



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК
C07K17/04 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2006109914/13, 29.03.2006**

(72) Автор(ы):
**Овчинников Максим Максимович (RU),
Пахомов Павел Михайлович (RU),
Хижняк Светлана Дмитриевна (RU)**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.03.2006

(45) Опубликовано: [20.02.2008](#)

(73) Патентообладатель(и):
ООО "Гель-тех" (RU)

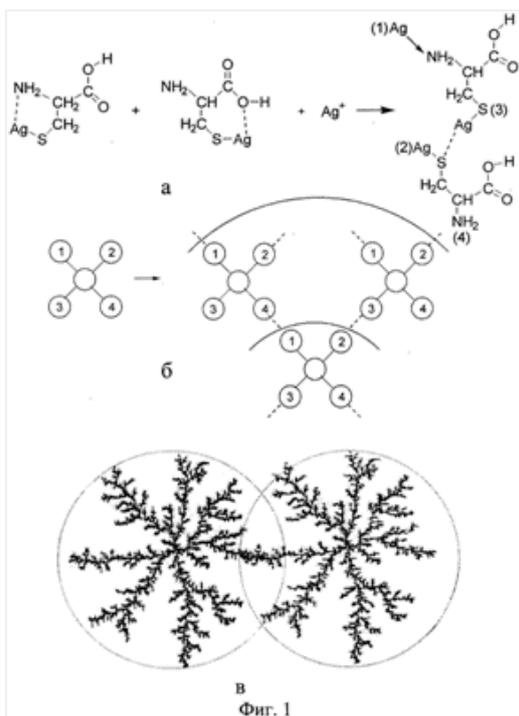
(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **JP 7316009 A, 05.12.1995. JP 10274631 A, 13.10.1998. US 6348212 A, 19.02.2002. RU 2026349 C1, 09.01.1995. RU 2241473 C2, 10.12.2004.**

Адрес для переписки:
**170044, г.Тверь, ул. Вагжанова, 14, АОЗТ
ЦПТУ "Эффект"**

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕЛЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области коллоидной химии. Смешивают водный раствор цистеина с водным раствором нитрата серебра, так что конечные концентрации (в смеси) составляют от $1 \cdot 10^{-3}$ М до $6 \cdot 10^{-2}$ М цистеина и от $3 \cdot 10^{-3}$ М до $1 \cdot 10^{-1}$ М нитрата серебра, и оставляют стоять в термостате при температуре 10-40°C в течение 15-24 часов. Данное изобретение позволяет получать гель, используемый в качестве носителя для пептидов и протеинов, который обладает биоцидными свойствами и не изменяется в течение двух лет при хранении при комнатной температуре. 7 ил.



Фиг. 1

Изобретение относится к области получения гелей, которые применяются в качестве носителей, в частности пептидов и протеинов, и может быть использовано при производстве композиций, содержащих биологически активные вещества.

Технический результат настоящего изобретения заключается в том, что разработан способ получения супрамолекулярного (супрамолекулярный - образованный в результате ассоциации частиц, удерживаемых вместе межмолекулярными взаимодействиями (а не прочными химическими связями)) тиксотропного геля, в котором структурировано от 10 до 10^3 массовых долей растворителя (на долю растворенных веществ, обладающих биоцидными свойствами).

Технический результат достигается тем, что при температуре от 10 до $40^\circ C$ смешивают водный раствор цистеина с водным раствором нитрата серебра, так что конечные концентрации (в смеси) составили цистеина от $1 \cdot 10^{-3}$ М до $6 \cdot 10^{-2}$ М и нитрата серебра от $3 \cdot 10^{-3}$ М до $1 \cdot 10^{-1}$ М, и оставляют стоять в защищенном от света месте в течение 15-24 часов.

Исследованием уровня техники установлено, что способов получения супрамолекулярного биоцидного геля на основе цистеина и нитрата серебра не обнаруживается.

Сущность изобретения заключается в следующем.

Тиксотропный биоцидный гель на основе цистеина и нитрата серебра относится к классу сетчатых супрамолекулярных полимеров, имеющих фрактальную структуру (Б.Мандельброт. Фрактальная геометрия природы. М.: Мир, 2002; Е.Федер. Фракталы. М.: Мир, 1991; В.Смирнов. Физика фрактальных кластеров. М.: Наука, 1991).

Цистеин - это серосодержащая аминокислота, которая входит в состав кератина - основного белка ногтей, кожи и волос. Цистеин помогает обезвреживать токсические вещества и защищает организм от действия радиации. Это один из самых мощных антиоксидантов. Цистеин ускоряет выздоровление после операций, ожогов, связывает тяжелые металлы и растворимое железо, играет важную роль в активизации лейкоцитов и лимфоцитов.

В водном растворе цистеин взаимодействует с ионами серебра с образованием меркаптида серебра по SH-группе (тиольной группе). Это подтверждается данными ИК-спектроскопии: в ИК-спектре дегидратированного геля отсутствует полоса поглощения валентных колебаний тиольной группы.

В избытке ионов серебра меркапид серебра образует ассоциаты с помощью слабых водородных, координационных связей и вандерваальсовских взаимодействий. Эти ассоциаты имеют несколько активных точек дальнейшего роста: на Фиг.1 представлен результат ассоциации двух молекул

меркаптида серебра и иона серебра с образованием димерной частицы (а), фрактального кластера (б) и слияния кластеров (в).

Зародышевые димерные частицы продолжают свой рост с образованием полимолекулярных ассоциатов со средним размером от нескольких нанометров до десятков и сотен нанометров, в зависимости от концентрации растворенного вещества. Это установлено с помощью метода динамического светорассеяния. Измерение интенсивности динамического светорассеяния осуществляли с помощью спектрометра, включающего AL-Sp 81 гониметр и цифровой фотонный коррелятор-структуратор ALV-5000 с углом рассеяния 90° . В качестве источника света использовали He-Ne лазер (длина волны 632,8 нм) мощностью 36 мВт. Фиг.2 иллюстрирует развитие кластерообразования во времени для раствора цистеина концентрации $1,31 \cdot 10^{-3}$ М и нитрата серебра концентрации $3,73 \cdot 10^{-3}$ М. С течением времени происходит увеличение среднего гидродинамического радиуса частиц (для а - 14 мин он равен 29,8 нм, б - 56 мин - 39,1 нм, в - 124 мин - 51,3 нм). Средний гидродинамический радиус частиц рассчитывается из уравнения Эйнштейна-Стокса на основании графика зависимости распределения коэффициента диффузии $W(D)$ от коэффициента диффузии.

На Фиг.3 представлены данные динамического светорассеяния, которые свидетельствуют о наличии в гелеобразующей системе фрактальных кластеров различных размеров, в частности на графике а - 52,4; 1235 нм (концентрации цистеина $3,12 \cdot 10^{-3}$ М, нитрата серебра $8,85 \cdot 10^{-3}$ М), на графике б - 15,0; 87,5; 454,9; 1731 нм (концентрации цистеина $7,6 \cdot 10^{-3}$ М, нитрата серебра $21,0 \cdot 10^{-3}$ М). С увеличением концентрации компонентов увеличивается средний гидродинамический радиус частиц и число групп кластеров. Растущие фрактальные кластеры взаимодействуют между собой по поверхности раздела с образованием пространственной геле-сетки, что иллюстрируется электронно-микроскопическими снимками, полученными на пропускающем электронном микроскопе «Zeiss EM 10» Фиг.4, концентрации цистеина $1,32 \cdot 10^{-3}$ М, нитрата серебра $3,72 \cdot 10^{-3}$ М, подтверждающие образование сетки фрактальных кластеров при формировании структуры геля.

На Фиг.5 представлены электронно-микроскопические снимки высушенных гелей, полученные на сканирующем электронном микроскопе "DSM 962", Zeiss, концентрации цистеина $1,32 \cdot 10^{-3}$ М, нитрата серебра $3,72 \cdot 10^{-3}$ М, иллюстрирующие самоорганизацию твердой фазы при дегидратации супрамолекулярного геля: образуются характерные дендритные и палочкообразные структуры.

Такого рода гель может служить матрицей, например, для липосом - концентрических сфер из двойных фосфолипидных слоев с включенными в них биологически активными веществами.

Изменение упругих свойств системы с течением времени можно проиллюстрировать с помощью фиг.6, на которой показана способность геля (концентрации цистеина $1,32 \cdot 10^{-3}$ М, нитрата серебра $3,72 \cdot 10^{-3}$ М) к деформации при переворачивании цилиндра с гелем на 180° . Видно что с увеличением времени гелеобразования (а - исходная система, в - через 24 часа, с - через 48 часов) гель теряет способность к текучести.

Основное преимущество полученного геля - способность к гелеобразованию при очень низких концентрациях в водном растворе. Бицидные свойства геля определяются внедрением в его каркас ионов серебра.

Гель-система на основе цистеина и нитрата серебра построена из физиологически активных компонентов, не токсична, фазоустойчива и является перспективной матрицей для включения биологически активных веществ.

Гель совместим с другими супрамолекулярными системами: липосомами, мицеллами, и это открывает возможности для конструирования новых биоматериалов.

Получение композиций с гелем нового типа, имеющим принципиально другую структуру по сравнению с полимерными гелями, позволяет резко уменьшить содержание в композиции гелеобразующих веществ.

Развитие ассортимента фармакологических препаратов, предохранение их от разрушения под воздействием специфических ферментов, содержащихся в организме человека, осуществляется по пути иммобилизации биологически активных веществ на каком-либо носителе - матрице.

Самый старый способ иммобилизации - физическая адсорбция. Ее преимущество - простота методики, доступность и дешевизна сорбентов. Недостаток - десорбция, протекающая при изменении таких характеристик физиологических жидкостей, как pH, ионная сила, температура.

Недостатков адсорбции удается избежать при иммобилизации биологически активных веществ в поры геля. В качестве гелей-матриц используют несшитые полимерные гели, образуемые полисахаридами: крахмалом, агар-агаром, альгинатом, каррагинаном - при охлаждении их горячих растворов. В последнее время получили распространение сшитые полимерные гели - поливиниловый спирт и поливинилпирролидон. Способ получения последних заключается в облучении водных растворов полимеров средней молекулярной массы ультрафиолетовым светом, гамма-излучением или потоком электронов. При этом образуются свободные радикалы, частично сшивающие полимерные цепи. Широкое распространение получили полиакриламидные гели, сшивающий агент - метилен-бис-акриламид.

Недостатками композиций на основе полимерных гелей являются гелеобразование при высоких концентрациях полимера и тот факт, что гель является балластным веществом, функции которого исчерпываются свойством быть матрицей. Длительное хранение композиций невозможно без добавления бактерицидных веществ.

Способы получения сшитых полимерных гелей сложны и требуют дорогостоящего оборудования.

Заявляемый способ имеет простое аппаратное оформление и принципиально отличается от существующих методов подхода к формированию гелей-матриц для биологически активных веществ.

Способ осуществляется следующим образом.

При температуре от 10 до 40°C смешивают водный раствор цистеина с водным раствором нитрата серебра, так что конечные концентрации (в смеси) составили цистеина от $1 \cdot 10^{-3}$ М до $6 \cdot 10^{-2}$ М и нитрата серебра от $3 \cdot 10^{-3}$ М до $1 \cdot 10^{-1}$ М, и оставляют стоять в термостате при температуре от 10 до 40°C в течение 15-24 часов.

Изменяя соотношение компонентов, получают фрактальные кластеры желаемого объема, способные к избирательной иммобилизации биологически активных веществ.

Пример выполнения способа.

При температуре 25°C смешивают водный раствор цистеина с водным раствором нитрата серебра, так что конечные концентрации (в смеси) составили цистеина от $1,31 \cdot 10^{-3}$ М и нитрата серебра от $3,73 \cdot 10^{-3}$ М, и оставляют стоять в термостате при температуре 25°C в течение 24 часов.

Фиг.7 иллюстрирует способность геля к иммобилизации липосом (1 - липосомы в геле, 2 - липосомы в воде): в присутствии геля водная дисперсия липосом стабилизируется. По изменению оптической плотности водной дисперсии липосом в зависимости от времени хранения можно судить о ее устойчивости. В присутствии геля отмечается меньшее изменение оптической плотности со временем по сравнению с нестабилизированным раствором, следовательно, эта система фазоустойчива.

Выбор носителя и метода иммобилизации для каждого конкретного случая в настоящее время носит только эмпирический характер и может контролироваться только экспериментально.

Создав банк данных по структуре и объему фрактальных кластеров для супрамолекулярного геля на основе цистеина и нитрата серебра в зависимости от условий его получения, можно прогнозировать возможность иммобилизации на нем как на матрице того или иного вещества.

Полученный супрамолекулярный гель не подвергается изменениям в течение двух лет при хранении при комнатной температуре.

Разрушителями геля могут быть кислоты - pH меньше 4, щелочи - pH больше 9, ацетонитрил, изопропиловый спирт, соли переходных металлов, взятые в количествах, превышающих содержание нитрата серебра. Однако с учетом того, что в организме человека такие разрушительные факторы практически не имеют места, супрамолекулярный гель на основе цистеина и нитрата серебра можно считать очень устойчивой матрицей для иммобилизации. Одним из основных требований, предъявляемых к иммобилизуемому биологически активному веществу, является его химическая индифферентность по отношению к супрамолекулярному гелю, то есть иммобилизат не должен искажать его химическую структуру.

Заявляемый способ соответствует критерию "Промышленная применимость", так как не требует специального оборудования и может быть внедрен на существующих фармацевтических предприятиях соответствующего профиля, а необходимые препараты выпускаются отечественной промышленностью.

Формула изобретения

Способ получения супрамолекулярного геля, заключающийся в том, что при температуре от 10 до 40°C смешивают водный раствор цистеина с водным раствором нитрата серебра, так что конечные концентрации (в смеси) составили цистеина от $1 \cdot 10^{-3}$ до $6 \cdot 10^{-2}$ М и нитрата серебра от $3 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-1}$ М, и оставляют стоять в термостате при температуре 10-40°C в течение 15-24 ч.