



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46157 (13) U
(51) МПК (2009)
A61K 35/74 (2009.01)
A23C 9/12
C12N 1/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРЕПАРАТУ "ЙОДОБАКТЕРИН"

1

2

(21) u200906283

(22) 17.06.2009

(24) 10.12.2009

(46) 10.12.2009, Бюл.№ 23, 2009 р.

(72) ШИРОБОКОВ ВОЛОДИМИР ПАВЛОВИЧ, ЯН-
КОВСЬКИЙ ДМИТРО СТАНІСЛАВОВИЧ, ДИМЕНТ
ГАЛИНА СЕМЕНІВНА

(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДА-
ЛЬНІСТЮ ФІРМА "О.Д. ПРОЛІСОК"

(57) 1. Спосіб одержання препарату, що передба-
чає використання ентеросорбенту і йоду, який
відрізняється тим, що як ентеросорбент викорис-
товують 5-6 %-вий гель дрібнодисперсного бенто-

ніту, до складу препарату додатково вводять біо-
масу мультикомпонентного симбіозу пробіотичних
бактерій, що змішують із попередньо приготове-
ним йодованим гелем бентоніту в співвідношенні
1:1-1:5, при цьому йод вводять у вигляді водного
або спиртового розчину дрібнокристалічного йоду і
йодиду калію із розрахунку одержання в готовому
препараті від 5 мкг/мл до 5 мг/мл йоду, зв'язаного
з бентонітом.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що пре-
парат виготовляють у вигляді суспензій для перо-
рального, ректального, вагінального або зовніш-
нього застосування.

Корисна модель відноситься до біотехнології й
може бути використана при одержанні йодовміс-
них препаратів із пробіотичними властивостями.

Однією із проблем сучасної охорони здоров'я
є ріст числа дітей і дорослих з йододефіцитними
станами. Йод є одним з основних есенційних мік-
роелементів, які впливають на гормональну актив-
ність щитовидної залози, енергетичний, вуглевод-
ний, жировий обмін, імунні механізми, ріст,
психічний розвиток, адаптацію.

Гормональні порушення, пов'язані з недоліком
йоду, часто не мають виражених симптомів, у зв'я-
зку із чим йодний дефіцит одержав назву «схова-
ний голод». Порушення діяльності гормонів щито-
видної залози приводить до порушення діяльності
нервової системи, мозку, статевих і молочних за-
лоз. Особливу небезпеку йодний дефіцит стано-
вить для дітей, що часто проявляється в затри-
манні їх розумового й фізичного розвитку.

Найбільш важкі наслідки дефіциту йоду фор-
муються на етапах найбільш активного розвитку
організму, починаючи від внутрішньоутробного
періоду й завершуючи віком статевого дозрівання.
Під час вагітності організм матері є єдиним джере-
лом йоду для плода. Йод легко проникає через
плаценту й використовується для синтезу тиреоїд-
них гормонів і інших процесів. У період внутріш-
ньоутробного життя під контролем тиреоїдних го-
рмонів здійснюються процеси ембріогенезу,

диференціюються й дозрівають практично всі ор-
гани й системи, особливо мозок. Навіть легка йод-
на недостатність у вагітних, особливо за наявності
факторів, що підсилюють ефект дефіциту йоду,
може стати пусковим механізмом для розвитку
ряду патологічних станів. Оскільки вагітні, матері,
що годують, й діти найбільш вразливі до розвитку
йододефіцитних станів і їхніх наслідків, ця катего-
рія населення особливо має потребу в наявності
ефективних препаратів для усунення або попере-
дження дефіциту йоду в організмі.

Особливого значення профілактика й лікуван-
ня йододефіцитних станів набувають на тлі погір-
шення екологічної ситуації, особливо пов'язаної з
аварією на Чорнобильській АЕС і збільшенням у
навколишньому середовищі вмісту радіоактивних
ізоотопів йоду. Крім того, у світі, у т. ч. й в Україні
існує багато районів зі зниженим вмістом йоду -
райони йодної ендемії.

За даними Всесвітньої організації охорони
здоров'я у світі близько 20млн. людей мають ро-
зумову відсталість внаслідок дефіциту йоду.

Дефіцит йоду зазнають більше 1,5млрд. жите-
лів нашої планети. Оскільки в йодній профілактиці
в наш час має потребу практично кожна людина,
питанню розробки й використання ефективних
йодовмісних препаратів для профілактичних і ліку-
вальних цілей приділяється все більше уваги.

(19) UA (11) 46157 (13) U

Відомий спосіб попередження росту захворюваності населення, обумовленої дефіцитом йоду, що надходить в організм, передбачає йодування харчової солі за допомогою механічного змішування хлориду натрію (NaCl) з неорганічними сполученнями йоду: йодидом калію (KI) або йодатом калію (KIO₃) [Monitoring Universal Salt Iodization Programmes. Published by PAMM/ICCIDD/MI, 1995].

Недоліком способу є складність рівномірного розподілу у великому об'ємі солі мізерно малої кількості йоду (на кожний кілограм солі 40 мг йодату калію). Крім того, препарати йоду, які використовуються, нестійкі при тривалому зберіганні й термічній обробці, а для певної категорії хворих сіль протипоказана. Певну тривогу викликає також збільшення випадків токсичного впливу на організм надлишку йоду через схильність окремих категорій населення до споживання надлишкової кількості солі.

Відомо спосіб одержання харчової добавки у вигляді йодованого білка, що передбачає додавання до розчину білка в якості йодуючого агенту хлористого йоду, розчиненого в соляній або оцтовій кислоті [Патент РФ №2188648, А61К33/18, 2002].

У результаті здійснення способу відбувається приєднання йоду до ароматичних кілець амінокислот: тирозину, фенілаланіну й триптофану. У ході реакції знижується рН розчину й утворюється осад йодованого білка, який відокремлюють центрифугуванням або фільтруванням і потім сушать. Недоліком способу є використання хлористого йоду, що відноситься до ксенобіотиків і може викликати побічні реакції в організмі. Обмеження корисних властивостей добавки тільки введенням до її складу йоду знижує цінність даного продукту.

Відомо також спосіб одержання біологічно активної добавки до їжі для профілактики йододефіцитних станів і оптимізації йодного обміну, що передбачає використання розчину казеїну, до якого додають розчин тетранатрієвої солі етилендіамінотетраоцтової кислоти, перемішують, проводять діафільтрацію на мембранній установці з ультрафільтраційною мембраною з межею відсікання 10-100 кД при використанні в якості діалізуючого розчину 1,5-3,0%-го розчину хлориду натрію при підтриманні рН у діапазоні 6,5-7,5 для одержання очищеного розчину активізованого казеїну з концентрацією 80-120 г/л, який переносять у реактор, установлюють температуру розчину 35-40°C і проводять при цій температурі одночасне йодування ароматичних амінокислот і насичення фосфорних груп казеїну іонами цинку, підтримуючи рН у діапазоні 6,5-7,5 за допомогою гідроксида натрію. Далі проводять повторно діафільтрацію розчину з використанням 1,5-3,0%-го розчину хлориду натрію при рН 6,5-7,5 з одержанням готового продукту у вигляді концентрованого розчину казеїну, що містить йод і цинк [патент РФ №2328878, А23Л1/30, А23Л1/304, 2006].

Спосіб дозволяє одержати біологічно активну добавку до їжі, збагачену молочним білком, йодом і цинком. Однак спосіб не передбачає використання інших корисних сполук, що сприяють більш

ефективній нормалізації метаболізму, у тому числі і йодному обміну.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб одержання ентеросорбента, що містить йод, який передбачає обробку гідролізного лігніну лугом, промивання водою, нейтралізацію, згущення суспензії до заданого вмісту сухого лігніну, дезінтеграцію її, обробку при температурі 10-80°C протягом 10-120 хвилин водним або спиртовим розчином йоду в кількості, що забезпечує вміст зв'язаного з лігніном йоду в цільовому продукті не менше 0,4% [патент РФ №2302866, А61К31/717, А61Р1/00, А61Р3/00, 2007 - прототип].

Відомий спосіб дозволяє одержувати йодовмісний ентеросорбент, у якому йод повністю приєднаний до полімерної молекули лігніну. Застосування ентеросорбентів усе ширше використовується при лікуванні хворих різного профілю, зокрема в гастроентерології, педіатрії, хірургії, дерматології, онкології й ін. Раціональне комбінування в одному препараті позитивних властивостей ентеросорбента і йоду, дозволяє підвищити ефективність профілактики йододефіцитних станів, а також лікування хворих із захворюваннями, обумовленими нестачею йоду в організмі. При надходженні препарату в організм per os або контакті з раневою поверхнею йод поступово виділяється із препарату й здійснює антисептичну дію або включається в йодний обмін, заповнюючи дефіцит йоду в організмі.

Недоліком способу є небезпека тривалого застосування препарату й неможливість його перорального використання дітьми грудного й раннього віку, які найбільш часто мають потребу в йодовмісних препаратах. Здатність харчових волокон, у тому числі лігніну, особливо при тривалому застосуванні, виводити з організму корисні нутрієнти, ферменти, клітини фізіологічних бактерій може привести до розвитку або поглиблення мікроекологічних розладів, порушення метаболізму й інших побічних ефектів. Концентрація йоду, що використовується в препараті, занадто більша для застосування усередину багатьма категоріями пацієнтів. Використання луку для обробки лігніну також обмежує можливості використання препарату per os.

Завданням корисної моделі є створення способу одержання препарату «Йодобактерин», у якому шляхом використання в якості ентеросорбента гелю дрібнодисперсного бентоніту й введення до складу препарату біомаси клітин пробіотичних бактерій, забезпечується розширення спектра його лікувально-профілактичних властивостей.

Поставлене завдання вирішується тим, що в спосіб одержання препарату «Йодобактерин» на основі ентеросорбента і йоду, як ентеросорбент використовують 5-6%-ний водний гель дрібнодисперсного бентоніту, до складу препарату додатково вводять біомасу мультикомпонентного симбіозу пробіотичних бактерій, що змішують із йодованим гелем бентоніту в співвідношенні 1:1-1:5, а йод вводять у вигляді водного або спиртового розчину дрібнокристалічного йоду і йодиду калію із розрахунку одержання в готовому препараті від 5 мг/мл до 5 мг/мл йоду.

Препарат можна виготовляти у вигляді суспензій для перорального, ректального, вагінального або зовнішнього застосування.

Пропонований спосіб передбачає використання в якості ентеросорбента 5-6%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту. Бентоніт - це природний глинистий матеріал, що відноситься до класу алюмосилікатів і має високі вологоутримуючі, іонообмінні й адсорбційні властивості. Ці властивості бентоніту послужили підставою для використання його як основи для мазей, а також у косметології, бальнеології й інших галузях. Він відноситься до природних глин і йому властиві всі позитивні ефекти, об'єднані в поняття «глинотерапія».

У пропонованому способі як сорбент використовують гель бентоніту, що є натрієвою формою дрібнодисперсної фракції бентоніту, яку одержують із сухого природного бентоніту шляхом використання спеціальних методів диспергування й глибокого очищення від забруднюючих речовин і грубих часток. Він має високі адсорбційні властивості щодо вірусів, холестерину, токсинів, радіонуклідів, важких металів і інших шкідливих сполучень, однак не зв'язує бактеріальні клітини, тому не здатний порушувати мікробний баланс у біотопах і викликати метаболічні порушення при прийманні препарату усередину. При зовнішньому використанні гелю бентоніту, наприклад при обробці раневої поверхні, гель бентоніту сприяє активній санації ушкодженої ділянки за рахунок сорбції компонентів змертвілої тканини, продуктів гниття білка, токсинів та ін., а також пригнічення активності аеробних мікроорганізмів, у тому числі гнильних бактерій.

При змішуванні гелю бентоніту з біомасою пробіотичних бактерій дрібнодисперсний сорбент зв'язується з поверхневими структурами бактеріальних клітин і покриває їх захисним шаром, захищаючи від впливу інгібуючих факторів: шлункової кислоти, жовчі, лізоциму, ферментів, токсичних радикалів кисню й ін. Бентоніт є цінним джерелом макро- і мікроелементів, завдяки чому оптимізує мінеральний склад пропонованого препарату.

Завдяки здатності активно зв'язувати воду, набухати й формувати гелі, бентоніт, на відміну від багатьох інших сорбентів, не впливає на стінку кишки, а навпроти, має обволікаючі властивості й сприяє зміцненню слизового бар'єра. За рахунок здатності нормалізувати кислотно-лужний баланс в організмі, бентоніт оптимізує перебіг біохімічних процесів. Пероральне використання препарату, до складу якого входить дрібнодисперсний бентоніт, сприяє оптимізації умов для успішної проліферації в біотопах людини фізіологічної анаеробної бактеріальної флори.

Перелічені особливості гелю бентоніту дозволяють використовувати одержаний пропонованим способом комплексний препарат *per os* тривалими курсами без небезпеки розвитку негативних ефектів пробіотично-йодно-сорбційної терапії. У той же час виявлена в експериментах здатність гелю бентоніту активно адсорбувати ентеровіруси й зв'язувати холестерин дозволяє додатково надати препарату високої антивірусної й

гіпохолестеринемічної активності, що актуально із урахуванням неухильного збільшення частоти захворюваності дітей і дорослих вірусними ентероколітами й збільшення числа хворих із серцево-судинною патологією, асоційованою з гіперхолестеринемією.

Як показали спеціально проведені дослідження, гель бентоніту має високі протекторні властивості щодо біомаси багатовидового симбіозу, що є пробіотичним компонентом препарату. Незважаючи на високу антимікробну активність йоду, у присутності гелю бентоніту, одержаного спеціальним способом, концентрація життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій у препараті, що містить від 5мкг/мл до 5мг/мл йоду, залишається незмінною протягом 2-3 місяців зберігання (табл. 1).

Крім того, за наявності гелю бентоніту значно краще зберігається бактеріальний склад і активність пробіотичної біомаси, підвищується резистентність клітин до шлункового соку й жовчі, збільшуються гіпохолестеринемічна й антиентеровірусна активності (табл. 2).

Гель бентоніту, що використовується у пропонованому способі, повністю зв'язує йод, що міститься в препараті, і поступово його виділяє при контакті із внутрішнім середовищем організму, слизовими оболонками або шкірою, не викликаючи небезпеки передозування або інших небажаних реакцій.

Пропонований спосіб передбачає використання 5-6%-го гелю бентоніту. Зниження концентрації бентоніту менше 5% приводить до зменшення протекторної дії гелю бентоніту щодо клітин пробіотичної мікрофлори, а також сорбційних властивостей препарату. Збільшення концентрації бентоніту в суспензії понад 6% недоцільно, оскільки не сприяє помітному збільшенню активності, але приводить до зайвого ущільнення консистенції препарату.

При одержанні пробіотика для перорального застосування клітинну біомасу змішують із 5-6%-ним гелем бентоніту в співвідношенні 1:1-1:3. Дане співвідношення є найбільш оптимальним.

Зміна співвідношення у бік зменшення частки гелю бентоніту приводить до погіршення сорбційних властивостей препарату, зниження резистентності пробіотичної мікрофлори до йоду й антагоністичної активності препарату щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Збільшення кількості гелю бентоніту недоцільно, оскільки не сприяє поліпшенню лікувально-профілактичних властивостей перорального препарату, але приводить до зниження його пробіотичної активності.

При одержанні препаратів для ректального, інтравагінального й зовнішнього використання клітинну біомасу змішують із 5-6%-ним гелем бентоніту в співвідношенні 1:4-1:5. Збільшення концентрації гелю бентоніту сприяє більше ефективній санації товстокишкового й вагінального біотопу або уражених ділянок шкіри за рахунок високої адсорбційної активності дрібнодисперсного бентоніту й більше швидкому відновленню норми.

За рахунок зв'язування йоду гелем бентоніту збільшується резистентність до нього клітин про-

біотичних бактерій, що дозволяє використовувати в препараті для перорального застосування йод у кількості від 5мкг/мл до 5мг/мл. Дана концентрація йоду забезпечує синергізм позитивних властивостей йоду, гелю бентоніту й пробіотичної мікрофлори й не чинить інгібуючого впливу на життєдіяльність бактеріальних клітин. У препаратах для перорального застосування концентрація йоду відповідає фізіологічним нормам для пацієнтів різних категорій (50-200мкг/доба). Зниження концентрації йоду нижче 5мкг/мл знижує антагоністичну активність пробіотика щодо патогенних і умовно-патогенних бактерій і грибів, а також недостатньо для усунення йододефіцитного стану. Підвищення концентрації йоду понад 5мг/мл недоцільно, оскільки не сприяє збільшенню ефективності препарату.

При виготовленні суспензій для ректального, вагінального й зовнішнього застосування водний або спиртовий екстракт йоду додають із розрахунку одержання в готовому препараті 1-5мг/мл йоду, пов'язаного з бентонітом, з метою збільшення його антимікробної активності.

Спосіб здійснюють таким чином.

Для одержання гелю дрібнодисперсного бентоніту сухий бентоніт диспергують у воді з додаванням вуглекислого натрію, багаторазово центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту. Внаслідок проведення ряду послідовних операцій одержують дрібнодисперсну фракцію бентоніту, яку суспендують у бідистильованій воді до одержання 5-6%-ної суспензії гелеподібної консистенції, а потім стерилізують. У стерильний гель додають водний або спиртовий розчин дрібнокристалічного йоду і йодиду калію з розрахунку одержання в цільовому продукті від 5мкг/мл до 5мг/мл йоду, зв'язаного з бентонітом.

Мультикомпонентний симбіоз пробіотичних бактерій нарощують у молочному середовищі до вмісту клітин не менше 1×10^9 КУО/см³ (при одержанні препарату для дітей грудного й раннього віку). При готуванні препарату для дітей старше 3-х років і дорослих культуральну рідину додатково центрифугують з метою одержання концентрованої біомаси, що містить не менш 5×10^{11} КУО/см³. Одержану біомасу змішують із отриманим йодованим гелем бентоніту в співвідношенні 1:1-1:5.

Корисна модель пояснюється прикладами.

Приклад 1. Одержання препарату «Йодобактерин» для перорального застосування для дітей грудного віку.

10кг сухого бентоніту диспергують у воді з додаванням вуглекислого натрію, багаторазово центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту. Отриману дрібнодисперсну фракцію бентоніту перемішують із бідистильованою водою до одержання суспензії гелеподібної консистенції. У результаті проведення операцій одержують 55л 6%-ого гелю дрібнодисперсного бентоніту. Одержаний гель стерилізують автоклавуванням при тиску 0,5атм протягом 40 хвилин і охолоджують до температури 40°C.

Для одержання водного розчину йоду 0,6г дрібнокристалічного йоду та 1,8г йодиду калію розчи-

няють при інтенсивному перемішуванні в 60мл бідистильованої води. Із одержаного 1%-го водного розчину йоду беруть 55мл і вносять при постійному перемішуванні до 55л гелю дрібнодисперсного бентоніту й витримують протягом 1 години. Вміст зв'язаного з бентонітом йоду становить 10мкг/мл.

Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій в 55л середовища на основі 5%-го молока з додаванням 3л гідролізата казеїну культивують протягом 22 годин при температурі 37°C мультикомпонентний симбіоз, що складається з наступних штамів: *Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5799; *Bifidobacterium longum* ІМВ В-7150; *Bifidobacterium infantis* ІМВ В-7147; *Lactobacillus fermentum* ІМВ В-7146; *Lactobacillus acidophilus* ВКПМ В-5254; *Lactobacillus casei* ВКПМ В-4542; *Lactobacillus plantarum* ІМВ В-7116; *Lactococcus lactis* ВКПМ В-4305; *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ В-4741 і *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ В-4545. Одержують 55л біомаси із загальним вмістом життєдіяльних клітин пробіотичної мікрофлори $5,7 \times 10^9$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:1 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 110л препарату для перорального застосування, призначеного для дітей грудного віку. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $2,8 \times 10^{10}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 50мкг йоду й 300мг бентоніту. Препарат містить добову дозу йоду для дітей грудного віку й може використовуватись для профілактики й лікування йододефіцитних станів і мікроекологічних порушень у пацієнтів даної категорії. Одна доза препарату використовується в кілька прийомів.

Характеристика препарату представлена в таблиці 3.

Приклад 2. Одержання препарату «Йодобактерин» для перорального застосування у дітей старшого віку й дорослих.

30кг сухого бентоніту диспергують у воді з додаванням вуглекислого натрію, багаторазово центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту, внаслідок чого одержують дрібнодисперсну фракцію бентоніту, яку суспендують у бідистильованій воді до одержання 5%-ої суспензії гелеподібної консистенції. У результаті реалізації даної технології одержують 180л гелю дрібнодисперсного бентоніту. Одержаний гель стерилізують автоклавуванням при тиску 0,5атм протягом 50 хвилин і охолоджують до температури 45°C.

Для одержання водного розчину йоду 2г дрібнокристалічного йоду та 6г йодиду калію розчиняють при інтенсивному перемішуванні в 200мл бідистильованої води. З отриманого 1%-го водного розчину йоду беруть 140мл і вносять при постійному перемішуванні в 180л гелю дрібнодисперсного бентоніту й витримують протягом 1 години. Кількість йоду, що зв'язана з бентонітом, становить 7,8мкг/мл.

Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій в 100л середовища на основі 4%-го мо-

лока з додаванням 100л гідролізованого молока й 20л 50%-го розчину лимоннокислого натрію тризаміщеного культивують протягом 24 годин при температурі 36°C мультикомпонентний симбіоз, що складається з наступних штамів: *Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113; *Bifidobacterium longum* IMB B-7150; *Bifidobacterium infantis* IMB B-7131; *Bifidobacterium breve* IMB B-7132; *Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7112; *Lactobacillus fermentum* IMB B-7133; *Lactobacillus acidophilus* ВКПМ B-5863; *Lactobacillus salivarius* IMB B-7134; *Lactobacillus helveticus* IMB B-7115; *Lactobacillus casei* ВКПМ B-5724; *Lactobacillus plantarum* IMB B-7116; *Lactococcus lactis* ВКПМ B-5725; *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ B-5388; *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ B-4544 і *P. acidipropionici* ВКПМ B-5723. Бактеріальні клітини відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і одержують 90л концентрованої біомаси із загальним вмістом клітин пробіотичної мікрофлори $6,1 \times 10^{11}$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:2 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 270л препарату для перорального застосування, призначеного для дітей старшого віку. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $2,0 \times 10^{12}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 50мкг йоду й 600мг бентоніту. Таким чином, добова доза йоду для дітей старшого віку й дорослих (150мкг) міститься в трьох дозах препарату. Препарат можна використовувати для профілактики й лікування йододефіцитних станів і мікроекологічних порушень у пацієнтів даної категорії.

Характеристика препарату представлена в таблиці 3.

Приклад 3. Одержання препарату для перорального застосування «Йодобактерин» для вагітних і жінок у період грудного вигодовування.

20кг сухого бентоніту диспергують у воді з додаванням вуглекислого натрію, багаторазово центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту, внаслідок чого одержують дрібнодисперсну фракцію бентоніту, яку суспендують у бідистильованій воді до одержання 5,5%-ої суспензії гелеподібної консистенції. Одержано 112л гелю дрібнодисперсного бентоніту, який стерилізують автоклавуванням при тиску 0,6атм протягом 45 хвилин і охолоджують до температури 45°C.

Для одержання водного розчину йоду 1г дрібнокристалічного йоду та 3г йодиду калію розчиняють при інтенсивному перемішуванні в 100мл бідистильованої води. Отриманий 1%-ний водний розчин йоду вносять при постійному перемішуванні в 112л 5,5%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту й витримують протягом 1,5 годин. Вміст зв'язаного з бентонітом йоду становить 8,9мкг/мл.

Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій до 500л середовища на основі 4,5%-го молока з додаванням 50л гідролізованого молока й 10л 50%-го розчину лимоннокислого натрію тризаміщеного культивують протягом 23 годин при температурі 38°C мультикомпонентний симбіоз,

що містить наступні штами: *Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113; *Bifidobacterium longum* IMB B-7150; *Bifidobacterium infantis* IMB B-7131; *Bifidobacterium breve* IMB B-7132; *Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7112; *Lactobacillus fermentum* IMB B-7133; *Lactobacillus acidophilus* ВКПМ B-5863; *Lactobacillus salivarius* IMB B-7134; *Lactobacillus helveticus* IMB B-7115; *Lactobacillus casei* ВКПМ B-5724; *Lactobacillus plantarum* IMB B-7116; *Lactococcus lactis* ВКПМ B-5725; *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ВКПМ B-5388; *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ B-4544 і *P. acidipropionici* ВКПМ B-5723. Бактеріальні клітини відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і одержують 38л концентрованої біомаси із загальним вмістом клітин пробіотичної мікрофлори $7,2 \times 10^{11}$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:3 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 150л препарату для перорального застосування. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $1,8 \times 10^{12}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 67мкг йоду й 410мг бентоніту. Таким чином, добова доза йоду для вагітних і жінок у період грудного вигодовування (близько 200мкг) міститься в 3-х дозах препарату. Препарат може використатися для профілактики й лікування йододефіцитних станів і мікроекологічних порушень у пацієнтів даної категорії.

Характеристика препарату представлена в таблиці 3.

Приклад 4. Одержання препарату «Йодобактерин» у вигляді суспензії для ректального застосування.

5кг сухого бентоніту диспергують у воді з додаванням вуглекислого натрію, багаторазово центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту, внаслідок чого одержують дрібнодисперсну фракцію бентоніту, яку суспендують у бідистильованій воді до одержання 6%-ої суспензії гелеподібної консистенції. У такий спосіб одержують 27л 6%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту. Одержаний гель стерилізують автоклавуванням при тиску 0,5атм протягом 40 хвилин і охолоджують до температури 42°C.

Для одержання водного розчину йоду 34г дрібнокристалічного йоду та 102г йодиду калію розчиняють при інтенсивному перемішуванні в бідистильованій воді. Отриманий 3,4%-й водний розчин йоду вносять при постійному перемішуванні в 27л 6%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту й витримують протягом 1 години. Вміст зв'язаного з бентонітом йоду становить 1,26мг/мл.

Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій в 60л середовища на основі 5%-го молока з додаванням 3л гідролізата казеїну культивують протягом 22 годин при температурі 37°C мультикомпонентний симбіоз, що складається з наступних штамів: *Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113; *Bifidobacterium longum* IMB B-7150; *Bifidobacterium infantis* IMB B-7131; *Bifidobacterium breve* IMB B-7132; *Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7112; *Lactobacillus fermentum* IMB B-7133; *Lactoba-*

cillus acidophilus ВКПМ В-5863; Lactobacillus salivarius IMB В-7134; Lactobacillus helveticus IMB В-7115; Lactobacillus casei ВКПМ В-5724; Lactobacillus plantarum IMB В-7116; Lactococcus lactis ВКПМ В-5725; Streptococcus salivarius ssp. thermophilus ВКПМ В-5388; Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii ВКПМ В-4544 і P. acidipropionici ВКПМ В-5723. Бактеріальні клітини відокремлюють від середовища культивування центрифугуванням і одержують 6,75л біомаси із загальним вмістом клітин пробіотичної мікрофлори $6,8 \times 10^{11}$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:4 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 33,75л препарату для ректального застосування. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $1,4 \times 10^{12}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 10мг йоду й 480мг бентоніту. Препарат можна використовувати для лікування пацієнтів з мікроекологічними розладами й інфекційно-запальними захворюваннями товстої кишки.

Характеристика препарату представлена в таблиці 4.

Приклад 5. Одержання препарату «Йодобактерин» у вигляді суспензії для інтравагінального застосування.

Одержання йодованого гелю бентоніту здійснюють відповідно до прикладу 4. Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій у 50л середовища на основі 5%-го молока з додаванням 3л гідролізата казеїну культивують протягом 23 годин при температурі 37°C мультикомпонентний симбіоз, що складається з наступних штамів: Bifidobacterium bifidum IMB В-7113; Bifidobacterium longum IMB В-7150; Bifidobacterium infantis IMB В-7131; Lactobacillus fermentum IMB В-7133; Lactobacillus acidophilus ВКПМ В-5863; Lactobacillus casei ВКПМ В-5724; Lactobacillus plantarum IMB В-7116; Lactobacillus salivarius IMB В-7134; Lactobacillus helveticus IMB В-7115; Lactobacillus gasseri IMB В-7135; Lactobacillus brevis IMB В-7114; Propionibacterium acidipropionici ВКПМ В-5723 і Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii ВКПМ В-4544. Після центрифугування одержують 4,5л концентрованої біомаси із загальним вмістом клітин пробіотичної мікрофлори $6,1 \times 10^{11}$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:5 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 31,5л препарату для інтравагінального застосування. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $1,1 \times 10^{12}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 11мг йоду й 400мг бентоніту. Препарат може використовуватись для лікування пацієнтів з мікроекологічними розладами й інфекційно-запальними захворюваннями уrogenітального тракту.

Характеристика препарату представлена в таблиці 4.

Приклад 6. Одержання препарату «Йодобактерин» у вигляді суспензії для зовнішнього застосування.

Зкг сухого бентоніту диспергують у воді із додаванням вуглекислого натрію, багаторазово

центрифугують для відділення забруднюючих речовин і грубих часток бентоніту, внаслідок чого одержують дрібнодисперсну фракцію бентоніту, яку суспендують у бідистильованій воді до одержання 5%-ної суспензії гелеподібної консистенції. У такий спосіб одержують 17л 5%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту. Одержаний гель стерилізують автоклавуванням при тиску 0,5атм протягом 40 хвилин і охолоджують до температури 40°C.

Для одержання спиртового розчину йоду 108г дрібнокристалічного йоду та 316г йодиду калію розчиняють при інтенсивному перемішуванні в 1л 70%-го етилового спирту. Отриманий 10,8%-ний спиртовий розчин йоду вносять при постійному перемішуванні в 17л 5%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту й витримують протягом 1,5 годин. Вміст зв'язаного з бентонітом йоду становить 6мг/мл.

Для одержання біомаси клітин пробіотичних бактерій у 40л середовища на основі 5%-го молока з додаванням 4л гідролізованого молока культивують протягом 22 годин при температурі 37°C мультикомпонентний симбіоз, що містить наступні штами: Bifidobacterium bifidum IMB В-7113; Bifidobacterium longum IMB В-7150; Bifidobacterium infantis IMB В-7131; Lactobacillus fermentum IMB В-7133; Lactobacillus acidophilus ВКПМ В-5863; Lactobacillus acidophilus ЦМПМ В-2846; Lactobacillus casei ВКПМ В-5724; Lactobacillus plantarum IMB В-7116; Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii ВКПМ В-4544 і Propionibacterium acidipropionici ВКПМ В-5800. Одержують 3,6л біомаси із загальним вмістом клітин пробіотичної мікрофлори $6,5 \times 10^{11}$ КУО/см³.

Одержану біомасу клітин пробіотичних бактерій змішують у співвідношенні 1:5 з йодованим гелем дрібнодисперсного бентоніту й одержують 20,6л препарату для ректального застосування. Готовий препарат упаковують дозами по 10см³. Одна доза препарату містить $1,1 \times 10^{12}$ КУО життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, 50мг йоду й 410мг бентоніту. Препарат може використовуватись для лікування пацієнтів з дерматологічними захворюваннями, а також у стоматології, хірургії, оториноларингології, косметології й ін.

Характеристика препарату представлена в таблиці 4.

У таблиці 3 представлена порівняльна характеристика йодовмісних препаратів для перорального застосування, одержаних відомим і пропонованим способами. Як свідчать дані таблиці, пропонований спосіб, порівняно з відомим, дозволяє одержувати йодовмісні препарати для різних категорій населення з фізіологічною для них добовою дозою йоду. Доповнення складу препарату біомасою життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій і використання як ентеросорбента гелю дрібнодисперсного бентоніту сприяють підвищенню антагоністичної активності, гіпохолестеринемічної і антивірусної здатностей препарату.

У таблиці 4 представлена характеристика йодовмісних препаратів у вигляді суспензій для ректального, інтравагінального й зовнішнього застосування. Препарати, незважаючи на підвищені концентрації йоду, характеризуються високою кон-

центрацією життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій і їхніх метаболітів, синергічно доповнюючих позитивний ефект йоду й гелю бентоніту, високою антагоністичною активністю щодо широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє одержувати ефективні йодовмісні препарати для перорального, ректального, вагінального й зовнішнього застосування.

Таблиця 1

Вплив гелю бентоніту на резистентність мікрофлори препарату до різних концентрацій йоду (концентрація життєдіяльних клітин через 2 місяці зберігання, КУО/см³)

Мікроорганізми	Вихідна біомаса	Біомаса, що містить йод, %			Біомаса+гель бентоніту (1:1) із вмістом йоду, %		
		0,15	0,25	0,50	0,15	0,25	0,50
Bifidobacterium	$2,1 \times 10^{11}$	$4,7 \times 10^7$	$3,0 \times 10^6$	-	$1,1 \times 10^{11}$	$8,8 \times 10^{10}$	$5,5 \times 10^{10}$
Lactobacillus	$2,4 \times 10^{11}$	$3,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^6$	-	$1,3 \times 10^{11}$	$7,9 \times 10^{10}$	$6,8 \times 10^{10}$
Lactococcus	$4,6 \times 10^{10}$	$2,6 \times 10^7$	$4,2 \times 10^4$	-	$2,2 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^{10}$
Streptococcus	$6,2 \times 10^{10}$	$7,9 \times 10^6$	$2,7 \times 10^3$	-	$3,0 \times 10^{10}$	$2,5 \times 10^{10}$	$2,1 \times 10^{10}$
Propionibacterium	$2,8 \times 10^{11}$	$8,1 \times 10^8$	$6,0 \times 10^6$	-	$5,5 \times 10^{10}$	$4,2 \times 10^{10}$	$3,6 \times 10^{10}$

Таблиця 2

Вплив гелю бентоніту на властивості пробіотичного компонента йодовмісного препарату

Показники	Співвідношення біомаси з 5-6%-ним гелем бентоніту				
	1:0	1:1	1:3	1:4	1:5
Резистентність до шлункового соку, % клітин, що вижили, після 2-годинної витримки	60,8±7,05	77,8±8,35	79,2±8,24	78,9±7,37	79,1±6,55
Резистентність до жовчі, збереження життєздатності в середовищі з 30% жовчі, %	59,9±6,71	80,6±8,92	81,2±9,08	80,9±6,97	79,8±9,54
Зниження концентрації холестерину, %	53,2±6,14	75,0±8,05	74,6±9,22	76,1±5,88	75,1±6,25
Зниження концентрації клітин через 3 місяці зберігання, %	88,5±7,38	24,4±2,76	22,8±1,96	21,1±3,13	21,4±1,82
Ступінь адсорбції вірусних часток, %	5±0,5	99,9±0,1	99,9±0,1	99,9±0,1	99,9±0,1

Таблиця 3

Порівняльна характеристика йодовмісних препаратів, які одержують відомим і запропонованим способами

Показники	Характеристика пробіотиків			
	За прототипом	За прикладом 1	За прикладом 2	За прикладом 3
Кількість живих клітин пробіотичної мікрофлори, КУО/см ³	-	$2,8 \times 10^9$	$3,0 \times 10^{11}$	$2,9 \times 10^{11}$
Вміст йоду, мкг/мл	4000	5	5	6,7
Зниження концентрації холестерину, %	34,1±4,2	73,8±5,9	72,5±7,1	73,0±8,3
Ступінь адсорбції вірусних часток, %	43,7±0,3	99,5±0,5	99,8±0,2	99,8±0,2
Концентрація КЛЖК, %:				
молочна кислота	-	1,05±0,16	1,10±0,19	1,08±0,21
оцтова кислота	-	0,78±0,10	0,81±0,17	0,80±0,19
пропіонова кислота	-	0,67±0,11	0,66±0,10	0,64±0,08
Антагоністична активність (зона затримки росту патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів), мм:				
S.aureus 209	8,4±0,6	21,9±1,5	21,8±2,0	21,5±1,8
P. mirabilis 403	10,9±0,5	20,4±1,1	20,5±1,3	20,3±1,5

Продовження таблиці 3

Показники	Характеристика пробіотиків			
	За прототипом	За прикладом 1	За прикладом 2	За прикладом 3
<i>P. vulgaris</i> 52	6,5±0,3	21,7±2,2	21,6±2,5	21,1±1,5
<i>K. pneumoniae</i> 5055	9,8±0,9	18,8±0,9	18,9±1,3	18,6±1,7
<i>C. albicans</i> 1b	9,0±1,1	16,9±1,3	16,1±0,9	16,6±0,9
<i>S. sonnei</i> 115	12,5±0,7	17,7±2,0	17,6±1,0	17,7±1,5
<i>E. coli</i> 055	8,9±0,6	23,0±1,5	23,2±1,8	23,8±2,0
<i>E. coli</i> 0111	9,4±0,7	18,1±1,8	18,5±1,5	18,7±0,9
<i>P. aeruginosa</i> 9027	10,1±0,6	25,4±3,1	25,9±2,8	25,7±1,9
<i>E. cloacae</i> 16	7,0±0,3	19,9±1,3	19,6±1,4	19,0±1,6
<i>C. freundii</i> 39	8,8±1,0	20,4±1,4	20,5±1,6	20,9±1,8
<i>S. typhimurium</i> 156	9,7±0,9	20,8±2,3	20,7±1,9	21,0±1,5
<i>Y. enterocolitica</i> 15	12,1±0,5	19,9±2,2	19,9±2,3	19,6±1,9
<i>M. morganii</i> 76	8,8±1,3	21,1±2,8	21,0±1,9	21,2±1,8
<i>E. aerogenes</i> 312	11,5±0,4	21,1±1,1	24,1±2,2	23,9±1,6
<i>E. faecalis</i> 15	7,9±0,6	18,9±2,0	18,6±1,8	18,8±2,0
<i>S. epidermidis</i> 37	9,8±0,9	20,9±1,5	21,1±1,9	21,4±2,0

Таблиця 4

Порівняльна характеристика йодовмісних препаратів для ректального, вагінального й зовнішнього застосування, одержаних відомим і пропонованим способами

Показники	Характеристика пробіотиків			
	За прототипом	За прикладом 4	За прикладом 5	За прикладом 6
Кількість живих клітин пробіотичної мікрофлори, КУО/см ³	-	1,4 × 10 ¹¹	1,1 × 10 ¹¹	1,1 × 10 ¹²
Вміст йоду, мг/мл	4	1,0	1,1	5,0
Ступінь адсорбції вірусних часток, %	43,7±0,3	99,5±0,5	99,8±0,2	99,8±0,2
Концентрація КЛЖК, %:				
молочна кислота	-	1,05±0,16	1,10±0,19	1,08±0,21
оцтова кислота	-	0,78±0,10	0,81±0,17	0,80±0,19
пропіонова кислота	-	0,67±0,11	0,66±0,10	0,64±0,08
Антагоністична активність (зона затримки росту патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів), мм:				
<i>S. aureus</i> 209	8,4±0,6	23,6±1,7	23,8±2,1	28,5±2,1
<i>P. mirabilis</i> 403	10,9±0,5	25,1±1,4	25,3±1,9	29,7±3,1
<i>P. vulgaris</i> 52	6,5±0,3	27,0±3,5	26,6±2,8	27,1±2,5
<i>K. pneumoniae</i> 5055	9,8±0,9	24,4±1,9	24,7±1,6	28,8±2,0
<i>C. albicans</i> 1b	9,0±1,1	26,0±2,2	26,0±1,6	29,6±1,6
<i>S. sonnei</i> 115	12,5±0,7	23,6±2,6	25,4±2,1	27,8±2,5
<i>E. coli</i> 055	8,9±0,6	28,8±1,9	28,2±1,8	29,8±2,1
<i>E. coli</i> 0111	9,4±0,7	24,3±2,3	24,5±1,5	28,0±1,7
<i>P. aeruginosa</i> 9027	10,1±0,6	25,9±2,2	25,9±2,8	29,6±1,9
<i>E. cloacae</i> 16	7,0±0,3	27,8±2,4	28,6±1,9	27,8±2,3
<i>C. freundii</i> 39	8,8±1,0	25,5±3,0	26,4±1,9	28,9±2,1
<i>S. typhimurium</i> 156	9,7±0,9	26,0±2,8	25,7±2,2	27,7±1,8
<i>Y. enterocolitica</i> 15	12,1±0,5	29,1±3,1	28,0±2,5	29,4±1,5
<i>M. morganii</i> 76	8,8±1,3	26,0±2,5	27,1±2,8	29,2±2,4
<i>E. aerogenes</i> 312	11,5±0,4	25,6±1,8	24,9±2,0	28,8±2,2
<i>E. faecalis</i> 15	7,9±0,6	28,1±2,3	28,8±1,7	28,5±1,8
<i>S. epidermidis</i> 57	9,8±0,9	23,3±2,5	24,4±2,3	29,4±2,1

