



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61446 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 33/48 (2006.01)  
G01N 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИ-IIA-ФАКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ

1

(21) u201013601

(22) 16.11.2010

(24) 25.07.2011

(46) 25.07.2011, Бюл.№ 14, 2011 р.

(72) РИБАЧУК ВАЛЕНТИНА МИКОЛАЇВНА, РЯС-  
НЕНКО ЛЮДМИЛА ПЕТРІВНА, РОКА-МОЙЯ ЯНА  
МАРІОВНА, ХАРЧЕНКО СВІТЛАНА МИХАЙЛІВНА,  
ГРИНЕНКО ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА

(73) ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НА-  
ЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

(57) 1. Тест-система для визначення анти-IIa-  
факторної активності низькомолекулярних гепари-  
нів, що містить субстрат, фактор IIa, антитромбін  
III, стандартний зразок низькомолекулярного гепа-  
рину, яка **відрізняється** тим, що містить бідну на  
тромбоцити плазму крові людини чи бика (заморо-  
жену або ліофільно висушену) з нормальними

2

показниками гемостазу, яка є джерелом фізіологі-  
чного субстрату та антитромбіну III, та концентрат  
буферного розчину трис-HCl 1 М.

2. Тест-система за п. 1, яка **відрізняється** тим, що  
визначають анти-IIa-факторну активність як субс-  
танції низькомолекулярних гепаринів (НМГ), так і  
готових лікарських форм на їх основі, додаючи до  
буферного розчину розморожену або реконстру-  
йовану плазму крові людини чи бика, досліджува-  
ний зразок низькомолекулярного гепарину, розве-  
дений розчином NaCl до активності 1-1,3 МО/мл,  
та фактор IIa, турбідиметричним методом реєст-  
рують світлорозсіювання реакційної суміші та ви-  
значають анти-IIa-факторну активність (НМГ) за  
калібрувальною кривою залежності величини мак-  
симальної швидкості латеральної агрегації фібри-  
ну від концентрації стандартного зразка (НМГ).

Корисна модель належить до області біохімії  
та фармації і може бути використана для біохіміч-  
них та біологічних досліджень, а також для кон-  
тролю якості субстанцій гепаринів і готових лікарсь-  
ких форм гепаринів на їх основі у фармацевтичній  
промисловості.

Сьогодні в медичній практиці для дослідження  
системи гемостазу в нормі та при різноманітних  
патологіях застосовують способи та тест-системи  
на їх основі, чутливі до гепарину [1-11]. Деякі з них  
базуються на визначенні тромбін-гепаринового  
часу зсідання та використовуються для розрахунку  
індексу антитромбінового резерву плазми крові та  
вмісту гепарину в ній. Результати досліджень фік-  
сують ручним або автоматичним методом за до-  
помогою коагулологічного аналізатора.

Найбільш близьким до корисної моделі, що  
заявляється, за технічною суттю та результатом,  
що досягається, є визначення анти-IIa-факторної  
активності низькомолекулярних гепаринів (НМГ) у  
фармації із використанням тест-системи, до скла-  
ду якої входить хромогенний субстрат S2238, фак-  
тор IIa, антитромбін III та інші витратні матеріали  
[12].

Недоліком даної тест-системи є тривалий час  
проведення аналізу, потреба в спеціальному об-

ладнанні, дорогих реактивах та витратних матері-  
алах.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є  
розробка тест-системи для високочутливого, прос-  
того у виконанні, автоматичного та економного  
визначення анти-IIa-факторної активності НМГ, як  
субстанцій, так і готових лікарських форм, основа-  
ного на інгібуванні фактора IIa комплексом анти-  
тромбін III - НМГ при утворенні фібрину, в якому  
субстратом фактора IIa є фізіологічний субстрат, а  
саме, фібриноген, джерелом фізіологічного суб-  
страту і антитромбіну III є бідна на тромбоцити  
цитратна плазма крові, причому фізіологічний суб-  
страт та антитромбін III не виділяють з цитратної  
плазми крові як індивідуальні білки крові, викорис-  
товуючи для калібрування стандартний зразок  
НМГ та турбідиметричний метод аналізу для ре-  
єстрації утворення фібрину під дією екзогенного  
фактору IIa. Тест-система, що заявляється, міс-  
тить:

- бідну на тромбоцити плазму крові людини чи  
бика (заморожену чи ліофільно висушену) з нор-  
мальними показниками гемостазу, яка є джерелом  
фізіологічного субстрату та антитромбіну III;

- стандартний зразок низькомолекулярного ге-  
парину; ліофільно висушений фактор IIa;

(19) UA (11) 61446 (13) U

- буферний розчин трис-HCl 1 М (концентрат).

Визначення анти-IIa-факторної активності НМГ з використанням тест-системи, що заявляється, проводять наступним чином:

а) для визначення анти-IIa-факторної активності субстанції НМГ біля 50 мг субстанції НМГ розчиняють в 100 мл 0,15 М NaCl, 1,5 мл отриманого розчину розбавляють до 50 мл 0,15 М NaCl, потім 0,1 мл розбавленого розчину додають в інкубаційне середовище, далі за допомогою турбідиметричного методу реєструють величину світлорозсіювання реакційної суміші при довжині хвилі 350 нм, визначають значення  $V_{\max}$  та за калібрувальною кривою залежності величини  $V_{\max}$  від концентрації стандартного зразка НМГ (креслення) визначають активність субстанції НМГ, яка становить  $85 \pm 7$  МЕ/мг в перерахунку на суху речовину препарату.

б) для визначення анти-IIa-факторної активності готової лікарської форми НМГ її розводять 0,15 М NaCl до активності близько 1-1,3 МО/мл, вносять 0,1 мл одержаного розчину в інкубаційне середовище, та далі проводять визначення, як описано вище. Визначена анти-IIa-факторна активність готової лікарської форми НМГ становить  $2700 \pm 230$  МО/мл.

Час проведення аналізу складає 1 год.

Таким чином, тест-система для визначення анти-IIa-факторної активності НМГ, що заявляється, має переваги перед найближчим аналогом, а саме:

- дозволяє визначати анти-IIa-факторну активність як субстанцій НМГ, так і готових лікарських форм НМГ, використовуючи не індивідуальні реа-

генти високої вартості (хромогенний субстрат та антитромбін III), а бідну на тромбоцити плазму крові людини чи бика (заморожену або ліофільно висушену), що містить в собі фактор IIa та антитромбін III;

- дозволяє турбідиметричним методом автоматично реєструвати максимальну швидкість реакції, за допомогою якої з високою точністю визначати анти-IIa-факторну активність НМГ;

- має значно менший час проведення аналізу: 1 год проти 6 год за найближчим аналогом;

- має доступну вартість.

Джерела інформації:

1. Реаклот-Гепарин / "Ренам". - код ГП-2. - РФ. -<http://www.renam.ru/index.php?productID=787>.

2. Реахром-Гепарин / «Ренам». - код ГП-1. - РФ. -<http://www.renam.ru/index.php?productID=788>.

3. АЧТВ-тест / «Ренам». - код ПГ-6. - РФ. <http://www.renam.ru/index.php?productID=761>.

4. Гепарин-тест / «Технология-Стандарт». - кат. № 1483. - РФ.

5. Normotest / «Technoclone». - кат. № 5005020. - Австрія.

6. АПТВ/АЧТВ-тест / «Ольвекс Диагностикум». - кат. № 152. - РФ.

7. Гепарин-тест / «Ольвекс Диагностикум». - кат. № 006. - РФ.

8. US 4543335, Sep.24.1985.

9. US 5308755, May.03.1994.

10. US 6140062, Oct.31. 2000.

11. US 20090042303, Feb. 12.2009.

12. Heparins, Low-Molecular-Mass / European Pharmacopoeia 6,0. -01/2008:0828.-P. 2041-2043.

