



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40123 (13) A

(51) 7 A61K35/14, A61N5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ПРЕПАРАТУ ОПРОМІНЕНОЇ КРОВІ

(21) 2000063423

(22) 12.06.2000

(24) 16.07.2001

(33) UA

(46) 16.07.2001, Бюл. № 6, 2001 р.

(72) Халаїм Євгеній Анатолійович, Халаїм Катерина Всеволодівна, Дейнека Святослав Євгенович

(73) Чернівецький державний університет ім. Ю. Федьковича, UA

(57) Спосіб отримання препарату опроміненої крові, що включає ультрафіолетове опромінення, який відрізняється тим, що до опромінення клітини крові відділяють від плазми, відмивають і вміщують в ізотонічний розчин, а після опромінення суспензію центрифугують, клітини крові відділяють і відкидають, а супернатант висушують або ліофілізують.

Винахід відноситься до ветеринарії та медицини, а більш конкретно - до способів отримання препаратів опроміненої крові і може бути використаний у тваринництві, ветеринарній та медичній практиці з метою профілактики та допоміжного засобу лікування, аналогічно використанню ультрафіолетово опроміненої крові, а також для підвищення продуктивності тваринництва.

Відомий спосіб ультрафіолетового опромінення крові [1], який полягає в заборі крові з вени пацієнта або тварини, змішуванні її з розчином антикоагулянта (гепарином), подальшим опроміненням цільної крові ультрафіолетом. Після чого, за допомогою насоса, кров повертається у вену. Оброблена таким чином кров викликає цілу гаму позитивних реакцій, які мають корегуючий вплив на організм людини чи тварини. Застосування ультрафіолетово опроміненої крові практично не викликає ускладнень. Діапазон лікувально-профілактичної дії охоплює більше ніж 200 різноманітних захворювань [3].

Основними недоліками наведеного способу є складність його застосування в процесі лікування, неможливість одноразового опромінення такої кількості крові пацієнта, що дозволяє отримати бажаний ефект за один сеанс, використання спеціальної апаратури, яка вимагає стаціонарного розташування, обмеження на час проведення опромінення крові, можливості рухів пацієнта, необхідність тривалої процедури та тривалої стерилізації інструментів, високої кваліфікації персоналу та ін.

Найбільш наближеним до розробленого способу є спосіб отримання біологічно активного препарату [4] шляхом ультрафіолетового опромінення крові, яке проводиться поза межами організму. Кров тварин-донорів, стабілізовану гепарином, опромінують ультрафіолетовими променями і ви-

користовують на протязі 3-х діб для внутрішньом'язового введення в організм сільгосптварин з метою підвищення їх продуктивності.

Цей спосіб не забезпечує отримання препарату високої якості. Плазма крові та її компоненти перешкоджають глибокому проникненню ультрафіолетових променів. Необхідно вводити великі кількості крові. Виникають труднощі в транспортуванні великих об'ємів препарату, немає можливості тривалий час зберігати рідину.

Задачею, що вирішується винаходом, є отримання препарату опроміненої крові, підвищення її активності та зручності використання.

Вказана задача вирішується тим, що в запропонованому способі отримання препарату опроміненої крові до опромінення клітини крові відділяють від плазми, відмивають і вміщують в ізотонічний розчин, після опромінення суспензію центрифугують, клітини крові відділяють і відкидають, а супернатант висушують або ліофілізують.

Внаслідок проведеного пошуку не знайдено способи з ознаками, які співпадали б з ознаками запропонованого способу, що забезпечує відповідність останнього критерію "новизна".

Порівняльний аналіз запропонованого способу з відомими аналогами вказує, що він відповідає критерію "винахідницький рівень". З існуючого рівня техніки не випливає, що виконання запропонованої послідовності операцій призводить до позитивного ефекту. Так, за даними [5], формені елементи крові при дозах УФО, що застосовуються в клініках, не викликають фотодеструкції формених елементів крові. Основні фотохімічні реакції розвиваються в сироватці крові (руйнування пептидних зв'язків білків). За даними [2], УФО викликає біологічний ефект опосередковано за допомогою

(19) UA (11) 40123 (13) A

біологічно активних речовин, які знаходяться в сироватці крові.

Для реалізації запропонованого способу може бути використане існуюче традиційне обладнання, яке широко використовується в промисловості та лабораторній практиці. Ця обставина забезпечує відповідність критерію "промислова придатність".

При отриманні препарату опроміненої крові шляхом, що пропонується, з нього видаляється переважна частина білків плазми крові, які екранують дію ультрафіолету, не дають змоги отримати лише речовини, які проявляють найбільшу лікувально-профілактичну дію. При цьому відділена плазма крові може бути використана за іншим призначенням. В сукупності з висушуванням та ліофілізацією об'єм препарату суттєво зменшується, продовжується термін його зберігання, що підвищує зручність застосування препарату, полегшує транспортування і збільшує термін використання та дає можливість спрощувати процедуру введення препарату внутрішньом'язово або підшкірно відносно незначних об'ємів.

Спосіб здійснюється таким чином. Стабілізовану кров центрифугують, відділяють клітини крові і додають ізотонічний розчин. Таким чином, промивають клітини крові три рази. Після чого, отриману таким чином суміш піддають ультрафіолетовому опроміненню. Опромінений розчин центрифугують, супернатант відділяють і висушують (піддають ліофілізації).

Приклад.

0,5 л стабілізованої гепарином крові (25 од/мл) великої рогатої худоби (ВРХ) піддають центрифугуванню на протязі 15 хв 1500 об/хв, змішують плазму крові фізіологічним розчином, перемішують і знову центрифугують за тих же умов. Повторюють цю процедуру 3 рази. Відділяють клітини крові і додають фізіологічний розчин у співвідношенні 1:1. Отриману суміш опромінюють ультрафіолетовими променями лампою ДРБ-8 в кварцовій кюветі (30x10x2 мм). Швидкість протікання суміші 1 мл/хв. Опромінений розчин центрифугують на протязі 10 хв з швидкістю 150 об/хв, відділяють супернатант, висушують (ліофілізують), отримують приблизно 8 г препарату суміші біологічно активних речовин крові.

Дослідження стимулюючої та захисної дії препарату проводили на молодняку ВРХ. Препарат розчиняли в дистильованій воді і вводили внутрішньом'язово з розрахунку 60 мг/кг ваги. Контрольній групі тварин вводили таку ж кількість фізіологічного розчину. В досліді було задіяно по 19 тварин в контрольній і дослідній групах. Препарат вводили 2 рази з інтервалом 15 діб. Підвищення середньої загальної прибавки в вазі тварин дослідної групи, в порівнянні з контрольною, складала 14,5 кг за 30 днів експерименту.

Випробовували ефективність застосування препарату опроміненої крові для виявлення протективної дії щодо токсичного впливу оксалату калію на культури клітин Hela в досліді *in vitro*. В живильне середовище, в якому в стандартних умовах підтримувалась культура клітин, вводили підтримуюче середовище яке містило 200-400 мкг/мл препарату суміші біологічно активних речовин крові та різні концентрації (200, 150, 100 і 50 мкг/мл). Як контроль використовувалась куль-

тура клітин з відповідною концентрацією оксалату калію. Цитотоксична активність оксалату оцінювалась мікроскопічно у відсотках цитопатичної дії [6]. Результати оброблялись загальноприйнятими статистичними методами.

Результати, наведені в таблиці, показують, що препарат ефективно знижує цитотоксичну дію в концентраціях 400 мкг/мл, починаючи з концентрації оксалату кальцію 150 мкг/мл.

Вивчали можливість використання суміші біологічно активних речовин крові як протектора гострого подразнення шкіри N-метилентретбутиламином. Досліди проводили на білих мишах лінії NMRI і білих щурах. Гостру подразнюючу дію на шкіру викликали, відповідно, 2 і 4-х годинною експозицією $\frac{1}{2}$ хвоста тварин в N-метилентретбутиламіні. Після цього дослідним тваринам внутрішньом'язово вводили препарат суміші біологічно активних речовин крові з розрахунку 100 мг/кг ваги тварин.

На 3 день після дії N-метилентретбутиламіну у тварин контрольних груп реєструвалось гостре подразнення шкірних покривів, ерозії, утворення виразок і, в подальшому, появи некротизованих ділянок як шкірних покривів, так і більш глибоких тканин хвоста, погіршувалась загальний стан цих тварин, зменшувалась вага.

В той же час у тварин дослідної групи патологічних змін шкірних покривів на протязі всього експерименту не спостерігалось. Відмічено зменшення ваги тіла лише в перший день після дії хімічного агента, а в подальшому вага тварин зростала.

Результати проведених досліджень дозволяють зробити висновок, що отриманий запропонованим способом препарат опроміненої крові характеризується високою активністю, може використовуватись як стимулятор росту тварин, проявляє проєктивну дію по відношенню до деяких токсичних сполук в досліді *in vitro*, зменшує подразнюючу і токсичну дію в досліді на лабораторних тваринах. Не викликає побічних ускладнень, процедура його застосування проста і доступна. Отриманий препарат має тривалий термін зберігання.

Джерела інформації:

1. А. с. СССР № 1042758, МКИ А 615/00, опубл. 23.09.83 г.
2. Карандашов В.И., Петухов Е.Б. Ультрафиолетовое облучение крови. - М.: Медицина, 1997. - 224 с.
3. Сафонов В.В., Воеводин Д.А. Механизм влияния ультрафиолетового облучения крови на организм в эксперименте // Бюл. exper. биол. и мед. - 1992. - № 2. - С. 145.
4. Халаим Е.А., Сандуляк Л.И., Колосюк В.Н., Кузьмук Я.Г. Влияние УФ-облученной крови на показатели продуктивности сельскохозяйственных животных // Пути повышения продуктивности эффективности использования и охраны природных ресурсов украинских Карпат и Прикарпатья. - 1989. - С. 111-114.
5. Холмогоров В.Е., Шурыгин А.Л. О механизме биологического действия УФ светом крови // Биофизика. - 1981. - Вып. 3. - С. 540-541.
6. Costa A.R., Trudell J.R. Toxicity of styrene vapor in hepatocyte monolayers at low oxygen tensions // Environ. Health Perspec. - 1990. - V.84. - P. 209-213.

Зменшення цитотоксичної дії різних концентрацій оксалату калію під впливом препарату суміші біологічно активних речовин крові.

Оксалат калію у концентрації (мкг/мл)	Оксалат калію + препарат у концентрації 200 мкг/мл	Оксалат калію + препарат у концентрації 400 мкг/мл	Контроль (Оксалат калію)
200	61,2 ± 3,3 p > 0,05	56,7 ± 6,7 p > 0,05	66,7 ± 6,7
150	18,3 ± 1,7 p < 0,05	10,0 ± 1,2 p < 0,01	26,7 ± 1,7
100	11,3 ± 1,9 p > 0,05	7,3 ± 1,5 p < 0,01	15,7 ± 2,3
50	3,0 ± 0,9 p > 0,05	0,10 ± 0,03 p < 0,01	4,3 ± 0,7

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
