УДК 577.18 + 615.33
DOI: 10.29296/25877313-2018-05-05
© Коллектив авторов, 2018

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ АНТИБИОТИКОВ ЛИНЕЗОЛИД, РИФАБУТИН, ПРОТИОНАМИД

А.И. Муравьёва
лаборант-исследователь, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)
E-mail: anna_muraveva_91@mail.ru
В.В. Заварзина
мл. науч. сотрудник, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)
Н.В. Гукасова
к.б.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)
С.Л. Кузнецов
ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)
И.А. Тубашева
к.х.н., вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)
Е.А. Воронцов
к.х.н., вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточной биологии и молекулярной медицины,
НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)

Получены комплексные противомикробные композиции, имеющие в своём составе антибиотики линезолид, рифабутин, протионамид, а также сополимер молочной и гликолевой кислот, D-маннитол и поливиниловый спирт. Изучена противомикробная активность полученных полимерных композиций антибиотиков в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий и нетуберкулёзного штамма-изолята *Mycobacterium spp. (R)*. Выявлена более высокая антибактериальная активность для полимерной композиции LR–PLGA в отношении штаммов *E. faecalis* и *S. aureus* по сравнению с индивидуальными субстанциями, а для полимерной композиции LRP–PLGA – в отношении метициллин-устойчивого штамма *S. aureus* (MRSA).

Ключевые слова: *антибиотики, линезолид, рифабутин, протионамид, PLGA, полимерные частицы, антибактериальная активность.*

Для цитирования: Муравьёва А.И., Заварзина В.В., Гукасова Н.В., Кузнецов С.Л., Тубашева И.А., Воронцов Е.А. Комплексные полимерные композиции на основе антибиотиков линезолид, рифабутин, протионамид. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(5):27–33. **DOI: 10.29296/25877313-2018-05-05**

Инфекционные заболевания продолжают оставаться одной из самых серьёзных проблем здравоохранения во всем мире. Большинство лекарств, используемых в терапии самых различных заболеваний, имеют множество серьёзных недостатков, связанных с низкой селективностью действия и, как следствие, наличие многочисленных побочных эффектов и противопоказаний. При регулярном использовании одних и тех же препаратов возникает эффект привыкания, в результате чего лекарственные препараты перестают действовать. Один из способов замедления развития резистентности, а также её преодоления связан с использованием комплексов (комбинаций) антибиотиков.

В этой связи разрабатывались соответствующие комбинированные противомикробные препараты, содержащие в качестве действующего начала смеси различных антибиотиков [1–5] и др. Вместе с тем даже при использовании современных комбинированных противомикробных препаратов возникают серьёзные побочные эффекты в виде нарушения гемопоэза, функции печени и почек. Для преодоления этих негативных последствий разработаны лекарственные препараты направленного действия, иммобилизованные на полимерах [6–8]. Полимерсодержащие системы также обладают пролонгированным действием за счёт замедленного высвобождения антибиотика из полимерной матрицы. Поскольку основным объектом

воздействия являются клетки или макромолекулы (рецепторы и ферменты), то и размер частиц разрабатываемых препаратов должен быть того же порядка, что и размер биомишеней, т.е. находиться в нанометровом или в субмикронном диапазонах.

Особый интерес представляют исследования по созданию полимерных лекарственных форм, содержащих два или большее количество совместимых антибиотиков. В работе [9] приводятся данные по получению микрочастиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA), содержащих изониазид и рифампицин. При введении препарата мышам, инфицированным микобактериями туберкулёза штамма H37Rv, подкожно в виде однократной дозы наблюдался лечебный эффект в течение шести недель. Активность комплексного препарата была выше, чем суммарный эффект от применения тех же антибиотиков, но раздельно.

В работе [10] опубликованы результаты исследований комбинации, состоящей из антибиотиков изониазида, рифампицина и пиразинамида, включённых в полимерную матрицу на основе PLGA. Средний размер частиц, полученных методом эмульгирования, составлял от 186 до 290 нм. Изучение специфической активности комплексного препарата проводилось на нелинейных морских свинках (самках) Хартли (Hartley) аэрозольно инфицированных микобактерией туберкулёза штамма H37Rv. Отмечена бóльшая эффективность лечения животных комплексным препаратом антибиотиков в полимерной форме, в сравнении с указанными антибиотиками в традиционной лекарственной форме. Имеется ещё ряд работ, которые также подтверждают перспективность данного направления исследований [11, 12].

Цель исследования – получение комплексных полимерных композиций, имеющих в своём составе антибиотики линезолид, рифабутин, протионамид, а также сополимер молочной и гликолевой кислот, поливиниловый спирт (ПВС) и D-маннитол, методом эмульгирования и изучение их антибактериальной активности в опытах *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие основные материалы: линезолид, ≥ 98 % (PZ0014 «Sigma», США); рифабутин, > 98 % («Taizhou Tianrui Chempharm Co. Ltd.», Китай); протионамид, > 99 % («Pen Tsao Chemical & Pharmaceutical Industry Co., Ltd.», Китай); сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA 50/50) PDLG 5004, Inherrent viscosity 0.41 dL/g («PURAC biochemicals», Нидерланды); поливиниловый спирт, 87–90 % hydrol., averagemol. wt 30,000–70,000 («Sigma-Aldrich», США); D-маннитол, ≥ 99 % («Sigma-Aldrich», США); метиленхлорид (дихлорметан), х.ч., ТУ 6-09-2662-77 («Химмед Синтез», РФ); хлороформ (трихлорметан), х.ч., ТУ 2631-001-29483781-04 («Химмед Синтез», РФ).

Изучение антибактериальной активности образцов осуществляли в отношении контрольных штаммов микроорганизмов: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Mycobacterium spp. (R).* Тест-штаммы хранились при температуре –75 °C в триптиказо-соевом бульоне (BBL) с 10 %-ным глицерином. Для активации бактериальные тест-микроорганизмы высевали на агаризованную среду и инкубировали в течение ночи (примерно 18 ч) при температуре (36±1 °C).

В исследовании использовано следующее основное технологическое и аналитическое оборудование: погружной гомогенизатор Ultra-Turrax® T-25 basicc диспергирующей насадкой S25N-25F (IKA®, Германия); лиофильная сушилка («Christ®AlphaI-6», Германия); анализатор частиц Zetasizer Nano ZSZEN 3600 («Malvern Instruments Ltd.», Великобритания); жидкостный хроматограф Agilent 1200 series с диодно-матричным детектором G 1315C, бинарным двухканальным насосом G 1312B, термостатом колонок, дегазатором, автосамплером G 1367C («Agilent Technologies», США).

Полимерная композиция линезолид + рифабутин в PLGA (LR–PLGA). К 24,00 г 0,5%-ного раствора ПВС в фосфатно-солевом буферном растворе, pH 7,4 (PBS) при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке (750 об/мин) в высоком цилиндрическом сосуде вместимостью 150 мл порциями по 0,5 мл прикапывали раствор 0,0203 г линезолида и 0,1018 г полимера PLGA 50/50 в 3 мл дихлорметана, перемешивали в течение 5 мин. К полученной смеси прикапывали раствор 0,0203 г рифабутина и 0,1031 г полимера PLGA 50/50 в 3 мл дихлорметана. Перемешивали 8 мин. Эмульгировали смесь погружным гомогенизатором при 24 тыс. об/мин 2 раза по 1 мин с перерывом 1 мин. Эмульсию перегружали в круглодонную колбу вместимостью 250 мл. Упаривали

дихлорметан из эмульсии в вакууме с помощью роторного испарителя. Проводили фильтрование суспензии через стеклянный пористый фильтр (размер пор 40–110 мкм) в грушевидную колбу вместимостью 250 мл. Добавляли в фильтрат раствор 0,0808 г D-маннитола в 1 мл деионизированной воды и перемешивали 10 мин на магнитной мешалке. Затем смесь замораживали, вращая колбу в бане с жидким азотом. Процесс удаления воды проводили на лиофильной сушилке в течение 20 ч. Выход продукта составил 0,4497 г (95% от общей массы взятых ингредиентов – линезолида, рифабутина, полимера, ПВС, D-маннитола и компонентов PBS).

Полимерная композиция линезолид + рифабутин + протионамид в PLGA (LRP–PLGA). При интенсивном перемешивании на магнитной мешалке (750 об/мин) к 24,00 г 0,5%-ного раствора ПВС в PBS порциями прикапывали раствор 0,0200 г линезолида, 0,0200 г рифабутина, 0,0200 г протионамида и 0,2002 г PLGA 50/50 в 6 мл хлороформа. Перемешивали смесь в течение 5 мин. Затем добавляли раствор 0,0200 г рифабутина в 3 мл хлороформа (по 0,5 мл). Перемешивали смесь в течение 5 мин, после чего аналогичным образом добавляли раствор и 0,1012 г полимера PLGA 50/50 в 3 мл хлороформа. Перемешивали 25 мин. Проводили эмульгирование смеси погружным гомогенизатором при 24 тыс. об/мин 3 раза по 1 мин с двумя перерывами 1 мин. Далее процесс проводили аналогично получению композиции LR–PLGA. Перед лиофилизацией к профильтрованной суспензии добавляли раствор 0,0605 г D-маннитола в 1 мл воды и перемешивали 10 мин. Выход продукта составил 0,4385 г (94 % от общей массы взятых ингредиентов).

Полимерная композиция линезолида в PLGA (L–PLGA). При интенсивном перемешивании на магнитной мешалке (750 об/мин) к 24,00 г 0,5%-ного раствора ПВС в PBS порциями прикапывали раствор 0,0202 г линезолида и 0,2002 г полимера PLGA 50/50 в 6 мл дихлорметана, перемешивали смесь в течение 8 мин. Проводили эмульгирование погружным гомогенизатором при 24 тыс. об/мин 2 раза по 1 мин с перерывом 1 мин. Далее процесс проводили аналогично получению композиции LR–PLGA. Перед лиофилизацией к профильтрованной суспензии добавляли раствор 0,1008 г D-маннитола в 1 мл воды и перемешивали. Выход продукта составил 0,4566 г (98 % от общей массы взятых ингредиентов).

Полимерные композиции рифабутина и протионамида в PLGA (R–PLGA и P–PLGA). Композиции R–PLGA и P–PLGA получали по методике, аналогичной получению композиции L–PLGA (см. выше). Количество компонентов (рифабутина, протионамида, PLGA 50/50, D-маннитола и дихлорметана) загружалось аналогичное. В случае протионамида в качестве растворителя использовали хлороформ. Выход продуктов составил приблизительно 98% от общей массы взятых ингредиентов.

Определение размера частиц полимерных композиций. Распределение частиц по размерам в водных суспензиях образцов полимерных композиций определяли методом динамического светорассеяния с использованием анализатора частиц Zetasizer Nano ZSZEN 3600 и программного обеспечения Zetasizer Software 7.11 (Copyright© 2002–2014, «Malvern Instruments Ltd.», Великобритания). Для проведения анализа готовили суспензию, встряхивая 1 мг образца в 5 мл деионизированной воды в течение 1 мин. Измерения проводили при 25 °С.

Определение содержания антибиотиков. Содержание антибиотиков в полимерных композициях определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [13–16].

Изучение антибактериальной активности. Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) осуществляли в 96-луночных планшетах для иммунологических исследований. Готовили серии двукратных разведений в питательной среде Mueller-HintonBroth II (Oxoid) в объёме 50 мкл, штамм *Mycobacterium spp. (R)* – в 100 мкл.

Для приготовления инокулята бактериальных штаммов, за исключением микобактерии, из изолированных колоний готовили суспензию по стандарту мутности McFarland 0,5 в физиологическом растворе. Суспензию разводили в среде Mueller-Hinton Broth II до концентрации 10^5 КОЕ/мл. Приготовленную суспензию вносили по 50,0 мкл в лунки планшета и осуществляли разведение в диапазоне концентраций 128–0,000015 мкг/мл. Инокулированные планшеты инкубировали в течение 18 ч при 37 °С. За МПК принимали наименьшую концентрацию, при которой отсутствовал видимый рост микроорганизмов.

Штамм *Mycobacterium spp. (R)* поддерживался на питательной среде Левенштейна–Йенсена. Анализ минимальной ингибирующей концентрации осуществляли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде Мюлле-

ра–Хинтона с добавлением ОАД (олеиновой кислоты, альбумина бычьего, декстрозы). Инкубацию осуществляли в течение 3–14 дней. Контроль роста оценивали на питательной среде без препарата в той же посевной дозе. Диапазон изучаемых концентраций составлял 128–0,125 мкг/мл. Культуру переносили в физиологический раствор в пробирки со стеклянными бусами, перемешивали на встряхивателе, оставляли до оседания крупных частиц на 10–15 мин и доводили до плотности 5×10^8 КОЕ/мл (1 McF). Инокулят тест-культуры разводили до 10^{-4} степени в бульоне и использовали для титрования. Инкубацию проводили при температуре 37 °С, окончательный результат оценивали после 14 суток роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения комплексных противомикробных полимерных композиций применяли широко известный метод одинарных эмульсий. При этом брали равные массовые соотношения антибиотиков и пятикратный избыток полимера, такие пропорции ранее использовались в работе [17]. В качестве органического растворителя при получении композиции LR–PLGA был выбран дихлорметан, для получения композиции LRP–PLGA использовался хлороформ (вследствие низкой раствори-мости протионамида в дихлорметане). Сополимер PLGA был выбран благодаря его нетоксичности [18]. Кроме того, использование сополимеров молочной и гликолевой кислоты в качестве материалов для медицинского применения разрешено в России и за рубежом.

В качестве стабилизатора эмульсии применяли неионогенное поверхностно-активное вещество – поливиниловый спирт, который используется также для увеличения времени циркуляции частиц в организме [19].

Для усиления ионной стабильности реакционной массы применяли 0,5%-ный раствор ПВС в PBS. В качестве криопротектора в процессе лиофилизации выступал осмотический диуретик D-маннитол. Состав полученных полимерных композиций приведён в табл. 1.

Таблица 1. ***Состав полученных полимерных композиций антибиотиков***

Образец	Расчётное содержание компонента, масс. %						
	Линезолид	Рифабутин	Протионамид	PLGA 50/50	ПВС	D-Маннитол	Неорганические соли
L–PLGA	4,0	–	–	45,0	25,5	20,3	5,2
R–PLGA	–	4,0	–	45,0	25,5	20,3	5,2
P–PLGA	–	–	4,0	45,0	25,5	20,3	5,2
LR–PLGA	4,3	4,3	–	43,5	25,5	17,1	5,2
LRP–PLGA	4,3	4,3	4,3	43,5	25,5	12,9	5,2

Методом ВЭЖХ было определено, что содержание каждого антибиотика в смеси составляет 4,0–4,3% и соответствует расчётному значению (табл. 1).

При анализе водных суспензий образцов полимерных композиций антибиотиков методом динамического светорассеяния было найдено, что средний гидродинамический диаметр частиц составлял 314 нм (LR–PLGA), 487 нм (LRP–PLGA), 300 нм (L–PLGA), 342 нм (R–PLGA) и 371 нм (P–PLGA). Такой размер частиц суспензий приемлем как для перорального, так и для парентерального способов введений [8].

Изучение антибактериальной активности полимерных композиций антибиотиков, проведённое в сравнении с субстанциями антибиотиков по отношению к штаммам микроорганизмов *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Mycobacterium spp. (R)* показало, что чувствительность контрольных штаммов к субстанциям линезолида и рифабутина соответствуют критериям ГОСТ РИСО 20776-1-2010.

Было показано, что тестируемые комплексные полимерные композиции в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и нетуберкулёзного штамма-изолята *Mycobacterium spp. (R)* обладали либо сходной, либо более высокой анти-

бактериальной активностью по сравнению с индивидуальными субстанциями антибиотиков. Более высокая антибактериальная активность была выявлена для полимерной композиции LR–PLGA в отношении штаммов *E. faecalis* и *S. aureus*, а для полимерной композиции LRP– PLGA – в отношении метициллин-устойчивого штамма *S. aureus (MRSA)*. Штамм *Mycobacterium spp. (R)* оказался устойчив к протионамиду, чувствителен к линезолиду и рифабутину, а также к полимерным композициям LR–PLGA и LRP–PLGA. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2. ***Экспериментальные значения минимальной подавляющей концентрации образцов в отношении контрольных штаммов микроорганизмов***

Образец	Минимальная подавляющая концентрация, мкг/мл					
	E. faecalis ATCC 29212	*S. aureus* ATCC 29213	MRSA ATCC 43300	*E. coli* ATCC 25922	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*Mycobacterium spp. (R)*
Линезолид	2	1	1	128	> 128	1,0
L–PLGA	2	1	1	> 128	> 128	1,0
Рифабутин	0,25–0,5	0,0019	0,0039	8	32	0,5–1,0
R–PLGA	0,5	0,0019	0,0039	8	32	1,0
Протионамид	–	–	–	–	–	32
P–PLGA	–	–	–	–	–	32
Линезолид + рифабутин	0,125	0,00095	0,0039	8	32	1,0
LR–PLGA	0,125	0,00095	0,0039	8	32	0,5
Линезолид + рифабутин + протионамид	–	–	–	–	–	1,0
LRP–PLGA	0,125	0,0019–0,0039	0,0019	8	32	1,0

ВЫВОДЫ

1. Получены комплексные полимерные композиции, имеющие в своём составе антибиотики линезолид + рифабутин (LR–PLGA) и линезолид + рифабутин + протионамид (LRP–PLGA), а также сополимер молочной и гликолевой кислот, поливиниловый спирт и D-маннитол. После ресуспендирования образцов полимерных композиций в воде средний гидродинамический диаметр частиц был менее 500 нм.

2. Выявлена более высокая антибактериальная активность для полимерной композиции LR–PLGA в отношении штаммов *E. faecalis* и *S. aureus* по сравнению с индивидуальными субстанциями, а для полимерной композиции LRP–PLGA – в отношении метициллин-устойчивого штамма *S. aureus (MRSA)*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Патент № 2195937 (РФ). Комбинированный противотуберкулёзный препарат (ризобутол). / *В.И. Голышевская, О.В. Демихова, В.В. Ерохин, В.И. Киселёв, М.И. Перельман, Е.С. Северин*.
2. Патент № 2182483 (РФ). Комбинированное противотуберкулёзное средство и способ его получения / ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин».
3. *Соколова Г.Б., Семёнова О.В., Богадельникова И.В. и др.* Майрин-П в комплексной терапии туберкулёза // Антибиотики и химиотерапия. 2002. Т. 47. № 6. С. 18–21.
4. *Куничан А.Д., Соколова Г.Б., Перельман М.И.* Влияние глутоксима на рост лекарственнорезистентных микобактерий туберкулёза при его сочетании с противотуберкулёзными препаратами второго ряда в культуре лёгочной ткани мышей // Антибиотики и химиотерапия. 2002. Т. 47. № 6. С. 18–21.
5. Патент № 21461305 (РФ). Фармацевтический состав, обладающий противотуберкулёзной активностью / *Н.С. Новикова, И.И. Тюляев, Н.И. Юрченко, В.А. Быков, Б.И. Демченко, А.П. Зуев*.

6. Патент № 21439006 (РФ). Способ получения изониазида пролонгированного действия / *В.А. Шкурупий, Ю.Н. Курунов, О.В. Гришин, А.В. Троицкий, Л.А. Богданова, Е.П. Гуляева*.
7. Патент № 21858187 (РФ). Композиция для лечения лёгочных инфекций / *С.Э. Гельперина, А.Е. Гуляев, А.А. Иванов, М.А. Пальцев, Е.С. Северин, С.Е. Северин, И.Н. Скидан*.
8. Патент № 21454988 (РФ). Фармацевтический состав, содержащий нанокапсулы, и способ его получения / *А. Вранккс, М. Демустье, М. Делеер*.
9. *Dutt M., Khuller G.K.* Therapeutic Efficacy of Poly(DL-Lactide-Co-Glycolide)-Encapsulated Antitubercular Drugs against Mycobacterium tuberculosis Infection Induced in Mice // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2001. V. 45. № 1. P. 363–366.
10. *Johnson C.M., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K., Basaraba R.J., Orme I.M., and Lenaerts A.J.* Oral Therapy Using Nanoparticle-Encapsulated Antituberculosis Drugs in Guinea Pigs Infectedwith Mycobacterium tuberculosis // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005. V. 49. № 10. P. 4335–4338.
11. *Mitchison D.A., Fourie P.B.* The near future: Improving the activity of rifamycins and pyrazinamide // Tuberculosis. 2010. V. 90. P. 177–181.
12. Патент № 2327459 (РФ). Лекарственное средство противомикробного действия, способ получения лекарственного препарата направленного действия, содержащего наночастицы / *Е.С. Северин, Л.Н. Крюков, Е.А. Воронцов, С.Л. Кузнецов, Т.А. Помазкова*.
13. *Кузнецова И.Г., Дубовик Е.Г., Дубовик Н.С., Комаров Т.Н. и др.* Биораспределение полимерной транспортной формы рифабутина // Вестник РАМН. 2015. Т. 70. № 3. С. 366–371.
14. *Huang J., Chen Z., Li Y., Li L., Zhang G.* Rifapentine-linezolid-loaded PLGA microspheres for interventional therapy of cavitary pulmonary tuberculosis: preparation and *in vitro* characterization // Drug Des. Devel. Ther. 2017. V. 11. P. 585–592.
15. *Guo Z.Y., Zhang Q.* Preparation and evaluation of lung targeting microspheres for protionamide *in vitro* and *in vivo* // Chin. Pharm. J. 2012. V. 47. № 22. P. 1834–1838.
16. *Lunn G.* HPLC Methods for pharmaceutical analysis. V. 4: P-Z. John Wiley & Sons. 2000. P. 612.
17. *Novikova A.A., Zavarzina V.V., Vorontcov E.A., Severin S.E., Severin E.S.* Preparation of polymeric composition of linezolidand study of its antimicrobial activity *in vitro* // Nanotechnologies in Russia. 2014. V. 9. № 7–8. P. 453–456.
18. *Штильман М.И.* Полимеры медико-биологического назначения. М.: Академкнига. 2006. 400 с.
19. Патент № 2257198 (РФ). Композиции микрочастиц и способы их получения / *Д.-Х. Фанг, М. Сингх, Д. О`Хэйган, М. Хора*.

Поступила после доработки 15 января 2018 г.

THE COMPLEX POLYMER COMPOSITIONS BASED ON ANTIBIOTICS LINEZOLID, RIFABUTIN, PROTIONAMIDE

© Authors, 2018

A.I. Murav'eva
Laboratory Assistant Researcher, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)
E-mail: anna_muraveva_91@mail.ru
V.V. Zavarzina
Junior Research Scientist, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)
N.V. Gukasova
Ph.D. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)
S.L. Kuznetsov
Senior Research Scientist, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)
I.A. Tubasheva
Ph.D. (Chem.), Leading Research Scientist, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)
E.A. Vorontsov
Ph.D. (Chem.), Leading Research Scientist, Laboratory of Cell Biology and Molecular Medicine,
Scientific Research Center «Kurchatov Institute» (Moscow)

One of the ways to increase the effectiveness of drugs is to create a transport system for their delivery to the target organ, by including the drug in the biodegradable polymer. The aim of the study was to obtain complex antimicrobial compositions include antibiotics linezolid, rifabutin, protionamide, as well as a copolymer of lactic and glycolic acids, D-mannitol and polyvinyl alcohol; to study the antimicrobial activity of the obtained polymer compositions of antibiotics against gram-positive, gram-negative bacteria and the nontuberculous strain-isolate *Mycobacterium spp (R).*

The polymer compositions of antibiotics were prepared by the method of simple emulsions. The particle size distribution of the polymer composition samples was determined by the dynamic light scattering method in the aqueous suspension. The content of antibiotics was determined in the polymer compositions by high performance liquid chromatography (HPLC). The antibacterial activity of the samples was studied for control strains of microorganisms: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Mycobacterium spp (R).* The results and discussion: equal mass ratios of antibiotics and a fivefold excess of polymer were taken to obtain complex polymer compositions. The content of each antibiotic was 4.0–4.3% in the polymer compositions. The average hydrodynamic diameter of the particles was 314 nm (LR PLGA), 487 nm (LRP PLGA), 300 nm (L PLGA), 342 nm (R PLGA) and 371 nm (P PLGA). The complex polymer compositions in respect to the tested strains of bacteria had a similar or higher antibacterial activity than the individual antibiotic substances in respect to the tested strains of bacteria. The conclusion: the complex polymer compositions linezolid + rifabutin (LR-PLGA) and linezolid + rifabutin + protionamide (LRP-PLGA) complexes were obtained. Higher antibacterial activity was observed for the polymer composition LR-PLGA against *E. faecalis* and *S. aureus* strains as compared to individual substances, and for the polymer composition LRP-PLGA against the methicillin resistant strain *S. aureus* (MRSA).

Key words*: antibiotics; linezolid, rifabutin; protionamide; PLGA; polymer particles; antibacterial activity.*

For citation: Muraveva A.I., Zavarzina V.V., Gukasova N.V.,. Kuznetsov S.L, Tubasheva I.A., Vorontsov E.A. The complex polymer compositions based on antibiotics linezolid, rifabutin, protionamide. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(5):27–33. **DOI: 10.29296/25877313-2018-05-05**

REFERENCES

1. Patent № 2195937 (RF). Kombinirovannyj protivotuberkulyoznyj preparat (rizobutol). / V.I. Golyshevskaya, O.V. Demihova, V.V. Erohin, V.I. Kiselyov, M.I. Perel'man, E.S. Severin.
2. Patent № 2182483 (RF). Kombinirovannoe protivotuberkulyoznoe sredstvo i sposob ego polucheniya. / OAO «Himiko-farmacevticheskij kombinat «Akrihin».
3. Sokolova G.B., Semyonova O.V., Bogadel'nikova I.V. i dr. Majrin-P v kompleksnoj terapii tuberkulyoza // Antibiotiki i himioterapiya. 2002. T. 47. № 6. S. 18-21.
4. Kunichan A.D., Sokolova G.B., Perel'man M.I. Vliyanie glutoksima na rost lekarstvennorezistentnyh mikobakterij tuberkulyoza pri ego sochetanii s protivotuberkulyoznymi preparatami vtorogo ryada v kul'ture lyogochnoj tkani myshej // Antibiotiki i himioterapiya. 2002. T. 47. № 6. S. 18-21.
5. Patent № 21461305 (RF). Farmacevticheskij sostav, obladayushchij protivotuberkulyoznoj aktivnost'yu. / N.S. Novikova, I.I. Tyulyaev, N.I. YUrchenko, V.A. Bykov, B.I. Demchenko, A.P. Zuev.
6. Patent № 21439006 (RF). Sposob polucheniya izoniazida prolongirovannogo dejstviya. / V.A. SHkurupij, YU.N. Kurunov, O.V. Grishin, A.V. Troickij, L.A. Bogdanova, E.P. Gulyaeva.
7. Patent № 21858187 (RF). Kompoziciya dlya lecheniya lyogochnyh infekcij. / S.EH. Gel'perina, A.E. Gulyaev, A.A. Ivanov, M.A. Pal'cev, E.S. Severin, S.E. Severin, I.N. Skidan.
8. Patent № 21454988 (RF). Farmacevticheskij sostav, soderzhashchij nanokapsuly, i sposob ego polucheniya. / A. Vrankks, M. Demust'e, M. Deleer.
9. Dutt M., Khuller G.K. Therapeutic Efficacy of Poly(DL-Lactide-Co-Glycolide)-Encapsulated Antitubercular Drugs against Mycobacterium tuberculosis Infection Induced in Mice. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2001. V. 45. № 1. P. 363-366.
10. Johnson C.M., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K., Basaraba R.J., Orme I.M., and Lenaerts A.J. Oral Therapy Using Nanoparticle-Encapsulated Antituberculosis Drugs in Guinea Pigs Infectedwith Mycobacterium tuberculosis // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005. V. 49. № 10. P. 4335-4338.
11. Mitchison D.A., Fourie P.B. The near future: Improving the activity of rifamycins and pyrazinamide // Tuberculosis. 2010. V. 90. P. 177-181.
12. Patent № 2327459 (RF). Lekarstvennoe sredstvo protivomikrobnogo dejstviya, sposob polucheniya lekarstvennogo preparata napravlennogo dejstviya, soderzhashchego nanochasticy. / E.S. Severin, L.N. Kryukov, E.A. Voroncov, S.L. Kuznecov, T.A. Pomazkova.
13. Kuznecova I.G., Dubovik E.G., Dubovik N.S., Komarov T.N. i dr. Bioraspredelenie polimernoj transportnoj formy rifabutina // Vestnik RAMN. 2015. T. 70. № 3. S. 366-371.
14. Huang J., Chen Z., Li Y., Li L., Zhang G. Rifapentine-linezolid-loaded PLGA microspheres for interventional therapy of cavitary pulmonary tuberculosis: preparation and in vitro characterization. // Drug Des. Devel. Ther. 2017. V. 11. P. 585-592.
15. Guo Z.Y., Zhang Q. Preparation and evaluation of lung targeting microspheres for protionamide in vitro and in vivo // Chin. Pharm. J. 2012. V. 47. № 22. P. 1834-1838.
16. Lunn G. HPLC Methods for Pharmaceutical Analysis. Volume 4: P-Z. John Wiley & Sons. 2000. P. 612.
17. Novikova A.A., Zavarzina V.V., Vorontcov E.A., Severin S.E., Severin E.S. Preparation of Polymeric Composition of Linezolidand Study of its Antimicrobial Activity In Vitro // Nanotechnologies in Russia. 2014. V. 9. № 7-8. P. 453-456.
18. Shtil'man M.I. Polimery mediko-biologicheskogo naznacheniya. M.: Akademkniga. 2006. 400 s.
19. Patent № 2257198 (RF). Kompozicii mikrochastic i sposoby ih polucheniya. / D.-H. Fang, M. Singh, D. O`Hehjgan, M. Hora.