



(51) МПК
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 9/00 (2006.01); *A61K 33/38* (2006.01); *A61K 31/198* (2006.01); *A61P 31/00* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017146486, 28.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.12.2017

Дата регистрации:
29.12.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.12.2017

(45) Опубликовано: 29.12.2018 Бюл. № 1

Адрес для переписки:

170100, г. Тверь, ул. Желябова, 33, Тверской
государственный университет, Управление
интеллектуальной собственности

(72) Автор(ы):

Хижняк Светлана Дмитриевна (RU),
 Овчинников Максим Максимович (RU),
 Лагушева Вера Сергеевна (RU),
 Пахомов Павел Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Тверской государственный
университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2432937 C2, 10.11.2011. RU
2530572 C1, 10.10.2014. RU 2423384 C1,
10.07.2011.

(54) Способ получения тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей заданной прочности

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине. Для получения тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей заданной прочности реализуют алгоритм на основе ранее выявленных зависимостей прочности гелей для различных концентраций хлорида натрия от соотношения концентраций нитрата серебра и L-цистеина для различных концентраций хлорида натрия. Гидрогели различной прочности получают в одну стадию смешением водного раствора L-цистеина с раствором хлорида натрия и нитрата серебра, так что их концентрации после смешивания

компонентов находятся в пределах 0,75-2,00 мМ и 4,5-5,4 мМ соответственно, причем отношение молярной концентрации ионов серебра к концентрации L-цистеина находится в пределах 1,5-1,8. Смесь растворов энергично перемешивают и оставляют при комнатной температуре в защищенном от света месте для созревания на 1-24 часа. Для получения гидрогелей заданной прочности отсутствует необходимость использования специализированного оборудования. 6 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 9/00 (2006.01); A61K 33/38 (2006.01); A61K 31/198 (2006.01); A61P 31/00 (2006.01)(21)(22) Application: **2017146486, 28.12.2017**(24) Effective date for property rights:
28.12.2017Registration date:
29.12.2018

Priority:

(22) Date of filing: **28.12.2017**(45) Date of publication: **29.12.2018** Bull. № 1

Mail address:

**170100, g. Tver, ul. Zhelyabova, 33, Tverskoj
gosudarstvennyj universitet, Upravlenie
intellektualnoj sobstvennosti**

(72) Inventor(s):

**Khizhnyak Svetlana Dmitrievna (RU),
Ovchinnikov Maksim Maksimovich (RU),
Laguseva Vera Sergeevna (RU),
Pakhomov Pavel Mikhajlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Tverskoj gosudarstvennyj
universitet" (RU)**(54) **PROCESS OF PRODUCING THIXOTROPIC SUPERMOLECULAR HYDROGENS OF PREDETERMINED STRENGTH**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine. To obtain thixotropic supramolecular hydrogels of a given strength, an algorithm is implemented based on previously determined dependences of the gel strength for various concentrations of sodium chloride on the ratio of concentrations of silver nitrate and L-cysteine for various concentrations of sodium chloride. Hydrogels of various strengths are obtained in one stage by mixing an aqueous solution of L-cysteine with a solution of sodium chloride and silver nitrate, so that

their concentrations after mixing the components are in the range of 0.75–2.00 mM and 4.5–5.4 mM, respectively, moreover, the ratio of molar concentration of silver ions to the concentration of L-cysteine is in the range of 1.5–1.8. Mixture of solutions is vigorously stirred and left at room temperature in a dark place for maturation for 1–24 hours.

EFFECT: there is no need to use specialized equipment to obtain hydrogels of a given strength.

1 cl, 6 dwg

Изобретение относится к области супрамолекулярной химии, в частности получению тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей медицинского назначения.

Актуальной медицинской задачей является поиск новых носителей для безопасной и эффективной доставки биоактивных веществ, лекарств и генетического материала в клетки живого организма с целью усиления иммунного ответа со стороны организма человека, предупреждения и лечения различных форм заболеваний. Основное внимание уделяется получению конечных препаратов заданной прочности нетоксичных по отношению к клеткам и плазме крови живого организма, позволяющим добиться успешного достижения мишени и эффективного высвобождения активного вещества. За последние десятилетия были получены различные системы, имеющие как свои достоинства, так и недостатки, однако в большинстве случаев использование таких носителей сталкивается со сложностью их синтеза и токсичностью.

Тиксотропия проявляется в способности гелей разрушаться в результате механического воздействия, переходя при этом в состояние раствора, и затем при стоянии восстанавливать гелеобразное состояние. Это свойство дает дополнительный инструмент для направленного изменения прочности, как носителей, так и конечных препаратов медицинского назначения непосредственно перед их практическим использованием, в том числе с приданием препаратам пропитываемых свойств.

Тиксотропные супрамолекулярные гидрогели представляют интерес как системы с фрактальной структурой, в которых формирование гель-сетки происходит при сверхнизком 0,01% содержании низкомолекулярной дисперсной фазы.

Известен процесс гелеобразования в системах содержащих водные растворы L-цистеина и нитрата серебра RU 2317305, опубл. 20.02.2008.

Также известно, что добавление в цистеин-серебряный раствор, полученный при смешивании растворов L-цистеина и нитрата серебра, водного раствора сульфата с катионом из ряда Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} инициирует процесс гелеобразования (Сборник научных трудов Физико-химия полимеров. Синтез, свойства и применение. Тверской государственный университет. Тверь. - 2008. - Вып. 14. - С. 188).

Известные супрамолекулярные гидрогели обладают высокой антимикробной активностью и могут служить носителями для биоактивных веществ, но отличаются определенной сложностью процесса синтеза, связанной с необходимостью предварительного «созревания» супрамолекулярных структур, а также недостаточно широким допустимым концентрационным диапазоном компонентов, в границах которого возможно получение устойчивых супрамолекулярных гидрогелей, что не позволяет создать "библиотеку" супрамолекулярных гидрогелей различной прочности, необходимую для получения эффективных препаратов как внешнего, так и внутреннего использования.

Целью заявляемого изобретения является разработка способа получения тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей, способных к многократному восстановлению гель-состояния после разрушения, обладающих высокой антимикробной активностью, способных выступать в качестве матрицы для разработки новых перспективных биологически активных фармацевтических препаратов, позволяющих создать "библиотеку" тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей различной прочности, необходимую для получения эффективных препаратов как внешнего, так и внутреннего использования.

Технический результат настоящего изобретения заключается в разработке способа получения тиксотропных супрамолекулярных гидрогелей заданной прочности путем

последовательного смешивания исходных компонентов, с возможностью регулирования прочности заявляемых гидрогелей за счет изменения количества хлорида натрия и нитрата серебра.

5 Технический результат достигается тем, что к водному раствору L-цистеина приливают рассчитанное количество раствора хлорида натрия, так что его концентрация после смешивания всех компонентов находится в пределах 0,5-2,00 мМ, затем добавляют такой объем раствора нитрата серебра, чтобы получить отношение молярной концентрации ионов серебра к концентрации L-цистеина в пределах 1,5-1,8; при этом концентрация нитрата серебра в гель-образце после смешивания компонентов

10 варьируется в пределах 4,5-5,5 мМ. Смесь растворов энергично перемешивают и оставляют при комнатной температуре в защищенном от света месте для формирования геля. Формирование заявляемых гидрогелей в зависимости от содержания в образце хлорида натрия Фиг. 1а или нитрата серебра Фиг. 1б происходит в пределах от 1 до 24 часов. Причем гели прочностью от 4 баллов и выше формируются от 1 до 6 часов.

15 Экспериментальным путем установлено, что в результате смешивания водных растворов L-цистеина, хлорида натрия и нитрата серебра при определенных концентрационных соотношениях компонентов запускаются процессы структурообразования, в результате которых в системе через некоторое время образуется гель. Образование геля подтверждают результаты, полученные на

20 вибрационном вискозиметре, в котором вибрация сенсорных пластин осуществляется с частотой 30 Гц и постоянной амплитудой около 1 мм. Незначительный рост вязкости через 10 мин после смешивания исходных компонентов Фиг. 2а доказывает формирование гель-сетки в условиях вибрационных воздействий. Зависимость вязкости от времени для этого же образца через 2 суток Фиг. 2б отражает формирование геля и его частичную механодеструкцию при проведении измерений в вибрационном

25 вискозиметре. Так, в результате измерения наблюдается уменьшение значения вязкости сформированного гидрогеля от 9,8 мПа с г/см³ до 7,5 мПа с г/см³. Зависимость вязкости от времени для этого же образца через 9 суток Фиг. 2в демонстрирует тиксотропные свойства гидрогеля, его способность частично восстанавливать структуру

30 после механодеструкции, о чем свидетельствует начальное значение вязкости ~ 8,0 мПа с г/см³, которое понижается в результате измерений до 6,4 мПа с г/см³.

Прочность образованных гелей зависит от концентраций компонентов и их соотношений. Закономерности гелеобразования отражены на Фиг. 3а, 3б, 3в. Так при

35 заданной концентрации хлорида натрия прочность геля зависит от соотношения концентраций Ag⁺/L-цист, при заданной начальной концентрации иона серебра и имеет для представленных концентраций компонентов куполообразную форму. Таким образом, при определенной концентрации хлорид-иона в системе, наибольшая прочность гелей наблюдается при соотношениях концентраций иона серебра и цистеина в диапазоне

40 значений 1,5-1,8, что существенно больше значения 1,25, характеризующего известный цистеин-серебряный раствор. При этом при фиксированной начальной концентрации Ag⁺ в растворе, при заданном отношении Ag⁺/L-цист, прочность геля возрастает с увеличением концентрации хлорид-иона. Следует отметить что для одинаковых по

45 прочности заявляемых гидрогелей полученных при разных как концентрации хлорида натрия, так и соотношениях концентраций иона серебра и цистеина, заявляемые гидрогели полученные с большей концентрацией хлорида натрия отличаются меньшим временем формирования и меньшей устойчивостью во времени, что позволяет изменять время жизни заявляемых гидрогелей.

Экспериментально установлено, что при концентрации хлорид-иона в системе менее 0,5 мМ образование геля не происходит, а при концентрациях хлорид аниона превышающей 2,00 мМ гели становятся мутными и в них образуется осадок, что свидетельствует об их разрушении. Гели, в которых концентрация хлорида натрия находится в заявляемых пределах 0,5-2,00 мМ устойчивы и через 60 дней их прочность стабильна.

Дополнительным подтверждением устойчивости и стабильности супрамолекулярных низкоконцентрированных гидрогелей, полученных на основе низкомолекулярных соединений, таких как L-цистеин, нитрат серебра и хлорид натрия, являются электронные спектры заявляемых гидрогелей Фиг. 4. Если сравнить электронный спектр свежеприготовленного образца Фиг. 4 спектр 1, со спектрами этого образца через 3 и 8 дней Фиг. 4 спектры 2-3, то последние практически совпадают, что свидетельствует о стабилизации образца. В электронных спектрах наблюдаются полосы поглощения с максимумом в области 320-325 нм и ~410 нм, которые соответствуют поглощению цепочек кластеров и центрам координации этих фрагментов сетки. С течением времени отмечается незначительное увеличение поглощения в этом диапазоне, что объясняется образованием цепочечных структур, их дополнительной координацией и формированием трехмерной гель-сетки.

Образование геля при использовании заявляемого способа подтверждают данные просвечивающей электронной микроскопии, отражающие формирование в образце сетки пересекающихся цепочек Фиг. 5а. Фрагменты гель-сетки, состоящей из отдельных кластеров, отчетливо видны на Фиг. 5б, отражающей перколяционную структуру, формирующуюся в сильно разбавленных гелеобразующих растворах.

Роль иона хлора в процессах гелеобразования демонстрирует Фиг. 6. Положительно заряженный ион серебра, связывающий цепочки, Фиг. 6а, координируется с отрицательно заряженным ионом хлора Фиг. 6б. К повышению прочности геля при увеличении концентрации хлорид иона приводит снижение положительного заряда связывающего центра после присоединения иона хлора, в результате которого уменьшается кулоновское отталкивание связывающего центра от положительно заряженных кластерных цепочек или фрагментов сетки. Количество таких сшивок определяет прочность геля. Кроме того, формированию более прочного геля способствует присутствие свободных ионов хлора, которые связывают разные цепочки, координируясь с атомами серебра Фиг. 6в. Хлорид-анион образует с ионом серебра незаряженный комплекс - Ag^+-Cl^- , который не препятствует формированию в системе фрактальной структуры, а встраиваясь между цепочками способствует образованию прочной пространственной сетки геля.

Заявляемый способ характеризуется Фиг. 1-6.

Фиг. 1. Фотографии образцов гелей с различным содержанием: а - хлорида натрия: 1 - $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ, 2 - 1,00 мМ; 3 - 1,25 мМ, $\text{C}_{\text{cys}} = 3,0$ мМ; $\text{C}_{\text{AgNO}_3} = 5,5$ мМ; 6 - нитрата серебра: 1 - $\text{C}_{\text{AgNO}_3} = 4,5$ мМ, $\text{C}_{\text{cys}} = 3,0$ мМ, $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ, 2 - $\text{C}_{\text{AgNO}_3} = 5,0$ мМ, $\text{C}_{\text{cys}} = 3,0$ мМ $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ.

Фиг. 2. Зависимость относительной вязкости гель-образца от времени: а - через 10 мин после смешивания компонентов; б - через 2 дня; в - через 9 дней; $\text{C}_{\text{AgNO}_3} = 4,5$ мМ, $\text{C}_{\text{cys}} = 3,0$ мМ, $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ, $T=19^\circ\text{C}$.

Фиг. 3. Прочность гелей в зависимости от соотношения концентраций нитрата серебра и L-цистеина: а - $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ, б - $\text{C}_{\text{NaCl}} = 1,0$ мМ, в - $\text{C}_{\text{NaCl}} = 2,0$ мМ. Концентрация AgNO_3 во всех образцах 4,5 мМ.

Фиг. 4. Электронные спектры образца на основе AgNO_3 -L-цистеин-NaCl в зависимости от времени стояния: 1 - свежеприготовленный, 2 - через 3 дня, 3 - через 8 дней; $\text{CAgNO}_3 = 4,5$ мМ, $\text{C}_{\text{cys}} = 3,0$ мМ, $\text{C}_{\text{NaCl}} = 0,75$ мМ. Нумерация спектров снизу вверх.

Фиг. 5. Изображения гелеобразца при различном увеличении, полученные с помощью просвечивающей электронной микроскопии.

Фиг. 6. Схемы участия хлорид-аниона в процессе гелеобразования в AgNO_3 - L-цистеин - NaCl - H_2O системе.

Заявляемый способ осуществляется следующим образом для приготовления геля, прочностью 4 балла, в соответствии с Фиг. 3а.

К 0,6 мл водного раствора L-цистеина концентрации 10 мМ приливают 0,5 мл раствора хлорида натрия концентрации 3,0 мМ, что соответствует его концентрации после смешивания компонентов 0,75 мМ, затем после интенсивного перемешивания добавляют 0,9 мл раствора нитрата серебра концентрации 10 мМ, при этом соотношение молярных концентраций ионов серебра и L-цистеина составляет 1,5; при концентрации нитрата серебра после смешивания компонентов в пределах 4,5 мМ. Смесь растворов энергично перемешивают и оставляют в защищенном от света месте при комнатной температуре для формирования геля. Формирование геля происходит в течение 6 часов.

Заявляемый тиксотропных супрамолекулярных гидрогель заданной прочности отличается простотой приготовления композиции, дешевизной, длительностью хранения. Его применение позволяет разработать перспективные эффективные препараты медицинского назначения.

Для получения геля отсутствует необходимость использования специализированного оборудования.

(57) Формула изобретения

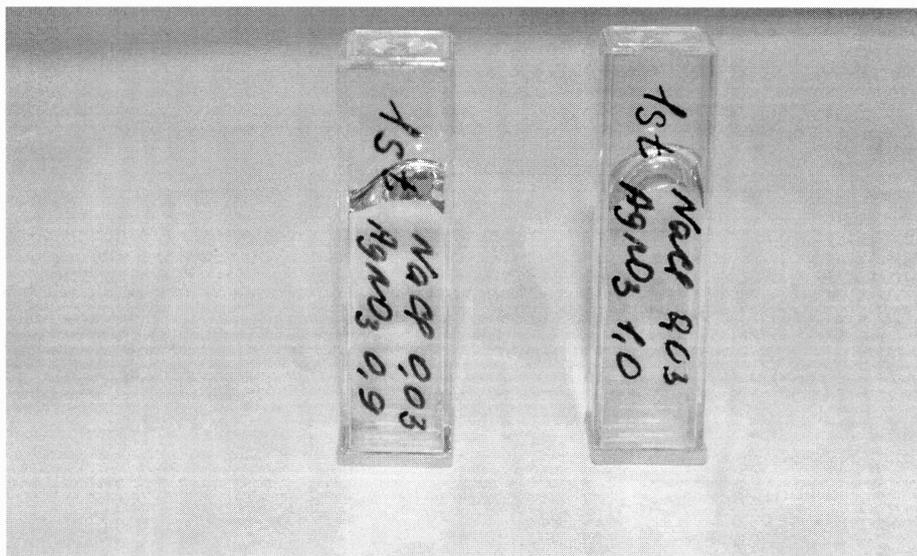
Способ получения супрамолекулярных тиксотропных гидрогелей заданной прочности, включающий смешение водного раствора L-цистеина с рассчитанным количеством раствора хлорида натрия, так что его концентрация после смешивания всех компонентов находится в пределах 0,75-2,00 мМ; и раствором нитрата серебра, так что отношение молярной концентрации ионов серебра к концентрации L-цистеина находится в пределах 1,5-1,8, а концентрация нитрата серебра в гелеобразце после смешивания компонентов варьируется в пределах 4,5-5,5 мМ; перемешивание смеси растворов; формирование гелей в пределах от 1 часа до 24 часов в защищенном от света месте при комнатной температуре; построение зависимостей прочности гелей от соотношения концентраций нитрата серебра и L-цистеина для различных концентраций хлорида натрия; дальнейшую реализацию предложенного алгоритма действий для получения супрамолекулярных гидрогелей заданной прочности.

1



1 2 3

a

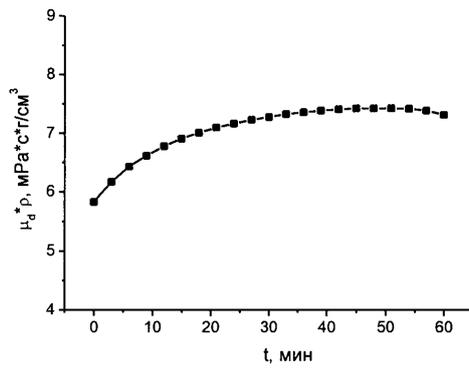


1 2

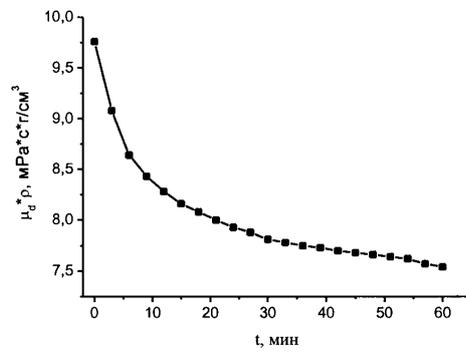
б

Фиг.1

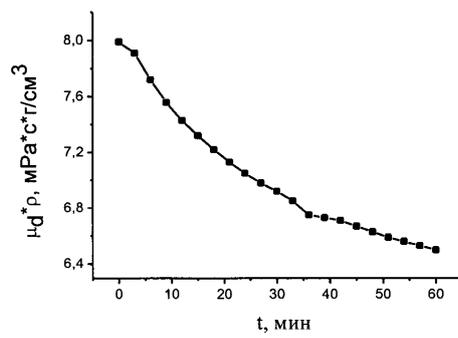
2



а

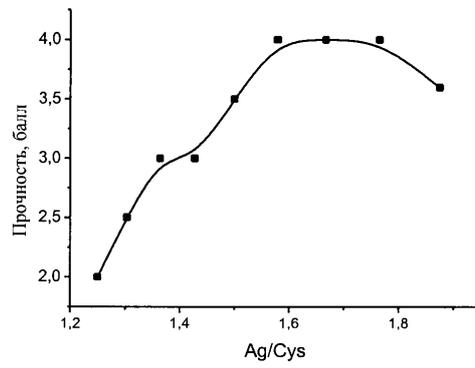


б

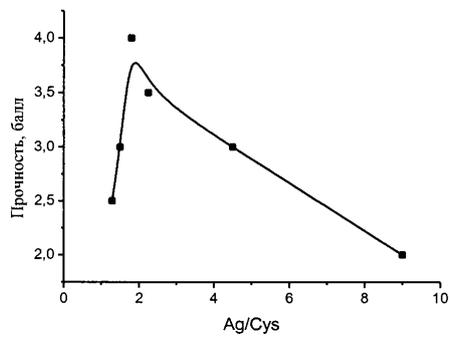


в

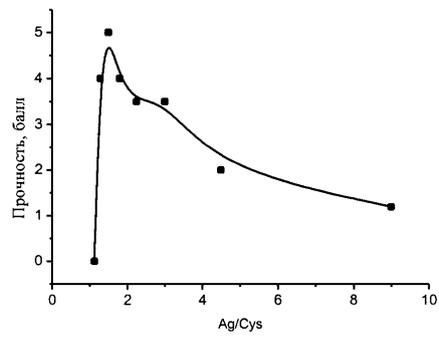
Фиг. 2



а

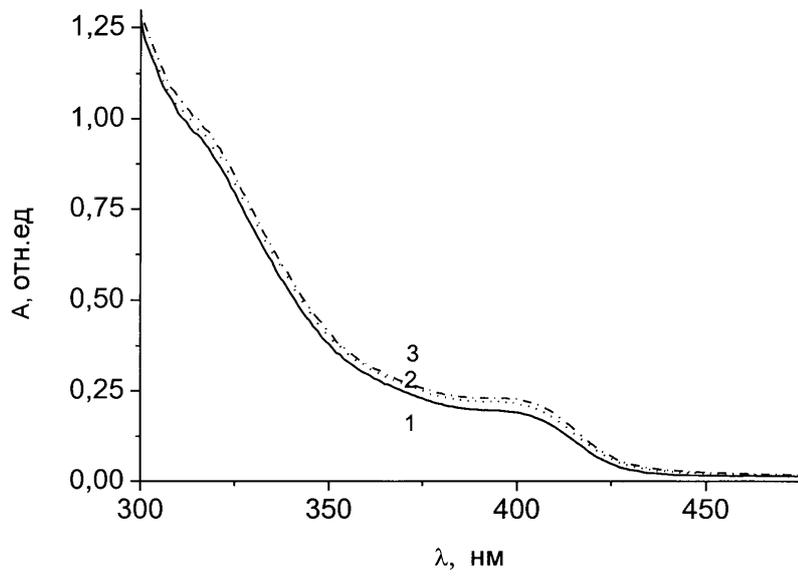


б

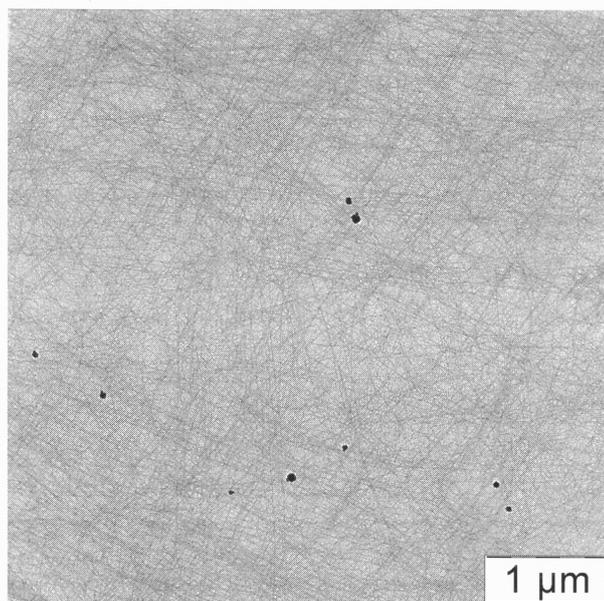


в

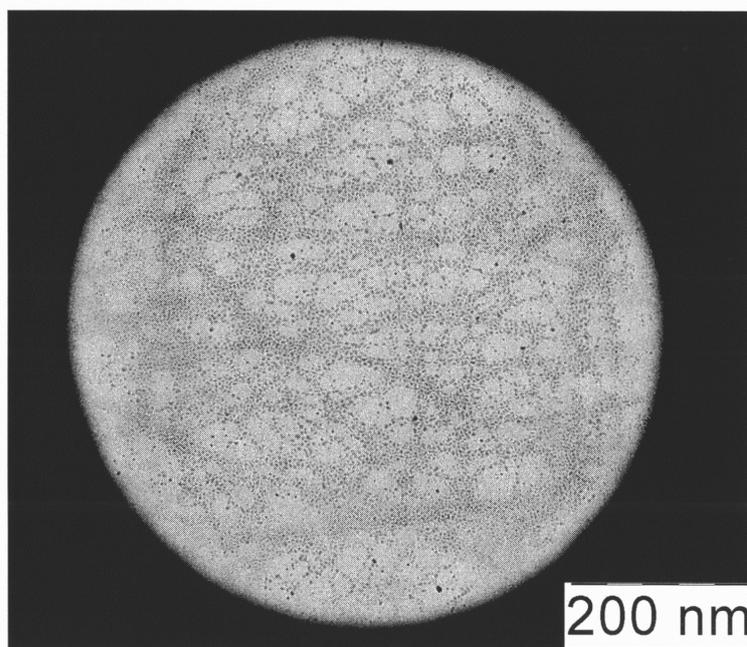
Фиг. 3



Фиг. 4

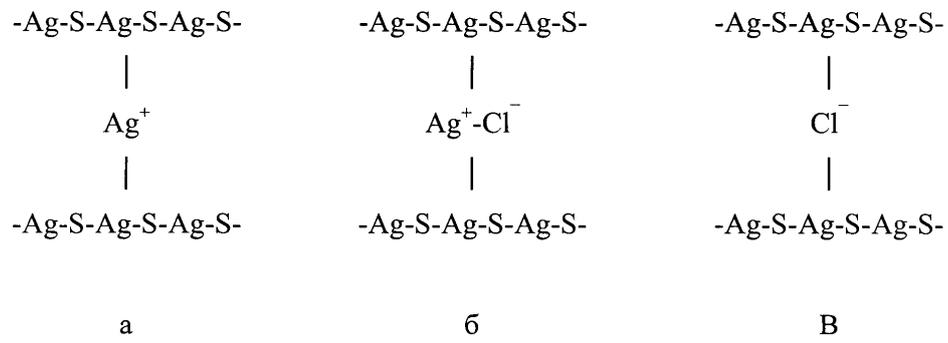


а



б

Фиг. 5



Фиг. 6