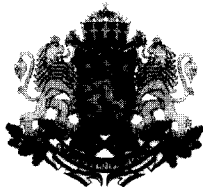


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

(11) 97122A

(51) A61K 35/78

C08H 5/02

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

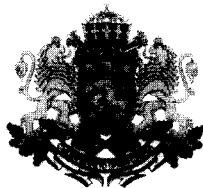
(21) Заявителски № 97122 (22) Заявено на 26.11.1992 (24) Начало на действие на патента от: Приоритетни данни (31) 4017091 (32) 27.05.1990 (33) DE (41) Публикувана заявка в бюлетин № 101 24.12.1993 (45) Отпечатано на (46) Публикувано в бюлетин № на (56) Информационни източници: (62) Разделена заявка от рег. №				(71) Заявител(и): MACH, CHANTAL., KIRCHSEEON, KIRCHSEEON (DE); (72) Изобретател(и): MACH, CHANTAL., KIRCHSEEON (DE)); (74) Представител по индустриална собственост: (86) № на PCT заявка: PCT/DE91/0 / 0450, 27.05.1991 (87) № и дата на PCT публикация: 91/186 / 16, 12.12.1991	
---	--	--	--	---	--

**(54) МОЛЕКУЛНОСВЪРЗАНА СИСТЕМА ЗА КОНТРАЕСКАЛАТИВНА ТЕРАПИЯ
НА ВИРУСНИ ИНФЕКЦИОЗНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ**

(57) 1. Група активно действащи вещества за възстановителна хемотерапия на вирусни инфекциозни заболявания, получена чрез: i/ получаване на обогатени с полизахариди единици на лигнина (plr) чрез екстрахира не във водна слабо кисела до алкална среда на дървесина или дървесни материали, а също и от (или) растителни клетъчни култури /a/; отделяне на неразтворимите твърди съставни частици; ii/ получаване на нискомолекулни, бедни на полизахариди лигноидни единици (lpl) чрез екстрахиране във водна алкална среда (рН 7-14) на дървесни и естествено овъглени растителни продукти или биоконвертирани дървесни материали /в/; отделяне на неразтворимите в алкална среда твърди съставни частици; iii/ получаване на разтворим във вода реакционен продукт ld(plr=lpl) с ниско молекулно тегло (ld) от продуктите от фази i и ii чрез взаимодействие на продукта от фаза i на обогатените с полизахариди единици на лигнина (plr) с продуктите от фаза ii, бедни на полизахариди лигноидни единици (lpl), в условията на водна алкална среда (рН 8-14); изолиране на фракциите low dalton на реакционния продукт ld(plr=lpl) чрез ултрафилтрация при номинални стойности на разреза на деление от около 15 до 45,

BG 97122A

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

(11) 97122A

(51) A61K 35/78

C08H 5/02

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 97122				(71) Заявител(и):	
(22) Заявено на 26.11.1992				MACH , CHANTAL . , KIRCHSEEON ,	
(24) Начало на действие				KIRCHSEEON (DE) ;	
на патента от:				(72) Изобретател(и):	
				MACH , CHANTAL . , KIRCHSEEON (DE	
Приоритетни данни				) ;	
(31)	4017091	(32)	27.05.1990	(33)	DE
(41) Публикувана заявка в				(86) № на PCT заявка:	
бюлетин № 101 24.12.1993				PCT/ DE91/0 / 0450 , 27.05.1991	
(45) Отпечатано на				(87) № и дата на PCT публикация:	
(46) Публикувано в бюлетин №				91/186 / 16 , 12.12.1991	
на					
(56) Информационни източници:					
(62) Разделена заявка от рег. №					

(54) МОЛЕКУЛНОСВЪРЗАНА СИСТЕМА ЗА КОНТРАЕСКАЛАТИВНА ТЕРАПИЯ НА ВИРУСНИ ИНФЕКЦИОЗНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

(57) 1. Група активно действащи вещества за възстановителна хемотерапия на вирусни инфекциозни заболявания, получена чрез: i/ получаване на обогатени с полизахариди единици на лигнина (plp) чрез екстрахира не във водна слабо кисела до алкална среда на дървесина или дървесни материали, а също и от (или) растителни клетъчни култури /a/; отделяне на неразтворимите твърди съставни частици; ii/ получаване на нискомолекулни, бедни на полизахариди лигноидни единици (lpl) чрез екстрахиране във водна алкална среда (рН 7-14) на дървесни и естествено овъглени растителни продукти или биоконвертирани дървесни материали /в/; отделяне на неразтворимите в алкална среда твърди съставни частици; iii/ получаване на разтворим във вода реакционен продукт ld(plp=lpl) с ниско молекулно тегло (ld) от продуктите от фази i и ii чрез взаимодействие на продукта от фаза i на обогатените с полизахариди единици на лигнина (plp) с продуктите от фаза ii, бедни на полизахариди лигноидни единици (lpl), в условията на водна алкална среда (рН 8-14); изолиране на фракциите low dalton на реакционния продукт ld(plp=lpl) чрез ултрафилтрация при номинални стойности на разреза на деление от около 15 до 45,

BG 97122A

МОЛЕКУЛНО-СВЪРЗАНА СИСТЕМА ЗА КОНТРА-ЕСКАЛАТИВНА
ТЕРАПИЯ НА ВИРУСНИ ИНФЕКЦИОЗНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Изобретението се отнася до молекулно-свързана система за "възстановителна хемотерапия" при вирусни инфекциозни заболявания, както и до нейното използване.

Борбата с вирусните инфекции представлява и до сега проблем, който все още не е намерил своето решение. Едино то нерешените проблеми е относително бързата мутация на вирусите, която възпрепятства напълно или частично действието на анти-вирусните лекарствени средства или на антителата в човешкия организъм. Методът да се противодейства на мултивирусните инфекции от различен вид се състои в това, да се прилага "коктейл от активно-действащи вещества", при което едно от активно-действащите вещества вероятно трябва да е ефикасно - този принцип е използван от фирмата Сандоц при получаването на гамаглобулинния препарат регистриран под търговската марка "Сандоглобулин"- тук се касае за смес от антитела от кръвта на повече от 2000 донори от Средна Европа, която съдържа по-голямата част от спектъра антитела срещу заболявания характерни за средноевропейското пространство и от тук се прави извода, че този продукт е ефикасен срещу най-различни инфекции на базата на многообразието от различни антитела

Досега са извършвани опити за борба с вирусните инфекции, които достигат до различни точки на вирусното репликиране. Така напр. съществуват медикаменти от типа ацидотимидин (AZT), които задържат обратната транскрипция посредством прекъсването на веригата - тези медикаменти обаче водят до значителни нежелани странични реакции при пациентите.

Различните изследвания в световната практика с декстрансулфат (съединение с 10 кД) от растителна хемицелулоза показаха, че тази група вещества също не е от значение за практическия напредък при лечението на HIV-пациентите.

Оралните медикаменти с декстрансулфат освен това имат недостатъка, че пътищата на декстрана при циркулацията на кръвта и концентрацията на мястото на контакт с вирусите не са много ефективни и че притежава гравитиращи странични действия (невропения и др.). Клинично също не бяха установени никакви изключителни въздействия.

Беше направен опит да бъде получен изолиран CD4-протеинов рецептор по геннотехнологичен път, който би трябвало да се свърже здраво с вирус gp 120 и впоследствие посредством отнасяне на същия, вирусът да бъде неутрализиран и дезактивиран. За да може обаче получения по изкуствен начин CD4 да бъде прилаган като терапевтично средство, се налага този изкуствен протеин да се инжектира в големи дози. Изкуствената висока свръхконцентрация на клетъчния сензор, който обикновено е разположен извън мембраната на здравата клетка, означава за организма многослойна иритация (дразнение), чийто имунологични и други реакции са непредвидими. Разтворимият CD4 би могъл да се свърже и с МНС-II-гликопротеин и да парализира неговата нормална функция, което от своя страна, например при болните от спин би влошило имунната слабост. Освен това разтворимият CD4 би трябвало да се приложи отново парентерално във високи дози (съгласно 1).

Като изход от този проблем бе предложено получаването на малки отрязъци, протеинови фрагменти, които биха били така структурирани, че да могат да бъдат разпознати директно от гр 120. Дори и това да бъде постигнато все още остава актуален въпросът, дали тези протеинови фрагменти няма да доведат имунологично до противоположно регулиране *ин vivo* и не биха предизвикали неизвестни все още до днес смущения при болните от AIDS.

Съгласно (2) стана ясно , че при болните от AIDS и ARC смъртният изход в никакъв случай не е въпрос на производство на вируси. Вероятно HIV задейства като антигени имунологични патогенни механизми, които са склонни към ескалиране. Сходствата с автоимунните заболявания (на-пример *Lupus Erythematoses*) показват , че не е достатъчно само да се практикува само HIV-хемотерапията. Изглежда все по-необходимо тези автоимуннологични самостоятелни действия (перпетуации) да бъдат включени в терапията, т.е. да се създаде нова форма на "антиескалативна хемотерапия", която да се доразвие.

Съгласно (2) една HIV-инфекция води до екстремно допълнително активиране, анафилактикния фактор C5 а индуцира производството на туморно-некротичния фактор и интерлевкин 1. HIV може да раздвижи тази каскада до ескалация. Това е доказано и от много работни групи. Дори и поради това може несъмнено да се направи извода, че една обещаваща успех анти-HIV-хемотерапия не трябва да се ограничи само върху инхибирането на HIV, но и би трябвало най-малкото частично да прекъсне подобен автоимунно-логичен кръговрат на живите механизми.

Индивидуалното , ескалиращо съвместно действие на различните вредности (HIV, причинители на различни инфекции, автоимунни каскади и др.) трябва да бъде изследвано още по-добре , за да може да бъде осъществена действително лечебна и полезна "хемотерапия". Едва тогава би било възможно получаването на нови терапевтични резултати.

Равносметката на успехите на сега провежданата терапия (например средна продължителност на живота след инфекцията 13-18 месеца, 5-годишен период на оцеляване 3,4% (съгласно 3) доказва, че прилаганите понастоящем чисто хемотерапевтично ориентирани методи не дават задоволителни резултати.

Още през 1961 г. г-н W.J.Mach , изобретателят, съвместно с господата Wittich и Stuhlfauth успя да докаже, че представените от него естествени багрилни вещества от типа нео-пенихромин въздействат на хората в малки количества (парентерално) като ендогенни направляващи вещества" и например повишават активността на надбъбречната кора.

Това може би е първото указание за това, че окислително-редукционните пигменти с хиноидни единици правят възможно задействането на "анти-ескалативните " механизми на човека без сами по себе си да представляват протеин, респ. хормон и всичко това не по пътя на подбуждане на неспецифични за организма реакции.

Бъдещата HIV-хемотерапия трябва да съдържа едновременно (от имунологична гледна точка) и анти-ескалативни елементи, за да се попречи на евентуален смъртен изход.

Задача на настоящото изобретение е създаването на активно вещество, което по възможност да бъде давано парентерално, което неутрализира вирусите без цитотоксични ефекти и без освобождаването в организма на лекуваните пациенти на нежелани имунологични реакции.

Задача на настоящото изобретение е също така и създаването на активно действащо вещество, което да е ефикасно и срещу изменени/мутирала форма на вируса. Задачата съгласно изобретението се решава чрез създаването на група от активни вещества за възстановителна хемотерапия при вирусни инфекциозни заболявания, която се получава чрез:

I) Получаването на богати на полизахариди единици на лигнина (PLP)

екстрахиране на дървесина или дървесни материали също от (или) растителни клетъчни култури (А) във водни среди в слабо кисела до алкална среда; отделяне на неразтворимите частици;

II) Получаване на нискомолекулни бедни на полизахариди лигноидни единици (LPL) чрез :

водно-алкално екстрахиране (pH 7-14) на дървесни продукти и продукти на естественото овъгляване на растенията или биоконвертирани дървоподобни материали (В);

отделяне на алкално-неразтворимите съставни частици;

III) Получаване на водоразтворим продукт от взаимодействието

LD(PLP=LPL) с ниско молекулно тегло (LD) чрез:

взаимодействие на продукта от фаза I), на богатите на полизахариди единици на лигнина (PLP) с продуктите от фаза II)-бедните на полизахариди лигноидни единици (LPL) при водно-алкални условия (pH 9-12);

Изолиране на фракциите-Low Dalton на продукта от взаимодействието чрез ултрафилтриране при номинални стойности на разреза на деление от около 15 до 40 кД, при което ретентатът се изхвърля;

обработване на разтвора с H^+ -катионен обменник при pH 3 до 7,0, както и по-нататъшна преработка на киселия разтвор с групата активни вещества LD(LPL=PLP).

Може да бъде предпочетено и, че във фаза I се получават богати на полизахариди лигнинови единици HD(PLP) с по-малко от 100 кД, където след екстрахирането във водни среди и отделянето на неразтворимите твърди частици се извършва настройване на pH-стойността от неутрална до слабо кисела; молекулно филтриране, за предпочитане ултрафилтриране при подходяща стойност на разреза на деление по-малка от 100 кД за предпочитане по-малка от 70 кД и ретентатът се изхвърля; така получения разтвор от субстанции с нисък Dalton се преработва по-нататък във фаза III).

При една предпочитана форма на изпълнение на изобретението нискомолекулните, бедни на полизахариди лигноидни единици LD-LPL се получават с по-малко от около 40 кД, при което след водно-алкалното екстрахиране и отделянето на алкално-неразтворимите твърди съставни части се извършва алкално фрагментиране при рН-стойност над 8, молекулно деление чрез ултрафилтриране при номинален разрез на деление от 15 до 35 кД и така получения продукт се преработва по-нататък във фаза III).

Може да бъде и благоприятно, в случай, че след взаимодействието на богатите на полизахариди продукти от фаза I (PLP) с бедните на полизахариди продукти от фаза II (LPL) се извършва отделяне на твърдите вещества и след това останалият разтвор се подложи на по-нататъшна преработка

По-нататъшната преработка на получения от фаза III кисел LD (LPL=PLP) разтвор може да се осъществи чрез филтриране на дребните частици и отстраняване на пирогена чрез филтриране и най-накрая стерилизиране, както и в дадения случай универсализиране (конфекциониране).

По преимуществен начин се избират подлежащите на екстрахиране дървоподобни материали във фаза I от групата състояща се от:

A1: нативна дървесина, като например сърцевинна дървесина от дървета под формата на дървесни трици (дървесен прах), мека дървесина, твърда дървесина, РІР-системи, каквито например съдържат обвивките на костилковите и черупчестите плодове, най-общо казано дървесни съставни части на растенията, за предпочитане като обезсмолени изходни продукти: тревисти растения, трева еспарто и др.

A2: дървесни аналози, като биотехнологично представени дървесни субстанции чрез отглеждане на растителни клетъчни култура

A3: синтетични дървесни аналози чрез представяне на дехидриращи полимеризати на Фройденберг (DHP) от моно-и/или дилигноли и др.

подобни и присаждане на DHP върху полизахариди;

A4: полизахаридни комплекси на лигнина, (получени чрез алкално екстрахиране на хлорит-дървесинна целулоза);

както и смеси на същите (A1,A2,A3,A4).

За предпочитане е изходните продукти за фаза II), които представляват растителни материали, да бъдат избрани от групата състояща се от:

B1: нативни продукти на естествено овъглени растения;

B2: чрез лигнолитични активни микроорганизми, като бели гнилостни гъби, биоконвертирана дървесина

B3: чрез въздействие върху изолирани лигнолитични ензими (като фенолоксидаза) на биоконвертирана дървесина,

или смеси на същите (B1,B2,B3).

За предпочитане като основи се използват KOH, NaOH, LiOH и амоняк, но могат да бъдат използвани и други основи.

При една типична форма на изпълнение съгласно настоящото изобретение богатите на полизахариди единици на лигнина (PLP) след фаза I се намират в концентрация от 0,05 - 10 тегловни %; за предпочитане от около до 2 тегловни % и особено за предпочитане около 0,1 тегловни процента.

Например продуктът от фаза I (PLP) екстрахира при рН стойност от около 12-14, за предпочитане в KOH от 1 до 10 дни при стайна температура (20°C) и екстрахирането на PLP се провежда при повишаване на температурата до към 120°C, при което при температури над 100°C се работи в автоклав.

За предпочитане е продуктите от дървесина и естествено овъглени растения да бъдат избрани от групата състояща се от лигнитни, цветни и кафяви въглища .

Алкалното екстрахиране с 0.1-0,8 М КОН се извършва при една предпочитана форма на изпълнение с 0,4 М КОН, при стайна температура.

Например алкалното фрагментиране може да се осъществи между 7 и 10 дни при рН 11(КОН) при стайна температура.

Взаимодействието в III-та фаза до получаването на група от активно-действащи вещества може да се извърши например в температурни граници между стайната температура и 120⁰С и при рН-стойност 8-14, за предпочитане 10-12.

Особено за предпочитане е смесения полимеризат LD (PLP=LPL) да бъде подложен при стайна температура на молекулно деление до получаването на LD -фракция, за предпочитане на ултрафилтриране при ниско налягане на алкало-устойчивите ултрафилтрационни мембрани с нормален разрез на делене между 18 и 38 кД.

По-нататък продуктът LD(PLP=LPL) се подлага на обмен на алкални иони чрез катионен обменник от изкуствена смола във водородна форма до стабилна рН-стойност в границите на 4 до 6,8, за предпочитане между 5 - 6, при което киселата фракция на LD-(PLP=LPL)се освобождава от пирогена чрез филтриране и най-накрая , например чрез автоклавиране , например при температура 121⁰С се стерилизира над 14 мин.

Водният разтвор на групата от активно-действащи вещества (PLP - LPL) се преработва по известен начин, в дадения случай с помощни вещества, до получаването на течна фармацевтична заготовка, съобразно формата на приложение напр. с пастообразна основа до получаването на паста за външно приложение или с базисен разтвор за инжектиране или също така за външна употреба.

При това водният разтвор на групата от активно-действащи вещества (PLP = LPL) може да се преработи по-нататък по известен начин до получаването на ампули за инжектиране.

За предпочитане групата от активно-действащи вещества може да се използва за борба с вирусните инфекции например като парентерално или локално приложимо вирусопрепятстващо терапевтично средство за борба с вирусни инфекциозни заболявания, при което вирусите могат да бъдат и ретровируси, и по-специално от тип-НІВ (вируси причинители на спин).

Благоприятно може да бъде също така и използването на групата от активни вещества съгласно изобретението под формата на хелат от благородни металикато платина, злато и др.

По-нататъшни преимуществени образувания на изобретението са видни от зависимите претенции.

Дългогодишното тестиране на опитни обекти показва, че парентералните дневни дози от 2 до 7 ампули по 2 мг терапевтично средство/24 ч.

биха могли да възпрепятстват тежки инфекции от инфлуенца (също така и вирусно-бактериални смесени инфекции) в рамките на 24 до 48 часа без странични показания. Дори пациенти с тежка астма, страдащи от тежки грипни инфекции могат да бъдат така повлияни чрез 10 мг на 80 кг тегло за 24 часа без прилагането на кортикостероидни дози над 5 мг, че да може да бъде избегнат опасния астматичен статус.

При експериментален бронхо-спазъм на животно се проявява положителното въздействие на нетоксични дози (парентерално) в смисъл на задържане на брадикинин-спазма (задържане на серотонина и спиране синтеза на простагландина).

Тезу въздействия между другото са абсолютно нетипични за група от активно-действащи вещества и показват, че тази система от активно-действащи вещества се приближава повече до изискванията на Ланге (виж.2) отколкото досегашните възпрепятстващи действието на HIV-вируса вещества.

Сред предимствата на изобретението са също така и:

- при инфектирани с HIV клетъчни култури (човешки лимфоцити) (тестът е даден по долу) се стига в областта на не цитотоксичните концентрации до значително задържане на образуването на синкитиен (анти-HIV-активност)
- при системи от клетъчни култури на централните неврони (от Hippocampus, респ. Cortex) , както и при изкуствено допълнително предварително увредени неврони и при недопълнително предварително увредени неврони се стига при строго определени условия на тестиране до значително нарастване на способността за оцеляване, което биологично има еднакво значение с инхибирането на ескалиращите клетъчни процеси (странично възстановително действие).
- тъй като невроните представляват очевидно предпочитана цел за HIV-вируса, а и за конвенционалните вируси, това свойство е от особен значение за лечението.
- ориентировъчните тестове от специализираната област на основните изследвания на М. Паркинсон показват, че е твърде вероятно групата от активно-действащи вещества да се окаже годна за преминаване през бариерата кръв-мозък.
- Дори и при дълготрайна употреба на медикамента, в продължение на години, не настъпва нежелателна чувствителност, липсва каквато и да било обща реакция като реактивна температура и др. подобни, кръвната картина не се влияе от медикамента, т.е. не може да бъде влошена вследствие приемането му.
- При инфекциозни заболявания причинени от конвенционални вируси (инфлуенца, емфиматозна варицела) се стига до пълно и бързо възстановяване, придружено със спадане на температурата без нежелателни странични ефекти върху състоянието на кръвообръщението.
- тъй като се касае за непротеиново активно-действащо вещество, то

температурата.

- парентералното медикаментозно прилагане е просто и безпроблемно
- лечебните дози при ARC -пациентите са между 20 - 40 мг/седмично.
- дори и при екстремно предозиране (напр. 48 мг/24 ч. повторно) не се стига както до остри така и до хронични вредни последици от локален или систематен характер.

Първичните основни точки на индикационните области за новата система от активно-действащи вещества, без при това да се ограничават върху тези области, са:

- HIV - инфекции
- случаи на ARC с опортюнистични инфекции
- общи нарушения на клетките вследствие хронични вирусни инфекции
- лечебното влияние на мултирезистентността на раковите клетки спрямо конвенционални антитуморни хемотерапевтични средства
- заболявания на централната нервна система.

Преди да разясним същността на изобретението по-подробно, бихме искали да поясним посочените досега съкращения и кратки обозначения:

LD = Low Dalton (нискомолекулен, тук макс. 3000 D)

HD = High-Dalton (по-високо молекулен, тук: $\geq$ 3000 D)

P = полизахаридни вериги, нативно свързани с единиците на лигнина, напр. с полиози като междинни звена между лигнин и целулоза

L = (нативни) единици на лигнина във всички естествени варианти

LD-L = (Low-Dalton Lignin-единици - макс. 3000 D)

HD-L = (High-Dalton Lignin- единици)

(PLP) = богати на захари (полизахариди/полиози) единици на лигнина както те са екстрахируеми като лигнин под формата на дървесни трици, напр. от дървесно брашно с вода или алкално pH, също и във

варианти , получени от биосинтезата на дървесината
(LPL) = бедни на захари лигноидни единици, както те са екстрахируеми от естествено овъглени продукти на растенията-ксилем като лигнит, цветни въглища (до каменни въглища) чрез алкални поларни(водни) среди, но са обеднени посредством процеса на естественото овъгляване от асимилируеми енергийни носители от типа на полизахаридите (микробиелно разграждане преди естественото овъгляване)

LD(L-PL) = бедни на захари лигноидни единици, както от процесите на естественото овъгляване на растенията, които са екстрахируеми от алкално водни среди, но и са силно обеднени чрез процесите на естествено овъгляване от асимилируеми енергийни носители от тима наполизахаридитие , с Low Dalton (водоразтворими съшо при рН под 7,0)

LD(PLP) = Low Dalton фракция от богати на захари единици на лигнина (виж.по горе)

HD(LDP=PLP) продукт на взаимодействието от LD- единици от богати на захари и LD -единици от бедни на захари L -единици

LD(PLP=LPL) Low Dalton - фракция на горепосочения продукт на взаимодействието, която е подходяща за биологично приложение съгласно изобретението.

Продуктът на взаимодействието съгласно изобретението (LPL=PLP) развива от една страна съгласно проведените изследвания вирусопрепятстващо действие и от друга страна практически е без странични ефекти.

Предимство на съдържащата вериги на захари група от актино-действащи вещества съгласно изобретението е, че се касае за "не-протеин", който не дразни имунната защита срещу чужди на тялото белтъчни вещества и за това е подходящ за продължително прилагане

Възприема се, че свързването и прикачването на вируса, и по-специално на HIV-вируса към клетката-гостоприемник, се предотвратява от групата от активно действащи вещества съгласно изобретението. Много е вероятно гликопротеиновата следа, тъй като всъщност тя не е протеин, да не предизвиква негативна имунна реакция - действа дори при много чувствителна тестова система, изолирана мозъчна клетка като "фактор за оцеляване".

В лечебни дози (0,1 мг/кг човешко тегло) групата от активно-действащи вещества дори и при продължително прилагане действа нетоксично и няма нежелателни странични ефекти. Групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението разполага и с хидрофилни области, които обуславят добра разтворимост във вода.

Обобщено може да се твърди, че групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението е подходяща за по-продължително прилагане на базата на своята не-протеинова структура и не-токсичност.

Специално предимство на групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението представлява нейната многостранност, която предлага постоянно различни конформации на активното вещество и разпределение на натоварването на активното вещество за вируса.

Специално предимство на групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението е, че тя е подходяща за защита на нервните клетки в смисълна фактор за оцеляване.

Използваните съгласно изобретението глико-лигнинови единици представляват сложни системи от полизахарид-полиоза-лигнин, които на базата на тяхната стерична и равномерно-разпределяща натоварването многостранност могат да доведат различните гликоорецептори от наситено в ненаситено (разтворимо) състояние. Групата от

активно-действащи вещества (не-протеин) съгласно изобретението (ниско-молекулно и водоразтворимо) се състои най-вече от бедни на вериги от захари (полизахаридни вериги) фенилпропанови единици, с хиноидни области (орто-, респ. парахиноид).

Лигноидни молекулярни области, които имат афинитет към страничните вериги на захари и са частично бедни по-стеаришно-специфичен начин на гликомолекули се срещат в природата в така нар. продукти на естественото овъгляване на растенията; т.е. в цветните, лигнитни и отчасти в каменните въглища. В продължение на протичащото милиони години естествено овъгляване се е стигнало до обедняване откъм полизахаридни вериги, респ. полиози, които образуват биологично свързване между единиците на лигнина и целулозата - това се получава вследствие микробиологичното въздействие, оксидиращите взаимодействия в един продължителен период, което води до бедни на въглехидрати продукти на естественото овъгляване на растенията.

Освен това друго предимство на изобретенията е, че молекулната система е в състояние да прониква биологично през клетъчните мембрани, както може да бъде доказано експериментално in situ чрез измервания на нервните клетки и клетките на черния дроб.

Посредством научни изследвания беше доказано, че действието на групата от активно-действащи вещества върху заразени клетъчни култури е изненадващо значително и не настъпват никакви значителни ефекти от токсичен характер.

Вследствие на това може да се твърди, че групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението е подходяща за по-продължително прилагане; при продължително даване не се губи ефикасността; може да бъде прилагана без риск при съмнителни случаи и да се

и да се комбинира с подходящи активно-действащи вещества от неспецифичен вид. Освен това показва възстановително действие е се инжектира без проблеми.

По долу изобретението може да бъде пояснено по-подробно посредством примерното изпълнение и приложенияте към настоящото описание чертежи, които обаче не бива да ограничават изложението до тук мисли във връзка с изобретението.

Фиг.1а Схема за получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението.

Фиг.1б: Друга схема за получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението.

Фиг.1в: Друг вариант за получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението.

Фиг.2а-2д: Флуоресцентни спектри за разтвори на групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението, респ. на нейния предшественик съгласно пример 1 във вода.

Фиг.3: Спектър C13 на групата от активно-действащи вещества

Фиг.4: Графично изображение на LDH -активността при кортекс-култури на плъхове при липса на гликоза

Фиг.5: Графично изображение на тестване на жизнеспособността на неврони на хипокампуса след 48 часа ин витро.

Фиг.6: Изображение на измерването на екстинкцията (оптична плътност) в зависимост от продължителността на облъчването на разтвора от активни вещества.

Пример 1

Получаване на група от активни вещества съгласно изобретението

Фаза I

Получаване на богати на захари единици на лигнина (PLP)

300 г смляна сърцевинна дървесина от сибирска лиственица

(*Larix sibirfiaca*) диспергират при бъркане като раздробена дървесина в 6000 мл вода без минерали и се добавят 150 г КОН.

Тази смес се държи при бъркане в продължение на 3 дни при температури от 46° до 66° С (диелектрично, интермитиращо нагряване). След това твърдите частици се отделят посредством нуч-филтър, остатъкът се изхвърля, филтратът се центрофугира до получаването на необходимата гладкост и се настройва бавно до рН 11,5 чрез подаване на порции във високо-кисел ионен обменник от изкуствена смола (Амберлите ИР 120) във водородна форма, която е прясно реактивирана, при непрекъснат рН -контрол през маркиран стъклен електрод. Ионният обменник се отделя и изхвърля. Гладкият с ясен златисто-жълт цвят разтвор се осовобождава от дребните частици и пирогена чрез молекулно деление посредством ултрафилтриране през алкално-устойчиви ултрафилтрационни мембрани с номинален разрез на делене от 100 000 далтона. От този гладък жълт разтвор се взема проба от 20 μ л, разрежда се и се смесва в кварцова кювета (1 см) с 3 мл вода за спектрални цели и се регистрира серия от стимулиращи спектри на флуоресценцията при следните дължини на вълните: 450 nm, 490nm, 520 nm .

Флуориметърът е така настроен по отношение на чувствителността че относителната емисия на флуоресценцията при дължина на вълната от 450 nm се намира коло 100 или някъде наблизо. След това бива регистриран стимулиращ спектър при 450nm (писец 2 .см/мин., скорост на придвижване на дължините на стимулиращите вълни 100 nm/мин., уред :KONTRON (Schweiz), Typ SFM -23).

За проверка се взема също и стимулиращ спектър при 490nm и също така при 520nm . Получава се жълт разтвор на PLP -матрицата.

Фаза II

Получаване на бедни на захари лигноидни фракции (LPL)

600 г финно-смялни лигнити диспергират при стайна температура от около 20°C в 10 000 мл на 1,68 тегловно-процентен разтвор на КОН при бъркане; частично се разтварят и след 9 часа се освобождават от твърдите вещества в бърза центрофуга като седимента се изхвърля. След 24 часа се извършва ново отделяне на твърдите вещества в бърза центрофуга и твърдото вещество се изхвърля. След алкално фрагментиране в продължение на над 5 дни при 20°C полученият до този момент центрофугат се подлага наново на отделяне на твърдите вещества и се подлага чрез ултрафилтрационна инсталация с алкално-устойчиви ултрафилтрационни мембрани на молекулярно делене с разрез на делене от 30 000 далтона. Ултрафилтрирането се преустановява след получаването на 6,7 литра филтрат. Ултрафилтратът се настройва на рН 5,5 чрез прясно активиран високо-кисел ионен обменник (Амберлит ИР 120) при непрекъснат контрол през маркиран стъклен електрод.

Този слабо кисел разтвор се филтрира веднага през ултрафилтър за отделяне на пирогена. След това се извършва термична стерилизация в автоклави при температура 121°C в продължение на 15 мин. За определяне концентрацията на твърди вещества се вземат проби и при температура 85°C се концентрира до тегловно равновесие (тегловна константа) (уред за инфрачервено облъчване). Така полученият ултрафилтрат се използва за постигане на желаната концентрация като LPL-част, респ. бедни на захари лигонидни фракции (LPL) използвани за реакция с продукта от фаза I (виж. по горе).

По надолу се обсъжда спектър C13 на използваната LPL-фракция (продукт от фаза II):

Спектри 13C-NMR

На базата на спектър 13C-NMR тази проба се отличава преди

всичко с високия брой карбоксилни групи на естествения лигнин, които са посочени чрез среден мултиплет при около 168-180 ppm . При това карбоксилните въглеродни атоми трябва да издават много слаби сигнали на базата на липсващите оверхауз ефекти и спин-спин променливите въздействия с директно свързаните водородни ядра, така че тяхната концентрация да бъде по-висока отколкото релативната интензивност на техните сигнали. Същото се отнася и до алфа-карбонилните C-атоми, които абсорбират в границите между 190,5 и 198, но все пак показват значително по-слаба интензивност. Ясно изразения сингулет при 158,2 ppm се причислява (подрежда) най-добре към въглеродния атом 4 в p-хидроксибензилните групи (за обозначаването на въглеродните атоми сравни H.D.Lüdemann und H.Nimz, Makromol.Chemie, 175, 2409 (1974)). Тъй като обаче измерванията на съответните моделни субстанции в хексадойтеров ацетон са предприети и с вътрешен стандарт H.D.Lüdemann u. Nimz Makromol.Chemie, 175, 2393 (1974), трябва евентуално да се вземат пред вид и въглеродните атоми 3 и 5 в сирингилните остатъци за този сигнал.

Широкият мултиплет (7) в границите между 93-145 ppm трябва да бъде причислен към въглеродните атоми 1,2,5 и 6 в гуаджакил - както и 1,2,4 и 6 в сирингилните остатъци. Лошата разтворимост на спектъра в тези граници указва за силни концентрации на лигнин, които се получават от предварителната му преработка.

В областта на алифатните въглеродни атоми сигналите (8), (9) и (15) трябва да бъдат причислени към типичните сигнали на лигнин на арилглицерин-бета-арилетерните съединения, които представляват най-важният свързващ тип във всички лигини. Също и в този случай се създава една несигурност при такова причисляване от страна на разтворителя и външния стандарт. Относително слабият

метоксиден сигнал при 58,6 ppm сочи за частично намаляване съдържанието на метоксил по време на предварителната обработка на пробата. Появяващите се в тези граници добре структурирани сигнали (10), (11) и (12) не се намират в типичните спектри на лигнина (H.D. Lüdemann und H.Nimz, *Makromol.Chemie*, 175,2409(1974)) и показват наличието на кондензирани въглехидратни частици.

Труден за обяснения е също така и широкият мултиплет (17) в областта при около 0 до 55 ppm. За предпочитане тук трябва да абсорбират алифатни въглеродни атоми, които не са свързани директно с кислорода. В лигнина обаче се намират много малко атоми от този вид, например β - въглеродни атоми в пинорезинолови единици и алфа-въглеродни атоми в дибензил-тетрахидрофуранови единици (H.D.Lüdemann u.K.Nimz, *Makromol. Chem.* 175, 2393, 1974; H.D.Lüdemann u.H. Nimz, *Makromol.Chem.* 175,2409, 1974). Поради това по време на предварителната преработка, оксидативна или друга, на лигнина трябва да бъдат създадени подобни въглеродни атоми (например $\text{CO}-\text{CH}_3$, $-\text{CHOH}-\text{CH}_3$, или $-\text{CH}_2-\text{C}$) от лигнина или да бъдат поети от дървесината при приготвянето на лигнина.

Като обобщение може да се каже че при настоящата проба се касае за структурно силно променен лигнин, чийто лигнинов характер не може да бъде доказан категорично (еднозначно). Координацията (подреждането, причисляването) на сигналите се усложнява и от употребата на D_2O като разтворител, тъй като в хексадойтеровия ацетон, в който биват измервани сравнителните лигини (H.D.Lüdemann u. H.Nimz *Makromol.Chem.*, 175,2409, 1974) не е разтворим. Освен това използването на външен вместо вътрешен стандарт може да повлияе минимално химическите измествания от около 2 ppm.

¹³C-химически измествания в ppm от TMS като външен стандарт,
поети в D₂O със спектрометър Varian XL-100-15

Nr.	Delta(ppm)	интензивност	причислено към*
(1)	190,5-198	слаб мултиплет	алфа-карбонил-и канелен алдехидни групи
(2)	169-180	среден мултиплет	карбоксилни групи
(3)	164,0	слаба	
(4)	158,2	силен сингулет	C-4 в p-хидроксифенил (C-3/5 в сирингил)
(5)	150,5	слаба	C-4 в гуаджакил
(6)	148,5	слаба	C-3 в гуаджакил
(7)	93-145	широк мултиплет	C-1/2/5/6/ в гуаджакил и C-1/2/4/6 в сирингил
(8)	88,4	слаба	C-бета в арилглицерин-бета-арилни етери
(9)	70,0	средна	C-алфа в арилглицерин-бета-арилни етери
(10)	67,9	средна	
(11)	67,4	средна	
(12)	66,2	слаба	
(13)	64,8	силна	C-гама във фенилкумарани и C-гама и C-бета в бета-1-диглигнолни единици
(14)	63,8	средна	C-гама в канелени алкохоли и арилглицерин-бета-арилни етери с алфа-карбонил
(15)	60,7	средна	C-гама в арилглицерин-бета-арилни етери
(16)	58,6	средна	ОСН ₃
(17)	0-55	широк мултиплет	алифатни, за предпочитане несвързани с кислород C-атоми

* тук сравни: H.-D. Lüdemann und H.Nimz, Makromol. Chemie
175, 2409 (1974)

По-нататъшна преработка във фаза III

Чрез поетапно добавяне на бедни на захари лигноидни фракции (LPL) в определена концентрация от 2 мг/мл 520nm стимулиращия спектър

поглъща (поема) на етапи от по 5 μ л добавка в кварцова кювета (титриране на флуоресценцията), докато чрез съответно повишаване на добавката настъпва значителен емисионен връх при 465nm и емисията се повишава значително над общите граници на дължината на вълните на емисията и при емисия 394-396nm се качи до около реда на величините от 80% относителна емисия. Необходимото количество бедни на захари лигноидни фракции (LPL) за повишаването на флуоресценцията чрез добавка на бедни на захари лигноидни фракции (LPL) се определя (тук напрмире бяха 10 μ л от 0,2%-ен разтвор) и се мултиплицира с фактор 2,5.

Така определеното количество на добавката на разтвор от бедни на захари лигноидни фракции (LPL) към матричен разтвор се осъществява след това с намиращото се ан разположение количество от матричния разтвор: напр. към 4000 мл матричен разтвор от тази реакция се добавят съгласно указанието 5000 мл от 2%-ен разтвор на бедни на захари лигноидни фракции (LPL) (120 μ л матрица се нуждаят от 10 μ л 0,2%-ен разтвор на бедни на захари лигноидни фракции (LPL), т.е. след мултиплицирането с фактор 2,5 се получават на 4000 мл матрица 2000 пъти 2,5). При температури от 45 до 65°C се смесва интензивно и след четиричасово протичане ан реакцията при 45-65°C се подлага на молекулно делене в ултрауилтрационна инсталация с алкало-устойчиви ултрафилтрационни мембрани с номинален разрез на делене от 30 кД, ретентатът се изхвърля и филтратът се подлага на по-нататъшна преработка. Посредством високо-кисел ионен обменник във H^+ -форма филтратът се настройва на pH 5,5 и след филтриране за освобождаване от пирогена веднага се стерилизира термично.

От пълнежа се взимат проби за биологични и аналитични цели и след проверка на идентичността чрез флуоресцентна спектроскопия и пирогенна чистота се дава за ампулиране. Като разтворител на ампулите да парентално приложение служи 0,9%-ен разтвор от натриев хлорид специално стерилизиран за инжектиране.

На фиг.2а до 2в са показани най-напред флуоресцентни стимулиращи спектри при 450nm, 490nm, 520nm дължина на стимулиращата вълна на разтвор от PLP (група вещества А); фиг.2г и 2д показват съгласно принципа на стимулиращото флуоресценцията титриране при 520nm дължина на стимулиращата вълна подлежащото на измерване влияние на определената добавка (тук двуетапна) на PLP в 5 μ л-етапи: Значителна роля в случая играе появяването и размера на емисионния връх при 466 дължина на стимулиращата вълна.

За пояснение тази реакционна схема е дадена още веднъж на фиг.1а. На фигури 1б и 1в са посочени възможните варианти на този метод, както те са приложими в дадения случай.

Пример 2

Получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението

Получаване на богати на захари фракции на лигнини (PLP)

180 г смляна сърцевинна дървесина от сибирска лиственица (*Larix sibirica*) раздробени до размер на частиците от 0,05 до 0,315 мм в кръстата мелница, които преди екстрахирането във водна среда се освобождават от екстракционните вещества чрез екстрахиране в етанол/бензол и етанол (ТАРР-стандарт Т-12 м, 1959) и 120 г дървесина от червен бук (*Fagus sylvatica* L.), подготвени както е описано по горше се смесват и се преработват аналогично на описаното в пример 1. Докато сърцевината на сибирската лиственица съдържа арабогалактан (4 части галактоза:1 част арабиноза), то при червения бук са налице

ксиланови вериги, заети с оксиметилгликуроновa киселина и L -арабиноза, чрез които се модифицират свойствата на крайния продукт.

Ситно смляната дървесинна модификация се обработва по описания в пример 1 начин, при което обаче екстрахирането се извършва съгласно BECKMANN и. LISCHE , Angewandte Chemie 34, 285 (1921), където 1 М КОН екстрахира в автоклав при температура 121⁰С в продължение на 3,5 часа.

Пример 3

Получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението

(I) Получаване на богати на захари фракции на лигнина (PLP)

Получаването на Р Р се извършва както е посочено в пример 2.

II) Получаване на бедни на захари лигноидни фракции (LPL)

LPL се получава от прахообразни еоценни кафяви въглища, вместо от лигнит , както е посочено в пример 1. Получаването преминава както е описано в пример 1.

Пример 4

Получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението

I)Получаване на богати на захари фракции на лигнина (PLP)

210 г сърцевинна дървесина от лиственица, 60 г сърцевинна дървесина от бук и 30 г дървесина от плодоносни дръвчета от prunus avium се преработват както е описано в пример 2 до PLP.

II) Получаване на бедни на захари лигноидни фракции (LPL)

Миоценни кафяви въглища , които биват пречистени по обичайния начин, чрез екстрахиране с бензол от смоли, мазнини и восъчни вещества , се преработват както е описано в пример 1.

Пример 5

Получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението

I) Получаване на богати на захари фракции на лигнина (PLP)

210 г сърцевинна дървесина от лиственица, 90 г синтезирана съгласно Фройденберг (Freudenberg K. Harkin JM, 1960, Modelle für die Bindung des Lignins an die Kohlehydrate, Chem. Ber. 93, 2814 - 2819) дървесина се преработва до получаването на PLP, както е посочено в пример 2.

Останалата по-нататъшна преработка се извършва съгласно пример 1

Пример 6

Получаване на група от активно -действащи вещества съгласно изобретението

Алкално получен екстракт (A5) от хлорит-холоцелулоза, получен от дървесно брашно (*Fagus silvatica*) с намалено съдържание на лигнин посредством NaClO_2 (съгласно Feckl, 1981, Diss. Universität München) и 4%-ен разтвор на KOH (Fengel, 1976, Holzforschung 30) екстрахиран алкално, се подлага на отделяне на твърдите вещества, стерилизира се и в началото на третия ден се захранва в количество от 900 мл (концентрация 0,12%-но съдържание на твърди вещества, остатъчно съдържание на лигнин 2,3% разтвор на LPL от лигнит, получен както е описано в пример 1. Обемът на 2,1%-ния разтвор (pH 11,4) възлиза на 9100 мл. Времето за фрагментиране е 9 дена. След това разтворът, както е представено на фиг. 16, се преработва по-нататък, вследствие на което се извършва отделяне на твърдите вещества и останалият разтвор се подлага на молекулно филтриране посредством ултрафилтриране през алкално-устойчиви мембрани с номинални граници на делене на разреза на делене 18-38 кД и pH-стойност 8-14. След това разтворът се насища киселинно с H^+ -ионен обменник и асептичния филтрат от дребни частици се изхвърля. Полученият филтрат се стерилизира термично в автоклав при температура 121°C , а след това е възможно да се преработи по-нататък, както е описано в пример 1.

Пример 7

Получаване на група от активно-действащи вещества съгласно изобретението

Фаза I:

100 г смлян Cortex Cinnamoni екстрахира в продължение на 6 дни с 1000 г от разтвор на КОН в деминерализирана вода при температура 60°C (рН-настройка до 8-9 с КОН). При което посредством въвеждане на кислород в разтвора, се запазва коренната промяна на материала. След това твърдите вещества се отделят чрез центрофугиране и се изхвърлят. Така полученият PLP-разтвор се стерилизира термично в автоклав и веднага взаимодейства с получения във фаза II на пример 1 LPL -продукт в алкална среда, при което по-нататъшната преработка се извършва както е посочено в пример 1. Получаването се илюстрира ясно от фиг.1в.

Пример 8

600 г смляни цветни въглища (еоцен), идентични с продукта от пример 3 се разтварят при стайна температура в 10 л разтвор от 110 г КОН и 60 г NaOH в деминерализирана вода в продължение на от 2 до 5 часа при бъркане. Преди разтварянето на хидроокиса се добавят към водата 20 г активен въглен, смлян ситно по механичен начин. Тази част на активния въглен заедно със седиментните частици се отделят при последващото предварително центрофугиране и това вече има значението на подготвителна стъпка към предвидения за фрагментиране и т.н. продукт.

Предварителното центрофугиране трябва да бъде извършено в голяма пространствена центрофуга, в краен случай в бехерова центрофуга, напр. при 4000 до 5000 о/мин., тъй като утаяването на твърдите вещества (което е и следващата стъпка на метода) не може да се експлоатира веднага след това при максимално действие на гравитацията

при ултрацентрофугите (също и при бързи центрофуги с вертикален отделителен цилиндър и около 4000 о/мин.), когато количеството на седимента редуцира степента на действия в избистрящия цилиндър, което прави невъзможно всякакво индустриално производство. Предварителният центрофугат се събира, смесва се с 8 г активен въглен на 10 л и незабавно се полага на центрофугиране толкова дълго, докато избистрящия цилиндър на ултрацентрофугата стане практически практически стане гладък (бистър) и биха могли да бъдат различни само минимални следи от лакоподобен седимент.

Този вече така интензивно предварително пречистен продукт (алкален разтвор на групата от активно-действащи вещества) се съхранява при стайна температура и се предоставя на "алкално автофрагментиране". Тези фрагментационни процеси се проследяват посредством текущи рН-измервания. По-нататък трябва да се извърши пробно най-малко двукратно по-нататъшно ултрацентрофугиране както е описано по горе, за да се способства образуващата се седиментация, но от фармакологична гледна точка се изключват текущо нежелателните фрагментационни кондензати без истинска разтворимост и молекулна реактивност.

След алкалното автофрагментиране, т.е. след около 9 дни, се извършва финно избистряне чрез ултрацентрофугиране и разтворът (все още силно алкален) се подлага чрез ултрафилтриране при номинален разрез на молекулното деление от 30 000 далтона на предпазващо фракциониране и то по такъв начин, че при провеждането на реакцията с цел производство (както е описано примерно тук) с количество от 10 л. ултрафилтрирането завършва, когато са получени около 74 000 мл ултрафилтрат и тогава обема на ретентатът възлиза на около 2000 мл.

Ретентатът се изхвърля, ултрафилтрационната инсталация основно се изплаква алкално и филтратът се подлага на по-нататъшната стъпка от преработката. Последващият контакт на алкалните соли на ултрафил-

трата с високо кисел катионен обменник от идкуствена смола (в екстремна водородна форма) е също процес, който е от значение за крайния продукт.

"Окисляването" на алкалния ултрафилтрат, например чрез добавянето на киселина, дори употребата на колоната на ионния обменник е напълно неподходящо, тъй като например в последния случай колоната леко се добавя и се получава напълно негоден филтрат.

Катионният обмен, съгласно изобретението, (обмен на иони Na^+ и K^+ срещу H^+) се провежда по поетапния метод в реакционен съд и процеса на обезioniизирането се следи текущо посредством електронно измерване чрез маркиран стъклен електрод.

Целта е получаването на рН-стойност от 5.1 и след достигането на тази стойност добавянето на ионния обменник се преустановява незабавно. Съгласно изобретението обезioniизирането се извършва при постоянно коренно изменение на все още частично алкалния продукт и чрез образуването на турбуленция, например осигурена чрез регулируема обратна помпа, така че да не се създават области с висока концентрация на ионна обмяна.

Тъй като групата от активно-действащи вещества на този етап все още не може да бъде задоволително измерена, както и преди проследяването съгласно изобретение дори и на най-дребните, експериментално откриваеми етапи на реакцията е най-сигурният начин за да бъдат постигнати фармакологично абсолютно идентични групи от активно-действащи вещества съгласно изобретението.

Преминалият вече през катионен обмен разтвор на активно-действащите вещества се освобождава по известен начин от дребните частици чрез стерилен филтър, същите биха могли да се появят по време на контакта с ионната обмяна, и след това веднага се стерилизира в авто-

клав (например при температура 121°C в продължение на 20 мин.). Този разтвор на активното вещество може да се съхранява безпроблемно и сигурно при температурни граници от 4 до 20°C в продължение на 18 месеца и например да бъде използван за получаване на разтвор за ампули (за разтворител може да се използва например 0,9%-ен разтвор на готварска сол).

Извършеното тук вкарване на активен въглен не представлява неспецифична пречиствателна операция, а се касае за повлияването на реакционната ситуация по посока на постигането на желаната фрагментация: основно трябва да се работи с активен въглен от типа "прахообразен активен въглен р.а." (примери за опознавателните данни на подобен активен въглен: рН-стойност на 5%-ен разтвор във вода, 20° филтрат) 4.0-7.0; адсорбционна способност на метилена: 0.15%-ен разтвор - по-голяма от 12 мл/0,1 г).

От съществено значение е многостранната функция на активния въглен, например чрез неговото съдържание на повърхностни окиси, които могат да му придадат кисели или базисни качества. Наистина чистите въглеродни повърхности като графит са хидрофобни, но повърхностните окиси образуват ин ситу хидрофилни области, така че активния въглен може да бъде омрежван чрез водата и така да влияе върху реакционната ситуация по посока на фрагментацията. Освен това от значение е и разпределението на големината на зърната на използвания активен въглен: около 50% би трябвало да представляват дребните частици, които са по-малки от 40 микрона. При това разпределение на големината на зърната добавките от активен въглен могат да бъдат отделени технологично чисто без използването на помощни филтриращи средства.

Пример 9

Представеният току що в пример 8 в "един или повече ионен принцип" многократно освободен от седиментни частици чрез ултрацентрофугиране продукт се загрява посредством микровълново загряване до 46°C и след това се охлажда отново до стайна температура. Алкалната смес на продукта след последно финно пречистване посредством ултрацентрофугиране (по подробно виж. пример 8) се преработва по-нататък, както е получен продукта, съгласно пример 8.

осредством това повтарящо се физично принудително изменение съгласно изобретението на процесите на фрагментиране се модифицира групата от активно-действащи вещества.

Пример 10

Фотометричните изследвания на реакцията показват, че терапевтичното средство по смисъла на изобретението, получено например съгласно пример 8, може да бъде модифицирано интензивно чрез активизиране на фотоните при 388-378nm. При това превръщане на веществото в границите на единиците на фотонния уловител на групата от активно-действащи вещества се стига до процеси по смисъла на фотохромията (цветна фотография): под това се разбират обратими фотохимични реакции, при които веществото А преминава в друга форма (конформация) или съединение В и тази реакция (към превръщане и/или обратно) се провокира чрез абсорбиране на ултравиолетова или обисновена светлина. Терапевтичните средства се подлагат съгласно изобретението на въздействието на вълни с дължина 388nm, докато при проверка на оптичната плътност (екстинкцията), например след 90 мин. се стигне до екстинкционен максимум, монохроматичното 388 nm-ово облъчване в двулъчев фотометър може да се използва и регистрира едновременно като измервателно облъчване (фиг.6) (ширина на лентата напр. 5 nm).

Редом с измерването на екстинкционният максимум (виж.фиг.6) конформационната модулация може да се докаже допълнително чрез измерване на флуоресценцията (ретистриране на стимулиращия спектър): Чрез фотохромното влияние на системата от активни-вещества се стига във всички области на стимулиращата спектрална флуорометрия до завой при протичането на реакцията, който се различава значително от нулевата проба. Тези ултравиолетово-индуцирани системи влияят върху хемотерапевтичното действие ин ситу, респ. ин виво. Този ултравиолетово-активиран разтвор на активното вещество между другото е подходящ за клинични експерименти не само при AIDS, а също така може да се използва при Т-клетъчния лимфом за влияние върху Т-лимфоцитите. Известно е, че чрез ултравиолетовото активиране от 8-MOP, което се състои от фуранов пръстен и кумарин, се оказва влияние върху CTCL. Но разходите са твърде големи, докато при полученото съгласно изобретението ултравиолетово-активирано съединение е необходимо само да се приложи обичайното парентерално даване на медикамента.

Най-общо може да се каже, че условията на екстрахиране на дървесината оказва голямо влияние върху молекулната структура на разтворимите полизахаридни единици на лигнина. Молекулната структура на матрицата при това зависи многостранно от изходния материал, т.е. от това, дали ще бъде избрана сърцевината на дървото, сламка или стръкове на тревисто растение. За да се избягнат следи от средствата за растителна защита би трябвало да се използват стари дървета.

Определящ при това е и видът на дървесината (иглолистно дърво, широколистно дърво) и използваната като изходен материал растителна част (орехови черупки, костилки от праскови, меката част на дървесината); така напр. свързването между Р и L при ореховите черупки е значително по устойчиво отколкото при меката дървесина.

Освен това съществено за продукта е и метода на екстрахирането на мрежата LD- PLP, при това са особено подходящи: алкално екстрахиране, обработка с гореща вода/водна пара под налягане (автоклав) или електролиза с натриев хлорид като електролит.

Групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението съдържа съдържа твърде много структурни единици от областта на естествените вещества амини и въглеводороди.

По-нататък трябва да бъдат посочени извършените с материала от пример 1 изследвания на различните клетъчни системи.

Тест на групата от активно-действащи вещества от пример 1 на инфектирани с HIV човешки лимфоцити

За тестова система се използват лимфоцитите от кръвта от пъпната връв на новородени, която два дни е предварително активирана с 10 мг/мл фито-хемагглютинин (PHA). Тази система от клетъчни култури е много чувствителна лимфоцитерна система за изследване на HIV.

Около 200.000 PHA-активирани лимфоцити от кръвта на пъпната връв в 1 мл- култури в присъствието на тестова субстанция се инфектират с HIV-2 изолат HIV-2ROD (крайна концентрация около 200 синцитиено-образуващи единици на мл). Извършва се светло-микроскопно систематизиране на инфектираните култури на третия ден от инфектирането (изследване на създаването на вирус-индуцираните клетъчни фузии, т.нар. синцитиен).

Групата от активно-действащи вещества се разтваря в културата без заключително стерилно филтриране. Тестира се концентрации от 200 µг/мл, 50 µг/мл, 20 µг/мл, 2 µг/мл, и 0,2 µг/мл.

Изследват се два пълнежа, а именно A88-1 и A 88-4.

Тест на пълнеж А 88-1 от пример 1 в 24-дупчести плаки за препятстване образуването на синкитиен

Концентрация светломикроскопно систематизиране на 3-4-ия ден след инфектирането

µг/мл	образуване на синкитиен	поносимост
200	-	добри колонии
100	-	добри колонии
50	-	добри колонии
20	+	добри колонии
2	++	добри колонии
0,2	++	добри колонии

позитивен контрол +++

- няма образуване на синкитиен

+ единични образувания на синкитиен (1-10)

++ ясно изразено образуване на синкитиен (10-50)

+++ силно образуване на синкитиен (по -голямо от 50)

Тест на пълнеж А88-4 във 24-дупчести плаки за препятстване образуването на синкитиен

Концентрация светло-микроскопно систематизиране на 3-4-ия ден след инфектирането

µг/мл	образуване на синкитиен	жизнеспособност
200	-	добри колонии
100	-	добри колонии
50	-	добри колонии
20	+	добри колонии

позитивен контрол +++

Систематизиране препятстването на образуване на синкитиен с

пълнеж II

целеве клетки: периферни лимфоцити (PBL)

вирус: HIV-2ROD, 10⁵ SFU/ml, са. 1.500.000 cpm/ml/90 min.

използвано крайно разреждане 1:500

Концентр. (µг/мл)	образуване на синкитиен на ден		
	2	3	4
1	+	+	+
5	+	+	+
10	+/-	+/-	+/-

Продължение от стр.32

Концентр. (µг/мл)	образуване на синкитиен на ден		
	2	3	4
25	-	-	-
35	-	-	-
50	-	-	-
75	-	-	-*
100	-	-	-*
150	цитотоксично		

* слаба цитотоксичност

Както може да се види от таблицата този пълнеж е ефикасен над 10 µг/мл.

Анти HIV-активност на групата от активно действащи вещества (лаборатория II)

Групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението се изследва ин витро в две концентрации от 2 мг/мл и 16 мг/мл. При това в лаборатория I ядрото на HIV-протеина , p24 се изследва с антиген- поглъщателна техника след първичната инфекция с клетки H9. Фосфономравчената киселина се използва като позитивна контролна субстанция и се изследват също така различни концентрации на AZT и ddC. При това изследване и двете проби показват антивирусна активност.

Лаборатория 2 използва синкитиенното образуване след първични инфекции от клетки MT-2 като краен продукт.

Резултати от теста Лаборатория I

конц. на активното вещество ug/l	препятстване развитието на p24 в %		
	адаптоген 2 mg/ml	адаптоген 16 mg/ml	фоскарнет
1	≤30	30-50	
4	≤30	50-75	
10			50-75
20	50-75	>75	
50			>75
100	>75	>75	токсично
500	токсично	>75	токсично
преценен ЕС 50	15-20 µг/мл	1-2 µг/мл	10µг/мл

Позитивен контрол: AZT е дидеоксицитидин (ddC) се тестват с 1 - 10 µг/мл и показват по-малко от 75% задържане на p24 -експресията без цитотоксичност.

Лаборатория 2

концентр. на активното вещество в ug/l	% -но инхибиране на образуването на синцитиен адаптоген	
	2 mg/ml	16 mg/ml
0,1	33	
0,16		14,5
1	50	
1,6		
10	82	
16		88
48		100
100	100	
160		100
500	малко токсичен	
ЕС 50	1 µг/мл	1 µг/мл

Позитивен контрол: ddA с 0,25 (90%-но препятстване развитието) и 2,5 µг/мл (100 %-но препятстване)

От гореизложеното е видно , че групата от активни-действащи вещества съгласно изобретението очевидно възпрепятства атаката на HIV вирусите върху клетките.

В лечебни дози (около 0,1 мг/кг човешко тегло) дори и при продължително прилагане групата от активно действащи вещества не въздейства чувствително, не е токсична и няма токсични ефекти. Групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението разполага с хидрофилни области, които обуславят добра разтворимост във вода. Разбира се, възможни са и други промени и мерки на принципа съгласно изобретението за специалиста в рамките на обичайното в тази област, така напр. чрез използването на други мономерни върху повърхността на матрицата.

Може да се направи извода, че групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението е подходяща за продължително приложение; при по-продължително прилагане действието на ефекта не намалява;

може да се прилага без риск и при съмнителни случаи. Проявава се възстановително действие и се инжектира без проблеми. От гореизложените опити става ясно, че групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението притежава също така и значителни антивирусни свойства.

Тестова поредица I (Доказване ефекта на оцеляване без усилващо действието клетъчно натоварване)

Групата от активно-действащи вещества съгласно изобретението притежава също и контра-ескалативни (възстановителни) свойства, както ще се види от долуизложеното. Акутни (остри) нарушения в областта на централната нервна система, като напр. при травми, мозъчни наранявания, исхемична болест и др. обикновено са съпроводени в повечето случаи от дегенериране, респ. смърт на клетките на централните неврони. Освен това многобройните неврологични и невродегенеративни заболявания на централната нервна система (напр. болестта на Паркинсон, Алцхаймер, синдрома на Корсаков) се характеризират с отмиране на селективните популации на невроните.

Поради това изследването на смъртта на клетките, респ. оцеляването на ентралните неврони е от голямо значение. През последните години изследването на атрофиращите невроните фактори и на променливото действие на невронните разклонения се сдоби с нови знания относно оцеляването на невроните ин vivo и ин vitro. Към тях спадат новите резултати за значението на липидните мембрани - при включване на ганглиозидите и фосфолипидите - за жизнеспособността на нервните клетки. Експерименти с култури на нервните клетки показват, че пероикисите, респ. кислородните радикали биха могли да изиграят значителна роля чрез атака на липидните мембрани за способността за оцеляване, респ. за смъртта на клетките.

Материал и методи

I. Приготвяне на култури от неврони на хипокампуса

Хипокампитe на 17-дневни ембриони на плъхове се разделят чрез трипизин/EDTA и механична ножица и се плакират върху покрита с полилизинов слой защитна лента. След фазата на закрепване в 10%-ен серум, клетките израстват в дефинирана, свободна от серум среда.

II. Флуоресцентен тест

Два флуоресцентни оцветителя се прилагат комбинирано, за да могат живите и мъртвите клетки да бъдат оцветени различно, флуоресцеин-диацетатът (FDA) се поема само от живите клетки като нефлуоресцираща предварителна фаза, разделят се хидролитично и посредством това се превръщат във флуоресциращо съединение (флуоресцеин). Етидиевия бромид (EtBr =международно възприето име за 3,8-диамино-5-етил-6-фенилфенантридиниев бромид) остава извън живите клетки и прониква само в мъртвите клетки, където при флуоресценцията ядрото се оцветява в червено.

Среди

DMEM (Dulbeccos Modified Eagles Medium), Seromed, München

FKS (фетален серум от теле), Seromed , München

10% в DMEM (1/2 ч. при 56⁰C дезактивиран)

HM (хормон-микс)

инсулин $8,8 \times 10^{-7}$ М

трансферрин $1,1 \times 10^{-8}$ М

трийодотиронин 3×10^{-10} М

хидрокортизон 2×10^{-8} М

в DMEM

Концентрации на активните вещества

В ампулата се намират 2mg/ml разтвор

Разреждане с DMEM Крайна концентрация в средата (100μl/2ml)

1:10	200μg/ml	10μg/ml	(1)
1:100	20μg/ml	1μg/ml	(2)
1:1000	2μg/ml	100ng/ml	(3)
1:10000	200ng/ml	10ng/ml	(4)
1:100 000	20ng/ml	1ng/ml	(5)

Разтворът се прибавя към засрепилите се клетки в концентрациите (1)-(5) , след фазата на закрепване към средата. Тестът за жизнеспособност се извършва след 48 часа. От 3 култури за условие се изброяват по 15 полета с около 50 неврона за поле.

Резултат

Тестът за жизнеспособност показва положително влияние в област на концентрация около 100ng/ml среда за оцеляването на невроните в културата в сравнение с проверката. При 10μg/ml се забелязва леко токсичен ефект.

При оценяване ефекта на "оцеляване" трябва да се има пред вид, че клетките растат при оптимизирани условия, т.е. че съществено подобрене на оцеляването не би могло да се очаква. Поради това експериментите трябва да се извършват при условия под субоптималните (тестова поредица II).

Тестиране жизнеспособността на невроните на хипокампуса след 48 часа ин витро

Съотношение живи/мъртви клетки

Влияние върху оцеляването на невроните след увреждане

При микрокинематографични снимки се наблюдава, че клетките, които са били осветяване по-продължително време от светлината на халогенна лампа умират по-рано , отколкото тези , които са останали извън зоната на осветяване.

При търсене на причините за получаването на този ефект открихме в литературните източници доказателство, че в средите на клетъчните култури, които са били подлагани на светлината на т.нар. лампи с дневна светлина (с по-голямо участие на късовълновата светлина) се образуват летални фотопродукти. При облъчването на триптофан, респ. триптофан/рибофлавин-съдържащи среди с близки ултравиолетови лъчи (365 нм) се създава H_2O_2 в токсични количества (McCormick, J.P., Fischer, J.R., Pachlatko, J.P. and Eisenstark, Science 191, 468-469, (1976); Wang, R.J. and Nixon, B.T. In Vitro 14, No.8 19-22 (1978).

Пероксидите и кислородните радикали се свързват днес с процесите на стареене на клетките и увреждането на клетките чрез токсични влияния (напр. вследствие хипоксия).

Долуописаното изследва влиянието на активното вещество върху увреждащ клетките ефект след осветяване с халогенна лампа.

При предварителен опит най-напред се определя продължителността на осветяването, която води до ясно изразено намаляване на способността за оцеляване на клетките, но все още не е напълно летална.

Метод :

Невроните от хипокампуса на 17-дневен ембрион на плъх се приготвят както е описано по горе. След нарастване от 3 до 4 часа в инкубатор чашките с културите се отстраняват и се подлагат на осветяване. Активното вещество се добавя в три етапа на концентриране със свежа среда към културите и те се култивират по нататък в продължение на 20 часа. Оцеляването на клетките се определя с описания вече флуоресцентен тест. За проверка се използват осветявани и неосветявани клетки, към които е добавена по същото време свежа среда без активно вещество.

Осветяване :

500 VV халогенна лампа с рефлектор, разстояние 40 см, (измерва се стойността на светлината : 18,5), продължителност на осветяването 20 мин. Блюдата с културите по време на осветяването се поставят в темперирана водна баня, при което температурата измерена директно в средата не трябва да надвишава 34°C.

Резултат:

Резултатът е представен на фиг.4 откъдето е видно:

Живи клетки в процент (оцеляване) след 24 часа в културата

- 1) Оцеляване без осветяване след 24 часа
- 2) след осветяване без активно вещество
- 3) след осветяване и след добавяне на 1µg/ml активно вещество
- 4) след осветяване и след добавяне на 0,1µg/ml активно вещество
- 5) след осветяване и след добавяне на 0,01µg/ml активно вещество.

При посочените условия се очертава значителен ефект за оцеляването на невроните в културата, при което прави впечатление, че е ефикасна концентрация (1µg/ml), при която под оптималните условия след 48 часа не се наблюдава ефекта на оцеляването (виж.отчет I). Възможно е и съхраняването на леко токсичен ефект при нормални условия ня защитно действие, което преобладава след уврежданията получени вселдствие осветяването.

Естествен е и въпросът, коя част от спектъра е най ефикасна за леталния ефект. Изключва се обаче, че средата се загрява чрез високата дълговълнова част на светлината и евентуално посредством това причинява увреждания на клетките.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Spektrum der Wissenschaft - Dez. 88, S 116
2. 1990, M.Lange, USA Ärztliche Praxis 15, S 88 ff. Werk-Verlag,
D-8032 Gräfeling
3. J.Am.Med.Ass. 263 (1990), 402

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Група от активно-действащи вещества за възстановителна хемотерапия при вирусни инфекциозни заболявания получена чрез

I) Получаване на богати на полизахариди единици на лигнина (PLP) чрез:

Екстрахиране във водни среди в слабо кисела до алкална среда на дървесина или дървесни материали също и от (или) растителни клетъчни култура (A);

Отделяне на неразтворимите твърди съставни частици;

II) Получаване на нискомолекулни бедни на полизахариди лигноидни единици (LPL) чрез:

водно-алкално екстрахиране (pH 7-14) на дървесни и естествено овъглени растителни продукти или биоконвертирани дървесни материали (B);

Отделяне на алкално-неразтворимите твърди съставни частици;

III) Получаване на водоразтворим смесен полимеризат LD(PLP=LPL) с ниско молекулно тегло (LD) от продуктите от I) и II) чрез:

Взаимодействие на продукта от фаза I, на богати на полизахариди единици на лигнина (PLP) с продуктите от фаза II, бедните на полизахариди лигноидни единици (LPL) при водно-алкални условия (pH 8-14);

Изолиране на фракциите Low-Dalton на смесения продукт

LD(PLP=LPL) чрез ултрафилтрация при номинални стойности на разреза на делене от около 15 до 45 , при което ретентатът се изхвърля;

Обработване на разтвора с H^{+} - катионен обменник при pH 3 до 7,0 както и по-нататъшно преработване на киселия разтвор на групата от активно действащи вещества LD(LPL=PLP).

2. Група от активно-действащи вещества съгласно претенция 1, характеризираща се с това, че във фаза I) се получават богати на полизахаридиединици на лигнина HD (PLP) с по -малко от 100 кД, при което след екстрахиране във водни среди и отделяне на неразтворимите твърди частици рН-стойността се настройва от неутрална до слабо кисела;

извършва се молекулна филтрация , за предпочитане ултрафилтриране при подходяща стойност на разреза на деление от по-малко от 100 кД за предпочитане по-малко от 70 кД и ретентатът се изхвърля , като така получения разтвор от субстанции с нисък Далтон се преработва по-нататък във фаза III).

3. Група от активно-действащи вещества съгласно претенция 1 или 2 характеризираща се с това, че във фаза II ниско-молекулните , бедни на полизахариди лигноидни единици LD -LPL се получават с по-малко от около 40 кД, при което след водно-алкалното екстрахиране и отделянето на алкално-неразтворимите твърди съставни частици се извършва алкална обработка при рН-стойности над 8 и след това се извършва молекулно делене при номинален разрез на делене от 15 до 35 кД и така получения продукт с нисък Далтон се преработва по-нататък във фаза III).

4. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че в дадения случай след взаимодействието на богатите на полизахариди продукти то фаза I (PLP) с бедните на полизахариди фракции (LPL) се извършва отделяне на твърдите вещества и останалия разтвор се преработва по-нататък.

5. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че по-нататъшната

преработка на получения във фаза III кисел разтвор LD(LPL=PLP) на групата от активно-действащи вещества се извършва чрез филтриране на дребните частици и отстраняване на пирогена чрез филтриране и последваща стерилизация, както и в дадения случай конфекционирание.

6. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че подлежащите на екстрахиране дървоподобни материали от фаза I се избират от групата състояща се от :

A1: нативна дървесина

A2: дървесни аналози, като биотехнологично получавани дървесни субстанции чрез отглеждането на растителни клетъчни култури

A3: синтетични дървесни аналози съгласно представените от Фройденберг дехидриращи полимеризати (DHP) от моно-и/или дилигноли и добавяне на капки от DHP върху полизахаридите;

A4: Лигнинови полизахаридни комплекси, получавани чрез алкално екстрахиране на хлорит-дървесната целулоза);

както и смеси на същите (A1, A2, A3, A4).

7. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че използвания във фаза II) растителен изходен материал се избира от групата състояща се от :

B1: нативни продукти на естествено овъглените растения

B2: получени чрез бигнолитични активни микроорганизми, гнилостни гъби, биоконвертирана дървесина

B3: чрез въздействието на изолирани лигнолитични ензими (като феноксидаза) биоконвертируема дървесина, или техните смеси (B1, B2, B3)■

8. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че основите могат да бъдат КОН, NaOH, LiOH и амоняк.

9. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че получените във фаза I богати на полизахариди единици на лигнина (PLP) са в концентрация от 0,05 - 10 тегловни %; за предпочитане около 2 тегловни % и особено за предпочитане около 0,1 тегловни %.

10. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че получавания във фаза I богат на полизахариди продукт PLP екстрахира при рН-стойност около 12-14, за предпочитане в КОН над 1-10 дена при стайна температура (20°C).

11. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че богатият на полизахариди екстракционен продукт PLP се получава чрез екстрахиране при температура повишена до 120°C, при което при температури над 100°C се работи в автоклав.

12. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че дървесните продукти и продуктите от естественото овъгляване на растенията се избират от групата състояща се от лигнити, цветни въглища и кафяви въглища.

13. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че алкалното екстрахиране във фаза II се извършва с 0.1-0,8 М КОН при стайна температура, за предпочитане с 0,4 М КОН.

14. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че алкалното автофраг-

ментиране се извършва в продължение на 7 до 10 дни при рН 11 (КОН) при стайна температура.

15. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че взаимодействието до продукта PLP=LPL във фаза III се извършва при температура между стайната температура и 120°C и при рН-стойност 8-14, за предпочитане 10-12.

16. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че продуктът от фаза III LD(PLP=LPL) се подлага на молекулно деление при стайна температура за получаването на Low Dalton- фракция, за предпочитане на ултрафилтрация с ниско налягане през алкално-устойчивите ултрафилтрационни мембрани с номинален разрез на деление 18-38 кД.

17. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че LD -продуктът на фаза III LD(PLP=LPL) се подлага на обмен на алкалните иони чрез катионен обменник от изкуствена смола във водородна форма до постигането на стабилна рН-стойност в границите между 4 до 6,8, за предпочитане 5 - 6.

18. Група от активно-действащи вещества, съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че киселия продукт от фаза III LD(PLP=LPL) след обработката в катионния обменник се освобождава от пирогена чрез филтриране и впоследствие се стерилизира чрез обработка в автоклави, напр. при 121°C над 14 минути.

19. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че водния разтвор на продукта от взаимодействието във фаза III, на групата от ак-

тивни вещества LD (PLP=LPL) се преработва по известен начин в дадения случай с помощни средства до течлива фармацевтична заготовка.

20. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции, характеризираща се с това, че водния разтвор на групата от активни вещества LD (PLP = LPL) се преработва по известен начин до ампули за инжектиране.

21. Група от активно-действащи вещества съгласно една от предходните претенции за борба с вирусни инфекции.

22. Група от активно-действащи вещества съгласно претенция 21, характеризираща се с това, че тя е приложима парентерално или локално.

23. Група от активно-действащи вещества, съгласно претенция 21 за борба са ретровируси, по специално от типа HIV, както и AIDS-вируси.

24. Група от активно-действащи вещества съгласно една от претенциите 21 и 23 , характеризираща се с това, че показва хелатизирани Pt, Au, Pd.