



MNUMS

Mongolian National University of Medical Sciences

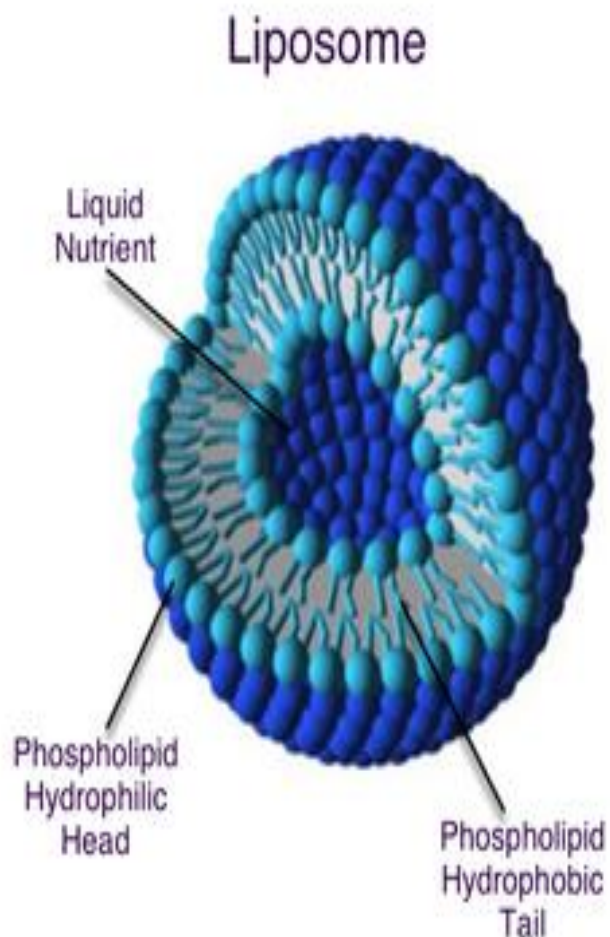
1942

SCHOOL OF
BIOMEDICINE

Инновационные способы доставки антибиотиков посредством липосом

Ариунсанаа Бямбаа, д. мед. н., профессор
Монгольский национальный университет
медицинских наук, г. Улан-Батор,
Монголия

Актуальность работы:



Липосомы представляют собой везикулы, состоящие из одной или нескольких фосфолипидных мембран, внутри липосом находится водное пространство. В водное пространство липосом могут быть включены водорастворимые препараты, а в липидный бислой - гидрофобные.

Липосомы способны транспортировать лекарственное средство, снижать его общетоксическое действие, увеличивать терапевтический эффект.



МОНГОЛ УЛС
ШИНЭ БҮТЭЭЛИЙН
ПАТЕНТ

№ 2533

Монгол Улсын Засгийн Газрын эрх олгосноор

Монгол Улсын Шадар сайдын 2005 оны 87-р тушаалаар

Б.Ариунсанаа - Д

энэхүү патент олгов.

Шинэ бүтээлийн нэр:

Липосомтой нүүрний тосны
найрлага

Шинэ бүтээлийн зохиогч:

Б.Ариунсанаа

Мэдүүлгийн улсын бүртгэлийн дугаар 3411

Бүртгэлийн огноо: 2004.08.02.

Давамгайлах огноо: ..

Энэхүү патент нь 2005 оны 06 сарын
09 өдрөөс эхлэн Монгол Улсын нутаг
дэвсгэрт 20 жил хүчинтэй.

Монгол Улсын Шадар сайд

Ч.УЛААН

Улаанбаатар хот



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpharm



Azithromycin-loaded liposomes for enhanced topical treatment of
methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections

Zora Rukavina^a, Maja Šegvić Klarić^b, Jelena Filipović-Grčić^a, Jasmina Lovrić^a, Željka Vanić^{a,*}

^a University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Pharmaceutical Technology, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

^b University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Microbiology, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

ARTICLE INFO

Keywords:

Elastic liposomes
Cationic liposomes
Azithromycin
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
(MRSA)
Biofilm
Biocompatibility

ABSTRACT

Antibiotic delivery via liposomal encapsulation represents a promising approach for the efficient topical treatment of skin infections. The present study aimed to investigate the potential of using different types of azithromycin (AZT)-loaded liposomes to locally treat skin infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. Conventional liposomes (CLs), deformable liposomes (DLs), propylene glycol-containing liposomes (PGLs) and cationic liposomes (CATLs) encapsulating AZT were prepared, and their physical characteristics, drug release profiles, *ex vivo* skin penetration/deposition abilities, *in vitro* anti-MRSA activities (planktonic bacteria and biofilm) and cell biocompatibilities were assessed. The (phospho)lipid composition and presence of surfactant or propylene glycol affected the physical characteristics of the liposomes, the release profile of AZT, its deposition inside the skin, as well as *in vitro* antibacterial efficacy and tolerability with the skin cells. All the liposomes retained AZT inside the skin more efficiently than did the control and were biocompatible with keratinocytes and fibroblasts. CATLs, DLs and PGLs efficiently inhibited MRSA strain growth and were superior to free AZT in preventing biofilm formation, exhibiting minimal inhibitory concentrations and minimal biofilm inhibitory concentrations up to 32-fold lower than those of AZT solution, thus confirming their potential for improved topical treatment of MRSA-caused skin infections.

1. Introduction

Bacterial infections of the skin and soft tissues are the most frequent disorders encountered in acute ambulatory care, and the majority of primary skin infections are caused by *Staphylococcus aureus*. The substantial challenge in managing *S. aureus* infection is antibiotic resistance, as demonstrated by the development of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains and accompanying biofilms. Complex staphylococcal skin infections, such as erysipelas, cellulitis, impetigo, folliculitis, dermatitis, diabetic ulcers, chronic and postoperative wounds, in association with co-morbid conditions and/or bacteremia may lead to

2005; Kennedy et al., 2010; Lee et al., 2013).

Topical antibiotic application is fundamental for the treatment of skin infections; however, the effectiveness of antibiotics is often reduced due to an insufficient local drug concentration, increased antibiotic-resistant strains, biofilm formation or inability of the drug to reach the site of action. Therefore, these conditions require treatment with high doses of potent oral or parenteral antibiotics (Fung et al., 2003), which may result in a significant incidence of side effects, possible allergic reactions, patient inconvenience and an enhanced risk of antibiotic resistance development. The use of nanopharmaceuticals represents a promising strategy for the effective topical delivery of

Цель исследования

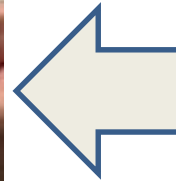
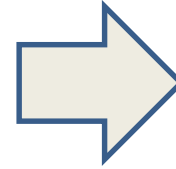
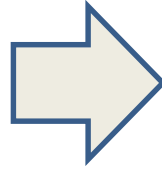
- Разработать липосомальную мазевую основу доксицилина, азитромицина, кларитромицина для локального лечения кожных инфекций, вызванных устойчивыми к метициллину *штаммами Staphylococcus aureus* (MRSA).

Задачи исследования

- Разработать состав и технологию получения на мазевой основе липосомальных форм доксицилина, азитромицина и кларитромицина.

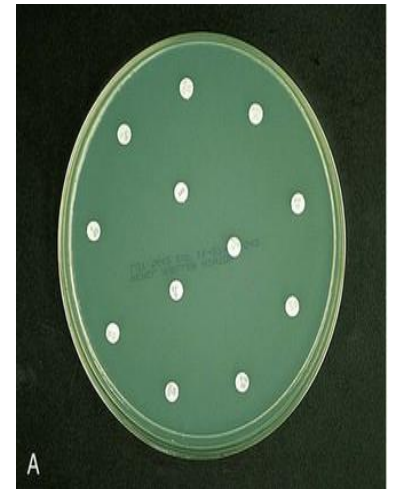
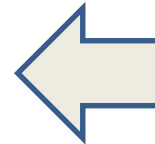
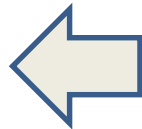
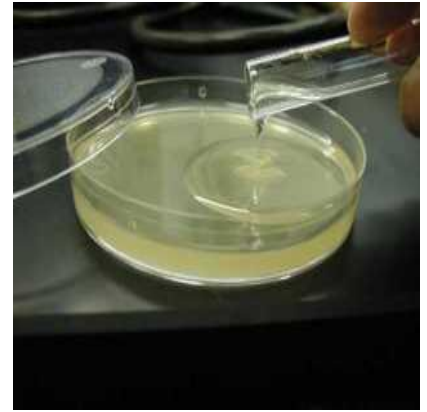
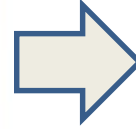
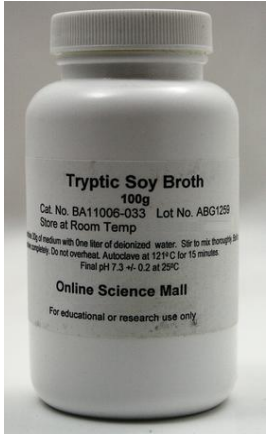
Методы:

- Для приготовления липосом использовали фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилглицерин (ФХ), обычные липосомы (СL) методом гидратации пленки (Palas et al.). al., 2014). Фосфолипиды и доксициклин, кларитромицин, азитромицин растворяли в концентрированном этаноле (3 мл) в круглодонном флаконе.
- Этанол полностью удаляли при 40° С с использованием роторного вакуумного испарителя (Büchi Rotavapor R-124, China) и высушенного липидного слоя (пленку), гидратировали путем добавления 5 мл PBS (0,01 М, рН 7,5) при комнатной температуре.

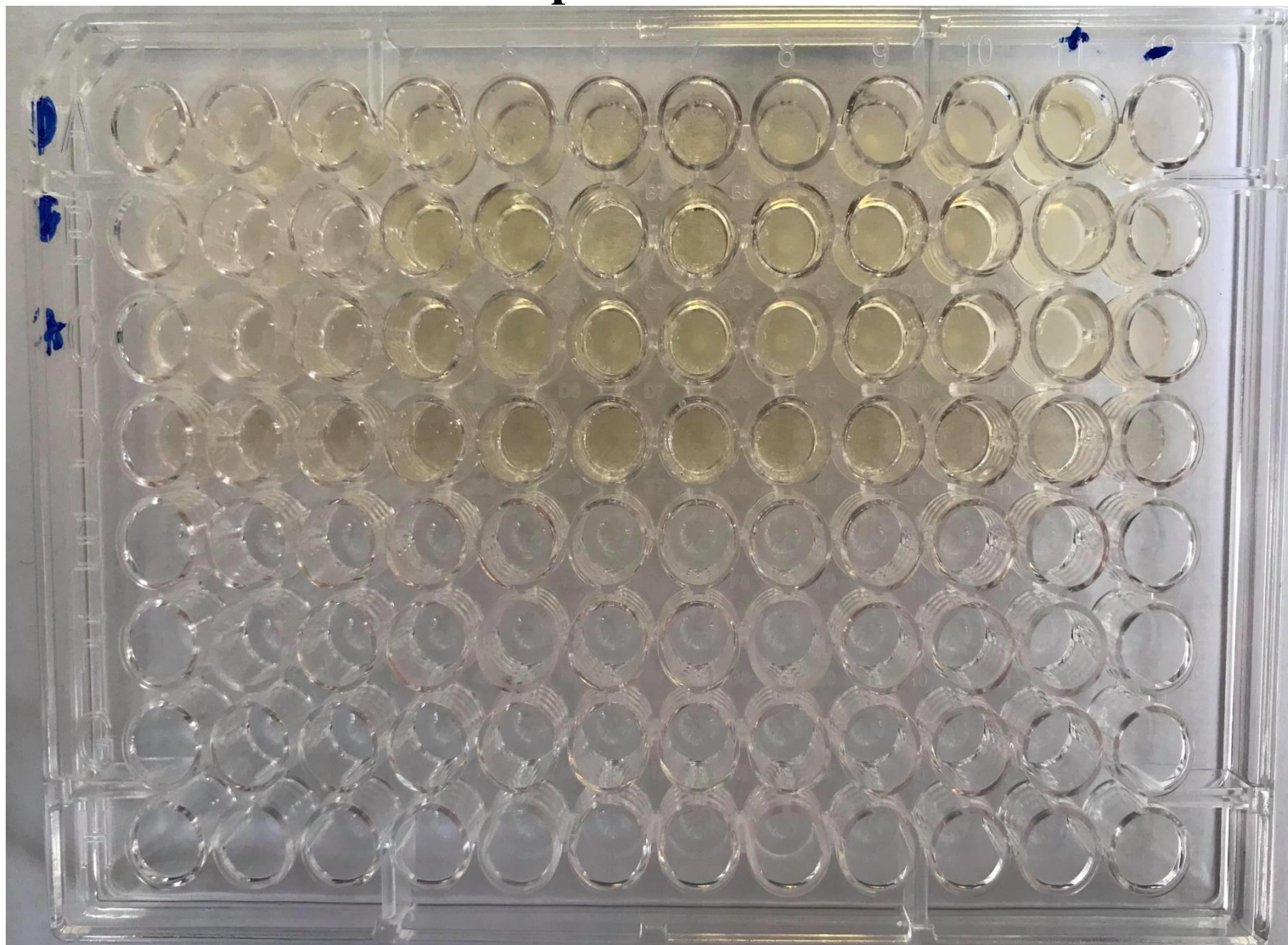


Определение путем скрининга на концентрациях дисковой диффузией

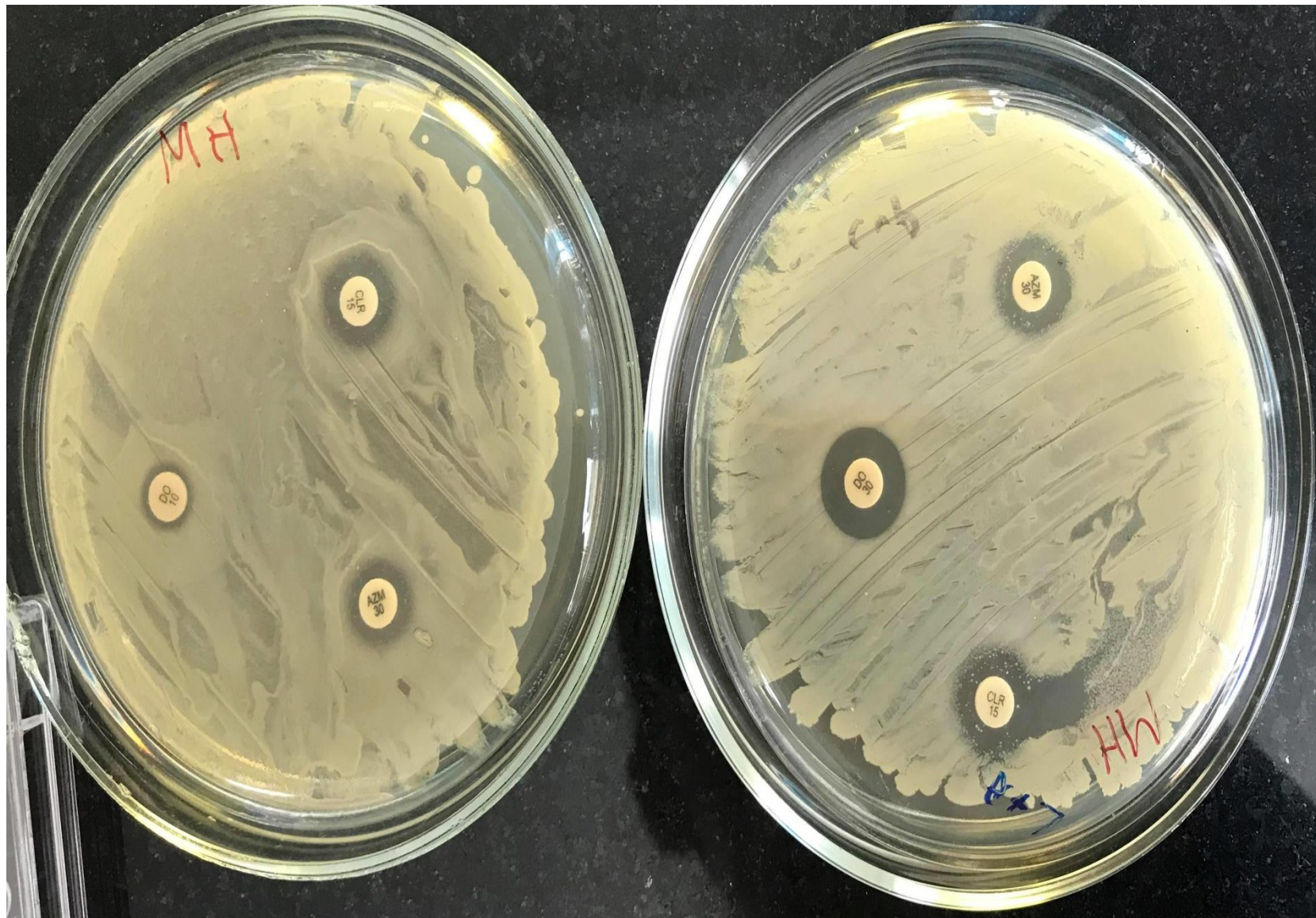
- Использовали среду Trypsin soy broth.
- Готовили среду из антибиотикосодержащей липосомальной мази, взяли 0,02 г и смешивали с DMSO.
- Бактерии / MRSA / были погружены в изготовленные бумаги.
- Результат оценивали после инкубации при 37°C 24 часа.



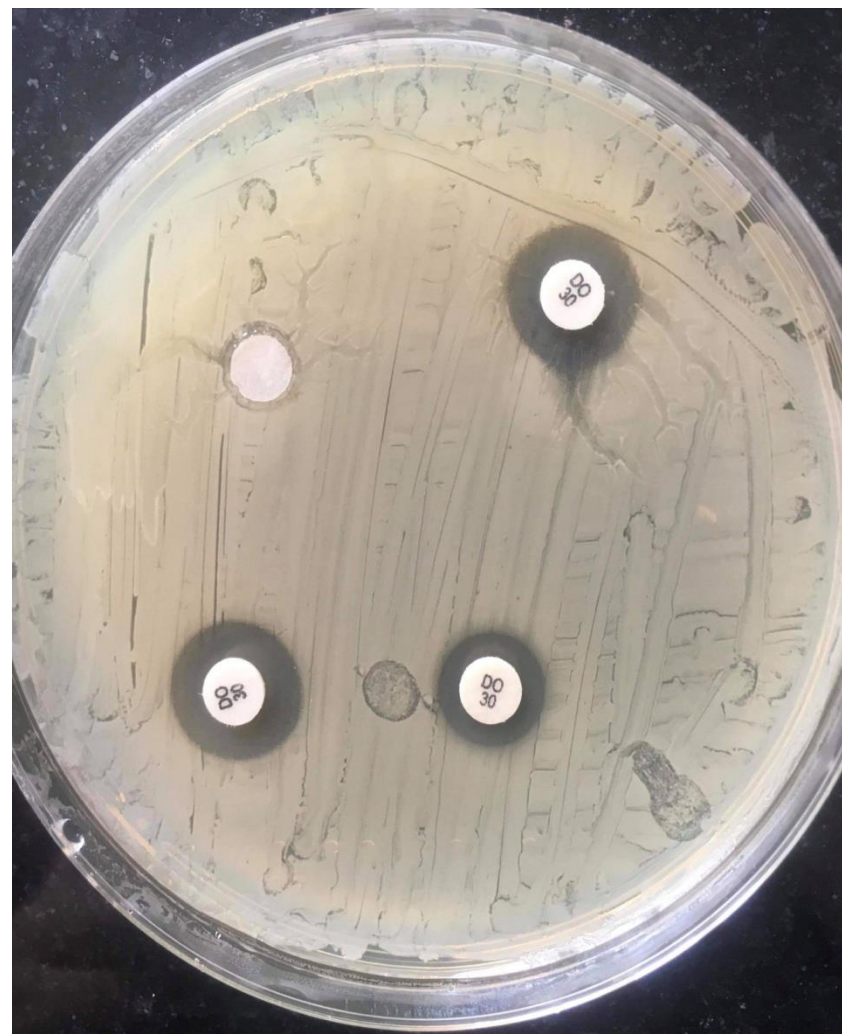
**Минимальные ингибирующие концентрации -
доксциклин 10^5 , кларитромицин 10^3 , азитромицин
 10^2 в разведениях.**



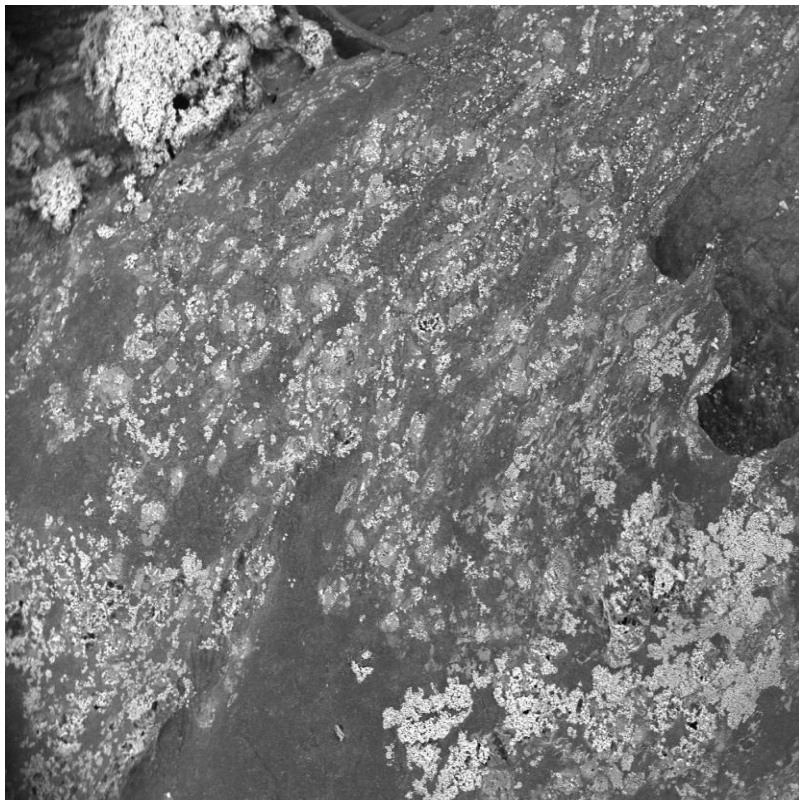
Результаты



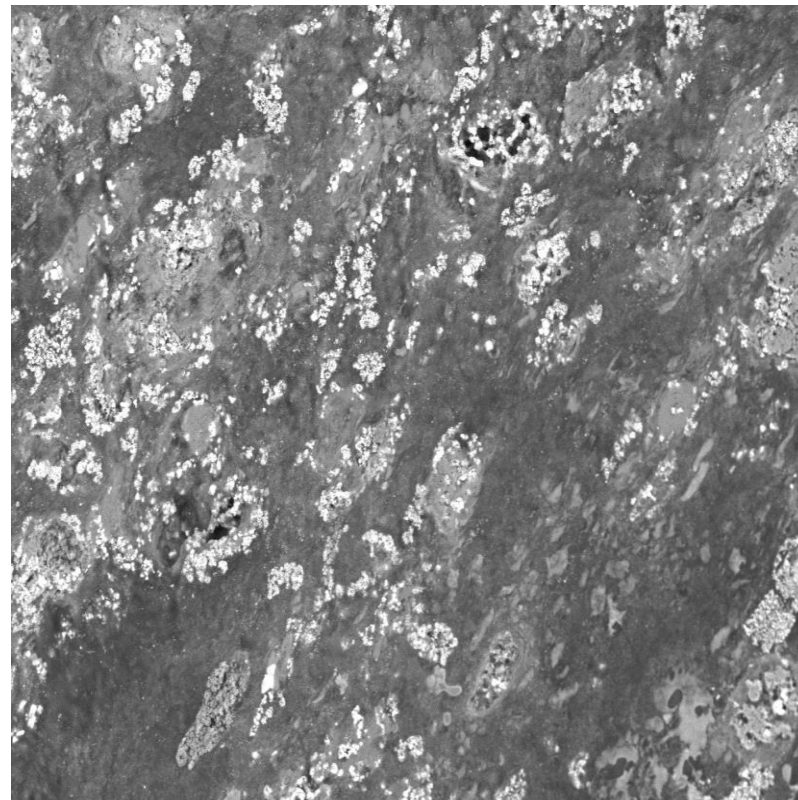
Чувствительность к антибиотикам (доксциклину, кларитромицину, азитромицину) определяли путем скрининга на концентрациях дисковой диффузии



Результаты электронно-микроскопического исследования

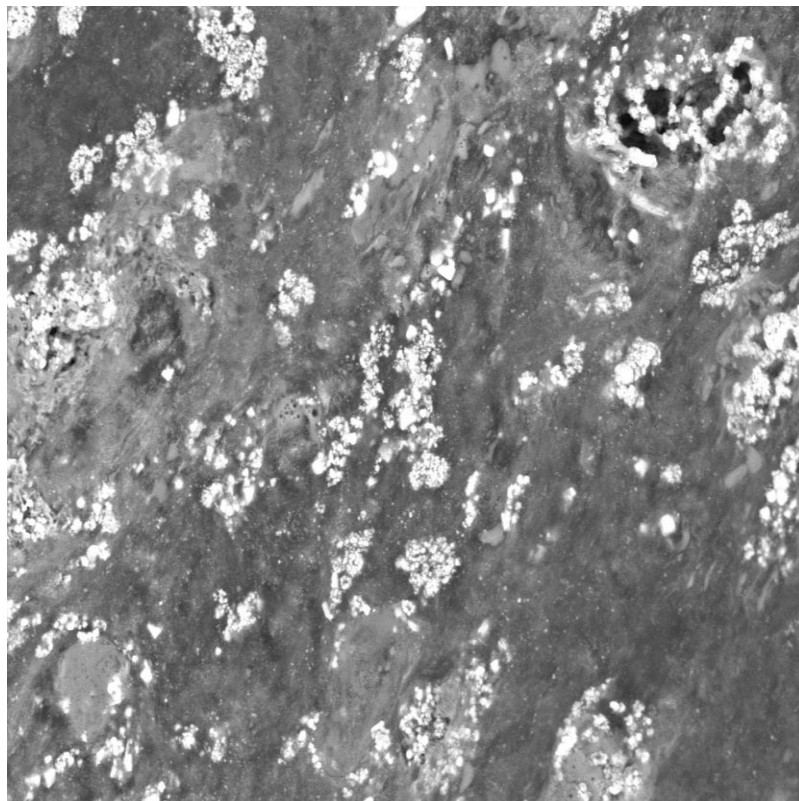


2018/12/14 D4.3 x150 500 um

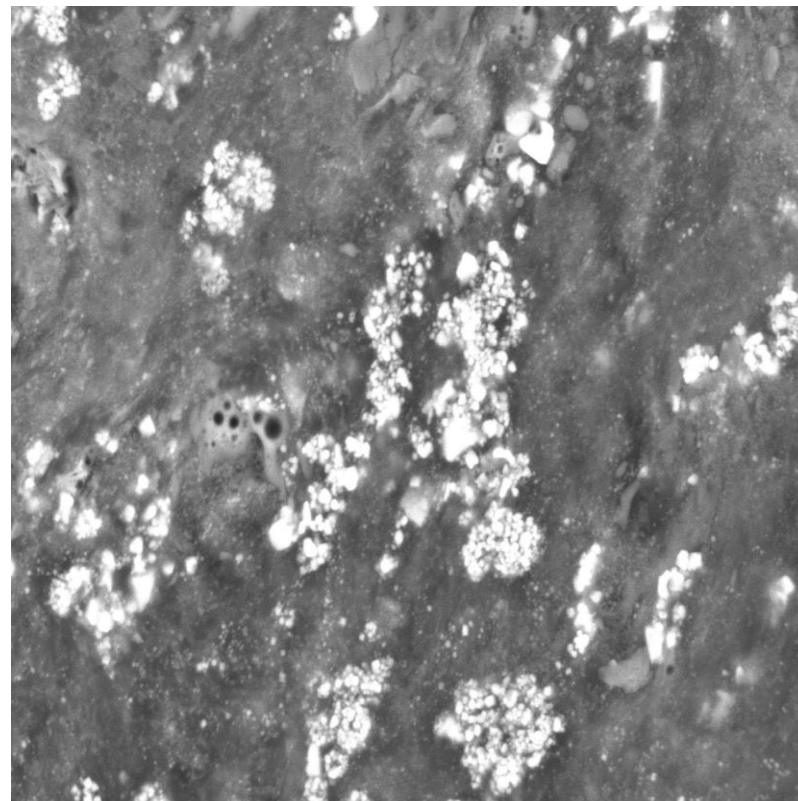


2018/12/14 D4.3 x500 200 um

Результаты электронно-микроскопического исследования

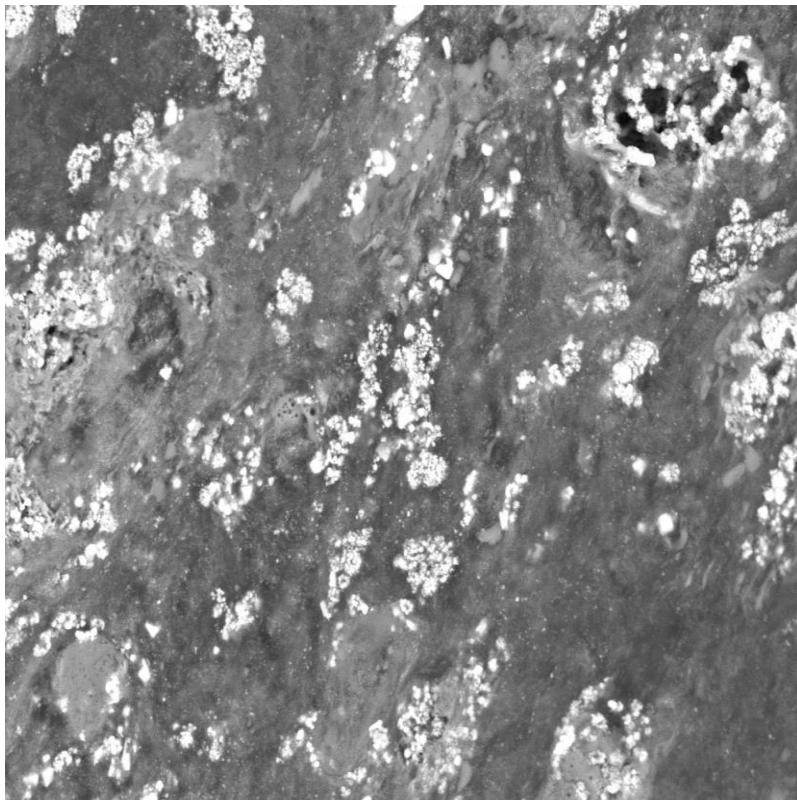


2018/12/14 D4.4 x1.0k 100 um

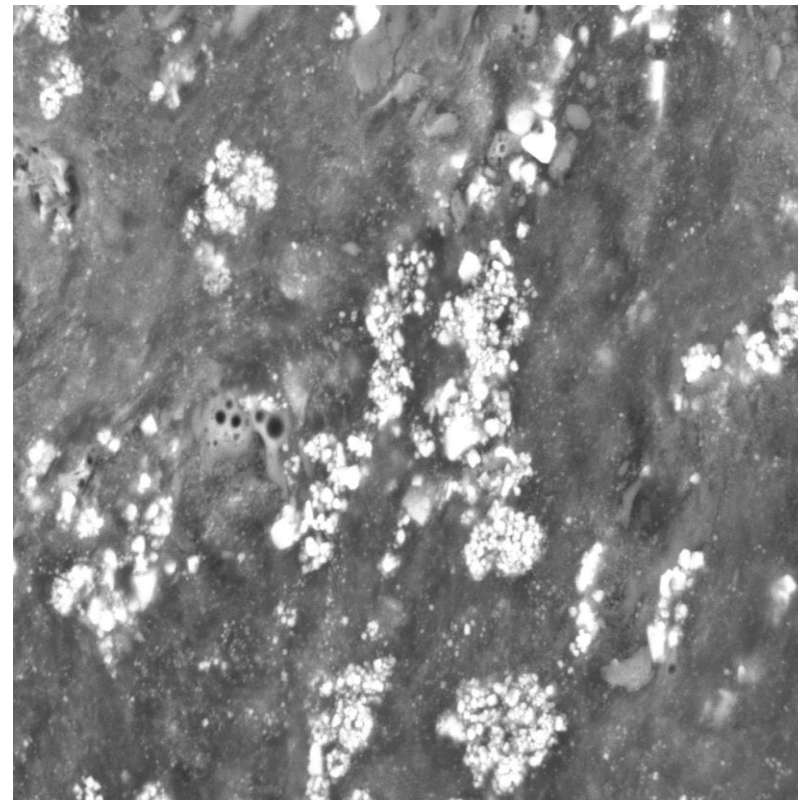


2018/12/14 D4.3 x2.0k 30 um

Результаты электронно-микроскопического исследования: иммобилизованные в липосомы витамины С, Е



2018/12/14 D4.4 x1.0k 100 um



2018/12/14 D4.3 x2.0k 30 um

Мы заразили 2 лабораторных мышей, штаммами *Staphylococcus aureus* (MRSA) стандартной мутностью 10^8 .



24 часа



48 часов

Полученная на мазевой основе липосомальная форма доксициклина эффективно ингибировала рост штамма MRSA и продемонстрировала минимальные ингибирующие концентрации доксициклина – 10^3 , кларитромицина – 10^3 , азитромицина – 10^2 в разведениях



12 суток



24 суток

Выводы

Результаты исследования являются основанием для изучения возможности использования липосом, нагруженных доксициклином, кларитромицином, азитромицином, для лечения кожных инфекций, вызванных MRSA.