

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 245017 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **437519**

(22) Data zgłoszenia: **2021.04.08**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.04.11 BUP 15/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.04.22 WUP 17/2024**

(51) MKP:

A61K 33/38 (2006.01)

A61K 31/122 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

UNIWERSYTET GDAŃSKI, Gdańsk, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

MARTA KRYCHOWIAK-MAŚNICKA, Gdańsk, PL

ALEKSANDRA KRÓLICKA, Gdańsk, PL

**ALEKSANDRA BIELICKA-GIEŁDOŃ,
Gdańsk, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Justyna Pawłowska-Bajerska,
Gdynia, PL**

(54) Tytuł:

Mieszanina naftochinonu i srebra oraz zastosowanie mieszaniny jako środka przeciwbakteryjnego do zwalczania Pseudomonas aeruginosa

PL 245017 B1

Opis wynalazku

Wynalazek dotyczy sposobu aktywacji właściwości bakteriobójczych wybranego naftochinonu, wobec naturalnie odpornej pałeczki ropy błękitnej *Pseudomonas aeruginosa* za pomocą nanocząstek srebra, a tym samym za pomocą mieszaniny tych czynników. Wynalazek dotyczy również medycznego zastosowania mieszaniny do zwalczania *P. aeruginosa* oraz zastosowania tej mieszaniny jako środka do działania przeciwbakteryjnym, zwłaszcza do stosowania zewnętrznym, np. na skórę lub rany.

Zjawisko antybiotykoodporności mikroorganizmów, tj. zdolność do namnażania się w obecności antybiotyku, jest coraz powszechniejszym problemem, z którym musi mierzyć się medycyna. Wraz z rosnącą liczbą drobnoustrojów wykazujących oporność na coraz większy zakres antybiotyków, zmniejsza się pula możliwych terapii stosowanych w leczeniu zakażeń, a tym samym rośnie zagrożenie zdrowia i życia ludzkiego. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) i Amerykańskie Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorób (CDC) wskazują w swoich najnowszych raportach, że w związku z nastąpieniem ery post-antybiotykowej niezbędne jest zastosowanie zrównoważonych strategii prewencji i leczenia chorób zakaźnych [1, 2].

Pseudomonas aeruginosa jest gram-ujemną bakterią oraz oportunistycznym patogenem człowieka i zwierząt, charakteryzującym się znaczącą wirulencją. *P. aeruginosa* wykazuje naturalną oporność na wiele cząsteczek chemicznych, które są aktywne wobec innych patogenów [3]. W przypadku infekcji ran oparzeniowych *P. aeruginosa* jest jednym z najczęściej izolowanych gatunków bakterii i stanowi szczególny problemem w ich leczeniu ze względu na wielolekooporność ograniczającą możliwości terapeutyczne [4]. Poza antybiotykami, w terapiach ran oparzeniowych z dużym powodzeniem stosowane jest srebro jonowe, tj. azotan srebra i sulfadiazyna srebra [5]. Niemniej jednak, coraz częściej obserwowane jest zjawisko nabywania oporności na preparaty zawierające srebro przez patogeny infekujące rany [6]. Niezbędne jest więc opracowanie strategii umożliwiających opóźnienie lub zniesienie wykształcania bakteryjnej oporności oraz rozszerzenie możliwości terapeutycznych.

Znane jest działanie pewnych wybranych związków chemicznych z grupy 1,4-naftochinonów wobec niektórych bakterii gram-dodatnich i grzybów [7]. Niemniej jednak, bakterie gram-ujemne wykazują umiarkowaną oporność na 1,4-naftochinony lub pozostają na nie całkowicie odporne jak w przypadku *P. aeruginosa*, co opisano dla niektórych związków z grupy 1,4-naftochinonów [3].

Wiele danych literaturowych [8, 9] ujawnia informacje o srebrze w postaci jonowej lub w postaci nanocząstek jako środka bakteriobójczego. Nie opisano dodatku naftochinonu, który, jak okazało się według prac nad wynalazkiem stanowi istotny komponent warunkujący ulepszoną skuteczność preparatu w porównaniu do preparatów zawierających wyłącznie srebro.

W publikacji [10] opisano wysoko zmodyfikowane pochodne naftochinonów, tzn. strukturę naftochinonu zmodyfikowaną znacząco na różne sposoby, dodając do niego wiele pierścieni fenolowych i innych grup chemicznych, co znacząco zmienia charakter chemiczny i właściwości biologiczne powstałych substancji. Wśród wyników badań aktywności przeciwbakteryjnej związków nie ma 1,4-naftochinonu oraz nie ma prostych struktur chemicznych opartych na dwóch pierścieniach węglowych i prostych podstawnikach właściwych dla 1,4-naftochinonów, w tym dla 2-metylo-1,4-naftochinonu. Co więcej, najniższym stężeniem hamującym charakteryzowały się wyłącznie dwa związki, a znakomita większość badanych pochodnych naftochinonów działała hamująco w stężeniu 250–500 µg/mL. Należy podkreślić, że stężenia powyżej 250 mg/L są stężeniami na granicy rozpuszczalności naftochinonów w pożywce mikrobiologicznej. Opublikowano w inne stężenie hamujące, tj. MIC, w większości przypadków stężeniem niższym niż stężenie bakteriobójcze, tj. MBC, a wynika to z faktu, że wzrost drobnoustrojów jest procesem zaburzonym w pierwszej kolejności, a działanie bakteriobójcze wymaga uruchamiania odmiennych zmian w komórce bakteryjnej pod wpływem działania substancji. Tym samym, publikacja nie potwierdza aktywności 1,4-naftochinonów, w tym 2-metylo-1,4-naftochinonu, wobec *P. aeruginosa*.

W publikacji [11] ujawniono mieszaninę naftochinonów i nanocząstek srebra. Niemniej jednak mieszanina wskazana w publikacji różni się zasadniczo od mieszaniny stanowiącej wynalazek. Mieszanina jest do zastosowania wobec innej bakterii niż wynalazek, który jest patogenem opornym na naftochinony w odróżnieniu od wrażliwego *S. aureus* tj. nie działa na niego maksymalna możliwa do zastosowania dawka 512 µg/m. Nie opisano połączenia z nanocząstkami srebra stabilizowanymi kwasem 11-merkaptoundecylowym, a chlorkiem (11-merkaptoundecylo)-N,N,N-trimetyloamononiowy. W publikacji nie wskazano również mieszaniny 2-metylo-1,4-naftochinonu i nanocząstek srebra, a jedynie mieszaniny plumbaginy lub 3-chloroplumbaginy oraz nieaktywną mieszaninę droseronu.

Nie opisano zatem mieszaniny srebra oraz wybranego według wynalazku dużej grupy związków tj. naftochinonu i nie jest też znane działanie tej wybranej według wynalazku mieszaniny.

Niniejszy wynalazek opiera się na zjawisku przywrócenia wrażliwości opornych komórek mikroorganizmu na cząsteczki związku chemicznego dzięki zastosowaniu w mieszaninie drugiego czynnika pełniącego funkcję substancji uwrażliwiającej.

Opracowana według wynalazku mieszanina jest przykładem systemu dwuskładnikowego, w którym wykorzystuje się interakcję czynników do zwiększenia ich potencjału biologicznego w oparciu o zjawisko aktywacji i synergii.

Według wynalazku opracowano nową mieszaninę dwóch składników dobranych w taki sposób, że dobrano jeden związek z wybranej grupy 1,4-naftochinonów oraz drugi składnik, tj. cząstki srebra.

Tak dobrana kompozycja stanowi mieszaninę wykazującą oczekiwane działanie bakteriobójcze wobec *Pseudomonas aeruginosa* opornego na ten 1,4-naftochinon. Wynalazek dotyczy zatem również sposobu aktywacji właściwości bakteriobójczych 2-metylo-1,4-naftochinonu, tj. menadionu, wobec naturalnie odpornej pałeczki ropy błękitnej, tj. *Pseudomonas aeruginosa*, za pomocą srebra, zwłaszcza w formie nanocząstek srebra. Według wynalazku mieszanina zawiera działającą bakteriobójczo wobec *P. aeruginosa* dawkę srebra oraz 2-metylo-1,4-naftochinonu zwanego menadionem.

Według wynalazku zatem, mieszanina zawiera działające bakteriobójczo wobec *Pseudomonas aeruginosa* dawki srebra oraz 2-metylo-1,4-naftochinonu przy czym 2-metylo-1,4-naftochinon jest w mieszaninie w dawce równej lub większej niż 8 µg/mL, a nanocząstki srebra stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym są w stężeniu równym lub większym niż 2 µg Ag/mL.

Korzystnie, zawiera sferyczne nanocząstki srebra. Korzystnie, zawiera sferyczne nanocząstki srebra o średniej wielkości 5 nm.

Wynalazek dotyczy również medycznego zastosowania tej mieszaniny czyli do zastosowania jako środek przeciwbakteryjny wobec *Pseudomonas aeruginosa*, korzystnie do zastosowania na skórę lub rany.

W przykładzie wynalazku opisano, że mieszanina zawiera sferyczne nanocząstki srebra o średniej wielkości 5 nm stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym w stężeniu równym lub wyższym niż 2 µg Ag/mL oraz 2-metylo-1,4-naftochinon w stężeniu równym lub wyższym niż 8 µg/mL. Zawiera minimalną dawkę obu składników działającą bakteriobójczo wobec *P. aeruginosa* występującego w stężeniu około $2,5 \times 10^5$ jednostek tworzących kolonie (JTK)/mL, co oznacza, że dawka ta redukuje o 99,9% liczbę komórek bakteryjnych, tj. do co najmniej $2,5 \times 10^2$ JTK/mL.

Wynalazek opisano bliżej w przykładzie potwierdzającym efektywność mieszaniny i zastosowanie. W przykładzie opisano mieszaninę zawierającą menadion i sferyczne nanocząstki srebra o średniej wielkości 5 nm stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym. Wykazano, że sam ten naftochinon nie działa na referencyjny szczep bakterii *P. aeruginosa*, tj. jego MBC jest wyższe niż 512 µg/mL.

Fig. 1 pokazuje strukturę chemiczną menadionu, tj. 2-metylo-1,4-naftochinonu.

Fig. 2 pokazuje zmiany minimalnych stężeń bakteriobójczych menadionu (MND) i preparatu nanocząstek srebra stabilizowanych kwasem 11-merkaptoundekanowym (AgC₁₀COOH) zastosowanych jednocześnie wobec *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Przykład: Znoszenie oporności *Pseudomonas aeruginosa* na 2-metylo-1,4-naftochinon za pomocą nanocząstek srebra.

W badaniach wykorzystano gotowy preparaty wybranych sferycznych nanocząstek srebra (AgNPs) stabilizowanych kwasem 11-merkaptoundekanowy (AgC₁₀COOH) o średniej wielkości rdzenia metalicznego 5 nm (Prochimia Surfaces Sp. z o.o.). Stężenie srebra w preparatach ustalono za pomocą analizy pierwiastkowej z wykorzystaniem techniki optycznej spektrometrii emisyjnej w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-OES). Działanie spektrometru optycznego ICP-OES (Perkin Elmer ICP-OES Optima 2000 DV) było optymalizowane przed każdą serią pomiarów. Preparat nanocząstek srebra rozcieńczano wstępnie 10-krotnie za pomocą wody destylowanej. Następnie do 250 µL przygotowanej zawiesiny dodawano 1 mL kwasu azotowego cz.d.a. (65%), a następnie uzupełniano wodą demineralizowaną do objętości 5 mL. Następujące parametry spektrometru ICP-OES zostały wykorzystane podczas analiz: moc generatora 1300 W, częstotliwość generatora 40 MHz; demontowalny palnik kwarcowy; osiowy widok plazmy; gaz argon (Ar): przepływ gazu plazmowego 15,0 L/min, przepływ gazu wspomagającego 0,2 L/min; przepływ gazu w rozpylaczu 0,8 L/min; szklana cykloniczna komora rozpylająca; prędkość przepływu próbki: 1,5 L/min. Pomiarów stężenia jonów srebra (Ag⁺) dokonywano przy długości fali 328,068 nm w 3 powtórzeniach.

W badaniach wykorzystano komercyjnie dostępny wybrany związek 2-metylo-1,4-naftochinon, tj. menadion (Sigma Aldrich). Działanie bakteriobójcze nanocząstek srebra $\text{AgC}_{10}\text{COOH}$ i menadionu (Fig. 1) stosowanych osobno badano wobec referencyjnego szczepu *P. aeruginosa* ATCC 27853 za pomocą znanej metody mikrorozcieńczeń pożywki jak opisano w: Krychowiak M, Kawiak A, Narajczyk M, Borowik A, Królicka A: Silver Nanoparticles Combined With Naphthoquinones as an Effective Synergistic Strategy Against *Staphylococcus aureus*. *Front Pharmacol* 2018, 9:816. W pierwszej kolejności w pożywce Mueller-Hinton suplementowanej kationami (CA-MHB, Beckton Dickinson) przygotowywano roztwory badanych czynników za pomocą seryjnych dwukrotnych rozcieńczeń, co opisano poniżej.

Opis przygotowania mieszaniny.

Na potrzeby eksperymentu mieszaniny przygotowywano w pożywce mikrobiologicznej, niemniej jednak mieszaninę można przygotować również w wodzie lub wodnych roztworach, np. soli fizjologicznej. Zatężone wodne zawiesiny nanocząstek srebra po oznaczeniu zawartości srebra (Ag) dodawano bezpośrednio do pożywki CA-MHB do końcowego stężenia wynoszącego $128 \mu\text{g Ag/mL}$, a następnie wykonywano seryjne dwukrotne rozcieńczenia w pożywce do uzyskania mieszaniny o stężeniu 64, 32, 16, 8, 4, 2 lub $1 \mu\text{g Ag/mL}$.

W przypadku menadionu przed dodaniem do pożywki przygotowywano jej skoncentrowane roztwory w dimetylosulfotlenku (DMSO) zawierające $51,2 \text{ mg}$ związku w 1 mL . W celu wykonania eksperymentu tak przygotowane roztwory dodawano do pożywki do końcowego stężenia $512 \mu\text{g/mL}$, tj. w objętości $10 \mu\text{L}$ do $0,99 \text{ mL}$, a następnie wykonywano seryjne dwukrotne rozcieńczenia w pożywce do uzyskania roztworów o stężeniu 256, 128, 64, 32, 16, 8 lub $4 \mu\text{g/mL}$. Z przygotowanych mieszanin $\text{AgC}_{10}\text{COOH}$ i roztworów menadionu w pożywce pobierano po $100 \mu\text{L}$ i przenoszono do studzienek 96-dołkowej płytki mikrotestowej do badania aktywności bakteriobójczej poszczególnych czynników. W procedurze badania interakcji nanocząstek srebra i 2-metylo-1,4-naftochinonu wykorzystano podejście Checkerboard Titration, które opisano również w: Krychowiak M, Kawiak A, Narajczyk M, Borowik A, Królicka A: Silver Nanoparticles Combined With Naphthoquinones as an Effective Synergistic Strategy Against *Staphylococcus aureus*. *Front Pharmacol* 2018, 9:816, polegające na jednoczesnym zastosowaniu dwóch badanych czynników na płycie mikrotestowej, gdzie każdy czynnik jest stosowany w następującym gradiencie stężeń w pożywce: $2 \times \text{MBC}$, $1 \times \text{MBC}$, $0,5 \times \text{MBC}$, $0,25 \times \text{MBC}$, $0,125 \times \text{MBC}$, $0,06 \times \text{MBC}$ i $0,03 \times \text{MBC}$, gdzie MBC jest minimalnym stężeniem bakteriobójczym (MBC, ang. Minimal Bactericidal Concentration). Tym sposobem każdy dołek płytki mikrotestowej zawiera unikalną kombinację stężeń badanych czynników. W przypadku związków lub czynników nie wykazujących aktywności bakteriobójczej, tak jak ma to miejsce w przypadku menadionu, stosuje się gradient stężeń rozpoczynający się od najwyższego możliwego do uzyskania stężenia związku, tj. najczęściej 512, 256, 128, 64, 32, 16 i $8 \mu\text{g/mL}$. W przypadku nanocząstek srebra gradient stężeń zastosowanych w eksperymencie był następujący: 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 i $0,25 \mu\text{g Ag/mL}$. Mieszaniny przygotowywano w taki sposób, że zatężone wodne zawiesiny nanocząstek srebra po oznaczeniu zawartości srebra (Ag) dodawano bezpośrednio do pożywki CA-MHB do końcowego stężenia wynoszącego $32 \mu\text{g Ag/mL}$, a następnie wykonywano seryjne dwukrotne rozcieńczenia w pożywce do uzyskania mieszanin o stężeniu 16, 8, 4, 2, 1 oraz $0,5 \mu\text{g Ag/mL}$. Przed dodaniem do pożywki menadionu przygotowywano jej skoncentrowane roztwory w dimetylosulfotlenku (DMSO) zawierające $51,2 \text{ mg}$ związku w 1 mL . W celu wykonania eksperymentu tak przygotowane roztwory dodawano do pożywki do końcowego stężenia $1024 \mu\text{g/mL}$, tj. w objętości $20 \mu\text{L}$ do $0,98 \text{ mL}$, a następnie wykonywano seryjne dwukrotne rozcieńczenia w pożywce do uzyskania roztworów o stężeniu 512, 256, 128, 64, 32 oraz $16 \mu\text{g/mL}$. Następnie mieszaniny przygotowywano przez połączenie zawiesin nanocząstek i roztworów menadionu w stosunku objętościowym 1:1.

Następnie do studzienek zawierających po $100 \mu\text{L}$ zawiesin, roztworów lub mieszaniny w pożywce dodawano $10 \mu\text{L}$ inokulum bakteryjnego zawierającego ok. $2,5 \times 10^5$ jednostek tworzących kolonie (JTK) w 1 mL . Inokulum otrzymywano przez rozcieńczenie 6-godzinnej hodowli bakteryjnej (CA-MHB, 37°C , 150 rpm) w świeżej pożywce CA-MHB do uzyskania zmętnienia równego 0,5 stopni w skali McFarlanda mierzonego za pomocą densytometru (DensiMeter II, EMO). Płytki mikrotestowe inkubowano przez 24 godziny w 37°C , po czym zawartość dołków, w których obserwowano zahamowanie wzrostu bakterii, wysiewano na agar odżywczy TSA (ang. Tryptic Soy Agar; BTL Polska Sp. z o.o.). Tak przygotowane szalki z agarem inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C w celu zliczenia komórek bakteryjnych (JTK) pozostałych w dołkach po traktowaniu czynnikiem, a tym samym ustalenia minimalnego stężenia bakteriobójczego badanych czynników – MBC. Stężenie MBC definiowano jako

najniższe stężenie czynnika redukujące w ciągu 24 godzin wyjściową liczbę JTK w dołku (ok. $2,5 \times 10^5$ JTK/mL) o 99,9%, tj. o 3 logarytmy (ok. $2,5 \times 10^2$ JTK/mL).

Jak wskazano w Tabeli 1, menadion nie wykazuje aktywności bakteriobójczej wobec *P. aeruginosa* (MBC > 512 $\mu\text{g/mL}$). Niemniej jednak, zastosowanie menadionu w połączeniu z nanocząstkami srebra $\text{AgC}_{10}\text{COOH}$ (MBC = 8 $\mu\text{g Ag/mL}$) skutkowało uzyskaniem efektu bakteriobójczego przy jej stężeniu równym 8 $\mu\text{g/mL}$ i stężeniu nanocząstek odpowiadającym 2 $\mu\text{g Ag/mL}$ (Tabela 1, Fig. 2). Powyższe wyniki wskazują, że srebro efektywnie współdziała z menadionem, tj. 2-metylo-1,4-naftochinonem, znosząc oporność *P. aeruginosa* na ten związek. Pozwala to osiągnąć efekt bakteriobójczy mieszaniny przy znacząco zredukowanym stężeniu preparatu srebra (nawet do 75%) i stężeniu menadionu do 8 $\mu\text{g/mL}$. Pozwala to na szeroki zakres możliwości modulowania aktywności biologicznej obu czynników oraz optymalizacji składu mieszaniny.

Tabela 1. Stężenia menadionu (2-metylo-1,4-naftochinonu) i nanocząstek srebra w mieszaninach w pożywce CA-MHB warunkujące efekt bakteriobójczy wobec szczepu referencyjnego *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Menadion ($\mu\text{g/mL}$)	$\text{AgC}_{10}\text{COOH}$ ($\mu\text{g Ag/mL}$)
> 512	0
512	0,5
256	1
128	2
64	2
32	2
16	2
8	2
8	4
0	8

$\text{AgC}_{10}\text{COOH}$ - nanocząstki srebra stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym.

Ag, jony srebra.

Mieszanina zawierająca nanocząstki srebra naftochinon, znamienna tym, że zawiera działające bakteriobójczo wobec *Pseudomonas aeruginosa* dawki srebra oraz 2-metylo-1,4-naftochinonu przy czym 2-metylo-1,4-naftochinon jest w mieszaninie w dawce równej lub większej niż 8 $\mu\text{g/mL}$, a nanocząstki srebra stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym są w stężeniu równym lub większym niż 2 $\mu\text{g Ag/mL}$. 2. Mieszanina według zastrz. 1, znamienna tym, że zawiera sferyczne nanocząstki srebra. 3. Mieszanina według zastrz. 2, znamienna tym, że zawiera sferyczne nanocząstki srebra o średniej wielkości 5 nm. 4. Mieszanina opisana w którymkolwiek zastrzeżeniu 1–3 do zastosowania jako środek przeciwbakteryjny wobec *Pseudomonas aeruginosa*, korzystnie do zastosowania na skórę lub rany.

Stan techniki

1. CDC, Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. 2019, U.S. Department of Health and Human Services: Atlanta, GA.
2. WHO, 2019. ANTIBACTERIAL AGENTS IN CLINICAL DEVELOPMENT: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline. 2019, WHO: Geneva, Switzerland.
3. Kuete, V. i in., Antibacterial activity of some natural products against bacteria expressing a multidrug-resistant phenotype. *Int J Antimicrob Agents*, 2011. 37: p. 156–61.
4. Church, D. i in. Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev*, 2006. 19(2): p. 403–34.
5. Atiyeh, B.S. i in., Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*, 2007. 33(2): p. 139–48.
6. Percival, S.L., Bowler P.G. i Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J Hosp Infect*, 2005. 60(1): p. 1–7.
7. Widhalm J.R. i Rhodes D. Biosynthesis and molecular actions of specialized 1,4-naphthoquinone natural products produced by horticultural plants. *Hortic Res*, 2016, 3: 16046.
8. CN103622995
9. R. Salomoni et al. "Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*". *Nanotechnol Sci Appl*. 2017; 10: 115 121, 2017.
10. R. Ravichandiran et al "1,4-Naphthoquinone Analogues: Potent Antibacterial Agents and Mode of Action Evaluation", *Molecules* 2019 Apr 11; 24(7):1437.
11. M. Krychowiak et al "Combination of Silver Nanoparticles and *Drosera binata* Extract as a Possible Alternative for Antibiotic Treatment of Burn Wound Infections Caused by Resistant *Staphylococcus aureus*". *PloS One* 2014 Dec 31; 9(12).

Zastrzeżenia patentowe

1. Mieszanina zawierająca nanocząstki srebra i naftochinon, **znamienna tym**, że zawiera działające bakteriobójczo wobec *Pseudomonas aeruginosa* dawki srebra oraz 2-metylo-1,4-naftochinonu przy czym 2-metylo-1,4-naftochinon jest w mieszaninie w dawce równej lub większej niż 8 µg/mL, a nanocząstki srebra stabilizowane kwasem 11-merkaptoundekanowym są w stężeniu równym lub większym niż 2 µg Ag/mL.
2. Mieszanina według zastrz. 1, **znamienna tym**, że zawiera sferyczne nanocząstki srebra.
3. Mieszanina według zastrz. 2, **znamienna tym**, że zawiera sferyczne nanocząstki srebra o średniej wielkości 5 nm.
4. Mieszanina opisana w którymkolwiek zastrzeżeniu 1–3 do zastosowania jako środek przeciwbakteryjny wobec *Pseudomonas aeruginosa*, korzystnie do zastosowania na skórę lub rany.

Rysunki

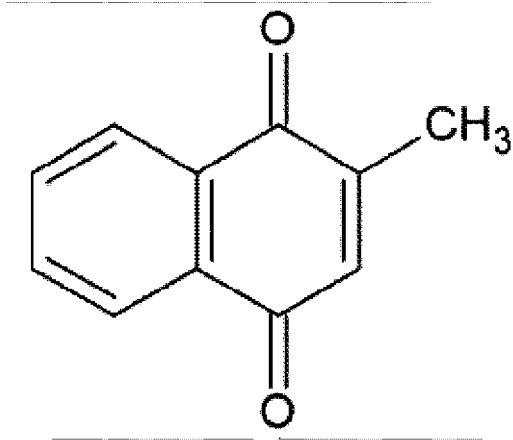


Fig. 1

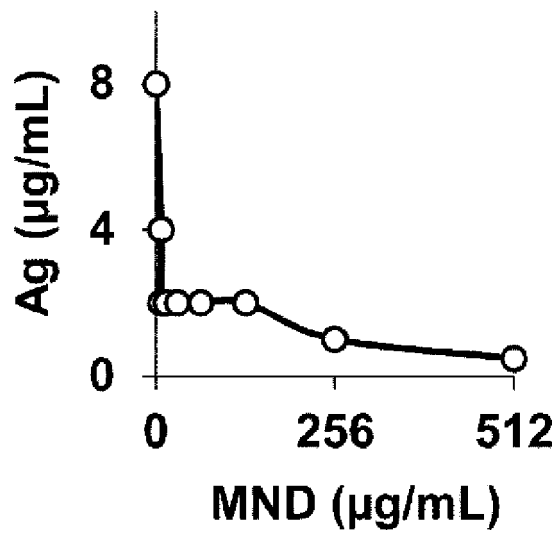


Fig. 2