



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК
A61K 31/722 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/722 (2023.08); A61K 33/38 (2023.08); A61K 38/39 (2023.08); A61K 47/10 (2023.08); A61K 47/12 (2023.08); A61K 47/36 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2021138050, 20.12.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.12.2021Дата регистрации:
27.12.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 20.12.2021

(43) Дата публикации заявки: 20.06.2023 Бюл. № 17

(45) Опубликовано: 27.12.2023 Бюл. № 36

Адрес для переписки:

656049, г. Барнаул, пр-кт Ленина, 61, ФГБОУ
ВО "Алтайский государственный университет",
ЦРТПТТУИС

(72) Автор(ы):

Халимов Руслан Ильхомович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Алтайский государственный
университет" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: Husnugul Yilmaz Atay et al.
*Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems
/ Functional Chitosan*. 2019, pp.457-489.
Chuangang You et al. *Silver nanoparticle loaded
collagen / chitosan scaffolds promote wound
healing via regulating fibroblast migration and
macrophage activation / Scientific Reports*, 2017,
Vol.7, N.1, pp.1-11. US 20200129564 A1, (см.
прод.)(54) **Биоактивный гидрогель на основе хитозана высокой молекулярной массы и способ его экстенпорального получения**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к гетерогенной гелеобразной композиции для местного применения с антимикробным действием на основе коллагена и хитозана, отличающейся тем, что содержит следующие компоненты, мас. %: хитозан 2,00, коллаген 1,00, лимонная кислота 0,72, нитрат серебра 1,00, глутаровый альдегид 0,55, вода дистиллированная 94,73, и также относится к способу получения гетерогенной гелеобразной композиции, включающему приготовление двух сток-растворов,

отличающемся тем, что отдельно приготавливаются раствор хитозана, коллагена и лимонной кислоты, а также раствор нитрата серебра и глутарового альдегида, которые перед применением смешивают в соотношении 1:1 по массе и выдерживают в течение 2-4 часов при температуре 0-4°C. Группа изобретений обеспечивает сохранение противомикробной активности и механических свойств композиции без применения электрохимических методов. 2 н.п. ф-лы, 2 пр.

(56) (продолжение):

30.04.2020. RU 2535013 C2, 10.12.2014.



(51) Int. Cl.
A61K 31/722 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/722 (2023.08); A61K 33/38 (2023.08); A61K 38/39 (2023.08); A61K 47/10 (2023.08); A61K 47/12 (2023.08); A61K 47/36 (2023.08)

(21)(22) Application: **2021138050, 20.12.2021**(24) Effective date for property rights:
20.12.2021Registration date:
27.12.2023

Priority:

(22) Date of filing: **20.12.2021**(43) Application published: **20.06.2023** Bull. № 17(45) Date of publication: **27.12.2023** Bull. № 36

Mail address:

**656049, g. Barnaul, pr-kt Lenina, 61, FGBOU VO
 "Altajskij gosudarstvennyj universitet",
 TSRTPTTUIS**

(72) Inventor(s):

Khalimov Ruslan Ilkhomovich (RU)

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe
 obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
 obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj
 universitet" (RU)**

(54) BIOACTIVE HYDROGEL BASED ON HIGH MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN AND METHOD OF ITS EXTEMPORANEOUS PRODUCTION

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions relates to a heterogeneous gel-like composition for topical use with an antimicrobial effect based on collagen and chitosan, characterized by containing the following components, wt. %: 2.00 of chitosan, 1.00 of collagen, 0.72 of citric acid, 1.00 of silver nitrate, 0.55 of glutaraldehyde, 94.73 of distilled water, and also refers to a method of producing a heterogeneous gel-like composition, including the preparation of two stocks-solutions,

characterized by the following: a solution of chitosan, collagen and citric acid, as well as a solution of silver nitrate and glutaraldehyde are prepared separately, which are mixed before use in a 1:1 ratio by weight and kept for 2–4 hours at a temperature of 0–4°C.

EFFECT: group of inventions ensures the preservation of antimicrobial activity and mechanical properties of the composition without the use of any electrochemical methods.

2 cl, 2 dwg

Изобретение относится к области фармации и ветеринарии, а именно к средствам противомикробного и ранозаживляющего действия в форме антибактериального геля. Предложен способ получения гетерофазной композиции на биополимерной основе, выполненной в виде геля. Предлагаемая композиция содержит, мас. %: хитозан с молекулярной массой не менее 200 кДа 2,0, коллаген 1,0, серебра нитрат 1,0, лимонную кислоту 0,72, двухатомный альдегид, являющийся, предпочтительно, глутаровым альдегидом, 0,55, а также воду дистиллированную (остальное).

Изобретение относится к области фармации и ветеринарии, а именно к средствам противомикробного и ранозаживляющего действия в форме антибактериального геля. В настоящее время в медицине актуальным направлением при лечении раневых поверхностей является использование раневых покрытий на биополимерной основе. Одним из направлений в разработке подобных продуктов является придание им антибактериальных свойств. При этом развитие у микроорганизмов резистентности к антибиотикам делает актуальным поиск средств, обладающих неспецифической токсичностью в отношении клеток бактерий.

Известен способ получения биологически активного комплекса - экогеля на основе хитозана и состав биологически активного комплекса для защиты сельскохозяйственных растений (патент RU 2316963 C1), содержащий, г/л: хитозан со степенью деацетилирования 75-88% - 1,0-50; молочную кислоту 1,0-50; ионы серебра - 7,5-10 мг/л и вода - остальное. Также известно антимикробное раневое покрытие и способ его получения (патент US 9,610,378 B2), содержащее растворимую форму хитозана малой и средней молекулярной массы а также соединения серебра (предпочтительно в виде нитрата серебра).

Недостатком данных способов является использование водорастворимых соединений серебра, что приводит к вымыванию ионов серебра из места введения, что приводит к снижению антимикробного действия. В случае раневого покрытия возникает также риск резорбции ионов серебра в кровоток и оказанию ими токсического воздействия на организм пациента.

Известны гель антисептический ранозаживляющий с пролонгированным действием (патент RU 2648230 C1) на основе полимеров, в том числе хитозана, содержащий стабилизированные наночастицы серебра, а также способ получения ранозаживляющей композиции на основе коллоидного оксида цинка, модифицированного коллоидным серебром (патент RU 2697834 C1), предлагающий дополнительную обработку реакционной смеси воздействием ультразвукового излучения.

Недостатком данных способов является использование заранее приготовленных коллоидных растворов частиц серебра, которое затрудняет образование однородной смеси.

Известны гидрофильный гель, способ его получения (варианты), раневое покрытие и перевязочное средство на его основе (патент RU 2422133 C1). В изобретении представлено несколько вариантов получения гидрофильного геля для раневого покрытия, например, способ получения гидрофильного геля включающий в себя смешение хитозана с полианионным гидроколлоидом, гидроколлоида, который представляет собой сукральфат или полиальгиновую кислоту, в который предварительно введен высокомолекулярный полиспирт и вспомогательные вещества, отличающийся тем, что перед смешением с хитозаном гидроколлоид при подщелачивании до pH 5,5 - 6,5 подвергают физико-химическому активированию путем замораживания-оттаивания, автоклавирования, обработки СВЧ или ультразвуком. В следующем варианте гидрофильный гель для раневого покрытия получают смешением хитозана с

полианионным гидроколлоидом, гидроколлоида, который представляет собой сукральфат или полиальгиновую кислоту, в который предварительно введено азотнокислое серебро и вспомогательные вещества, после чего выдерживают полученный продукт на свету до образования монокластеров серебра.

5 Также известен гель дезинфицирующий (патент RU 2736859 C1) содержащий хитозан, наночастицы серебра и воду, отличающийся тем, что он дополнительно содержит соляную кислоту или смесь соляной кислоты с уксусной, молочной, яблочной, лимонной кислотой, касторовое масло, а также этанол, пропанол или изопропанол. В изобретении хитозан смешивают с водой, при перемешивании добавляют одну или смесь заявленных
10 кислот до полного растворения хитозана. Затем в полученный гель при перемешивании вносят раствор нитрата серебра. Полученный гель подвергают УФ-облучению до превращения нитрата серебра в наночастицы. Затем в полученную композицию при непрерывном перемешивании добавляют смягчающее средство, в качестве которого выступает глицерин или касторовое масло, этанол или пропанол или изопропанол до
15 полного смешивания компонентов.

Кроме того, известен коллоидный раствор наночастиц серебра, металл-полимерный нанокompозитный пленочный материал, способы их получения, бактерицидный состав на основе коллоидного раствора и бактерицидная пленка из металл-полимерного материала (патент RU 2474471 C2). В изобретении процесс формирования наночастиц
20 серебра состоит в генерировании сольватированных электронов в растворителе (в воде) при действии гамма-облучения и последующем их взаимодействии с ионами серебра в растворе.

Помимо этого, известно перевязочное средство на биополимерной основе для профилактики и лечения инфекций при ожогах, трофических язвах и некрозе мягких
25 тканей (патент RU 2666012 C1). В изобретении коллоидные золи наночастиц серебра и меди синтезированы электрохимически в присутствии хитозана по методике, описанной в патенте RU 2410471 C1 «Способ получения наночастиц металлов в водной среде».

Недостатком вышеперечисленных способов является использование физико-химических методов формирования зольей серебра с применением электрохимических
30 установок или ионизирующего излучения, а также ультразвукового воздействия, высокой температуры и ударных волн, рождаемых струей несущего газа, для иммобилизации наночастиц металлов в смеси полимеров. Хотя подобные методы позволяют преодолеть недостатки средств на основе заранее полученных зольей серебра или композиций, включающих серебро в растворимой форме, их использование предъявляет высокие
35 требования к технологической оснащенности производства, особенно в случае использования гамма-излучения.

Наиболее близким к заявляемому по достигаемому результату, выбранным в качестве прототипа, является перевязочное средство на биополимерной основе (патент RU 2704623 C1), содержащее, мас. %: полиэтиленоксид 20,0-30,0; поливинилпирролидон
40 5,0-10,0; поливинилкапролактан 35,0-43,0; коллаген 1,0-6,0; альгинат 11,0-17,0; стабилизированный золь наночастиц серебра 5,0-7,0; стабилизированный золь наночастиц меди 5,0-7,0; хлорамфеникол 0,25-1,5; левоцетиризин 0,5-1,0.

Несмотря на высокий ранозаживляющий эффект, стимулирующее действие на процесс ангиогенеза, обеспечение высокого уровня лечения клеток эпидермиса в стадии
45 эпителизации и устранение вероятности проявления аллергических реакций, данный способ сохраняет недостаток своего прототипа, заключающийся в применении электрохимического способа получения коллоидного серебра, что предъявляет высокие требования к производителю.

Целью настоящего изобретения является сохранение противомикробных свойств композиции, содержащей нерастворимые частицы серебра, при упрощении схемы ее получения и обеспечении возможности приготовления данной композиции *ex tempore* из сток-растворов.

5 Технический результат - сохранение противомикробной активности и механических свойств композиции без применения электрохимических методов.

Поставленная цель достигается следующим образом:

10 Гетерогенная гелеобразная композиция для местного применения с антимикробным действием на основе коллагена и хитозана дополнительно содержит нитрат серебра при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Хитозан	2,00
Коллаген	1,00
Лимонная кислота	0,72
Нитрат серебра	1,00
15 Глутаровый альдегид	0,55
Вода дистиллированная	94,73

Способ получения гетерогенной гелеобразной композиции включает приготовление сток-растворов, при этом отдельно готовят раствор хитозана, коллагена и лимонной кислоты и раствор нитрата серебра и глутарового альдегида, смешивание 20 которых в массовом соотношении 1:1 производится непосредственно перед применением.

Получают сток-раствор хитозана, коллагена и лимонной кислоты (сток-раствор А) путем растворения 2,0 мас. % хитозана высокой молекулярной массы (не менее 200 кДа), 1,0 мас. % коллагена и 0,72 мас. % лимонной кислоты в 46,28 мас. % воды дистиллированной при температуре не выше 10°C. Полученный раствор представляет 25 собой вязкую полупрозрачную жидкость от светло-желтого до желтого цвета. Отдельно получают сток-раствор нитрата серебра и глутарового альдегида (сток-раствор Б) путем растворения 1,0 мас. % серебра нитрата и 0,55 мас. % глутарового альдегида в 48,45 мас. % воды дистиллированной. Полученный раствор представляет собой бесцветную жидкость с характерным запахом. Сток-растворы могут храниться не менее 30 28 суток при температуре 4°C без потери антимикробных свойств. Для получения биологически активного геля сток-растворы А и Б смешивают в равных соотношениях по массе, постепенно, небольшими порциями, добавляя охлажденный до 4°C сток-раствор Б в охлажденный до 4°C сток-раствор А при постоянном перемешивании. Смесь затем выдерживают при температуре 0-4°C в течение 4 часов. За счет медленного 35 перемешивания сток-растворов достигается образование нанодисперсной коллоидной взвеси солей серебра, обеспечивающей достижение максимального антибактериального действия за счет повышения площади контакта клеток возбудителя с наночастицами. Приготовление биологически активного геля непосредственно перед применением позволяет достичь максимальной биологической активности за счет того, что 40 находящиеся в геле соли серебра не успевают преобразоваться под действием кислорода воздуха в менее активную форму - оксид серебра.

Полученная композиция представляет собой клейкую гелеобразную массу бледно-желтого цвета с выраженной белой опалесценцией. Полученная композиция может храниться в течение 4-5 дней, при этом наблюдается постепенное потемнение 45 опалесцирующих частиц за счет разрушения молекул солей серебра и образования оксида серебра. Данный процесс сопровождается понижением антибактериальной активности и для его замедления полученный гель хранят с защитой от солнечного света, катализирующего процесс данного перехода.

Хитозан - биополимер природного происхождения, производное аминсахаров. Хитозан обладает широким спектром биологических свойств, одними из которых является его антибактериальная и противогрибковая активности. Несмотря на хорошо доказанное ингибирующее действие в отношении прокариот, а также дрожжеподобных и мицелиальных грибов, хитозан оказывает меньшее влияние на клетки млекопитающих. В настоящее время механизм антибактериального действия хитозана изучен не в полной мере, однако его принято связывать с нарушением структуры клеточной стенки бактерий.

Лимонная - структурный белок организма животных, в большом количестве присутствующий в различных тканях и обладающий такими достоинствами, как дешевизна производства, высокая биологическая совместимость и способность стимулировать рост клеток кожи человека при нанесении на раневую поверхность. Совместное использование в заявляемой композиции хитозана и коллагена позволяет достичь формирования стабильного геля с желаемой плотностью за счет формирования поперечных связей между аминокислотными группами хитозана и аминокислот коллагена под действием глутарового альдегида.

Соединения серебра обладают ярко выраженным антибактериальным действием, связанным с его способностью необратимо нарушать работу белков, обеспечивающих транспорт питательных веществ и образовывать структуры клеточной стенки бактерий.

Лимонная кислота при взаимодействии с нитратом серебра формирует наночастицы солей серебра, нерастворимые в воде, что обеспечивает локальное антибактериальное действие полученного геля.

Глутаровый дистиллированный в составе геля формирует поперечные сшивки между молекулами хитозана, обеспечивая необходимые механические свойства геля.

В результате воздействия композиции на клетку бактерии происходит комбинированное нарушение структуры и функций клеточной стенки, что приводит к гибели патогена.

Пример 1. Изучение способности заявляемой композиции к гелеобразованию проводили, смешивая сток-растворы, как указано выше, и выдерживая смесь при различных температурных режимах, а именно при 0-4°C и при 20-22°C с проверкой гелеобразования каждый час, а также при замораживании при температуре -18°C в течение 16 часов с последующим оттаиванием. Установлено, что при замораживании и последующем оттаивании формируется плотный гель, содержащий крупинки солей серебра, формирование которых обусловлено формированием центров кристаллизации вокруг очагов замерзания воды в геле. При температуре 0-4°C гель загустевал и приобретал упругую пригодную для манипуляций консистенцию в течение 2-4 часов, а при 20-22°C - в течение более чем 16 часов.

Пример 2. Оценку антибактериального действия заявляемой композиции проводили *in vitro* методом серийных разведений с целью определения ее минимальной эффективной концентрации, подавляющей размножение модельных микроорганизмов, а также определения роли каждого из компонентов композиции в этом подавлении.

Исследование проводили на первичных культурах бактерий - кишечной палочке (*E. coli*) и золотистом стафилококке (*St. aureus*). Данный выбор модельных микроорганизмов обусловлен необходимостью изучения противомикробной активности разработанной композиции в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Культуры кишечной палочки и стафилококков получали путем посева на селективные среды - среду Эндо и стафилококковый агар - с последующим пересевом на жидкую среду Мюллера-Хинтона.

Приготовляли последовательные двукратные разведения препарата сравнения и заявляемой композиции в свежеприготовленном виде (до загустевания) в бульоне Мюллера-Хинтона и заседали 100 мкл инокулята (10^5 КОЕ/мл). В качестве препарата сравнения использовали раствор гентамицина. В качестве положительного контроля использовали бульонную среду с бактериальными культурами, а в качестве отрицательного - только стерильный бульон.

После 24 часов инкубации смеси бактериальных культур и гелей в разных разведениях в аэробных условиях при 37°C проводили учет роста по визуальной регистрации мутности бульона. Минимальная ингибирующая концентрация рассматривалась как самая низкая концентрация, которая ингибировала рост микроорганизмов на 99%.

Минимальные ингибирующие концентрации составили 4 мг/мл для кишечной палочки и 1 мг/мл для золотистого стафилококка. Минимальная ингибирующая концентрация препарата сравнения составляла 0,1 мг/мл в отношении обоих возбудителей.

(57) Формула изобретения

1. Гетерогенная гелеобразная композиция для местного применения с антимикробным действием на основе коллагена и хитозана, отличающаяся тем, что содержит следующие компоненты, мас. %:

Хитозан	2,00
Коллаген	1,00
Лимонная кислота	0,72
Нитрат серебра	1,00
Глутаровый альдегид	0,55
Вода дистиллированная	94,73

2. Способ получения гетерогенной гелеобразной композиции по п.1, включающий приготовление двух сток-растворов, отличающийся тем, что отдельно готовят раствор хитозана, коллагена и лимонной кислоты, а также раствор нитрата серебра и глутарового альдегида, которые перед применением смешивают в соотношении 1:1 по массе и выдерживают в течение 2-4 часов при температуре 0-4°C.