



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 38/17* (2006.01)  
*A61K 33/38* (2006.01)  
*C07K 14/435* (2006.01)  
*B01J 19/08* (2006.01)  
*C01G 5/00* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 33/38* (2006.01); *B01J 19/085* (2017.08); *C07K 14/435* (2017.08); *A61K 38/17* (2006.01); *A61K 38/38* (2006.01); *A61K 38/39* (2006.01)

(21)(22) Application: **2016152434, 28.12.2016**(24) Effective date for property rights:  
**28.12.2016**Registration date:  
**01.03.2018**

Priority:

(22) Date of filing: **28.12.2016**(45) Date of publication: **01.03.2018** Bull. № 7Mail address:  
**630098, g. Novosibirsk, a/ya 55, Burmistrovu V.A.**

(72) Inventor(s):

**Burmistrov Vasilij Aleksandrovich (RU),  
Burmistrov Anton Vasilevich (RU),  
Burmistrov Ilya Vasilevich (RU),  
Burmistrov Aleksandr Vasilevich (RU),  
Pestryakov Aleksej Nikolaevich (RU),  
Odegova Galina Viktorovna (RU),  
Bogdanchikova Nina Evgenevna (MX)**

(73) Proprietor(s):

**Obschestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu  
Nauchno-proizvodstvennyj tsentr "Vektor-Vita"  
(RU)**

(54) **METHOD FOR SILVER PROTEINATE PRODUCTION**

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology.

SUBSTANCE: method for silver proteinate production is proposed. A protein hydrolyzate solution and a silver salt solution are prepared in distilled water. The silver salt solution is added to the protein hydrolyzate solution in terms of final silver concentration of not more than 3 wt % and at a silver/protein hydrolyzate weight ratio of 1/5-1/20, the resulting solution is mixed and poured into a flat container until a layer of no more than 5 cm thick is formed. The layer is subjected to electron-beam processing by passing a beam of accelerated electrons

through it in an absorbed dose of 5-30 kGy. As protein hydrolyzate, hydrolysates of gelatine, casein, albumin are used, as a water-soluble silver salt - silver nitrate, silver acetate.

EFFECT: invention allows to increase the stability and safety of the antimicrobial activity of the aqueous solution of silver proteinate and to release it in the form of a ready-to-use dosage form with a long shelf life without drying and subsequent extemporal dissolution of the preparation.

4 cl, 1 dwg, 1 tbl, 10 ex



(51) МПК  
*A61K 38/17* (2006.01)  
*A61K 33/38* (2006.01)  
*C07K 14/435* (2006.01)  
*B01J 19/08* (2006.01)  
*C01G 5/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*A61K 33/38* (2006.01); *B01J 19/085* (2017.08); *C07K 14/435* (2017.08); *A61K 38/17* (2006.01); *A61K 38/38* (2006.01); *A61K 38/39* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2016152434, 28.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
28.12.2016

Дата регистрации:  
01.03.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.12.2016

(45) Опубликовано: 01.03.2018 Бюл. № 7

Адрес для переписки:  
630098, г. Новосибирск, а/я 55, Бурмистрову В.А.

(72) Автор(ы):

Бурмистров Василий Александрович (RU),  
 Бурмистров Антон Васильевич (RU),  
 Бурмистров Илья Васильевич (RU),  
 Бурмистров Александр Васильевич (RU),  
 Пестряков Алексей Николаевич (RU),  
 Одегова Галина Викторовна (RU),  
 Богданчикова Нина Евгеньевна (MX)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью  
 Научно-производственный центр  
 "Вектор-Вита" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 20070009580 A1, 11.01.2007. RU 2128047 C1, 27.03.1999. BOGLE K. A. et al. "Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation", Nanotechnology, 2006, v.17, p.3204-3208. ВЕГЕРА А.В. и др. "Синтез и физико-химические свойства наночастиц серебра, стабилизированных желатином", Известия Томского политехнического университета. (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕИНАТА СЕРЕБРА

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, медицине и ветеринарии. Предложен способ получения протеината серебра. Готовят в дистиллированной воде раствор гидролизата белка и раствор соли серебра. В раствор гидролизата белка вводят раствор соли серебра из расчета конечной концентрации серебра не более 3% мас. и при весовом соотношении серебро/гидролизат белка 1/5-1/20 полученный раствор перемешивают и переливают в плоскую емкость до образования слоя толщиной не более 5 см. Подвергают слой электронно-лучевой обработке путем пропускания через него пучка

ускоренных электронов в поглощенной дозе 5-30 кГр. В качестве гидролизата белка используют гидролизаты желатина, казеина, альбумина, в качестве водорастворимой соли серебра – нитрат серебра, ацетат серебра. Изобретение позволяет повысить стабильность и сохранность антимикробной активности водного раствора протеината серебра и выпускать его в виде готовой к применению лекарственной формы с длительным сроком хранения без стадии сушки и последующего экстремального растворения препарата. 3 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл., 10 пр.

(56) (продолжение):  
2006. Т. 309. по. 5, с.60-64.

R U 2 6 4 6 1 0 5 C 1

R U 2 6 4 6 1 0 5 C 1

Изобретение относится к способам получения протеината серебра, которые могут быть использованы в биотехнологии, медицине и ветеринарии в составе препаратов с антимикробным действием.

Известен способ получения коллоидных наночастиц серебра путем воздействия пучка ускоренных электронов на водный раствор, содержащий полимер медицинского назначения, например поливинилпирролидон и нитрат серебра (патент RU 2602534, МПК C01G 5/00, B82B 3/00, опубл. 20.11.2016). Недостатком данного способа является то, что он не позволяет получать с помощью электронно-лучевой обработки протеинат серебра. Для этих соединений серебра роль стабилизатора выполняют продукты гидролизата белка, а не полимеры медицинского назначения. В отличие от небиодеградируемого полимера поливинилпирролидона, гидролизаты белка являются биодеградируемым субстратом.

Известен коммерческий бактерицидный лекарственный препарат протеината серебра - препарат протаргол - (Машковский М.Д. - Лекарственные средства /Москва, Новая волна, 2008).

Наиболее близким техническим решением является протаргол, который представляет собой порошок коричневого цвета, растворимый в воде, содержит 7,8-8,3% мас. серебра. Препарат получают взаимодействием щелочного гидролизата белка (казеин, желатин, альбумин) в водном растворе с азотнокислым серебром при повышенной температуре с последующей нейтрализацией раствора и распылительной или лиофильной сушкой готового продукта (Благитко Е.М., Бурмистров В.А., Колесников А.П., Михайлов Ю.И., Родионов П.П. - Серебро в медицине /Новосибирск, Наука-Центр, 2004).

Принципиальным недостатком препарата, полученного известным способом, является невысокая стабильность его лекарственной формы в виде водных растворов различной концентрации, срок годности которых не превышает 1-2 месяца. Это не позволяет серийно выпускать препарат в виде готовых к применению лекарственных форм с длительными сроками хранения. Препарат выпускается в виде субстанции (порошка), из которой готовят экстемпоральные формы в рецептурных отделах аптек или клиник или непосредственно потребителем перед использованием. Срок годности таких форм не превышает 1-2 месяца. Это создает определенные неудобства для потребителей и затрудняет широкое использование протаргола в медицинской и ветеринарной практике.

Задачей изобретения является разработка способа получения протеината серебра с улучшенными показателями по стабильности и сохранности водного раствора, что позволило бы исключить стадию сушки и выпускать препарат в виде водного раствора - готовой к применению лекарственной формы с длительным сроком хранения.

Поставленная задача решается с помощью способа получения протеината серебра, включающего растворение в воде гидролизата белка и соли серебра, и последующей электронно-лучевой обработкой раствора путем пропускания через него пучка ускоренных электронов в поглощенной дозе 5-30 килогрей.

Предпочтительно в качестве гидролизата белка используют гидролизаты желатина (коллагена), альбумина, казеина.

Предпочтительно в качестве водорастворимой соли серебра используют нитрат серебра, ацетат серебра.

Предпочтительно готовят раствор гидролизата белка с концентрацией 5-30 мас. %. В раствор гидролизата белка вводят раствор соли серебра из расчета конечной концентрации серебра не более 3 мас. % и при соотношении серебро/гидролизат белка 1/5-1/20.

Полученный раствор гидролизата белка и соли серебра перемешивают и переливают

в плоскую емкость до образования толщины слоя не более 5 см.

В заявляемом способе протеинат серебра получают электронно-лучевой обработкой водного раствора, содержащего гидролизат белка и водорастворимую соль серебра. Электронно-лучевая обработка заключается в пропускании через раствор пучка ускоренных электронов, получаемых на установке (линейном ускорителе) типа ИЛУ-10 в поглощенной дозе 5-30 кГр (килогрей) или 0,5-3 мРад (мегарад). Для приготовления водных растворов солей серебра используются реактивы марки ОСЧ, ЧДА, деионизированная или дистиллированная вода.

В дистиллированной воде готовят раствор гидролизата белка с концентрацией 5-30 мас. %. В отдельной емкости готовят в дистиллированной воде раствор серебра нитрата с концентрацией 0,5-15 мас. %. Раствор соли серебра вносят в раствор гидролизата белка из расчета конечной концентрации серебра не более 2,5-3 мас. % и соотношения серебро/гидролизат белка 1/5-1/20 (на 1 весовую часть серебра 5-20 весовых частей гидролизата белка). Полученный раствор перемешивают и переливают в плоские емкости из стекла или полимерного материала с таким расчетом, чтобы толщина слоя раствора, подвергаемого электронно-лучевой обработке, не превышала 5 см. Такая толщина позволяет проводить качественную обработку всего объема раствора.

Далее раствор подвергают воздействию пучка ускоренных электронов на установке типа ИЛУ-10 с таким расчетом, чтобы поглощенная доза составила 5-30 кГр (килогрей). Величина дозы коррелирует с используемой концентрацией серебра. Для малых концентраций серебра (до 0,3%) достаточно 5 кГр, для больших концентраций (3%) - 30 кГр. В процессе обработки раствор становится темно-коричневого цвета с красноватым оттенком из-за образования протеината серебра.

Продолжительность облучения раствора гидролизата белка и соли серебра задается и определяется величиной поглощенной дозы и зависит от технических характеристик установки. На радиационно-технологической установке ИЛУ-10 (энергия электронов 4,9 МэВ, импульсный ток пучка электронов 300 мА) поглощенная доза 15 кГр достигается в течение 1 мин. Дополнительно поглощенная доза контролируется средствами дозиметрического контроля - рабочим дозиметром (СО ПД(Ф)Р) и цветовым индикатором облучения (ЦВИД-3).

Полноту перехода ионного серебра в протеинат серебра проверяют качественной капельной пробой с насыщенным раствором NaCl (Государственная фармакопея СССР, X издание стр. 746). Ионное серебро при добавлении хлорид-ионов образует характерный белый осадок хлорида серебра, нерастворимый в азотной кислоте, но растворимый в избытке раствора аммиака.

После обработки и получения протеината раствор переливают в мерную емкость, доводят дистиллированной водой до необходимой концентрации по серебру. Готовый раствор переливают в емкость из непрозрачного материала. Хранят раствор в герметично закрытом виде в защищенном от света месте.

Техническим результатом заявляемого изобретения является повышение стабильности и сохранности водного раствора протеината серебра. Повышенная стабильность водного раствора протеината серебра позволяет выпускать его в виде готовой к применению лекарственной формы с длительным сроком хранения. В свою очередь это позволяет убрать из процесса получения готового лекарственного препарата стадии сушки и последующего экстенпорального растворения препарата. Это удешевляет производство препарата и повышает его потребительские качества.

Сущность изобретения далее иллюстрируется примерами.

Пример 1

### Описание способа получения протеината серебра

В сосуде, снабженном мешалкой, готовят раствор гидролизата желатина (коллагена) с концентрацией 20 мас. %, интенсивно перемешивают до полного растворения.

В другом сосуде готовят концентрат нитрата серебра с концентрацией 10 мас. %, перемешивают при комнатной температуре до полного растворения. Полученный раствор соли серебра вносят в сосуд с раствором гидролизата белка в расчете на 1 весовую часть серебра 11 частей гидролизата белка, интенсивно перемешивают и переливают в плоскую емкость из стекла при толщине слоя раствора не более 5 см. Раствор в емкости подвергают воздействию пучка ускоренных электронов с поглощенной дозой 15 кГр.

После обработки и получения протеината раствор переливают в герметично закрывающуюся емкость из непрозрачного материала. Содержание серебра в полученном препарате в пересчете на сухое вещество составляет 8%, что соответствует содержанию серебра в протарголе (7,8-8,3% масс). При получении готовой к применению лекарственной формы (1% или 2% раствор протаргола или 0,08% и 0,16% раствор в пересчете на содержание серебра) полученный раствор разбавляют дистиллированной водой до необходимой концентрации.

#### Пример 2

Способ получения по п. 1, только вместо гидролизата желатина используется гидролизат казеина.

#### Пример 3

Способ получения по п. 1, только вместо гидролизата желатина используется гидролизат альбумина.

#### Пример 4

Способ получения по п. 1, только вместо нитрата серебра используется ацетат серебра.

#### Пример 5

Способ получения по п. 1, только вместо 15 кГр раствор подвергают воздействию пучка ускоренных электронов в поглощенной дозе 5 кГр. Дозы меньше 5 кГр могут не обеспечить полного превращения нитрата серебра в протеинат серебра.

#### Пример 6

Способ получения по п. 1, только вместо 15 кГр раствор подвергают воздействию пучка ускоренных электронов в поглощенной дозе 30 кГр. Дозы больше 30 кГр могут привести к радиационной деструкции гидролизата белка и радиолизу воды.

#### Пример 7

Способ получения по п. 1, только готовят раствор гидролизата желатина в концентрации 30 мас. % и добавляют раствор соли серебра исходя из расчета на 1 весовую часть серебра 20 весовых частей гидролизата желатина (соотношение серебро/гидролизат белка 1/20). Более высокие концентрации гидролизата белка трудно растворимы и могут привести к образованию нестабильного водного раствора препарата.

#### Пример 8

Способ получения по п. 1, только готовят раствор гидролизата желатина в концентрации 5 мас. % и добавляют раствор соли серебра исходя из расчета на 1 весовую часть серебра 5 весовых частей гидролизата желатина (соотношение серебро/гидролизат белка 1/5). Использование более низких концентраций малопродуктивно по экономическим соображениям.

#### Пример 9

### Сравнение электронных спектров препаратов

На рис. 1 представлены электронные спектры поглощения протаргола (прототип, кривая 1) и препарата протеината серебра (кривая 2), полученного по заявляемому способу (пример 1). Спектры сняты на спектрофотометре Specord M-40. Оба препарата  
 5 были разбавлены до одинаковой концентрации как по серебру, так и по белку. Как видно из представленных данных, в области поглощения серебра (350-550 нм) электронные спектры обоих препаратов практически совпадают, что указывает на химическую идентичность серебра в этих препаратах.

### Пример 10

10 Сравнение стабильности водных растворов препаратов по их антимикробной активности до и после хранения.

Было проведено сравнительное изучение антибактериальной (бактерицидной и бактериостатической) активности протаргола (прототип) и препарата, полученного по заявляемому способу. Препараты содержали одинаковое количество серебра (8%)  
 15 в пересчете на сухое вещество. Использовали 2% водные растворы, свежеприготовленные и после длительного срока хранения. Растворы хранили в герметично закрытом виде, в защищенном от света месте при комнатной температуре. Срок хранения 1 год.

В качестве тест-штаммов использовали следующие бактериальные культуры:

- 20 - *Escherichia coli* - грамотрицательная неспороносная бактерия;
- *Staphylococcus aureus* - грамположительная неспороносная бактерия.

Методика исследования

Материалы и реактивы:

- Физиологический раствор 0,9%;
- 25 - L-бульон - стандартизованная питательная среда (состав среды: триптон - 10 г/л, дрожжевой экстракт - 5 г/л, хлорид натрия - 10г/л, 0,6% глюкозы, рН-7,2);
- Рыбный питательный агар, РПА.

Антимикробную активность препаратов определяли путем подсчета количества жизнеспособных бактерий в колониеобразующих единицах (КОЕ/мл) при  
 30 культивировании тест-штамма на жидкой питательной среде в присутствии разведений исследуемых препаратов. В качестве контроля была питательная среда с добавлением тест-штамма, но без добавления препарата.

Для определения антимикробной активности препаратов использовали суспензии  
 35 бактериальных тест-культур с концентрацией -  $10^3$ - $10^4$  КОЕ/мл, которые получали разведением свежеприготовленной суточной культуры в L-бульоне. В пробирки с 10 мл суспензии бактерий добавляли расчетное количество раствора препарата (1000, 100, 10 мкл), то есть использовали разведения 1/10, 1/100 и 1/1000. Далее пробирки инкубировали в термостате на качалке (180 оборотов в минуту) при температуре 37°C. Через 24 часа отбирали пробы суспензии, которые раститровывали с целью определения  
 40 жизнеспособных бактерий. Для подсчета концентрации жизнеспособных бактерий (колониеобразующие единицы, КОЕ) делали десятикратные разведения образцов на физиологическом растворе и высевали на чашки Петри с РПА, которые инкубировали в термостате при 37°C, и через 20 часов учитывали результаты - подсчитывали число выросших колоний и рассчитывали концентрацию жизнеспособных бактерий в КОЕ/  
 45 мл суспензии. Титровки делали в двух повторах, результаты усредняли.

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Сравнительная оценка стабильности антимикробной активности при хранении водных растворов препаратов.

№ п/п	Препарат	Концентрация бактерий, КОЕ/мл			
		Разведения препаратов			Контроль, без препарата
		1/10	1/100	1/1000	
<b><i>Escherichia coli</i></b>					
Посевная доза $1,2 \times 10^4$					
1	Протаргол, прототип, свежеприготовленный	0	$2,6 \times 10^3$	$9,2 \times 10^7$	$2,4 \times 10^9$
2	Протаргол, прототип, после хранения	$1,1 \times 10^1$	$4,2 \times 10^5$	$8,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^9$
3	Протеинат серебра по заявляемому способу, свежеприготовленный	0	$1,6 \times 10^3$	$3,7 \times 10^7$	$2,4 \times 10^9$
4	Протеинат серебра по заявляемому способу, после хранения	0	$4,5 \times 10^3$	$2,7 \times 10^7$	$2,4 \times 10^9$
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>					
Посевная доза $7,8 \times 10^3$					
	Протаргол, прототип, свежеприготовленный	0	$4,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^8$	$4,7 \times 10^9$
	Протаргол, прототип, после хранения	$1,8 \times 10^1$	$4,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^9$	$4,7 \times 10^9$
	Протеинат серебра по заявляемому способу, свежеприготовленный	0	$2,2 \times 10^3$	$6,7 \times 10^7$	$4,7 \times 10^9$
	Протеинат серебра по заявляемому способу, после хранения	0	$4,8 \times 10^3$	$3,8 \times 10^7$	$4,7 \times 10^9$

Как видно из данных, представленных в таблице, антимикробная активность у водного раствора протеината серебра - протаргола, полученного по прототипу, после хранения значительно снизилась, у протеината серебра, полученного по заявляемому способу, практически не изменилась.

Преимущество заявляемого способа получения протеината серебра заключается в повышении стабильности водного раствора - готовой к применению лекарственной формы.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ получения протеината серебра, включающий растворение в воде гидролизата белка и соли серебра, отличающийся тем, что в раствор гидролизата белка вводят раствор соли серебра из расчета конечной концентрации серебра не более 3% мас. и при весовом соотношении серебро/гидролизат белка 1/5-1/20, полученный раствор перемешивают и переливают в плоскую емкость до образования толщины слоя не более 5 см и подвергают электронно-лучевой обработке путем пропускания через него пучка ускоренных электронов в поглощенной дозе 5-30 кГр.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве гидролизата белка используют гидролизаты желатина, казеина, альбумина.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве водорастворимой соли серебра



используют нитрат серебра, ацетат серебра.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что готовят раствор гидролизата белка с концентрацией 5-30 мас. %.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

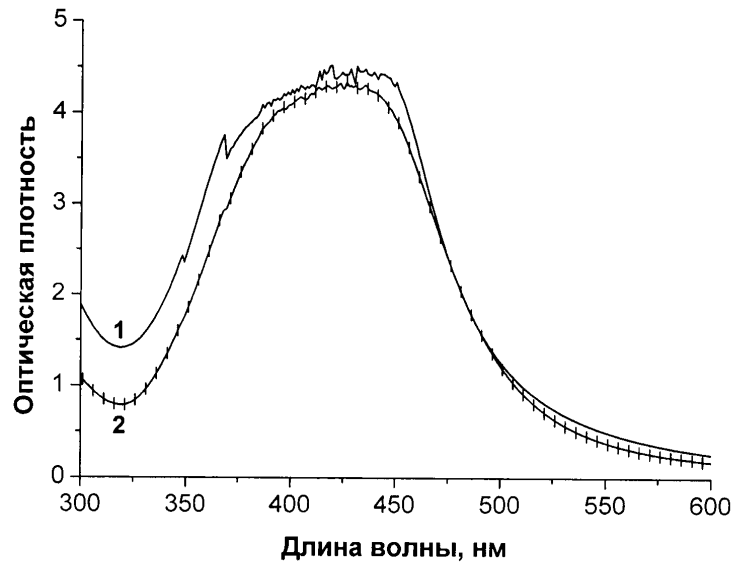


Рис.1