



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114005** (13) **U**

(51) МПК (2016.01)

G01J 1/48 (2006.01)

G01J 3/42 (2006.01)

C07C 401/00

A61N 5/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 08748**

(22) Дата подання заявки: **12.08.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.02.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **27.02.2017, Бюл.№ 4**

(72) Винахідник(и):

**Теренецька Ірина Палладіївна (UA),
Васнецов Михайло Вікторович (UA),
Капінос Павло Сергійович (UA),
Касянюк Денис Сергійович (UA)**

(73) Власник(и):

**Теренецька Ірина Палладіївна,
вул. Микільсько-Слобідська, 4-в, кв. 119, м.
Київ, 02002 (UA)**

(54) СПОСІБ ВІЗУАЛЬНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИРАХІТНОЇ БІОЛОГІЧНОЇ ДОЗИ
УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

(57) Реферат:

Спосіб візуального визначення антирахітної біологічної дози ультрафіолетового випромінювання полягає в тому, що молекули провітаміну D, внаслідок фотоперетворень яких утворюється превітамін D (безпосередній попередник вітаміну D), розчиняють в нематичному рідинному кристалі та опромінюють УФ-світлом, біологічна дія якого підлягає визначенню. Рідинний кристал з розчиненим провітаміном D поміщають в тета-комірку, в якій завдяки спеціальній натирці орієнтуючих поверхонь обкладинок виникає топологічний дефект - лінія дисклінації, яка під дією УФ-опромінення відхиляється від свого первісного положення, та візуально визначають отриману антирахітну УФ-дозу за цим кутом відхилення, що корелює з утворенням превітаміну D.

UA 114005 U

Корисна модель належить до області фотохімії і фотобіології і може бути використана у медицині, екології, курортології, косметології, сільському господарстві, епідеміології і в побуті для контролю ультрафіолетового (УФ) випромінювання Сонця, а також біоактивного випромінювання інших джерел УФ-радіації, яке має специфічну вітамін-О-синтезувальну біологічну активність, відому також як антирахітична.

Відомо, що біологічна активність ультрафіолетового випромінювання має як позитивну (синтез вітаміну D), так і негативну сторони (мутагенний ефект, еритема і фотостаріння шкіри, пригнічення імунітету, і т.д.), що викликає необхідність постійного контролю одержуваної УФ-дози.

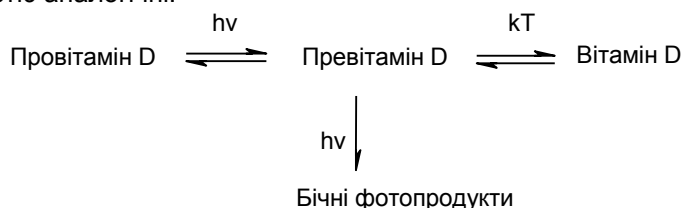
Існують різноманітні УФ-дозиметри для запобігання саме негативним наслідкам УФ-опромінювання. Так, для вимірювання мутагенної активності ультрафіолетового випромінювання в біологічних УФ-дозиметрах як середовище, чутливе до ультрафіолетового випромінювання, використовують біоб'єкти (культури вірусів, спори, мікроорганізми і т.п.) [Див., наприклад, N. Munakata, Killing and mutagenic action of sunlight upon *Bacillus subtilis* spores: a dosimetric system, *Mutat. Res.*, 82 (1981) 263-268; Gy.Ronto, S.Gaspar, P.Grof, A.Berces and Z.Gugolya, Ultraviolet dosimetry in outdoor measurements based on bacteriophage T7 as a biosensor, *Photochem. Photobiol.* 59 (1994) 209-214]. Для визначення біологічного ефекту ультрафіолетового випромінювання, оснований, як правило, на пошкодженні молекул ДНК, опромінені зразки далі піддають спеціальній, часто тривалій обробці у лабораторії. Тому до недоліків біологічних методів слід зарахувати тривалість визначення УФ-дози і неможливість УФ-дозиметрії на місці (in situ).

Для визначення еритемного ефекту, як приклад, можна навести спосіб контролю ультрафіолетового випромінювання, оснований на вимірюванні ступеня потемніння полімерних пластинок із полісульфону і поліфеніленоксиду внаслідок фотодеградації під дією ультрафіолетового випромінювання [A. Davis, G.H.W. Deane, and B.L. Diffey, Possible dosimeter for UV radiation, *Nature (London)* 261(1976) 169-170]. Зміну оптичної густини полімерних пластинок реєструють на фіксованій довжині хвилі за допомогою спектрофотометра і визначають одержану дозу ультрафіолетового опромінення за допомогою градувального графіка.

Відомий спосіб візуального контролю дози ультрафіолетового опромінення, оснований на зміні кольору фоточутливої плівки, що викликана ультрафіолетовим опроміненням [Див., наприклад, A. Mills, S-K. Lee, and M. Sheridan, Development of a novel UV indicator and dosimeter film, *The Analyst*, 130(7) (2005) 1046-1051]. Після належного калібрування кожному кольору ставлять у відповідність певну дозу ультрафіолетового опромінення.

Як правило, спектральна чутливість матеріалів, використовуваних у вищезгаданих способах, відповідає еритемному спектру дії (CIE erythema action spectrum) [Commission Internationale d'Eclairage, A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin, *C.I.E. J.*, 6 (1987) 17-22.]. Беручи до уваги значну різницю поміж еритемним та антирахітним спектрами [I. Terenetskaya "Duality of solar UV-B radiation and relevant dosimetry: vitamin D synthesis versus skin erythema", *SPIE* 4896 (2003) 144-150], ці методи є непридатними для визначення вітамін-О-синтезувальної здатності УФ випромінювання.

Очевидно, що найбільш відповідним способом визначення вітамін-О-синтезувальної дози сонячного/штучного УФ-випромінювання є використання саме того фотопроцесу, який лежить в основі природного синтезу вітаміну D, а саме, фотоізомеризації провітаміну D при поглинанні ультрафіолетового випромінювання, завдяки чому утворюється безпосередній попередник вітаміну D - провітамін D за схемою, на якій шляхи фотоперетворень показано стрілками, біля яких стоїть енергія кванта УФ світла $h\nu$. Термін вітамін D вживається тут у загальному сенсі, хоча відомі дві хімічні форми вітаміну D: вітамін D₂, або ергокальциферол (C₂₈H₄₄O), утворюється із ергостерину (провітаміну D₂) під дією ультрафіолетового опромінення у рослинах, тоді як синтез вітаміну D₃, або холекальциферолу (C₂₇H₄₄O) відбувається у шкірі ссавців з 7-дегідрохолестерину (7-ДГХ, провітаміну D₃). При цьому схеми реакції синтезу цих двох вітамінів повністю аналогічні.



Таким чином, кількість фотосинтезованого превітаміну D є природною біологічною мірою одержаної антирахітної УФ-біодози.

Зазначимо, що контроль специфічної антирахітної біологічної активності ультрафіолетового випромінювання, а саме його вітамін-D-синтезувальної здатності, набирає особливої ваги, зважаючи на те, що згідно з результатами останніх досліджень, дефіцит вітаміну D₃ може обумовлювати серйозні захворювання серця і внутрішніх органів, а також з огляду на існуючу пандемію дефіциту вітаміну D [Michael F. Holick, Vitamin D: A Millenium Perspective, J. Cell. Biochem., 88 (2003) 296-307].

Тому внаслідок ретельних досліджень фотоізомеризації провітаміну D за допомогою лазерного ініціювання нами була запропонована низка патентних пропозицій, які вибрані нами як аналоги:

1. Завдяки розробці оригінального спектрофотометричного аналізу було запропоновано "Спосіб контролю біоактивного ультрафіолетового випромінювання" [И.П. Теренецкая, К.О. Теренецкий, Способ контроля биоактивного ультрафиолетового излучения, Патент на изобретение UA №19525 А (см. Бюлл. № 6 от 25.12.1997 года)], який полягає в опроміненні розчину 7-дегідрохолестерину в етанолі, реєстрації спектрофотометром його спектра поглинання у діапазоні 230-330 нм до і після опромінення з подальшою комп'ютерною обробкою записаних спектрів за допомогою спеціально розробленої програми для визначення концентрації утвореного превітаміну D, яка і є мірою отриманої антирахітної ультрафіолетової біодози.

2. Зважаючи на складність спектрофотометричного аналізу, який потребує відповідної кваліфікації персоналу, було запропоновано спрощений метод абсорбційної УФ спектроскопії, аналогічний тому, який застосовується у більшості хімічних дозиметрів, тобто вимірювання зміни оптичної густини полімерної плівки з домішкою провітаміну D до і після УФ експозиції на одній довжині хвилі, наприклад, на 280 нм, і визначенням УФ біодози за калібрувальним графіком, що пов'язує її зі зміною оптичної густини (Патент на винахід № 93569 UA "Спосіб визначення in situ вітамін-D-синтезувальної дози природного та штучного ультрафіолетового опромінення та персональний біодозиметр для його здійснення" Теренецька І.П., Орлова Т.М., Кириленко Є.К., Єременко А.М., Галіч Г.А.). Суттєвим недоліком цього способу є необхідність використання УФ-фотометра, який не завжди є в наявності на місці визначення дози УФ-опромінення.

3. Для усунення вищевказаного недоліку і можливості візуального визначення поглинутої УФ біодози було запропоновано "Спосіб вимірювання дози біоактивного ультрафіолетового випромінювання та пристрій для його здійснення" [И.П. Теренецкая, Декларационный патент на полезную модель № 15712, от 2006 00162, 06.01.2006], який є найближчим аналогом (прототипом) і полягає в наступному.

Молекули провітаміну D розчиняють в рідкому кристалі, в якому фотоперетворення, а саме, зміни просторової структури молекул провітаміну D, ініційовані ультрафіолетовим випромінюванням, спричиняють зміни просторової структури рідкого кристалу, що приводить до зміни його оптичних властивостей, за якими і судять про одержану при опроміненні дозу біоактивного ультрафіолетового випромінювання.

При цьому рідиннокристалічний зразок поміщають між двома прозорими у видній області пластинками, причому принаймні одна з них пропускає вимірюване ультрафіолетове випромінювання, а контроль одержаної дози здійснюють за реєстрацією зміни оптичних властивостей рідиннокристалічного зразка.

Як рідиннокристалічну матрицю використовують нематичний рідинний кристал, але зважаючи на недостатню закручуючу здатність провітаміну та його фотоізомерів, для візуальної оцінки отриманої УФ-дози використовують або клинову комірку, заповнену нематичним рідинним кристалом з домішкою 7-дегідрохолестерину, або використовують плоскопаралельну комірку, заповнену трикомпонентною холестериконематичною сумішшю, смуга селективного відбивання якої лежить у видній області спектра. Таку суміш отримують шляхом додавання до нематичного рідинного кристалу з домішкою 7-дегідрохолестерину додаткової оптично активної добавки, яка викликає забарвлення.

Недоліком такого методу є замала точність вимірюваної УФ-біодози, обумовлена квантованістю у зміні кількості смуг Кано-Гранжана у клиновій комірці. А для підвищення точності визначення УФ-дози за зміною кольору плоскопаралельної комірки потрібна апаратна фіксація зміни довжини хвилі смуги селективного відбивання внаслідок УФ-опромінення.

Задачею корисної моделі є підвищення точності вимірювання отриманої УФ-біодози, зберігаючи можливість її візуального визначення без додаткового обладнання.

Це вирішується шляхом поміщення рідинного кристалу з розчиненим провітаміном D в тетра-комірці (Stalder M., Schadt M., Linearly polarized light with axial symmetry generated by liquid-crystal polarization converters, Opt. Lett. 21, 1948-1950 (1996), в якій завдяки спеціальній натирці

орієнтованих поверхонь обкладинок виникає топологічний дефект - лінія дисклінації, яка під дією УФ-опромінення відхиляється від свого первісного положення внаслідок фотоперетворення провітаміну D (утворення превітаміну D), та візуально визначають отриману антирахітну УФ дозу за цим кутом відхилення, подібно тому, як визначають проміжок часу за відхиленням стрілки годинника.

А для підсилення контрасту лінії дисклінації зовнішня поверхня однієї з підкладок рідиннокристалічної тета-комірки робиться або тільки дзеркальною, або дзеркальною з додаванням до рідинного кристалу наночастинок.

Суттєва відмінність нового методу від прототипу полягає в тому, що УФ-доза визначається не за зміною будь-якого оптичного параметра, а за допомогою зміни положення спеціально створеного структурного топологічного дефекту - лінії дисклінації. При цьому домішка хіральних молекул провітаміну D спричиняє відхилення лінії дисклінації на деякий кут. Важливо, що із збільшенням концентрації цієї хіральної домішки, або із збільшенням її закручуючої здатності кут відхилення лінії дисклінації збільшується [M.V. Vasnetsov, D.S. Kasyanyuk, I.P. Terenetskaya, P.S. Kapinos & V.V. Slyusar "Disclination Line in O-Cell as an Indicator of Liquid Crystal Chirality", Mol. Cryst. Liq. Cryst., 575:1 (2013) 57-63].

На Фіг. 1 зображена тета-комірка з різними кутами відхилення лінії дисклінації відповідно часу експозиції, що відповідає різним отриманим УФ-біодозам: а - до опромінення, б - 2 хвилини, в - 5 хвилин, г - 10 хвилин.

На Фіг. 2 приведено залежність кута відхилення лінії дисклінації в тета-комірці (а) та концентрації утвореного превітаміну D в етанольному розчині (б) від часу УФ-опромінення.

На Фіг. 3 зображено калібрувальний графік, що пов'язує кут відхилення лінії дисклінації з концентрацією накопиченого превітаміну D (антирахітною біодозою УФ-випромінювання).

Запропонований спосіб реалізується наступним чином:

Тета-комірку заповнюють нематичним рідинним кристалом з домішкою провітаміну D і фіксують положення лінії дисклінації до УФ-опромінення (Фіг. 1а).

Тета-комірку експонують протягом часу t і фіксують положення лінії дисклінації, що змінилося за час ультрафіолетового опромінення внаслідок фотоперетворень провітаміну D, оскільки утворювані фотопродукти мають іншу закручувальну здатність. На Фіг. 1 (б, в, г) подано приклад зміни кута відхилення від часу УФ-експозиції. Біодозу ультрафіолетового опромінення визначають за зміною кута відхилення лінії дисклінації від її первісного положення за допомогою попередньо побудованого калібрувального графіка, що пов'язує кут відхилення із концентрацією провітаміну D, накопиченого за час УФ-опромінення.

Приклад.

Для приготування тета-комірки поверхню одної обкладинки натирають паралельними рухами, а другу обкладинку закріплюють на валу, що обертається, і таким чином реалізують циркулярну натирку поверхні. Одна з обкладинок повинна бути прозорою для ультрафіолетового випромінювання. Тета-комірку заповнюють нематичним рідинним кристалом з розчинним провітаміном D, нагрітим до ізотропного стану. До початку УФ-опромінення фіксують положення лінії дисклінації, що утворюється в тета-комірці при охолодженні внаслідок фазового переходу ізотроп - рідинний кристал.

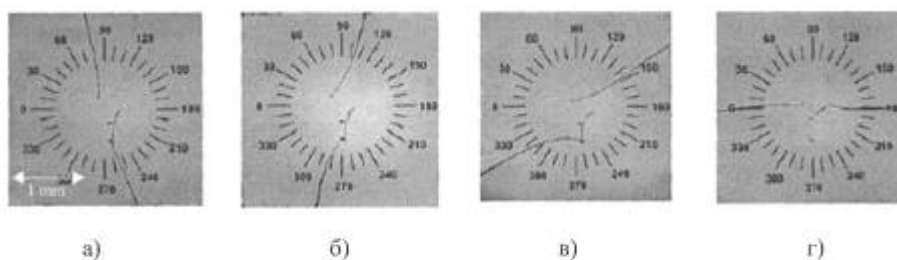
Тета-комірку опромінюють джерелом ультрафіолетового випромінювання (лампа EL-30) та після кількох експозицій вимірюють кут відхилення лінії дисклінації і будують графік його залежності від часу опромінення (Фіг. 2а).

Для побудови калібрувального графіка в таких же умовах опромінюють кювету з етанольним розчином провітаміну D і для тих же експозицій визначають концентрації утвореного превітаміну D за методом, описаним в Патенті UA №19525 А, і будують графік залежності концентрації утвореного превітаміну D від часу УФ-опромінення (Фіг. 2б).

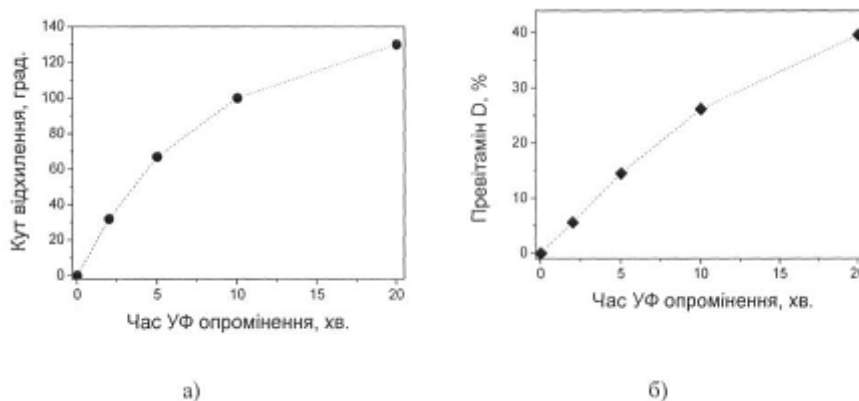
На основі залежностей, представлених на Фіг. 2а) і б), будують калібрувальний графік (Фіг. 3), з якого в подальшому за кутом відхилення лінії дисклінації від її первісного положення визначають концентрацію провітаміну D, що є мірою антирахітної біологічної дози ультрафіолетового випромінювання.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб візуального визначення антирахітної біологічної дози ультрафіолетового випромінювання, який полягає в тому, що молекули провітаміну D, внаслідок фотоперетворень яких утворюється превітамін D (безпосередній попередник вітаміну D), розчиняють в нематичному рідинному кристалі та опромінують УФ-світлом, біологічна дія якого підлягає визначенню, який **відрізняється** тим, що рідинний кристал з розчиненим провітаміном D поміщають в тета-комірку, в якій завдяки спеціальній натирці орієнтуючих поверхонь обкладинок виникає топологічний дефект - лінія дисклінації, яка під дією УФ-опромінення відхиляється від свого первісного положення, та візуально визначають отриману антирахітну УФ-дозу за цим кутом відхилення, що корелює з утворенням превітаміну D, подібно тому, як визначають проміжок часу за відхиленням стрілки годинника.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для посилення контрасту лінії дисклінації зовнішня поверхня однієї з підкладок рідинно-кристалічної тета-комірки робиться або тільки дзеркальною, або дзеркальною з додаванням до рідинного кристалу наночастинок.



Фіг. 1



Фіг. 2

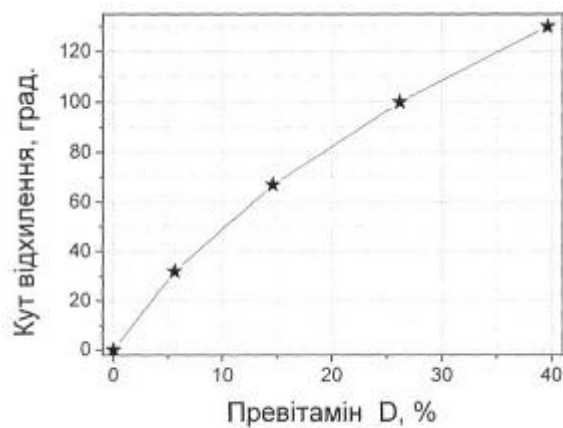


Fig. 3

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601