



УКРАЇНА

(19) UA (11) 15712 (13) U
(51) МПК (2006)
G01J 1/00
G01J 3/42
C07C 401/00
A61N 5/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИМІРЮВАННЯ ДОЗИ БІОАКТИВНОГО УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

1

(21) u200600162
(22) 06.01.2006
(24) 17.07.2006
(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.
(72) Теренецька Ірина Палладіївна
(73) Теренецька Ірина Палладіївна
(57) 1. Спосіб вимірювання дози біоактивного ультрафіолетового випромінювання, який полягає в тому, що молекули стероїдів, здатні до фотоперетворень під дією вищевказаного ультрафіолетового випромінювання, опромінюють світлом, біоактивна дія якого підлягає контролю, який **відрізняється** тим, що молекули стероїдів поміщають в рідкокристалічну матрицю, принаймні один оптичний параметр якої змінюється внаслідок фотоперетворень молекул стероїдів, ініційованих вищевказаним ультрафіолетовим випромінюванням, і за зміною цього оптичного параметра рідкокристалічної матриці визначають одержану при опроміненні дозу біоактивного ультрафіолетового випромінювання.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як стероїд використовують ергостерин (провітамін D₂).

2

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як стероїд використовують ергокальциферол (вітамін D₂).
4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як стероїд використовують холекальциферол (вітамін D₃).
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для визначення антирахітичної біологічної активності як стероїд використовують 7-дегідрохолестерин (провітамін D₃).
6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як рідкокристалічну матрицю використовують нематичний рідинний кристал.
7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як рідкокристалічну матрицю використовують холестериконематичну суміш, смуга селективного відбивання якої лежить у видній області спектра.
8. Спосіб за п. 7, який **відрізняється** тим, що холестериконематичну суміш капсулюють у полімерному матеріалі, прозорому в ультрафіолетовій і видній області спектра.

Корисна модель належить до області фотохімії і фотобіології і може бути використаний у медицині, екології/курортології, косметології, сільському господарстві, епідеміології і в побуті для контролю ультрафіолетового випромінювання Сонця, а також біоактивного випромінювання інших джерел ультрафіолетової радіації, яке має специфічну вітамін-D-синтезувальну біологічну активність/відомі також як антирахітична.

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

Відомі способи контролю ультрафіолетового випромінювання можна розділити на біологічні, фізичні і хімічні. В біологічних методах як середовище, чутливе до ультрафіолетового випромінювання, використовують біооб'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, заснованного, як правило, на пошкодженні

(13) U
(11) 15712
(19) UA

молекул ДНК, опромінені зразки далі піддають спеціальній, часто тривалій обробці у лабораторії. Тому до недоліків біологічних методів слід зарахувати тривалість визначення дози і неможливість контролю ультрафіолетового випромінювання на місці (in situ).

Відомі способи контролю біоактивного ультрафіолетового випромінювання, засновані на реєстрації фотофізичних або фотохімічних процесів, що відбуваються під дією опромінення у середовищі, чутливому до ультрафіолетової радіації.

Як приклад можна навести спосіб контролю ультрафіолетового випромінювання, заснований 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 з допомогою градуального графіка.

Відомий спосіб візуального контролю дози ультрафіолетового опромінення, заснований 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; I.Horkay, N.Wikonkal, J.Patko, G.Bazsa, M.Beck, A.Ferenczi, Z.Nagy, M.Racz, T.Shalay, SUNTEST: a chemical UVB radiation dosimeter, *J. PhotocAejn. Photobiol B: Biol.* 31 (1995) 79-82; Sun Signals Kids UV Sensors (<http://www.mexitanproducts.com/>)]. 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.], і в переважній більшості відомі способи персонального контролю направлені на попередження надмірних доз ультрафіолетового опромінення для запобігання опіків та інших негативних наслідків.

Проте, широко відомо, що важливим позитивним наслідком ультрафіолетового опромінення є синтез вітаміну D₃ у шкірі людини. Нестача вітаміну D₃ приводить до виникнення рахіту у дітей і остеопорозу у дорослих. Крім того, останнім часом виявлено, що багато які серйозні захворювання серця і внутрішніх органів можуть бути обумовлені дефіцитом вітаміну D₃. Таким чином, контроль специфічної антирахітичної біологічної активності ультрафіолетового випромінювання, а саме, його вітамін-D-синтезувальної здатності, набирає особливої ваги, зокрема з огляду на існуючу пандемію дефіциту вітаміну D [Michael F.Holick, Vitamin D: A Millenium Perspective, *J. Cell. Biochem.*, 88 (2003) 296-307].

В основі синтезу вітаміну D лежить фотоізомеризація стероїду (7-дегідро-холестерину або ергостерину) при поглинанні ультрафіолетового випромінювання, завдяки чому утворюється безпосередній попередник вітаміну D - провітамін D. Таким чином, фотосинтез провітаміну D in vitro може бути використаним для контролю вітамін-D-синтезувальної активності ультрафіолетового випромінювання. Необхідно зауважити, що термін вітамін D вживається тут у загальному смислі, хоча відомі дві хімічні форми вітаміну D: вітамін D₂, або ергокальциферол (C₂₈H₄₄O), утворюється із ергостерину (провітаміну D₂) під дією ультрафіолетового опромінення у рйслинах, тоді як синтез вітаміну D₃, або холекальциферолу (C₂₇H₄₄O) відбувається у шкірі ссавців внаслідок фотохімічної ізомеризації 7-дегідрохолестерину (провітаміну D₃). При цьому схеми реакції синтезу цих двох вітамінів повністю аналогічні.

Вперше фотосинтез провітаміну D (модель In vitro) було використано для визначення сезонних змін вітамін-B-синтезувальної активності сонячного випромінювання [A.R. Webb/ L.W. Kline, M.F. Holick, Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃; exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ in human skin, *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 67 f1988/ 373-378]. З цією метою етанольний розчин 7-дегідрохолестерину опромінювався в кварцевій пробірці/ і концентрація накопиченого провітаміну D, визначалась з допомогою хроматографічного аналізу, що виключало можливість контролю ультрафіолетового випромінювання In situ.

Суттєвого прогресу було досягнуто завдяки розробці оригінального спектрофотометричного аналізу, внаслідок чого 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 є найближчим аналогом і полягає в наступному. Розчин 7-дегідрохолестерину в етанолі опромінюють у стандартній кварцевій спектрофотометричній кюветі. Спектр поглинання розчину реєструють спектрофотометром у діапазоні 230-330 нм до і після опромінення, і з допомогою наступної комп'ютерної обробки записаних спектрів визначають концентрацію утвореного провітаміну D, яка і є мірою одержаної антирахітичної ультрафіолетової біодози.

До недоліків цього способу належать:

- використання розчину 7-дегідрохолестерину/ що утруднює його застосування як персонального біодозиметра ультрафіолетового випромінювання;
- складність спектрофотометричного аналізу, який потребує відповідної кваліфікації;
- необхідність використання коштовних герметизованих крихких кварцових кювет.

Задачею цієї корисної моделі є усунення вищевказаних недоліків. Ця задача вирішується шляхом поміщення молекул підходящого стероїду в рідкристалічну матрицю, в якій фотоперетворення, а саме - зміни просторової структури молекул стероїду, ініційовувані ультрафіолетовим випромінюванням, спричиняють зміни просторової структури

самої матриці, що приводить до зміни її оптичних властивостей, за якими і судять про одержану при опроміненні дозу біоактивного ультрафіолетового випромінення.

При цьому рідкристалічний зразок поміщають між двома прозорими у видній області пластинками, причому, принаймні одна з них пропускає вимірюване ультрафіолетове випромінення, або ж капсулюють його в полімерному матеріалі, а контроль одержаної дози здійснюють за реєстрацією змін оптичних властивостей рідкристалічного зразка візуально або апаратно.

Для визначення антирахітичної дози як стероїд використовують 7-дегідрохолестерин (провітамін D₃).

Для визначення вітамін-D-синтезувальної активності як стероїд використовують як 7-дегідрохолестерин (провітамін D₃) / так і ергостерин (провітамін D₃).

Для визначення здатності ультрафіолетового випромінення викликати фотодеградацію вітаміну D як стероїд використовують ергокальциферол (вітамін D₃) або холекальциферол (вітамін D₃).

Як рідкристалічну матрицю використовують нематичний рідкий кристалл або холестериконематичну суміш, смуга селективного відбивання якої лежить у видній області спектру.

За необхідності холестериконематичну суміш капсулюють у полімерному матеріалі, прозорому в ультрафіолетовій і видній області спектру.

Пропонований спосіб контролю вітамін-D-синтезувальної активності ультрафіолетового випромінення може знайти широке застосування в екології, медицині, косметології та ін.:

- для щоденного контролю сонячного ультрафіолетового випромінення, здатного ініціювати синтез вітаміну D;

- для дозиметричного контролю штучних джерел ультрафіолетового випромінення (ламп і лазерів);

- для персонального контролю антирахітичних ультрафіолетових доз при епідеміологічних дослідженнях;

- для контролю одержаної антирахітичної дози ультрафіолетового опромінення в фізіотерапевтичних кабінетах і соляріях;

- в зоології/ біології, океанології, сільському господарстві і т.д.

Запропонований спосіб ілюструється наступними прикладами пристроїв, в який він використовується, з посиланнями на такі фігури.

На Фіг.1 схематично показано поперечний переріз клинової комірки: а) - вигляд зверху, б) - вигляд збоку, поперечний переріз.

На Фіг.2 наведено фотографії клинової комірки, заповненої нематичним рідким кристалом з домішкою 7-дегідрохолестерину, поміщеної між схрещеними поляризаторами, до опромінення лампою Эл-30 і після ультрафіолетового опромінення протягом 20 хвилин.

На Фіг.3 наведено фотографію рідкокристалічної комірки з трикомпонентною сумішшю (нематичний рідкий кристал + оптично активна добавка + 7-дегідрохолестерин), одну зону якої (червоний колір) було заекрановано, а дві інших опромінюва-

лись лампою Эл-30 протягом 12 і 30 хвилин (жовтий і зелений кольори/ відповідно),

Приклад 1. Пристрій виконано у вигляді клинової комірки, заповненої сумішшю нематичного рідкого кристалу з домішкою 7-дегідрохолестерину, що є фоточутливим матеріалом 1 (Фіг.1). Комірка складена із двох прямокутних пластин 2, виготовлених із прозорого матеріалу; при цьому принаймні одна із пластин пропускає ультрафіолетове випромінення, що має бути виміряне. Для утворення клина з однієї сторони комірки між пластинами вміщено прокладку 3 товщиною $d=20\div 60\text{мкм}$.

Легування нематичного рідкого кристалу хіральними молекулами 7-дегідрохолестерину індукуює в ньому холестеричну макроспіраль, що приводить до утворення в клиновій комірці смуг Кано-Гранжана, які добре видно при її поміщенні між схрещеними поляризаторами. Концентрацію 7-дегідрохолестерину і товщину прокладки d підбирають таким чином, щоб кількість N_0 утворюваних смуг дорівнювала 3-5.

Пристрій працює наступним чином:

Клинову комірку, заповнену нематичним рідким кристалом з домішкою 7-дегідрохолестерину, поміщають між схрещеними поляризаторами і фіксують кількість N_0 смуг Кано-Гранжана до опромінення (Фіг.2).

Клинову комірку експонують протягом часу t , знову поміщають її між схрещеними поляризаторами і фіксують кількість смуг N_t , що змінилася при ультрафіолетовому опроміненні внаслідок фотоперетворень 7-дегідрохолестерину, оскільки утворювані фотопродукти мають іншу закручувальну здатність. На Фіг.2 подано приклад зміни кількості смуг Кано-Гранжана від початкового числа $N_0=3$ до кінцевого $N_t=5$.

Біодозу ультрафіолетового опромінення визначають за зміною числа $\Delta N=N_t-N_0$ спостережуваних в комірці смуг Кано-Гранжана із попередньо побудованого калібрувального графіка.

Приклад2. Пристрій виконано у вигляді плоскопаралельної комірки, заповненої сумішшю нематичного рідкого кристалу з домішкою оптично активної добавки, яка викликає його забарвлення, і з додатком 7-дегідрохолестерину/ що є фоточутливим матеріалом. Комірка складена із двох прямокутних пластин, виготовлених із прозорого матеріалу; при цьому принаймні одна із пластин пропускає ультрафіолетове випромінення/ яке підлягає вимірюванню.

Пристрій працює наступним чином:

Перед опроміненням фіксують візуально колір рідкокристалічної суміші або апаратно довжину хвилі смуги селективного відбивання. Опромінують зразок випроміненням/ біологічна дія ультрафіолетової компоненти якого підлягає вимірюванню. Фіксують (візуально чи апаратно) зміну кольору рідкокристалічної комірки, обумовлену фотоперетворенням 7-дегідрохолестерину, супроводжуваним зміною його закручувальної здатності, при ультрафіолетовому опроміненні (Фіг.3).

Вимірювання антирахітичної дози ультрафіолетового випромінення проводять за зміною довжини хвилі смуги селективного відбивання, що визначається апаратно, або візуально за зміною

кольору (аналогічно застосуванню лакмусового папірця для визначення рН розчинів).

Очевидно, що фотоперетворення стероїдів, ініційовані ультрафіолетовим опромінюванням, можуть впливати і на інші оптичні властивості рідкокристалічної матриці, внаслідок чого можлива реалізація і інших пристроїв, що здійснюють вимі-

рювання біодози ультрафіолетового випромінювання з використанням заявлюваного способу.

Таким чином, реалізація заявлюваного способу не обмежується вищеописаними прикладами, які можуть бути модифікованими в рамках формули корисної моделі, наведеної в прикладній заявці.



Fig. 1

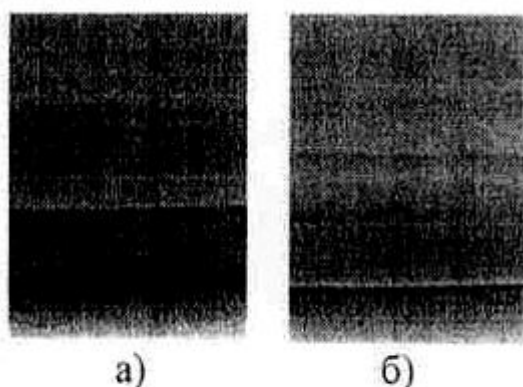


Fig. 2

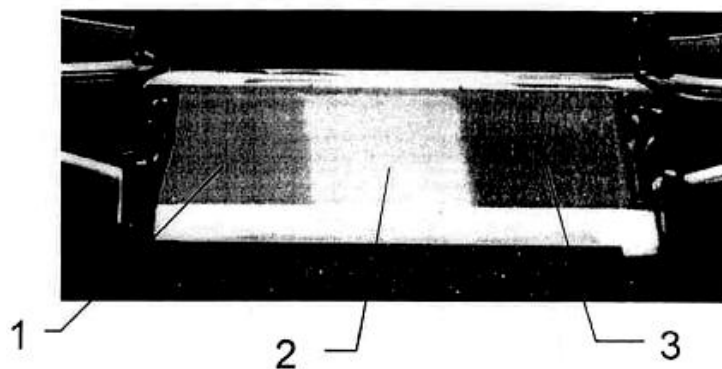


Fig. 3