



П. В. Сімонов

Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на показники гемодинаміки кролів у гострому експерименті

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

Ключові слова: наночастинки металів, мідь, цефтріаксон, гемодинаміка, безпека.

Актуальним сьогодні є комплекс доклінічних досліджень кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном як лікарського засобу з широким спектром протимікробної активності для лікування інфекцій, що викликані, зокрема антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів. З метою встановлення впливу цієї субстанції на функцію серцево-судинної системи тварин при внутрішньовенному введенні в умовах гострого експерименту виконали дослід на 8 кролях породи шиншила із реєстрацією показників системної та кардіогемодинаміки на приладі Hp Viridia Component Monitoring System компанії «Hewlett Packard». Встановили, що кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном при внутрішньовенному введенні кролям у дозах 10–200 мг/кг не мав негативного впливу на частоту серцевих скорочень, максимальний тиск у лівому шлуночку, систолічний артеріальний тиск, діастолічний артеріальний тиск, пульсовий тиск та середній динамічний тиск. Результати свідчать, що кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном можна вважати біобезпечною субстанцією за впливом на показники системної та кардіогемодинаміки при внутрішньовенному введенні кролям в умовах гострого експерименту.

Влияние конъюгата наночастиц меди с цефтриаксоном на показатели гемодинамики кролей в остром эксперименте

П. В. Симонов

Актуальным на сегодняшний день является проведение комплекса доклинических исследований конъюгата наночастиц меди с цефтриаксоном как лекарственного средства с широким спектром противомикробной активности для лечения инфекций, вызванных, в частности антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов. С целью установления влияния данной субстанции на функцию сердечно-сосудистой системы животных при внутривенном введении в условиях острого эксперимента провели опыт на 8 кролях породы шиншилла с регистрацией показателей системной и кардиогемодинамики на приборе Hp Viridia Component Monitoring System компании «Hewlett Packard». Установили, что конъюгат наночастиц меди с цефтриаксоном при внутривенном введении кролям в дозах 10–200 мг/кг не оказывал негативного воздействия на частоту сердечных сокращений, максимальное давление в левом желудочке, систолическое артериальное давление, диастолическое артериальное давление, пульсовое давление и среднее динамическое давление. Полученные результаты свидетельствуют о том, что конъюгат наночастиц меди с цефтриаксоном можно считать биобезопасной субстанцией касательно влияния на показатели системной и кардиогемодинамики при внутривенном введении кролям в условиях острого эксперимента.

Ключевые слова: наночастицы металлов, медь, цефтриаксон, гемодинамика, безопасность.

Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №4 (91). – С. 52–57

Influence of the copper nanoparticle-ceftriaxone conjugate on hemodynamic indices in rabbits in an acute experiment

P. V. Simonov

An implementation of series of preclinical studies of the copper nanoparticle-ceftriaxone conjugate as a new medication with a broad spectrum of antimicrobial action for treatment of infections, particularly caused by resistant strains, is of great importance nowadays.

The aim of current research was to determinate effect of studied substance on cardiovascular function in animals when administered intravenously in an acute experiment.

Methods and results. The study was carried out on 8 Chinchilla rabbits with monitoring of systemic and cardiac hemodynamic indices with 'Hewlett Packard' Hp Viridia Component Monitoring System. It was shown that the copper nanoparticle-ceftriaxone conjugate at doses of 10–200 mg/kg did not have a negative impact on the heart rate, maximum left ventricular pressure, systolic, diastolic blood pressure, the pulse pressure, and the mean arterial pressure.

Conclusion. These findings attest to the fact that the copper nanoparticle-ceftriaxone conjugate may be considered a biosafe substance in the terms of an influence on systemic and cardiac hemodynamic indices when administered intravenously to rabbits in an acute experiment.

Key words: Metal Nanoparticles, Copper, Ceftriaxone, Hemodynamics, Safety.

Zaporozhye medical journal 2015; №4 (91): 52–57

Сьогодні у світі гостро постала проблема антибіотикорезистентності збудників позалікарняних і внутрішньолікарняних інфекцій [1]. Одним із можливих шляхів її вирішення є розробка протимікробних лікарських засобів принципово нового класу, до яких не відзначається резистентність патогенів. На роль таких медикаментів можуть бути обрані наночастинки міді, які проявляють виражену біоцидну активність щодо грам-позитивних та грам-негативних бактерій, вірусів і грибів [2,3].

Ще одним зі шляхів подолання проблеми антибіотикорезистентності є впровадження в медичну практику комбінованих протимікробних лікарських засобів [4]. У літературі є дані щодо створення комплексу цефалоспору III покоління – цефтріаксону зі сполукою міді в іонній формі. Одержана субстанція виявила більш виражену антибактеріальну дію, ніж нативний цефтріаксон [5].

Недоліком сполук міді в іонній формі є висока токсичність. Проблема можна вирішити шляхом заміни солей



цього металу в експериментальному кон'югаті з цефтріаксоном наночастинками міді, котрі є більш біобезпечними. Нині вчені світу вже розглядають можливість застосування кон'югатів наночастинок металів із бета-лактамами антибіотиками як протимікробних засобів нового покоління [6].

Колектив кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця протягом 15 років вивчає фармакологічні та токсикологічні властивості наночастинок металів та їх композитів і кон'югатів із речовинами різної природи [2]. У плані продовження наукових пошуків із наномедицини та з урахуванням висловлених вище міркувань вважається доцільним виконання комплексу доклінічних досліджень кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном (НЧМЦ) як нового експериментального лікарського засобу для лікування інфекцій, що викликані, зокрема антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів. При цьому важливим етапом є встановлення впливу субстанції, що досліджували, на функцію серцево-судинної системи тварин *in vivo*.

Мета роботи

Встановлення впливу кон'югату НЧМЦ на показники системної та кардіогемодинаміки кролів під час внутрішньовенного введення в умовах гострого експерименту.

Матеріали і методи дослідження

Кон'югат НЧМЦ синтезований в Інституті біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України (м. Київ). Вихідними компонентами у синтезі субстанції, що досліджували, виступали стабільні сферичні наночастинки нуль-валентної міді розміром 20 нм, синтезовані за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині, та антибіотик цефтріаксон (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»). Масове співвідношення компонентів «наночастинки міді у перерахунку на метал» і «цефтріаксон» у кон'югаті НЧМЦ становило 3,2/5,0.

Дослідження виконані на 8 кролях породи шиншила масою 3,0–4,0 кг. У гострому експерименті (наркоз – уретан 1,0 г/кг) після катетеризації лівого шлуночка серця та зовнішньої клубової артерії кроля на приладі Hp Viridia Component Monitoring System компанії «Hewlett Packard» (США) протягом 2 годин реєстрували такі параметри гемодинаміки: частота серцевих скорочень (ЧСС, уд./хв), максимальний тиск у лівому шлуночку (P_{\max} , мм рт. ст.), систолічний артеріальний тиск (AT_C , мм рт. ст.), діастолічний артеріальний тиск (AT_D , мм рт. ст.). На підставі даних розраховували значення пульсового тиску (ПТ, мм рт. ст.) і середнього динамічного тиску (СДТ, мм рт. ст.). У результатах показники гемодинаміки представлені у відносних одиницях, за одиницю (1,000) обрані вихідні значення відповідних параметрів.

Тварин рандомізували у 2 групи: введення досліджуваної субстанції кон'югату НЧМЦ і контрольну (введення розчинника – води для ін'єкцій), по 4 особини у кожній.

Досліджувану субстанцію та розчинник вводили внутрішньовенно (у велику вушну вену) чотириразово з інтервалом у 30 хвилин за схемою (табл. 1). Показники системної та кардіогемодинаміки реєстрували перед введенням і через 1, 5, 10, 20 та 30 хвилин після кожного введення.

Таблиця 1

Схема введення кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном і води для ін'єкцій кролям в умовах гострого експерименту

Час від першого введення, хв	Кон'югат НЧМЦ		Вода для ін'єкцій	
	Дробова доза, мг/кг	Кумулятивна доза, мг/кг	Дробовий об'єм, мл	Кумулятивний об'єм, мл
0	10	10	0,10	0,10
30	40	50	0,40	0,50
60	50	100	0,50	1,00
90	100	200	1,00	2,00

Примітки: НЧМЦ – наночастинки міді з цефтріаксоном; дробова доза – одноразова доза при внутрішньовенному введенні; кумулятивна доза – загальна доза, сума всіх попередніх дробових доз; об'єм води для ін'єкцій, зазначений із розрахунку на 3,5 кг маси тіла кроля.

Статистичне опрацювання даних здійснене зі застосуванням тесту Манна-Уїтні для порівняння незалежних вибірок і парного двовибіркового t-тесту для середніх для порівняння залежних вибірок за допомогою програм BioStat 2009 for Windows (v 5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc. і Microsoft Office Excel 2007 компанії Microsoft. Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Результати окремих вимірювань представлені у відносних одиницях у вигляді середніх значень зі стандартними помилками.

Результати та їх обговорення

Вплив кон'югату НЧМЦ на ЧСС, P_{\max} , AT_C , AT_D , ПТ і СДТ кролів показаний на рис. 1–6.

У групах контролю та застосування кон'югату НЧМЦ протягом експерименту не виявили статистично значущих відмінностей значень ЧСС у порівнянні з вихідними значеннями, а також між групами. У групі введення кон'югату НЧМЦ спостерігали тенденцію до зниження ЧСС у порівнянні з контролем (на 5,2% наприкінці експерименту) (рис. 1).

У групі контролю на 20 та 30 хв після четвертого введення води для ін'єкцій спостерігали відмінності в порівнянні з вихідним значенням P_{\max} : цей показник знижувався на 21,3% та 22,6% відповідно. У групі застосування кон'югату НЧМЦ, починаючи з 20 хв після введення другої дробової дози (кумулятивна доза 50 мг/кг), спостерігали зниження P_{\max} у порівнянні з вихідним значенням: на 9,7% на 20 хв після другого введення та на 29,0% наприкінці експерименту. Статистично значущих відмінностей значень P_{\max} між групами контролю та введення кон'югату НЧМЦ не виявили. У групі введення кон'югату НЧМЦ спостерігали тенденцію до зниження P_{\max} у порівнянні з контролем (на 8,3% наприкінці експерименту) (рис. 2).

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження AT_C у порівнянні з вихідним значенням: на 13,8% на 20 хв після другого введення та на 27,3% наприкінці експерименту. У групі застосування кон'югату НЧМЦ, починаючи з 5 хвилини після введення третьої дробової дози (кумулятивна доза 100 мг/кг), спостерігали зниження AT_C у порівнянні з вихідним значенням: на 13,2% на 5 хвилини після третього введення та на 33,1% наприкінці експерименту. Статис-



Рис. 1. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на частоту серцевих скорочень кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.

Примітки: (у цьому та наступних рисунках) НЧМЦ – наночастинок міді з цефтріаксоном; I, II, III, IV – введення першої, другої, третьої та четвертої дробових доз; * – статистично значуща відмінність у порівнянні з вихідним значенням показника, $p < 0,05$; § – статистично значуща відмінність у порівнянні з контролем, $p < 0,05$.

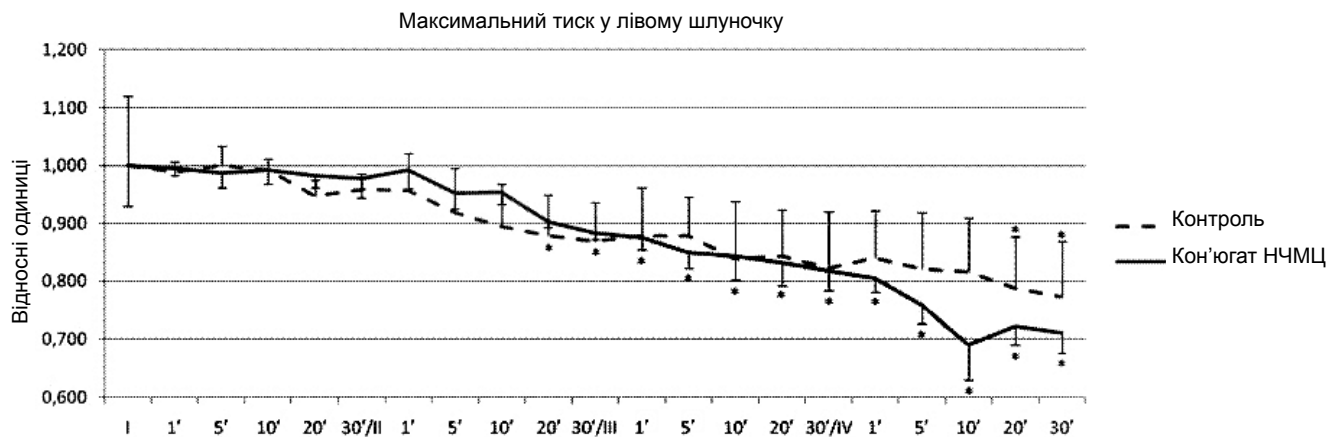


Рис. 2. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на максимальний тиск у лівому шлуночку кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.



Рис. 3. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на систолічний артеріальний тиск кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.



тично значущих відмінностей значень AT_c між групами контролю та введення кон'югату НЧМЦ не виявили. У групі введення кон'югату НЧМЦ спостерігали тенденцію до зниження AT_c у порівнянні з контролем (на 8,0% наприкінці експерименту) (рис. 3).

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження AT_d у порівнянні з вихідним значенням: на 11,8% на 20 хв після другого введення та на 21,4% наприкінці експерименту. У групі застосування кон'югату НЧМЦ, починаючи з 5 хв після введення третьої дробової дози (кумулятивна доза 100 мг/кг), спостерігали зниження AT_d у порівнянні з вихідним значенням: на 12,5% на 5 хвилині після третього введення та на 31,9% наприкінці експерименту. Статистично значущих відмінностей значень AT_d між групами контролю та введення кон'югату НЧМЦ не виявили. У групі застосування кон'югату НЧМЦ спостерігали тенденцію до реєстрації більш низьких (на 13,4% наприкінці експерименту) значень AT_d у порівнянні з контролем (рис. 4).

У групі контролю, починаючи з 30 хв після третього введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження ПТ у порівнянні з вихідним значенням: на 28,5% на 30 хв після третього вве-

дення та на 38,9% наприкінці експерименту (рис. 5).

У групі застосування кон'югату НЧМЦ, починаючи з 5 хв після введення четвертої дробової дози (кумулятивна доза 200 мг/кг), спостерігали відмінності у порівнянні з вихідним значенням ПТ – цей показник знижувався на 22,8% на 5 хв після четвертого введення та на 36,7% наприкінці експерименту. На 10 і 30 хв після введення першої дробової дози (кумулятивна доза 10 мг/кг) виявлені статистично значущі відмінності значень ПТ між групами контролю та застосування кон'югату НЧМЦ. Показник ПТ при введенні кон'югату НЧМЦ перевищував відповідний параметр контролю на 6,3% та 15,6% відповідно. Інших статистично значущих відмінностей значень ПТ між групами контролю та застосування кон'югату НЧМЦ не виявили. Наприкінці експерименту значення в обох групах відрізнялися одне від одного лише на 3,6% (статистично значущі відмінності відсутні) (рис. 5).

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження СДТ у порівнянні з вихідним значенням: на 12,6% на 20 хв після другого введення та на 24,0% наприкінці експерименту (рис. 6).

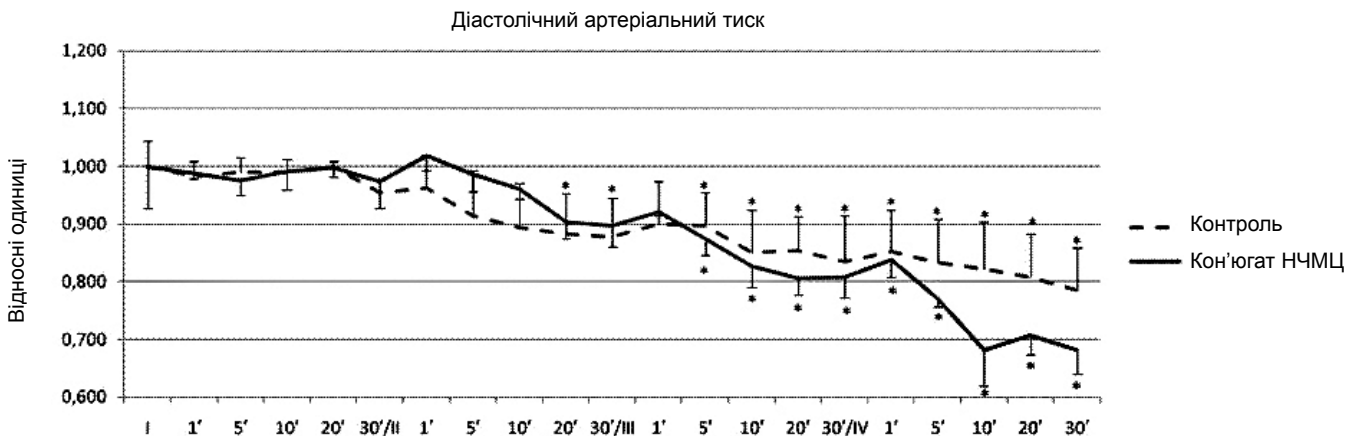


Рис. 4. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на діастолічний артеріальний тиск кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.

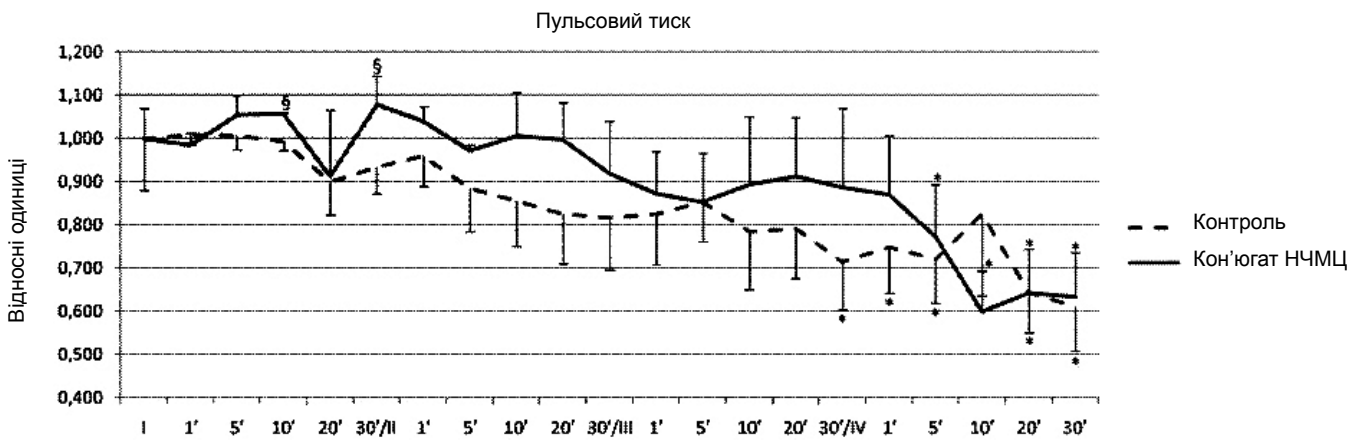


Рис. 5. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на пульсовий тиск кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.



Середній динамічний тиск

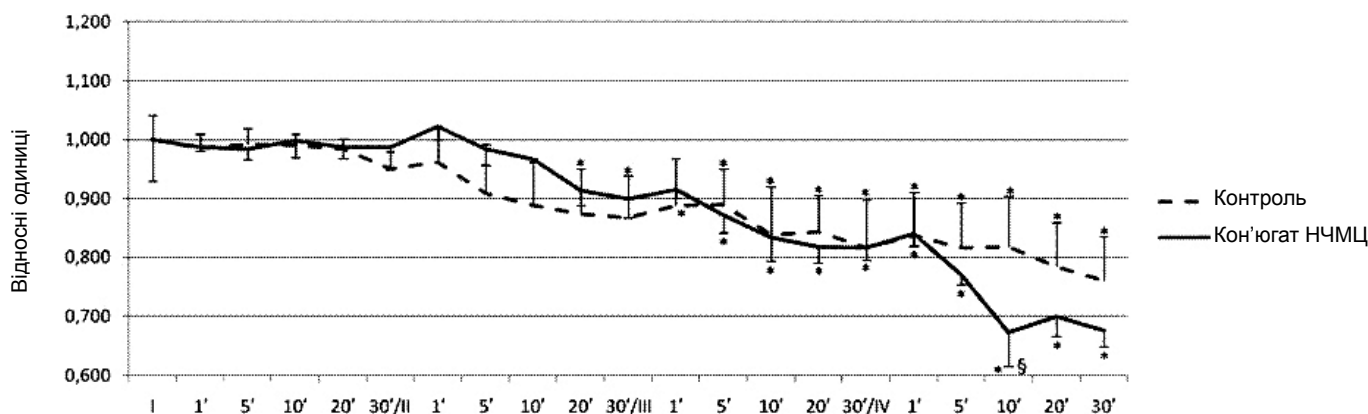


Рис. 6. Вплив кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном на середній динамічний тиск кролів при внутрішньовенному введенні у гострому експерименті.

У групі застосування кон'югату НЧМЦ, починаючи з 1 хв після введення третьої дробової дози (кумулятивна доза 100 мг/кг), спостерігали відмінності у порівнянні з вихідним значенням СДТ – цей показник знижувався на 8,5% на 1 хв після третього введення та на 32,4% наприкінці експерименту. На 10 хв після введення четвертої дробової дози (кумулятивна доза 200 мг/кг) відзначали статистично значуще зниження СДТ на 17,7% у групі застосування кон'югату НЧМЦ у порівнянні з контролем. Інших статистично значущих відмінностей значень СДТ між групами контролю та введення кон'югату НЧМЦ не виявили. Наприкінці експерименту СДТ у групі застосування кон'югату НЧМЦ був на 11,1% нижчий, ніж у контролі (статистично значущі відмінності відсутні) (рис. 6).

Згідно з даними фахової літератури, у токсикологічних дослідженнях *in vitro* та *in vivo* не виявлено безпосереднього негативного впливу наноструктурованої міді на серцево-судинну систему [7]. Це вигідно відрізняє наноматеріал, що досліджувався, від сполук цього металу в іонній формі. Відомо, що внутрішньовенне введення міді хлориду кролям в дозі 15 мг/кг призводить до розвитку артеріальної гіпотензії та смерті тварин протягом 5 хв [8].

Дотепер у спеціалізованій літературі недостатньо даних щодо фармакологічних і токсикологічних властивостей кон'югатів або комплексів сполук міді з цефалоспоринами. Можна припустити, що внесок у профіль безпеки таких субстанцій роблять як характеристики окремих компонентів, так і унікальні параметри, котрі зумовлені створенням нової структури. Згідно з представленими у фаховій літературі даними, цефтріаксон не має негативного впливу на серцево-судинну систему при застосуванні в терапевтичних дозах [9].

У рамках здійсненого дослідження внутрішньовенне введення кон'югату НЧМЦ кролям у гострому експерименті не супроводжувалося статистично значущими змінами таких показників системної та кардіогемодинаміки, як ЧСС, P_{max} , AT_C та AT_{Dr} у порівнянні з контролем. Відмінності у значеннях ПТ і СДТ спостерігали лише для окремих вимірювань, і вони не мали загальної тенденції.

Висновки

1. Кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном при внутрішньовенному введенні кролям у дозах 10–200 мг/кг не має негативного впливу на такі показники системної та кардіогемодинаміки, як частота серцевих скорочень, максимальний тиск у лівому шлуночку, систолічний артеріальний тиск і діастолічний артеріальний тиск.

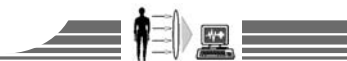
2. Внутрішньовенне введення кролям кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном у дозах 10–200 мг/кг характеризується мінімальними змінами пульсового тиску та середнього динамічного тиску у порівнянні з контролем – введенням води для ін'єкцій.

3. Кон'югат наночастинок міді з цефтріаксоном можна вважати біобезпечною субстанцією за впливом на показники системної та кардіогемодинаміки під час внутрішньовенного введення кролям в умовах гострого експерименту.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно продовжити доклінічні та клінічні дослідження кон'югату наночастинок міді з цефтріаксоном із метою впровадження цієї субстанції в медичну практику як лікарського засобу для лікування інфекцій, що спричинені, зокрема, антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів.

Список літератури

1. Llor C. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem / C. Llor, L. Bjergerum // *Ther. Adv. Drug Saf.* – 2014. – Vol. 5. – №6. – P. 229–241.
2. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / І.С. Чекман, З.Р. Ульберг, В.О. Маланчук та ін. – К.: Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
3. Ingle A.P. Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review / A.P. Ingle, N. Duran, M. Rai // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 98. – №3. – P. 1001–1009.
4. Burden of antibiotic resistance in common infectious diseases: role of antibiotic combination therapy / K.C. Mehta, R.R. Dargad, D.M. Borade et al. // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2014. – Vol. 8. – №6. – P. ME05–ME08.
5. Ali A.E. Synthesis, spectral, thermal and antimicrobial studies of some new tri metallic biologically active ceftriaxone complexes /



- A.E. Ali // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2011. – Vol. 78. – №1. – P. 224–230.
6. Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents / A.M. Allahverdiyev, K.V. Kon, E.S. Abamor et al. // *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2011. – Vol. 9. – №11. – P. 1035–1052.
 7. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors / L.I. Privalova, B.A. Katsnelson, N.V. Loginova et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol. 15. – №7. – P. 12379–12406.
 8. Copper induces vasorelaxation and antagonizes noradrenaline-induced vasoconstriction in rat mesenteric artery / Y.C. Wang, C.W. Hu, M.Y. Liu et al. // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2013. – Vol. 32. – №5. – P. 1247–1254.
 9. Ceftriaxone: an update of its use in the management of community-acquired and nosocomial infections / H.M. Lamb, D. Ormrod, L.J. Scott et al. // *Drugs.* – 2002. – Vol. 62. – №7. – P. 1041–1089. doi: 10.1007/s00253-013-5422-8.
 4. Mehta, K. C., Dargad, R. R., Borade, D. M., & Swami, O. C. (2014). Burden of antibiotic resistance in common infectious diseases: Role of antibiotic combination therapy. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(6), ME05–ME08. doi: 10.7860/JCDR/2014/8778.4489.
 5. Ali, A. E. (2011). Synthesis, spectral, thermal and antimicrobial studies of some new tri metallic biologically active ceftriaxone complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1), 224–230. doi: 10.1016/j.saa.2010.09.025.
 6. Allahverdiyev, A. M., Kon, K. V., Abamor, E. S., Bagirova, M., & Rafailovich, M. (2011). Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 9(11), 1035–1052. doi: 10.1586/eri.11.121.
 7. Privalova, L. I., Katsnelson, B. A., Loginova, N. V., Gurchich, V. B., Shur, V. Y., Valamina, I. E., et al. (2014). Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), 12379–12406. doi: 10.3390/ijms150712379.
 8. Wang, Y. C., Hu, C. W., Liu, M. Y., Jiang, H. C., Huo, R., & Dong, D. L. (2013). Copper induces vasorelaxation and antagonizes noradrenaline-induced vasoconstriction in rat mesenteric artery. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 32(5), 1247–1254. doi: 10.1159/000354523.
 9. Lamb, H. M., Ormrod, D., Scott, L. J., & Figgitt, D. P. (2002). Ceftriaxone: An update of its use in the management of community-acquired and nosocomial infections. *Drugs*, 62(7), 1041–1089. doi: 10.1177/2042098614554919.

References

1. Llor, C., & Bjerrum, L. (2014). Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 5(6), 229–241. doi: 10.1177/2042098614554919.
2. Chekman, I. S., Ulberg, Z. R., Malanchuk, V. O., Gorchakova, N. O., Zupanets, I. A., Shatorna, V. F., et al. (2012). *Nanonauka, nanobiologiya, nanofarmatsiya* [Nanoscience, nanobiology, nanopharmacy]. Kyiv: Poligraf Plyus. [inUkrainian].
3. Ingle, A. P., Duran, N., & Rai, M. (2014). Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(3), 1001–1009. doi: 10.1007/s00253-013-5422-8.

Відомості про автора:

Сімонов П. В., аспірант третього року навчання, каф. фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, E-mail: simonovpavlo@ukr.net.

Сведения об авторе:

Сімонов П. В., аспірант третього года обучения, каф. фармакологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, E-mail: simonovpavlo@ukr.net.

Information about author:

Simonov P. V., 3rd year PhD student, Department of Pharmacology, Bogomolets National Medical University, E-mail: simonovpavlo@ukr.net.

Поступила в редакцию 14.07.2015 г.