 67, N 10. – P. 817–821.
7. *Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of an ampicillin-conjugated magnetic nanoantibiotic for medical applications* / S. H. Hussein-Al-Ali, M. E. El Zowalaty, M. Z. Hussein [et al.] // *Int. J. Nanomedicine.* – 2014. – Vol. 9. – P. 3801–3814.
8. *Iron oxide nanoparticles in modern microbiology and biotechnology* [Electronic resource] / R. Dinali, A. Ebrahimezhad, M. Manley-Harris [et al.] // *Crit. Rev. Microbiol.* – 2017. – Jan 10. – P. 1–15. – Access mode : <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1040841X.2016.1267708>
9. *Пат. 92556 UA, МПК В82В 3/00, С23С 14/24, С23С 14/54* Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі / Б. Є. Патон (UA), Б. О. Мовчан (UA), Ю. А. Курапов (UA), К. Ю. Яковчук (UA); заявник та патентовласник Astromont Limited (CY). – № а200905985; заявл. 10.06.2009; опубл. 10.11.2010, Бюл. № 21.
10. *Патент на изобретение № 2493857, РФ; МПК А61К 33/26, В82У 5/00, В82У 40/00* Спосіб отлучения биологически активной наножидкости на основе наночастиц оксиды железа (II, III) и производного 3-гідроксипіридину / Важничая Е. М. (UA); Мокляк Е. В. (UA); Мовчан Б. А. (UA); Курапов Ю. А. (UA); Забозлаев А. А. (RU); заявитель и патентообладатель ООО «НПК «ФАРМАСОФТ»» (RU). – № 2012142117/15; заявл. 03.10.2012; опубл. 27.09.2013.
11. *Лазерная корреляционная спектроскопия и биология* / А. Д. Лебедев, Ю. Н. Левчук, А. В. Ломакин, В. А. Носкин. – К. : Наукова думка, 1987. – 256 с.
12. *Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой : метод. рекомендации 4.1.1482-03.* – М. : Минздрав России, 2003. – 16 с.
13. *Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : метод. указания МУК 4.2.1890-04 / С. А. Семина, С. В. Сидоренко, С. П. Резван [и др.] ; утв. главн. гос. сан. врачом РФ Г. Г. Онищенко 04.03.2004* // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.
14. *Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface* / M. Arakha, S. Pal, D. Samantarai [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5. – 14813.

Надійшла 13.03.2017

Рецензент д-р мед. наук, проф. В. О. Ульянов