



УДК 619:616.775.26

**ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ
ПРЕПАРАТОВ СЕРЕБРА И ВИСМУТА**

Н.Н. ШКИЛЬ¹, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник,
Н.А. ШКИЛЬ¹, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник,
В.А. БУРМИСТРОВ², кандидат химических наук, директор,
Ю.М. ЮХИН³, доктор химических наук, главный научный сотрудник

¹Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН
630501, Россия, Новосибирская область, пос. Краснообск,
e-mail: nicola07@mail.ru

²ООО Научно-производственный центр "Вектор-Вита"
630098, Россия, Новосибирская область, пос. Кольцово, ул. Промзона
e-mail: vector-vita@ngs.ru

³Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН
630128, Россия, Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18
e-mail: yukhin@solid.nsc.ru

Изучено строение наночастиц действующих веществ препаратов на основе солей висмута и серебра Энтеровис и Арговит, а также фармакотоксикологические и терапевтические свойства данных препаратов при инфекционных заболеваниях желудочно-кишечного тракта телят. Наночастицы висмута в препарате Энтеровис представляют собой овальные, плоские, полиморфной формы многогранники размером от 2 до 100 мкм, в растворенном виде – частицы от 4 до 6 нм. Методом просвечивающий электронной микроскопии установлена полиморфность наночастиц серебра, входящих в состав препарата Арговит, а также их размер $67,7 \pm 19,4$ нм со степенью эллиптичности $1,3 \pm 0,3$. Разбавление препарата Арговит дистиллированной водой 1 : 10 вызвало снижение размера наночастиц до $36,0 \pm 12,7$ нм и их эллиптичности до $1,19 \pm 0,14$. Минимальная бактериостатическая концентрация препаратов серебра и висмута у референтных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 составила от 25 до 125 мкг/мл, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 – от 100 до 200, *Shigella sonnei* N 20044 – от 25 до 100, *Staphylococcus aureus* 209 p – от 12,5 до 150, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 – от 6,25 до 150 мкг/мл. Изучение токсикологических характеристик препаратов наночастиц серебра и висмута показало отсутствие токсических эффектов у лабораторных животных. Исследование терапевтической эффективности Энтеровис и Арговит проводили при лечении гастроэнтеритов телят с синдромом диареи. Применение изученных препаратов позволило сократить падеж телят при лечении инфекционных гастроэнтеритов в 1,5–10 раз при сокращении срока лечения в 1,5–3,0 раза.

Ключевые слова: наночастицы, серебро, висмут, Энтеровис, Арговит, гастроэнтерит телят, анти-микробная активность.

Создание новых лекарственных средств с помощью нанотехнологий, повышающих эффективность препаратов, – перспективное направление современной фармакологии. В наночастицах металлов обнаружены уникальные физические и химические свойства, а также установлены особенности биологи-

ческого действия, которое часто отличается от свойств этого вещества в макродисперсной форме [1–8]. Новое направление разработки нанопрепаратов – образование комплекса известных лекарственных средств и наночастиц. Это дает возможность усиления фармакологического действия таких ком-

плексов, более глубокого проникновения их к патологическому процессу. Получение новых препаратов на основе нанотехнологий позволит удешевить их и сделать доступными для лечения многих заболеваний. Основными проблемами при разработке комплексных препаратов являются определение концентрации наночастиц, размера, структуры, а также равномерное их распределение по всему объему матрицы. Анализ размерных и структурных характеристик наночастиц свидетельствует, что они в значительной степени зависят от метода и условий получения наноструктур [9].

Особые свойства наночастиц отличают их от свойств массивных материалов того же химического состава. Это означает, что фактически наночастицы представляют собой новое состояние таких веществ, что обостряет необходимость исследования потенциальных токсических рисков. Токсичность наночастиц в настоящее время изучена в недостаточной степени. Определение путей и способов воздействия наночастиц металлов на организм – важная и актуальная задача фармакологии, решение которой необходимо для улучшения имеющихся лекарственных средств и способов лечения и создания новых [10–13].

Цель исследования – изучить строение наночастиц действующих веществ, а также фармакотоксикологические и терапевтические свойства препаратов на основе солей висмута и серебра Энтеровис и Арговит при инфекционных заболеваниях желудочно-кишечного тракта телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Препарат Арговит представляет собой жидкость темно-коричневого цвета зеленовато-сероватого оттенка с содержанием 12–14 мг/мл кластерного (коллоидного) наносеребра в концентрированном растворе (1,2–1,4 %). Арговит включает поливинилпирролидон – 187 мг, коллоидное серебро – 13 мг, воду – до 1 мл [14]. Для исследования использовали образец препарата в концентрированном виде и разбавленном дистиллированной водой в соотношении 1 : 10.

Препарат Энтеровис (висмута трикалия дицитрат калия цитрат аммония цитрат) представляет собой белый аморфный порошок с химической формулой $[\text{Bi}_6(\text{OH})_6(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_4] + 3,6\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O} + 0,8(\text{NH}_4)_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 + 6\text{H}_2\text{O}$ с массовой долей висмута (Bi) 50–52 %. Оценку размера и формы наночастиц серебра и висмута проводили с использованием просвечивающего электронного микроскопа JEM-100CX ("Jeol", Япония).

Антимикробную активность препаратов Арговит и Энтеровис изучали, используя референтные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Shigella sonnei* N 20044, *Staphylococcus aureus* 209p, *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Оценку токсикологических свойств препаратов давали в соответствии с методическими указаниями [15].

Изучение терапевтической эффективности препаратов проводили при лечении гастроэнтеритов телят с синдромом диареи. Арговит применяли орально в виде 0,3%-го водного раствора в дозе 2 мл/кг живой массы, Энтеровис – орально в виде 2,0%-го водного раствора в дозе 1–2 мл/кг живой массы. Препараты использовали 3 раза в день. Животным контрольных групп назначали лечение только антибиотиками согласно инструкции по применению с учетом чувствительности микрофлоры.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопии частицы висмута в препарате Энтеровис представляют собой овальные, плоские, полиморфной формы многогранники размером от 2 до 100 мкм, в растворенном виде – от 4 до 6 нм (рис. 1).

Результаты электронной микроскопии позволили установить, что все образцы содержали частицы серебра нанометрового диапазона, которые распределялись по-разному: на электронно-микроскопических изображениях видны как одиночные частицы, так и их группы. Визуализировались контрастные частицы сферической, треугольной, многогранной формы с характерным для наночастиц серебра видом:

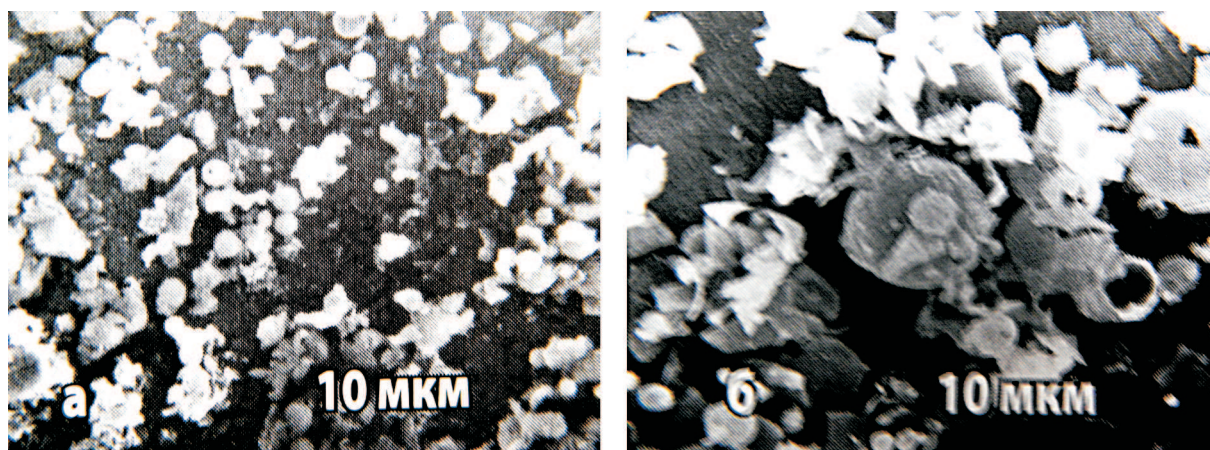


Рис. 1. Препарат Энтеровигил, полученный в результате кристаллизации (а) и распылительной сушки (б)

с четким контуром, высокой электронной плотностью и характерной дифракционной картиной в виде колец и рефлекса для большого количества наночастиц (рис. 2). При растворении препарата 1 : 10 в дистиллированной воде отмечено сохранение типичной полиморфной формы наноструктур (прямоугольное, треугольное или овальное) с уменьшением их в размере.

Измерение 263 наночастиц концентрированного препарата Арговит позволило установить, что их размер варьировал от 20 до 139,3 нм при среднем значении $67,7 \pm 19,4$ нм и степени эллиптичности $1,3 \pm 0,3$. При растворении препарата в дистиллированной воде 1 : 10 средний диаметр 468 на-

ночастиц серебра составил $36,0 \pm 12,7$ нм; диапазон значений варьировал от 2,3 до 101,3 нм. Отмечено снижение степени их эллиптичности относительно концентрированного образца, среднее значение составило $1,19 \pm 0,14$.

Препарат Арговит в концентрированной форме содержал частицы серебра нанометрового диапазона. Средний размер их в препаратах различался, что в значительной мере обусловлено его концентрацией: в растворе Арговита поддерживалось определенное динамическое равновесие между наночастицами серебра и их агрегатами, зависящее от концентрации наносеребра. При разведении препарата 1 : 10 средний размер частиц снижался от $67,7 \pm 19,4$ до $36,0 \pm 12,7$ нм, сте-

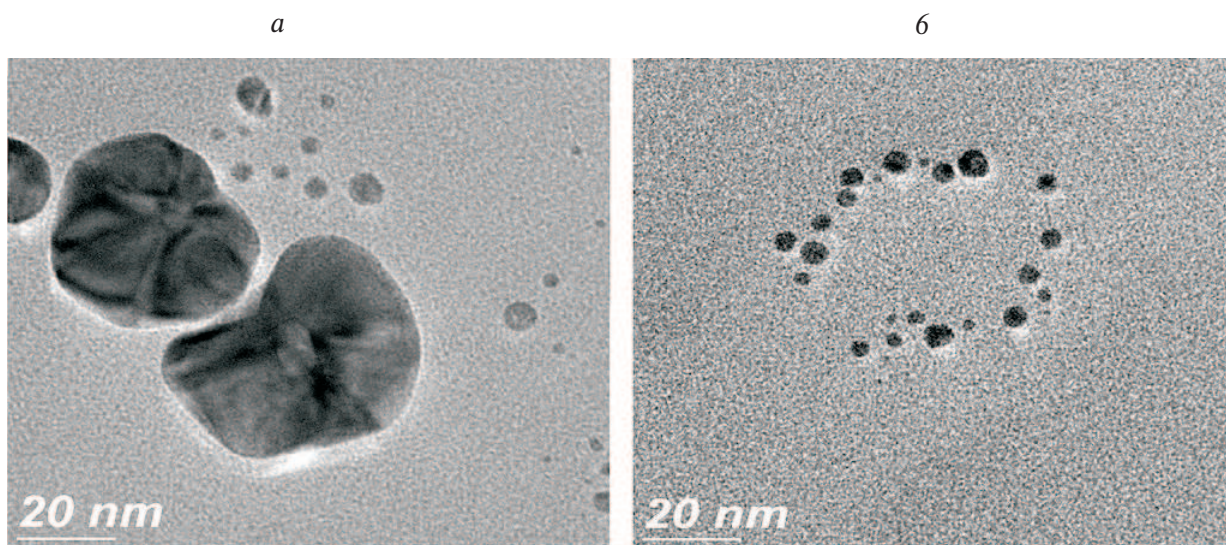


Рис. 2. Строение наночастиц серебра препарата Арговит: а – в концентрированной форме; б – разведенном дистиллированной водой 1 : 10

пень эллиптичности от $1,3 \pm 0,3$ до $1,19 \pm 0,14$. Это обуславливает необходимость проводить исследования по изучению терапевтических и токсикологических свойств препарата в зависимости от степени его концентрации.

Изучение антимикробной активности Арговита на референтных штаммах показало, что минимальная бактериостатическая концентрация препарата в отношении *Escherichia coli* составила 25 мкг/мл, *Salmonella typhimurium* – 100, *Shigella sonnei* – 25, *Staphylococcus aureus* – 12,5, *Bacillus subtilis* – 6,25 мкг/мл.

Минимальная бактериостатическая концентрация Энтеровиса в отношении *Escherichia coli* составила 125 мкг/мл, *Salmonella typhimurium* – 200, *Shigella sonnei* – 100, *Staphylococcus aureus* – 150, *Bacillus subtilis* – 150 мкг/мл.

Изучение токсикологических характеристик препаратов Арговит и Энтеровис показало отсутствие токсических эффектов препаратов у лабораторных и сельскохозяйственных животных, что позволяет отнести их к 4-му классу опасности по ГОСТ 12.1.007–76.

Исследование этиологии желудочно-кишечных болезней телят выявило, что заболевания вызывают микроорганизмы семейства Enterobacteriaceae (кишечная палочка, протей, энтеробактер и др.). Выделенная микрофлора была чувствительна к узкому спектру антибиотиков (энрофлоксацин, полимиксин, фармазин и гентамицин) или обладала абсолютной резистентностью к 24 (85 %) исследованным препаратам.

Падеж молодняка в группах, где использовали Арговит ($n = 5483$), составил от 3,0 до 8,3 %, в контрольных ($n = 4921$) – от 14,3 до 30,4 % от общего числа заболевших телят. При этом срок лечения опытного молодняка был в 2–3 раза меньше относительно показателя контрольных телят. Сохранность телят при лечении препаратом Энтеровис ($n = 590$) составила 91,1–100 %, в контрольных группах ($n = 453$) – от 63,8 до 90,5 %. Срок лечения телят, принимавших Энтеровис, был более чем в 1,5–2,0 раза меньше по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы.

ВЫВОДЫ

1. При микроскопии частицы висмута препарата Энтеровис представляют собой овальные, плоские, полиморфной формы многогранники 2–100 мкм, в растворенном виде – частицы 4–6 нм. Исследования методом просвечивающий электронной микроскопии позволили установить полиморфность наночастиц серебра препарата Арговит, а также их размер ($67,7 \pm 19,4$ нм) со степенью эллиптичности $1,3 \pm 0,3$. Разбавление препарата Арговит дистиллированной водой 1 : 10 вызывает снижение размера наночастиц до $36,0 \pm 12,7$ нм, их эллиптичности – до $1,19 \pm 0,14$.

2. Минимальная бактериостатическая концентрация препаратов серебра и висмута у референтных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 составила от 25 до 125 мкг/мл, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 – от 100 до 200, *Shigella sonnei* N 20044 – от 25 до 100, *Staphylococcus aureus* 209p – от 12,5 до 150, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 – от 6,25 до 150 мкг/мл.

3. Изучение токсикологических характеристик препарата Арговит и Энтеровис показало отсутствие токсических проявлений у лабораторных и сельскохозяйственных животных, что позволяет отнести их к 4-му классу опасности по ГОСТ 12.1.007–76.

4. Применение препаратов серебра и висмута дает возможность сократить падеж телят при лечении инфекционных гастроэнтеритов в 1,5–10 раз при сокращении срока лечения в 1,5–3,0 раза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Копейкин В.В. Лекарственные серебросодержащие препараты и их медико-биологические свойства // Применение препаратов серебра в медицине. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1993. – С. 36–40.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 1986. – С. 342–343.
3. Червяков Д.К. и др. Лекарственные средства в ветеринарии. – М.: Колос, 1977. – С. 132–133.
4. Глинка Н.Л. Общая химия. – Л.: Химия, 2004. – 702 с.
5. Маев И.В., Вьючнова Е.С., Стасева И.В. Сравнительная оценка различных схем терапии гастропатий, вызванных нестероидными про-

- тивовоспалительными препаратами // Терапевт. арх. – 2004. – № 2. – С. 27–30.
6. **Шептулин А.А., Визе-Хрипунова М.А.** Современные возможности применения препаратов висмута в гастроэнтерологии // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – № 3. – С. 63–67.
7. **Сидоренко С.В., Стручинский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н.** Механизмы резистентности микроорганизмов: практ. руководство по антиинфекционной химиотерапии. – М., 2002. – 120 с.
8. **Лозовой Д.А., Рахманов А.М.** Сотрудничество ветеринарных служб государств – участников СНГ // Вет. сегодня. – 2015. – № 2. – С. 8–10.
9. **Черных В.В.** Методы получения наночастиц для фармпрепаратов // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 6. – 112 с.
10. **Чебанов В.А., Миронченко С.И.** Методы определения и оценки характеристик наночастиц в фармпрепаратах // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 6. – С. 111–112.
11. **Хабриев Р.У., Денисов И.Н., Герасимов В.Б. и др.** Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств. – М.: изд-во Росздравнадзора, 2005.
12. **Миронов А.Н.** Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств. – М.: Гриф и К, 2012. – 212 с.
13. **Хабриев Р.У.** Руководство по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005. – 432 с.
14. **TU 9310-13-00008064–98.** Препарат "Арговит" (Витар). – [Электронный ресурс]: <http://vector-vita.narod.ru/argovit.htm>
15. **Методические** указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве. – М.: Изд-во МСХ СССР, 1988.
3. **Chervyakov D.K. i dr.** Lekarstvennye sredstva v veterinarii. – М.: Kolos, 1977. – С. 132–133.
4. **Glinka N.L.** Obshchaya khimiya. – L.: Khimiya, 2004. – 702 s.
5. **Maev I.V., V'yuchnova E.S., Staseva I.V.** Sravnitel'naya otsenka razlichnykh skhem terapii gastropatii, vyzvannykh nesteroidnymi protivovospalitel'nymi preparatami // Terapevt. arkh. – 2004. – № 2. – С. 27–30.
6. **Sheptulin A.A., Vize-Khripunova M.A.** Sovremennye vozmozhnosti primeneniya preparatov vismута v gastroenterologii // Ros. zhurn. gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. – 2010. – № 3. – С. 63–67.
7. **Sidorenko S.V., Struchinskiy L.S., Belousov Yu.B., Kozlov S.N.** Mekhanizmy rezistentnosti mikroorganizmov: prakt. rukovodstvo po antiinfektsionnoy khimioterapii. – М., 2002. – 120 s.
8. **Lozovoy D.A., Rakhmanov A.M.** Sotrudnichestvo veterinarnykh sluzhb gosudarstv – uchastnikov SNG // Vet. segodnya. – 2015. – № 2. – С. 8–10.
9. **Chernykh V.V.** Metody polucheniya nanochastits dlya farmpreparatov // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. – 2014. – № 6. – С. 112.
10. **Chebanov V.A., Mironchenko S.I.** Metody opredeleniya i otsenki kharakteristik nanochastits v farmpreparatakh // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. – 2014. – № 6. – С. 111–112.
11. **Khabriev R.U., Denisov I.N., Gerasimov V.B. i dr.** Rukovodstvo po provedeniyu klinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. – М.: izd-vo Roszdravnadzora, 2005.
12. **Mironov A.N.** Rukovodstvom po provedeniyu klinicheskikh issledovaniy novykh lekarstvennykh sredstv. – М.: Grif i K, 2012. – 212 s.
13. **Khabriev R.U.** Rukovodstva po eksperimental'nomu izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. – М.: Meditsina, 2005. – 432 s.
14. **TU 9310-13-00008064–98.** Preparat «Argovit» (Vitar). – [Elektronnyy resurs]: <http://vector-vita.narod.ru/argovit.htm>
15. **Metodicheskie** ukazaniya po opredeleniyu toksicheskikh svoystv preparatov, primenyaemykh v veterinarii i zhivotnovodstve. – М.: izd-vo MSKh SSSR, 1988.

REFERENCES

1. **Kopeykin V.V.** Lekarstvennye serebrosoderzhashchie preparaty i ikh mediko-biologicheskie svoystva // Primenenie preparatov srebra v medixsine. – Novosibirsk: izd-vo SO RAN, 1993. – С. 36–40.
2. **Mashkovskiy M.D.** Lekarstvennye sredstva. – М.: Meditsina, 1986. – С. 342–343.

PHARMACOTOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF NANOPARTICLES IN SILVER- AND BISMUTH-BASED PREPARATIONS

N.N. SHKIL¹, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Lead Researcher,
N.A. SHKIL¹, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Lead Researcher,
V.A. BURMISTROV², Candidate of Science in Chemistry, Director,
YU.M. YUKHIN³, Doctor of Science in Chemistry, Head Researcher

¹*Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, SFSCA RAS
Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia
e-mail: nicola07@mail.ru*

²*JSC Research and Production Center "Vector-Vita"
Promzona St, Koltsovo, Novosibirsk Region, 630098, Russia
e-mail: vector-vita@ngs.ru*

³*Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
18, Kutateladze St, Novosibirsk, 630128, Russia
e-mail: yukhin@solid.nsc.ru*

There was studied the structure and size of silver and bismuth nanoparticles in preparations Enterovis and Argovit, as well as pharmacological and toxicological properties of these preparations in treating infectious gastroenteritis in calves. Bismuth nanoparticles in Enterovis under the microscope represent oval, flat polyhedrons of polymorphic form of 2 to 100 μm in size, and they, being dissolved, are particles of 4 to 6 nm in size. Investigations by means of transmission electron microscopy allowed us to establish polymorphism of silver nanoparticles in Argovit, as well as their size of 67.7 ± 19.4 nm, with a degree of ellipticity of 1.3 ± 0.3 . A 1:10 dilution of Argovit with distilled water caused a decrease in the size of nanoparticles to 36.0 ± 12.7 nm, with the ellipticity degree of 1.19 ± 0.14 . The minimum bacteriostatic concentrations of silver and bismuth preparations against reference strains ranged as follows: *Escherichia coli* ATCC 25922 from 25 to 125 μg/ml, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 from 100 to 200, *Shigella sonnei* N20044 from 25 to 100, *Staphylococcus aureus* 209 p from 12.5 to 150, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 from 6.25 to 150 μg/ml. The study of toxicology of preparations containing silver and bismuth nanoparticles showed the absence of toxic effects in laboratory animals. The therapeutic efficacy of Enterovis and Argovit was studied when treating calves with diarrhea signs for gastroenteritis. The use of the preparations studied made it possible to reduce the die-off of calves 1.5–10 times, while reducing the duration of the treatment 1.5–3.0 times.

Keywords: nanoparticles, silver, bismuth, Enterovis, Argovit, gastroenteritis, calves, antimicrobial activity.

Поступила в редакцию 27.03.2017