



(51) МПК

A61K 33/38 (2006.01)*B82B 1/00* (2006.01)*A61K 47/30* (2006.01)*A61K 47/18* (2006.01)*A61K 47/36* (2006.01)*A61P 31/04* (2006.01)*A61P 31/10* (2006.01)*B82Y 5/00* (2011.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013121871/15, 14.05.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.05.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.05.2013

(45) Опубликовано: 20.07.2014 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2404781 C1 27.11.2010 . CN 102599164 A 25.07.2012. RU 2364472 C2 20.08.2009 . Kenji Nomiya "Syntheses, crystal structures and antimicrobial activities of polymeric silver(I) complexes with three amino-acids [aspartic acid (H2asp), glycine (Hgly) and asparagine (Hasn)]" Journal of the Chemical Society Dalton Transactions (Impact Factor: 3.65). 06/2002; DOI:10.1039/B200684G .

Адрес для переписки:

119991, Москва, В-334, ГСП-1, ул. Вавилова, 28,
ИНЭОС РАН, Отдел интеллектуальной
собственности

(72) Автор(ы):

Аскадский Андрей Александрович (RU),
Курская Елена Анатольевна (RU),
Самойлова Надежда Аркадьевна (RU),
Ямсков Игорь Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт
элементоорганических соединений им. А.Н.
Несмеянова Российской академии наук
(ИНЭОС РАН) (RU)

(54) КОМПОЗИЦИЯ В КАЧЕСТВЕ БАКТЕРИЦИДНОГО И АНТИФУНГАЛЬНОГО СРЕДСТВА (ВАРИАНТЫ) И МАКРОПОРИСТЫЙ БАКТЕРИЦИДНЫЙ МАТЕРИАЛ НА ЕЕ ОСНОВЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к композициям и полимерным материалам биомедицинского назначения, содержащим наночастицы серебра (0,0005-0,02 мас.%), стабилизированные амфифильными сополимерами малеиновой кислоты (0,0008-0,05 мас.%), низкомолекулярные органические амины (0,0002-0,04 мас.%) и воду. Кроме того, указанная композиция может дополнительно содержать полимерный структурообразователь. Введение в композицию полимерного структурообразователя позволяет получать макропористые структурированные

гидрогелевые материалы, обладающие пролонгированным бактерицидным и антифунгальным действием. Наиболее эффективно изобретение может быть использовано для обеззараживания воды из различных источников, а также для получения паро- и водопроницаемых покрытий на раны, бактерицидная и антифунгальная активность которых сохраняется в течение нескольких суток в биологических средах, а также в жесткой воде. 3 н.п. ф-лы, 2 табл., 9 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 33/38 (2006.01)*B82B 1/00* (2006.01)*A61K 47/30* (2006.01)*A61K 47/18* (2006.01)*A61K 47/36* (2006.01)*A61P 31/04* (2006.01)*A61P 31/10* (2006.01)*B82Y 5/00* (2011.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2013121871/15, 14.05.2013

(24) Effective date for property rights:
14.05.2013

Priority:

(22) Date of filing: 14.05.2013

(45) Date of publication: 20.07.2014 Bull. № 20

Mail address:

119991, Moskva, V-334, GSP-1, ul. Vavilova, 28,
INEhOS RAN, Otdel intellektual'noj sobstvennosti

(72) Inventor(s):

Askadskij Andrej Aleksandrovich (RU),
Kurskaja Elena Anatol'evna (RU),
Samojlova Nadezhda Arkad'evna (RU),
Jamskov Igor' Aleksandrovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut
ehlementoorganicheskikh soedinenij im. A.N.
Nesmejanova Rossijskoj akademii nauk
(INEhOS RAN) (RU)(54) **COMPOSITION AS BACTERICIDAL AND ANTIFUNGAL AGENT (VERSIONS) AND MACROPOROUS BACTERICIDAL MATERIAL BASED ON IT**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to compositions and polymeric materials for biomedical use, comprising silver nanoparticles (0.0005-0.02 wt %) stabilised by amphiphilic copolymers of maleic acid (0.0008-0.05 wt %), low molecular weight organic amines (0.0002-0.04 wt %) and water. In addition, the said composition

may additionally comprise the polymeric structure-forming agent.

EFFECT: introduction to the composition of the polymer structure-forming agent enables to obtain the macroporous structured hydrogel materials having prolonged bactericidal and antifungal action.

3 cl, 2 tbl, 9 ex

Изобретение относится к биосовместимым композициям и композиционным полимерным материалам биомедицинского назначения, содержащим наноразмерное серебро, стабилизированное амфифильными сополимерами малеиновой кислоты и низкомолекулярные органические амины.

5 Изобретение может быть использовано для получения макропористых структурированных материалов, обладающих пролонгированным бактерицидным и антифунгальным действием.

Предлагаемые композиции и материалы наиболее эффективно могут быть использованы для обеззараживания воды из различных источников, содержащих одно-
10 и двухвалентные катионы, а также для получения паро- и водонепроницаемых покрытий на раны, бактерицидные свойства которых сохраняются в течение нескольких суток в биологических жидкостях, а также в жесткой воде.

В настоящей заявке используются следующие сокращения:

НЧ - наночастицы;

15 НЧС - наночастицы серебра;

AgСП - наноразмерное серебро, стабилизированное амфифильными сополимерами малеиновой кислоты;

ЭМ, СМ и ВМ - сополимеры малеиновой кислоты с соответственно этиленом, стиролом и винилпирролидоном;

20 ЭМ₁₀, СМ₁₀ и ВМ₁₀ - амфифильные сополимеры малеиновой кислоты, модифицированные на 10% гидрофобными октадециламидными группами по одной из двух карбоксильных групп остатков малеиновой кислоты.

ПВС - поливиниловый спирт;

GlyOEt - этиловый эфир глицина;

25 PeOBzl - бензиловый эфир изолейцина;

Известно, что наноразмерные частицы серебра обладают бактерицидными и антифунгальными свойствами, причем максимальная эффективность достигается при диаметре частиц 1-10 нм. В небольших концентрациях НЧС безопасны для клеток человека, но губительны для большинства бактерий и вирусов. Считается, что
30 микроорганизмы в процессе мутаций практически не способны вырабатывать устойчивость к препаратам серебра в отличие от устойчивости ко многим антибиотикам узкого действия [Wright G.D. /Adv. Drug Deliv. Rev. 2005, vol. 57, p.1451].

Установлены некоторые механизмы неизбирательного бактерицидного и антифунгального действия наноразмерного серебра: (а) в основном, наночастицы
35 диаметром 1-10 нм адгезионно прикрепляются к клеточной мембране патогенных микроорганизмов и нарушают такие функции, как проницаемость и дыхание; (б) НЧ могут проникать в клетку путем соединения с серо- и фосфорсодержащими соединениями, такими как ДНК и некоторые белковые фрагменты, вызывая их повреждение; (в) НЧС медленно окисляются растворимым в воде кислородом, генерируя
40 катионы серебра, которые оказывают дополнительный бактерицидный эффект. Повреждая бактериальную клетку, наночастицы вызывают торможение роста и дыхания патогенных микроорганизмов. Бактерицидный и антифунгальный эффект НЧС зависит от дозы и при оптимальных концентрациях приводит к гибели клеток [Wigginton N.S., de Titta A., Piccapietra F. et al. Binding of silver nanoparticles to bacterial proteins depends on
45 surface modifications and inhibits enzymatic activity. / Environ. Sci. Technol. 2010, v.44, n.6, 2163-2168].

Известно, что для получения и стабилизации наночастиц серебра (НЧС) в водных растворах используют низкомолекулярные органические аминосодержащие соединения.

Известна композиция, которая включает первичные, вторичные или третичные амины, используемые при получении и стабилизации НЧС [патент Канады №2741917]. Гидразин или его производные (при 4-10 кратном мольным избытке амина на моль серебра) вводят в систему в два этапа и используют в качестве восстановителя катионного серебра. Процесс получения НЧС проводят в органическом растворителе, например в толуоле, что ограничивает использование таких композиций в водных растворах, содержащих соли, например в физиологическом растворе, для биомедицинских целей.

Известна композиция, которую используют для биомедицинских целей, содержащая первичный алифатический амин, растворимый в линейном углеводородном растворителе при 65-155°C, например, в метиловом спирте (MeOH), для стабилизации НЧС. Наночастицы серебра образуются при восстановлении муравьиной кислотой дисперсии окиси серебра, также диспергированной в MeOH, при нагревании [патент Канады №2741917]. Образующаяся композиция наноразмерного серебра требует тщательной очистки от неводного растворителя. Кроме того, в данном патенте нет указаний на стабильность выделенного препарата наноразмерного серебра в водных солевых растворах.

Известна композиция, в которой используют L-гистидин в качестве стабилизатора наноразмерного серебра (9-21 нм) в водной среде. Установлена связь НЧС с карбоксилатными группами L-гистидина. Однако в водной среде, содержащей соли, происходит агрегация наноразмерного серебра, что ухудшает его растворимость и ослабляет бактерицидные свойства [Liu, Zhiguo; Xing, Zhimin; Zu, Yuangang; Tan, Shengnan; Zhao, Lin; Zhou, Zhen; Sun, Tongze. / Materials Sci. and Engineering. C: Materials for Biol. Appl. (2012), 32(4), 811-816].

Известна композиция органико-неорганических наноструктур в виде суспензии, содержащая стабилизированные наночастицы (НЧ) благородных металлов, в виде поликомплекса, в двухфазной реакционной системе, состоящей из двух объемных контактирующих несмешивающихся жидкостей, при этом поликомплекс включает органические молекулы, содержащие аминокгруппы в количестве 2 или более, и наночастицы благородных металлов [патент РФ N 2364472]. В указанном патенте описаны также композиции, содержащие в качестве органических молекул молекулы линейных полиаминов диаминов, полиамина спермина, полиаллиламина, которые стабилизируют НЧ благородных металлов, в том числе и серебра, на границе раздела двух несмешивающихся фаз. Изобретение позволяет получать наноструктурированные металло-полимерные комплексы на основе полиаминов, содержащие наночастицы благородных металлов размером до 10 нм. Однако использование таких комплексов в биомедицинских целях ограничивается необходимостью тщательной очистки от органических растворителей, не смешивающихся с водой.

Известна композиция, которую используют для получения макропористых полимерных гидрогелей биомедицинского назначения, наполненных частицами наноразмерного серебра (2-10 нм), стабилизированных амфифильными сополимерами малеиновой кислоты [патент РФ N 2404781]. Композиция содержит, наряду с биосовместимыми полимерами-структурообразователями (2-13 мас.%), наполнители в виде наноразмерного серебра (0,007-0,3 мас.%), стабилизированного амфифильными сополимерами малеиновой кислоты (0,02-0,6 мас.%), а также лечебные вещества (0,01-0,6 мас.%) и воду. Из композиции получают способом криоструктурирования макропористые полимерные гидрогели и пленки, содержащие НЧС и лечебные вещества с регулируемыми прочностными и диффузионными характеристиками. Указанная

композиция и материал на ее основе наиболее эффективно могут быть использованы для обеззараживания воды и водных растворов, а также для получения паро- и водонепроницаемых покрытий на раны, обладающих ранозаживляющими свойствами и пролонгированным бактерицидным и антифунгальным действием. Данная композиция по совокупности признаков наиболее близка к заявляемой композиции и выбрана в качестве прототипа.

Недостатком композиции-прототипа является низкая коллоидная устойчивость стабилизированных частиц наноразмерного серебра в водных растворах, содержащих соли, что ограничивает возможности ее применения при контакте с биологическими жидкостями и тканями. Композицию-прототип можно эффективно использовать в качестве бактерицидного средства только в средах, не содержащих солей, в частности в дистиллированной или мягкой воде, ее применение в жесткой воде неэффективно, т.е. область применения прототипа ограничена. Материал, получаемый из композиции-прототипа, также неэффективен в средах, содержащих соли.

Задачей настоящего изобретения является создание новой композиции в качестве бактерицидного и антифунгального средства, а также макропористого бактерицидного материала, обладающих более широкой сферой применения.

Решение поставленной задачи достигается

(i) композицией в качестве бактерицидного и антифунгального средства, включающей восстановленное стабилизированное наноразмерное серебро (0,0005-0,02 мас.%), полимерный стабилизатор на основе амфифильных сополимеров малеиновой кислоты с сомономерами, выбранными из группы, включающей этилен, изобутилен, стирол, винилпирролидон, акриламид, винилацетат, метилметакрилат и стеариламидные производные этих сополимеров (0,0008-0,05 мас.%), воду и дополнительно низкомолекулярные органические амины или их производные, выбранные из группы, включающей эфиры аминокислот, аминоксахара, аминоксодержащие олигосахариды и пептиды, гистамин, уротропин (0,0002-0,04 мас.%); (ii) композицией, включающей восстановленное стабилизированное наноразмерное серебро (0,0005-0,02 мас.%), полимерный стабилизатор на основе амфифильных сополимеров малеиновой кислоты с сомономерами, выбранными из группы, включающей этилен, изобутилен, стирол, винилпирролидон, акриламид, винилацетат, метилметакрилат и стеариламидные производные этих сополимеров (0,0008-0,05 мас.%), низкомолекулярные органические амины или их производные, выбранные из группы, включающей эфиры аминокислот, аминоксахара, аминоксодержащие олигосахариды и пептиды, гистамин, уротропин (0,0002-0,04 мас.%), воду и дополнительно полимерный структурообразователь, такой как поливиниловый спирт, желатин, крахмал, пектин, агароза, коллаген и их смеси (2,0-13,0 мас.%), а также (iii) макропористым материалом с бактерицидной и антифунгальной активностью, полученным на основе одной из композиций.

Технический результат состоит в повышении коагуляционной устойчивости композиций и материалов, содержащих стабилизированные наночастицы серебра, в водных солевых растворах, в частности в биологических средах, что приводит к усилению бактерицидного и антифунгального действия таких композиций и материалов в вышеуказанных условиях.

При получении заявляемой композиции и макропористого бактерицидного материала были использованы следующие вещества:

- наноразмерное серебро (2-10 нм), полученное путем восстановления катионного серебра боргидридом натрия в присутствии эквимольного количества амфифильных сополимеров малеиновой кислоты в качестве стабилизаторов [Samoilova N.A., Kurskaya

Е.А., Krayukhina M.A, Askadsky A.A., Yamskov I.A. / J. Phys. Chem. B (2009) v.113, nil, p.3397-3403];

- сополимеры малеиновой кислоты и их 10% октадециламидные производные, полученные способом, описанным в работе [Conix, A.; Smets, G. / J. Polym. Sci. 1995, v.15, p.221] и [Krayukhina, M. A.; Kozibakova, S. A.; Samoiloa, N. A.; Babak, V. G.; Karayeva, S. Z.; Yamskov, I. A. / Russ. J. Appl. Chem. 2007, v.80, p.1145];

- мономеры для синтеза и модификации сополимеров-стабилизаторов наноразмерного серебра: малеиновый ангидрид, этилен, стирол, N-винилпирролидон, акриламид, метилметакрилат, винилацетат от компании "Aldrich";

- полимеры-структурообразователи: поливиниловый спирт (ЛВС) с молекулярной массой 60000 и степенью дезацелирования 98% производства Стерлитамакского хим. комбината, крахмал картофельный, агароза "Sigma";

- нитрат серебра (хч) и боргидриднатрия (хч) фирмы "Реахим";

- амины и их производные от компании "Aldrich".

Подбор конкретных сополимеров-стабилизаторов (СП) из перечисленных выше (стр.1), макромолекулы которых различаются размерами и гидрофильно-гидрофобным балансом, позволяет регулировать адсорбционные и диффузионные свойства AgСП при их совместном использовании с пористыми материалами (макропористыми гелями, фильтрующими и перевязочными материалами).

Повышение бактерицидной и антифунгальной активности AgСП в водных солевых растворах достигается за счет введения в композицию низкомолекулярных органических аминов. Конкурируя с катионами натрия или кальция за связывание с ионизированными карбоксильными группами остатков малеиновой кислоты (которые обеспечивают коллоидную стабильность и растворимость AgСП в водной среде), амины сдвигают коагуляционный порог в область более высоких концентраций неорганических солей. В качестве компонента, увеличивающего коллоидную устойчивость AgСП в водных солевых растворах, для заявляемых композиций выбирают только нетоксичные и биосовместимые органические амины, например, эфиры L-аминокислот, аминсахара, аминокислоты, олигосахариды и пептиды, которые могут использоваться для биомедицинских целей.

Заявляемая композиция, оптимальный состав которой устанавливается путем варьирования типов гидрофобного сомономера малеиновой кислоты, амина, мольного соотношения амин : AgСП, а также неорганического катиона обеспечивает возможность ее эффективного использования для обеззараживания биологических жидкостей и тканей, содержащих неорганические соли, с применением традиционных перевязочных материалов, пропитанных водными растворами композиции, а также для адсорбции композиции на пористых фильтрах, используемых для обеззараживания и очистки недистиллированной, например, жесткой воды.

Для получения заявляемых макропористых материалов на основе композиции в состав композиции включают полимерный структурообразователь (2,0-13 мас.%). При концентрации структурообразователя ниже 2% получаются непрочные сильно набухающие образцы, практическое использование которых затруднительно. А при концентрациях структурообразователей выше 13% формируются очень плотные образцы с размерами пор, затрудняющими диффузию стабилизированного наноразмерного серебра с аминами из криогеля в водную среду.

Макропористые гидрогелевые материалы получают способом криоструктурирования. Материалы, полученные на основе заявляемой композиции, представляют собой макропористые гидрогели, наполненные AgСП совместно с низкомолекулярными

аминами. Постепенная диффузия AgСП из пористых гидрогелей в водные солевые растворы позволяет использовать материалы такого типа в качестве бактерицидных и антифунгальных перевязочных средств пролонгированного действия. В материалах можно регулировать диффузию AgСП. Материалы обладают высоким уровнем коллоидной стабильности в водных растворах солей.

Ранее на примере патогенных грибов *F. Oxisporum* было установлено, что антифунгальная активность наноразмерного серебра со средним диаметром частиц (1-10 нм), стабилизированного сополимером малеиновой кислоты и этилена (AgЭМ), наблюдается уже при концентрации около 10 м.д. (т.е. около 10 мг/л) [Samoilova N.A., Kurskaya E.A., Krayukhina M.A., Askadsky A.A., Yamskov I.A. / J. Phys. Chem. B. 2009, v.113, n 11, p.3395 - 3403]. С учетом молекулярной массы мономерного звена сополимера AgЭМ, равной 252, одна антифунгальная доза препарата составляет около 0,04 ммоль в литре (или 0,004 ммоль в 100 г раствора).

Принимая во внимание возможность пролонгированного действия композиции и материала в водных солевых растворах, при варьировании состава композиции, авторами было принято, что минимальное содержание AgСП должно соответствовать композиции такого состава, который через 7 суток пребывания в водном солевом растворе обеспечивает сохранение наноразмерного серебра в растворе в количестве не ниже одной антифунгальной дозы.

При определении максимального содержания AgСП в композиции исходили из того, что концентрация AgСП в солевом растворе не должна превышать приблизительно 4,6 антифунгальных доз (20 мг/л или 0,0185 ммоль в 100 г), что соответствует наибольшей нетоксичной лечебной дозе Ag° в растворе при наружном применении). ["Биобезопасность нанообъектов" данные лаборатории экологической генетики Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, также Hussan S.M. et al. / Toxicological Sci. 2006, v.92,n2, pp.456-463].

Количество AgСП и амина, введенных в состав макропористого гелевого материала, зависит от уровня диффузии наноразмерного серебра в водный раствор, а также от его коллоидной устойчивости, при этом величина конечной концентрации AgСП в растворе соли должна находиться в диапазоне от 1 до 4,6 антифунгальных доз, т.е. от 0,004 до 0,0185 ммоль в 100 г раствора в течение 7 суток диффузии.

Коллоидная устойчивость AgСП в водных растворах солей зависит от количественного и качественного состава композиции и, в том числе, от мольного соотношения амин : AgСП. Экспериментально было установлено, что наиболее успешное защитное действие аминов на коллоидную стабильность в растворах хлористого натрия и кальция наблюдается при мольном соотношении амин : AgСП, равном 0,3-2,0 : 1. Вне указанного интервала мольных соотношений наблюдаются процессы коагуляции, значительно снижающие бактерицидную и антифунгальную активность AgСП.

Изобретение иллюстрируется приведенными ниже примерами. Конкретные составы заявляемых композиций и полученного макропористого материала и их антифунгальное действие в средах, содержащих соли, приведены в следующих ниже примерах и таблицах 1 и 2.

При расчете молекулярной массы каждого из AgСП в растворах использовали молекулярную массу одного мольного звена каждого из сополимеров-стабилизаторов (СП) наноразмерного серебра, т.е. осново-моль, равный 144 для ЭМ, 169 для ЭМ10, 227 для ВМ, 252 для ВМ10, 220 для СМ и 245 для СМ10; количество СП в композиции определяли из мольного соотношения СП : Ag=1 : 1.

Во всех примерах исследовались антифунгальные свойства заявляемых композиций и материалов различного состава в водных средах, содержащих соли натрия или кальция. Плотность всех растворов считали равной единице. Наличие антифунгальной активности определялось наличием наночастиц серебра в водных растворах в количестве не менее одной антифунгальной дозы 0,004 ммоль в 100 г раствора. По интенсивности желтой окраски (λ_{\max} 415-420 нм), характеризующей поглощение наноразмерного серебра (диаметром до 100 нм) в водном растворе, определяли концентрацию AgСП (коэффициент молярного поглощения равен около 10^4). Эффективной считали композицию такого состава, при котором ее антифунгальная активность (определяемая наличием НЧС в количестве не менее 1 антифунгальной дозы) сохраняется в течение 7 суток пребывания в водном солевом растворе.

Пример 1. Для получения 100 г раствора, содержащего 1,5 ммоль (378 мг) AgЭМ, смешивают 50 г раствора, содержащего 1,5 ммоль AgNO₃, и 50 г раствора, содержащего 1,5 ммоль сополимера-стабилизатора, затем при перемешивании прибавляют 23 мг (приблизительно 7,5 ммоль боргидрида натрия. Полученный раствор очищают от низкомолекулярных компонентов методом исчерпывающего диализа, подвергают лиофильной сушке и получают AgЭМ в виде порошка.

Композицию готовят следующим образом: навеску 1,3 мг (0,005 ммоль) AgЭМ, (содержащую 0,5 мг серебра и 0,8 мг сополимера ЭМ), растворяют в 25 граммах дистиллированной воды. Затем к полученному раствору при перемешивании прибавляют 25 граммов водного раствора, содержащего 0,2 мг (0,0015 ммоль) гистамина солянокислого (ММ 111) и прибавляют 50 г воды. В готовую композицию (100 г) вводят 20 ммоль NaCl для исследования антифунгальных свойств композиции в среде, содержащей соль. В полученном растворе (100 г) содержится 10 ммоль NaCl. При этом молярное соотношение гистамин : AgЭМ составляет 0,3 : 1. Как видно из данных, приведенных в таблице, концентрация AgЭМ в комплексе с гистамином через 7 суток сохраняется на уровне одной антифунгальной дозы 0,004 ммоль в 100 г раствора.

Пример 2. Стабилизированные наночастицы AgBM получают аналогично другим AgСП, по методике, описанной в примере 1 для AgЭМ.

Водную композицию (100 г), содержащую 6,2 мг (0,0185 ммоль) AgBM (2 мг Ag+4,2 мг сополимера BM) и 3,3 мг (0,013 ммоль) глюкозамина солянокислого (ММ 252) готовят по методике, описанной в примере 1. В готовую композицию (100 г) вводят 48 ммоль NaCl для исследования антифунгальных свойств композиции в среде, содержащей соль. В полученном растворе (100 г) содержится 24 ммоль NaCl (что превышает концентрацию соли в физиологическом растворе 15,4 ммоль/100 г). Молярное соотношение глюкозамин : AgBM составляет 0,7 : 1. Показано, что через 7 суток концентрация AgBM в композиции с глюкозамином сохраняется на уровне одной антифунгальной дозы.

В примерах 1-10 AgСП получают по методике, описанной в примере 1. Композиции и солевые среды в примерах 3-6 готовят по методикам, аналогичным описанным в примерах 1 и 2. Пример 6 относится к композиции, в составе которой отсутствует амин, приведен для сравнения. Для приготовления композиций можно использовать AgСП в виде раствора, очищенного от низкомолекулярных компонентов методом исчерпывающего диализа, или в виде порошка после лиофильной сушки. Данные примеров 1-6 и 7-10 приведены в таблицах 1 и 2, соответственно.

Таблица 1

Антифунгальное действие заявляемых композиций в водных растворах, содержащих NaCl и CaCl₂

Номер примера	Содержание компонентов 100 г композиции (ммоль)			Количество соли, введенной в 100 г водного раствора	Количество AgСП (ммоль/число антифунгальных доз) в растворе через 15 мин, 1 сутки и 7 суток после введения соли		
	Ag	СП	Амин, мольное соотношение амин : AgСП		15 мин	1 сутки	7 суток
5	1.	0,5 (0,05; ЭМ 0,8 (0,05;	Гистамин 0,2 (0,0015), 0,3 : 1	NaCl 10 ммоль	05 1,3	0,0048 1,2	0,0045 1,1
	2.	2,0 (0,0185) ВМ 4,2 (0,0185)	Глюкозамин солянокислый 3,3 (0,013) 0,7 : 1	NaCl 24 ммоль	0,0135 3,4	0,0113 2,8	0,0067 1,7
10	3.	2,0 (0,0185) ВМ10 4,7 (0,0185)	ПеОВzI 14,5 (0,037) 2 : 1	CaCl ₂ 2,6 ммоль	0,0112 2,8	0,0080 2,0	0,0057 1,4
	4.	0,4 (0,004) ЭМ 0,6 (0,004)	Гистамин 0,1 (0,0008), 0,2 : 1	NaCl 8 ммоль	0,0032 0,8	0,0024 0,6	0,0010 0,3
	5.	2,0 (0,0185) СМ 4,2 (0,0185)	ПеОВzI 16(0,041), 2,2 : 1	CaCl ₂ 2,6 ммоль	опалесценция	взвесь коричневых частиц	осадок соли кальция с AgСМ
15	6.	2,0 (0,0185) ВМ 4,2 (0,0185)	отсутствует	NaCl 24 ммоль	0,003	0,001	коллоидный осадок металлического серебра

Данные, приведенные в таблице 1 показывают, что концентрация наноразмерного серебра в солевом растворе заметно снижается в связи с образованием коллоидного осадка (Пример 5), что резко снижает и бактерицидные свойства композиции.

Заявляемая композиция, упомянутая выше, из которой получают заявляемый макропористый материал содержит полимерный структурообразователь (2-13 мас.%). Способ получения макропористых материалов на основе композиции включает приготовление водного раствора или дисперсии структурообразователя, последующее введение в него водного раствора наноразмерного серебра, стабилизированного сополимерами малеиновой кислоты (AgСП) и низкомолекулярного органического амина, дальнейшее однократное или двухкратное криоструктурирование, которое включает замораживание, выдерживание в замороженном состоянии при температуре минус 10-30°C в течение 10-20 часов и ступенчатое оттаивание в течение 2-4 часов последовательно при 2-6°C и 20-24°C [патент РФ №2404781].

Пример 7. AgСМ получают, как описано в примере 1.

Готовят раствор AgСП и амина, при мольном соотношении гистамин : AgСМ=0,5 : 1. Навеску 16,4 мг (0,050 ммоль) (5,5 мг серебра+10,9 мг СМ) растворяют в 9 г дистиллированной воды, затем при перемешивании добавляют 9 г водного раствора, содержащего 2,8 мг (0,025 ммоль) гистамина солянокислого (ММ 111).

В качестве структурообразователя используют 2,5% раствор агарозы. Сухую агарозу (2,5 г) подвергают набуханию в 80 г холодной дистиллированной воды и растворяют при перемешивании и нагревании до 90-100°C. Затем к полученному раствору прибавляют раствор, содержащий AgСМ и гистамин, доводят вес до 100 г дистиллированной водой и замораживают в металлическом контейнере требуемой толщины (например, 2 см) при минус 20°C в течение 18 часов. Далее производят ступенчатое оттаивание образца путем последовательного его выдерживания в течение 2 часов сначала при 4, затем при 22-23°C. Процесс замораживания-оттаивания производят два раза.

Полученный после оттаивания образец имеет губчатую структуру. Для определения уровня диффузии НЧС из геля в водный солевой раствор влажный образец геля помещают в 100 г водного раствора, содержащего 20 ммоль NaCl. Через 7 суток диффузии НЧС концентрация наноразмерного серебра в растворе NaCl составляла 0,0055 ммоль/100 г, т.е. около 1,4 антифунгальной дозы наноразмерного серебра (таблица 2, пример 7).

Пример 8. Для приготовления раствора, содержащего эквимольные количества AgBM и амина в 9 г дистиллированной воды растворяют навеску 20.1 мг (0,060 ммоль) AgBM (включающую 6,5 мг серебра и 13,6 мг BM), затем при перемешивании прибавляют 9 г водного раствора, содержащего 14,8 мг (0,060 ммоль) этилового эфира

5 лизина солянокислого (ММ 247).

В качестве структурообразователя используют 6% раствор ПВС. Навеску ПВС (6 г) подвергают набуханию в 80 г холодной дистиллированной воды. Затем дисперсию ПВС растворяют при нагревании до 80-90°C и к полученному раствору добавляют при перемешивании раствор, содержащий эквимольные количества AgBM и амина,

10 прибавляя дистиллированную воду, доводят массу раствора до 100 г, помещают раствор в металлические формы и однократно замораживают при температуре -16°C в течение 18 часов с последующим ступенчатым оттаиванием, как описано в примере 6.

Оттаявший образец макропористого геля помещают в 100 г водного раствора хлористого кальция с концентрацией 2 ммоль/100 г. Показано, что через 7 суток в

15 растворе соли содержится 1,3 антифунгальной дозы AgBM.

Пример 9. Для приготовления водного раствора, содержащего амин и AgCM10 в мольном соотношении 1,5 : 1, смешивают 9 г водного раствора, содержащего 65,3 мг (0,185 ммоль AgCM10 (20 мг серебра+45,3 мг CM10), и 9 г раствора, содержащего 38,9 мг (0,278 ммоль) этилового эфира глицина солянокислого GlyOEt HCl.

20 В качестве структурообразователя используют 13% дисперсию тонковолокнистого коллагена, полученную путем кислотнo-щелочной обработки дисперсии грубоволокнистого коллагена. Эту дисперсию получают механическим измельчением

25 в течение нескольких часов для получения тонковолокнистого коллагена, затем подщелачивают 0,5 М раствором NaOH до pH около 3,5 - 4,5.

К полученной дисперсии при перемешивании добавляют вышеупомянутый раствор наноразмерного серебра и амина, смесь в помещают в металлические формы, замораживают при температуре -25°C в течение 18 часов и оттаивают, последовательно

30 выдерживая по 2 часа при температурах 4 и 22-23°C.

Образующийся после оттаивания влажный макропористый коллагеновый материал, полученный из 100 г композиции, помещают в 100 г раствора хлористого натрия с концентрацией 24 ммоль/100 г. Через 7 суток концентрация наноразмерного серебра в растворе составила 0,0080 ммоль/100 г раствора, т.е. 2 антифунгальные дозы (таблица

35 2, пример 9).

40 Номер приме- ра	Содержание компонентов в 100 г композиции мг (ммоль)				Количество соли, введенной в 100 г водного раствора	Количество AgСП (ммоль/число антифунгальных доз) при диффузии AgСП из материала в водный раствор соли (100 г) через		
	Ag	СП	Амин, мольное соотношение амин : AgСП	Структурообразователь		1 сутки	3 суток	7 суток
7.	0,5 (0,05)	CM 10,9 (0,050)	Гистамин 2,8 (0,025) 0,5 : 1	Агароза 2,5 г	NaCl 20 ммоль	0,0036 0,9	0,0048 1,2	0,0055 1,4
45 8.	6,5 (0,060)	BM 13,6 (0,060)	LysOEt 14,8 (0,060) 1 : 1	ПВС 6 г	CaCl ₂ 2,0 ммоль	0,004 1,0	0,0048 1,2	0,0052 1,3
9.	20 (0,185)	CM10 45,3 г (0,1850)	GlyOEt 38,9 (0,278) 1,5 : 1	Коллагеновая дисперсия 13 г	NaCl 24 ммоль	0,0048 1,2	0,0060 1,5	0,0080 2,0
10*.	0,5 (0,05)	CM 10,9 (0,050)	отсутствует	Агароза 2,5 г	NaCl 20 ммоль	0,0004 0, 1	0,0008 0,2	0,0015 0,4

*Композиция примера 10, в которой отсутствует амин, приведена для сравнения.

Заявляемые композиции и материалы проявляют антифунгальное действие в растворах, содержащих соли, что позволяет использовать их в таких средах, как физиологический раствор и биологические жидкости, а также в жесткой воде.

Из приведенных примеров видно, что расширение сферы применения наноразмерного серебра, стабилизированного амфифильными сополимерами малеиновой кислоты, в качестве бактерицидного и антифунгального средства в водных солевых растворах обеспечивается введением низкомолекулярных органических аминов в мольных соотношениях амин : AgСП=0,3-2,0 : 1. Амины предложенного в изобретении ряда хорошо растворяются в водной среде в широком температурном диапазоне и не являются токсичными веществами.

Заявляемые композиции, бактерицидные и антифунгальные свойства которых сохраняются в течение нескольких суток в водных солевых средах наиболее эффективно могут быть использованы для обеззараживания воды из различных источников, содержащих одно- и двухвалентные катионы. Композицию, не содержащую структурообразователя, можно подвергать лиофильной сушке, в результате получать порошки, применимые для тех же целей, или непосредственно, или после растворения в воде и получения соответствующей композиции. Композиции в виде порошка удобны для хранения и транспортировки.

Заявляемый макропористый материал может использоваться в качестве перевязочного средства с пролонгированным бактерицидным и антифунгальным действием в растворах, содержащих соли (например, в плазме крови) в течение нескольких суток. Заявляемый материал сохраняет свои свойства при хранении во влажном состоянии.

Формула изобретения

1. Композиция в качестве бактерицидного и антифунгального средства, включающая восстановленное стабилизированное наноразмерное серебро, полимерный стабилизатор на основе амфифильных сополимеров малеиновой кислоты с сомономерами, выбранными из группы, включающей этилен, изобутилен, стирол, винилпирролидон, акриламид, винилацетат, метилметакрилат; стеариламидные производные этих сополимеров и воду, отличающаяся тем, что дополнительно содержит низкомолекулярные органические амины или их производные, выбранные из группы, включающей эфиры аминокислот, аминоксахара, аминоксодержащие олигосахариды и пептиды, гистамин, уротропин, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Наноразмерное серебро	0,0005-0,02
Сополимер-стабилизатор наноразмерного серебра	0,0008-0,05
Низкомолекулярные органические амины	0,0002-0,04
Вода	Остальное до 100

2. Композиция в качестве бактерицидного и антифунгального средства, включающая восстановленное стабилизированное наноразмерное серебро, полимерный стабилизатор на основе амфифильных сополимеров малеиновой кислоты с сомономерами, выбранными из группы, включающей этилен, изобутилен, стирол, винилпирролидон, акриламид, винилацетат, метилметакрилат; стеариламидные производные этих сополимеров; полимерный структурообразователь, такой как поливиниловый спирт, желатин, крахмал, пектин, агароза, коллаген и их смеси; и воду, отличающаяся тем, что дополнительно содержит низкомолекулярные органические амины или их производные, выбранные из группы, включающей эфиры аминокислот, аминоксахара,

аминосодержащие олигосахариды и пептиды, гистамин, уротропин; при следующем соотношении компонентов, мас. %:

5	Наноразмерное серебро	0,0005-0,02
	Сополимер-стабилизатор наноразмерного серебра	0,0008-0,05
	Низкомолекулярные органические амины	0,0002-0,04
	Полимерный структурообразователь	2,0-13,0
	Вода	Остальное до 100

3. Макропористый материал с бактерицидной и антифунгальной активностью, полученный на основе композиции по п.2.

10

15

20

25

30

35

40

45