



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **84907**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/02** (2006.01)

**G01N 33/15** (2006.01)

**G01N 33/18** (2006.01)

**G01N 33/24** (2006.01)

**G01N 33/569** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 03406**

(22) Дата подання заявки: **20.03.2013**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **11.11.2013**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **11.11.2013, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):

**Галаган Наталія Павлівна (UA),  
Клименко Наталія Юріївна (UA),  
Власенко Віталій Валерійович (UA),  
Ковтун Світлана Іванівна (UA),  
Туров Володимир Всеволодович (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМ. О.О. ЧУЙКА  
НАН УКРАЇНИ,  
вул. Генерала Наумова, 17, м. Київ-164,  
03164 (UA)**

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РЕЧОВИН ТА ЇХ СУМІШЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб визначення біологічної активності речовин та їх сумішей включає підготування зразків сперми биків у цитраті натрію, додавання у зразки наноматеріалу, який попередньо модифікують аміноцукрами шляхом нековалентної іммобілізації, визначення показників біологічної активності за допомогою фотонкореляційної спектроскопії, зрівняння зразків з контрольними та будівлення графічної залежності, причому як наноматеріал використовують нанокompозити з титанокремнезему або алюмокремнезему у цитраті натрію, а як аміноцукри беруть D-галактозаміну хлорид при співвідношенні: сперма биків:нанокompозит 1:3.

UA 84907 U



Корисна модель належить до області сільського господарства, а саме біотехнології довгострокового збереження генофонду сільськогосподарських тварин, і до способів визначення біологічної активності речовин природного та синтетичного походження.

Відомі способи визначення біологічної активності речовин (див. патенти Росії № 2215291, № 2281495, № 22815496, МПК<sup>6</sup> G01N 33/02, 2003 р.), які включають підготування зразків, введення у контрольні та зразки, які тестуються, визначення показників біологічної активності, будування графічної залежності відносного відклику зразків від концентрації компонентів у зразках, які тестуються.

Сукупними суттєвими ознаками корисної моделі, яка заявляється, та описаних вище аналогів є підготування зразків, визначення показників біологічної активності та будування графічної залежності відносного відклику від концентрації компонентів зразка, який тестується.

Причини, що перешкоджають аналогам одержанню технічного результату корисної моделі яка заявляється, є недостатня якість визначення вимірів біологічної активності речовин, тобто недостатня точність вимірів біологічної активності речовин, тому що підготування зразків, визначення показників та будування графічної залежності проводять вручну, а це призводить до значної виміральної похибки та неможливості автоматизувати вимірювання.

Відомий спосіб визначення біологічної активності речовин та їх сумішей (див. статтю Н.П. Галаган, В.В. Власенко, Н.С. Настасієнко, О.О. Чуйка Дослідження впливу високодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами, на життєдіяльність репродуктивних клітин методом фотонкореляційної спектроскопії. //Біофізичний вісник. 2005.-Вип.1 (15) - С. 94-98), найбільш близький за технічним результатом, який досягається, та сукупністю суттєвих ознак і вибраний нами за прототип, який включає підготування зразків сперми биків у цитраті натрію шляхом розморожування, додавання до неї наноматеріалів, які були попередньо модифіковані вуглеводневими спиртами шляхом рівноважної адсорбції з водного розчину, визначення показників біологічної активності наноматеріалів по життєздатності клітинної популяції за параметрами руху, поступального руху, енерговитрат клітин на рух у в'язкому середовищі, будування графіків на програмно-апаратному комплексі "Spectrolas".

Сукупними суттєвими ознаками корисної моделі, яка заявляється, та описаних вище прототипу є підготування зразків, визначення показників біологічної активності та будування графічної залежності відносного відклику від концентрації компонентів зразка, який тестується за допомогою фотонкореляційної спектроскопії.

Причини, що перешкоджають прототипу одержанню технічного результату корисної моделі, яка заявляється, є недостатня якість визначення вимірів біологічної активності наноматеріалу на основі високодисперсного кремнезему який модифікований вуглеводневими спиртами по життєздатності клітинної популяції. Крім того, недостатня точність будування графічної залежності відносного відклику від концентрації компонентів зразка.

В основу корисної моделі, яка заявляється, поставлено задачу одержати такий спосіб визначення біологічної активності речовин та їх сумішей, який би у результаті дій, які заявляються, мав би покращати якість визначення біоактивності та підвищити точність будування графічної залежності фотонкореляційною спектроскопією.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення біологічної активності речовин та їх сумішей, який включає підготування зразків сперми биків у цитраті натрію, додавання у зразки наноматеріалу, який попередньо модифікують аміноцукрами шляхом нековалентної іммобілізації, визначення показників біологічної активності за допомогою фотонкореляційної спектроскопії, зрівняння зразків з контрольними та будування графічної залежності, згідно з корисною моделлю, як наноматеріал використовують наноккомпозити або з титанокремнезему або алюмокремнезему у цитраті натрію, а як аміноцукри беруть D-галактозаміну хлорид при співвідношенні: сперма биків:наноккомпозит 1:3.

Таким чином, сукупність суттєвих ознак, які заявляються, дозволяє підвищити якість визначення біоактивності наноматеріалів та точність будування графічної залежності фотонкореляційною спектроскопією. Наявність наноккомпозитів, наприклад або титанокремнезему або алюмокремнезему дозволяє підвищити вибірність взаємодії часточок наноматеріалу з окремими сайтами клітинних поверхонь, що у свою чергу дозволяє регулювати процеси на мембрані клітини і тим самим цілеспрямовано впливати на обмін кліток не приводячи їх до агрегації та веде до збільшення кількості рухливих та життєздатних популяцій клітин сперми. Співвідношення об'ємів сперми биків та наноккомпозитів визначено нами експериментально внаслідок того, що тільки таке співвідношення реєструється на програмно-апаратному комплексі Spectrolas, на якому нами визначалися показники біологічної активності речовин та їх сумішей.

Для здійснення способу визначення біологічної активності речовин та їх сумішей використали наступні реагенти:

Титанокремнезем ( $\text{TiO}_2$  20 %, ТК20) ТУ 88 УССР 251-01-84

Алюмокремнезем ( $\text{Al}_2\text{O}_3$  1 % АК1) ТУ 88 УССР 251-02-84

5 Високодисперсний кремнезем марки А300 ГОСТ 14922-77

D-galactosamine hydrochloride виробництво фірми Aldriche

Цитрат натрію стаття ДФУ, перше видання., С.423

Сперма биків „Національний банк генофонду тварин” (Інститут розведення та генетики тварин НААН, с. Чубинське).

10 Спосіб визначення біологічної активності речовин та їх сумішей здійснювали наступним чином.

Необхідну кількість сперми биків розморожували у розчині цитрату натрію з  $\text{pH}=7$  при температурі  $37^\circ\text{C}$ , після кріоконсервування. Після чого додавали необхідну кількість наноматеріалів: або титанокремнезем (ТК), або алюмокремнезем (АК1), що знаходяться в розчині цитрату натрію, і попередньо модифіковані D-galactosamine hydrochloride шляхом нековалентної іммобілізації. Контролем була деконсервована сперма биків без досліджуваних наноматеріалів. Далі у кювету вносили необхідну кількість сперми биків та поміщали її в область променя He-Ne лазера довжина хвилі якого становила 632,8 нм, а потужність - 0,2 мВт. Діаметр освітлюваної променем зони становила для одного виміру 3 хв. Біоактивність досліджували шляхом фотонкореляційної спектроскопії. Вимірювались: - кількість рухливих клітин у популяції, %;

- частота биття джгутиків репродуктивних клітини сперми, гц

- швидкість поступового руху клітин, мкм/сек.;

- енерговитрати клітин на рух у в'язкому середовищі, ум. од

25 Усі показники руху реєструвалися та усереднювалися за необхідною кількістю клітин. Час проведення вимірів складає 3 хв. На основі одержаних даних рахували коефіцієнт падіння біологічної активності  $K_{\text{БА}}^i$  в певний проміжок часу для зазначених параметрів життєдіяльності гамет, де  $i$  - їх відповідний параметр життєдіяльності. Суть корисної моделі пояснюється конкретним прикладом виконання.

30 Приклад. Одну гранулу сперми биків розморозили у термостаті при температурі  $37^\circ\text{C}$  та  $\text{pH}=7$  у 200 мкл розчину цитрату натрію протягом 15 хв. Спочатку модифікували титанокремнезем або алюмокремнезем шляхом нековалентної іммобілізації з розчину цитрату натрію D-галактозамін хлоридом. Потім додали 600 мкл модифікованого титанокремнезему або алюмокремнезему в розчині цитрату натрію до деконсервованої сперми биків. Порівнювали з зразками зі спермою биків без наноматеріалів. Далі у кювету об'ємом 1 мл вносили деконсервовану сперму биків з наноматеріалом та поміщали її в область променя He-Ne лазера та досліджували біоактивність тобто швидкість поступового руху клітин. Показники біоактивності зрівнювали з контролем.

40 Таким чином технічним результатом корисної моделі, яка заявляється, є покращення якості визначення біоактивності та точності будування графічної залежності фотон-кореляційною спектроскопією.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

45 Спосіб визначення біологічної активності речовин та їх сумішей, який включає підготування зразків сперми биків у цитраті натрію, додавання у зразки наноматеріалу, який попередньо модифікують аміноцукрами шляхом нековалентної іммобілізації, визначення показників біологічної активності за допомогою фотонкореляційної спектроскопії, зрівняння зразків з контрольними та будування графічної залежності, який **відрізняється** тим, що як наноматеріал використовують наноккомпозити з титанокремнезему або алюмокремнезему у цитраті натрію, а як аміноцукри беруть D-галактозаміну хлорид при співвідношенні: сперма биків:наноккомпозит 1:3.

---

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

---

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

---

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