

P 9500409

34066

Immunmoduláns hatású biológiailag aktív anyag, eljárás előállítására és ilyen anyagot tartalmazó gyógyászati készítmény

Nyikolajenko Alexandr Nyikolajevics, Kijev, Ukrajna

A nemzetközi bejelentés napja: 1993. 07. 20.

Elsőbbsége: 1992. 07. 21. (5063048) UA

1992. 12. 17. (93030289) UA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/UA93/00004

A nemzetközi közzététel száma: WO

K I V O N A T

A találmány tárgya immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, homogenizált állati szövet sejtmembrán-komponensek (SMK) szerves vegyületeiből nyert biológiailag aktív anyag, amely termostabil, kismolekulájú, módosított, az embriogenezis és/vagy a proliferáció és/vagy a sejtszétválasztás és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azokat követő folyamatok alatt módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

A találmány vonatkozik az anyag előállítására szolgáló eljárásra, az anyagot tartalmazó gyógyászati készítményre és annak alkalmazására is.

pg500k09

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



Képviselő:
DANUBIA Kft.

"A"

Immunmoduláns hatású biológiailag aktív anyag, eljárás
előállítására és ilyen anyagot tartalmazó gyógyászati
készítmény

Nyikolajenko Alexandr Nyikolajevics^{ch}, Kijev, Ukrajna

Feltalálók:

Nyikolajenko A.N.,

~~Soroh, D.B., és~~

~~Sevcenko A.A.~~

A nemzetközi bejelentés napja: 1993. 07. 20.

Elsőbbsége: 1992. 07. 21. ⁵⁰⁵⁵⁵⁴⁹ (5063048) UA

1992. 12. 17. (93030289) UA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/UA93/00004

A nemzetközi közzététel száma: WO 94/02105

81073-8516 BÉ/Pk

Immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyag, az anyag előállításának eljárása, az anyag alapján nyert készítmény, valamint az emberi és állati szervezet élettani állapotának a készítmény alkalmazásával való rendezése

A találmány műszaki ágazata

A találmánycsoport a gyógyszervegyészeti iparághoz tartozik, mégpedig az immunmoduláló hatással rendelkező biológiailag aktív anyagok előállításának ágazatához, amelyeket az orvos- és állatorvostanban az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez alkalmaznak, konkrétan a szervek és szövetek funkcionális aktivitásának rendezéséhez.

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag az állati eredetű anyagokhoz tartozik és szerves vegyületeket foglal magába.

Az emberi és állati szervezetben fellépő különböző patológiai zavarok eltéréseket okoznak az élettani állapot normális paramétereiben. Ilyen esetekben a szervezetre gyakorolt gyógyító hatás, beleértve a kórmegelőző hatást is, a stabilizációban nyilvánul meg, vagyis az időzett paraméterek normában való fenntartásában /ha azok eltérnek a normától/, vagy a szervezetre gyakorolt olyan hatásban, amely által a paraméterek rendeződnek.

A találmánycsoport a biológiailag aktív anyagra vonatkozik, az anyag előállításának eljárására, és az anyag alapján előállított készítményre, amelyet a szervezet élettani állapotának rendezéséhez használnak.

A találmányt megelőző műszaki szint

Az emberi illetve állati szervezet élettani állapotának rendezését két irányban lehet megvalósítani: először a patológiára gyakorolt közvetlen hatással, és másodszor a szervezet homeosztázis paramétereinek rendezéséért felelős rendszereire, szerveire és szöveteire gyakorolt közvetített hatással.

A hormonális készítmények, mediátorok, növekedési tényezők beadagolása, a kemoterápia és hasonló eszközök biztosítják a cel-

sejtekre gyakorolt közvetlen hatást. Pl. a cukorbetegség kezelésénél inszulint adnak be, amely pótolja a hasnyálmirigy funkcionális fogyatékosságát; az idegrendszer funkcionális aktivitásának zavaránál neuromediatorokat adnak be, amelyek elősegítik a neuronok küszöbérzékenységének rendezését és ennek megfelelően az idegimpulzusok továbbítását; a szervezet immunrendszere funkcionális zavara esetén immunválaszt korreláló immunmediátorokat használnak, és így tovább.

A szervezetre gyakorolt közvetített hatással a betegségek gyógyítását a szervezet belső erőforrásainak mozgósításával biztosítják. Így, a szervek és szövetek regenerációjával, az azok rehabilitációjával vagy működésük helyreállításával kapcsolatos folyamatoknál, valamint a gyulladásos és fertőzőes folyamatoknál a szervezet immunrendszerét serkentik. Ennek köszönhetően biztosítva van a szervezet immunállapotának, és ennek következményében a szervezet általános állapotának javulása.

Ismert olyan, a magzati szövet alapján nyert, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyag, amely helyreállítja a szervezet élettani állapotát és a sejtsejtét szabályozza /FR-A-2413912/. Az említett biológiailag aktív anyagot a továbbiakban: BAA a magzathoz elkülönített, felaprított és homogenizált állati szövet ingredienseiből készítik, összekeverve azt a fiziológiai savóval.

Annak köszönhetően, hogy az adott anyag összetételében immunmoduláló tényező található, az anyag viszonylag magas immunmoduláló tulajdonsággal rendelkezik, és ennek felhasználása biztosítja a szervezet élettani állapotának rendezését, beleértve a gyógykezelést is, az állataállomány-hozam 5-15 %-al való növelését a kontrollcsoportéhoz képest.

Az ismert BAA hatásosága mégsem elegendő, annak következtében, hogy az immunmoduláló tényezők mellett az anyagban immundepresszánsok is találhatóak, amelyek gátolják az immunmoduláló hatás teljes megnyilvánulását. Az említett anyag immunmoduláló tulajdonsága lényegében egy összefoglaló eredmény, amely az anyagban jelenlévő immunitást serkentő tényezők és a depresszánsok egyidejű jelenléte által van biztosítva. Tehát, az ismert BAA tényleges

különleges aktivitása, amely az immunserkentő tényezők és depresszánsok koncentrációjának arányától függ, alacsony a jelentős depresszánskoncentráció következtében.

Az említett BAA másik hiányossága az anyag összetételében megnyilvánuló nagymolekulájú vegyületek fokozott tartalma, amelyek immunitást kiváltó hatásuk és ez mellékhatásos immunreakcióhoz vezet /allergia, lasított típusú hiperérzékenység, stb./.

A fent említett BAA hiányosságai nagy mértékben az anyag előállításának eljárásától függenek, amelyben a technológiai folyamat az állati szövetből nyert alapanyag felapritása és homogenizálása műveletével fejeződik be, és ez ahhoz vezet, hogy az anyag összetételében állandóan jelentős mennyiségű depresszáns és nagymolekulájú vegyület van jelen.

Ismert olyan, a szervezet élettani állapotának rendezéséhez, beleértve a sérült testrészek gyógyítását is, használt, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező BAA az állati származású aprított alapanyag ingrediensei, amelyeket előnyösen a hi nem fejlett állatokból nyerik ki, hidrolizátum alapján, az anyag előállításának eljárása és a sérült testrészek gyógyításához való alkalmazása /US-1-4455502/. Az anyag a szövet hidrolízisnek eredményeként nyert oldható polipeptideket, aminosavakat és ásványi anyagokat tartalmaz.

Az adott anyag a szervezet élettani állapotát illetően nagy hatásossággal rendelkezik. Ez azzal magyarázható, hogy az ismert BAA az immunserkentő és immuninhibitor hatások nagy arányával jellemezhető, egyrészt a hidrolizátum jelenlete miatt az anyag összetételében lévő immunserkentő tényezők fokozottabb tartalma következtében, másrészt pedig a nagymolekulájú vegyületek mennyiségének jelentős csökkenése miatt a hidrolízis folyamata alatt.

De az idézett BAA hatásossága mégsem elegendő, ez az összetételében lévő viszonylag nagy mennyiségű ballasztanyag- és immun-depresszáns-tartalommal van kapcsolatban. Azonkívül az ismert BAA felhasználása mellékhatásokat is idézhet /allergia, stb./ annak következtében, hogy összetételében nagymolekulájú vegyületek vannak jelen, amelyeknek immunitást kiváltó hatásuk van, és amelyek 10,0 kDa értéknél nagyobb molekuláris tömeggel rendelkeznek.

Az ismert BAA hiányosságához tartozik az is, hogy a megnyert céltermék összetétele nem állandó és tételenként ingadozik, ennek következtében a BAA szabványosítása nehézségekbe ütközik.

Az ismert BAA tulajdonságai, elsősorban az anyag az anyag immunmoduláló aktivitása, közvetlen összefüggésben vannak az anyag előállításának eljárásával, amely magába foglalja az állati származásu, kimosott és felaprított alapanyag ingredienseinek hidrolizisét, a hidrolizátum centrifugálását, szűrését és a céltermék elkülönböztetését, miközben a hidrolizist pH=3,6-6,5 értékű hígított, gyenge szervessav-oldatban, kb. 68° C hőmérsékleten hajtják végre és alapanyagként a ki nem fejlett, legfeljebb 9-hetes szarvasok lábait használják.

A célterméket por vagy gel formában nyerik meg, és azt ráviszik a sérült testrészekre.

Az, hogy alapanyagként viszonylag nagy mennyiségű immundepresszánt tartalmazó állati szövetet használnak, valamint hogy a céltermék összetételének minőségét az ismert eljárásnál használt műveletek segítségével megjavítani lehetetlen, lényegesen csökkenti a nyert BAA hatásosságát.

Figyelembe kell venni, hogy a szövetkészítményekben lévő kivonatkomponensek nagy mértékben serkentik a szervek és szövetek funkcionális aktivitását, és azok hatása főleg egyirányú, vagyis a BAA hatása csak az anyag szervezetben lévő koncentrációjától függ és független a szervezet élettani státusától. Ez megköveteli az ismert BAA-n alapuló gyógyszer kezelés közbeni adagolásának szigorú betartását.

Az említett hiányosságok részben ki vannak küszöbölve az ismert BAA-gokban, amelyek hatása korrelálva van a szervezet státusával és a szervezet állapotának rendezésénél az ilyen BAA hatása megszűnik, vagyis a kétoldali összefüggés hatása jelentkezik. Ezért az állatszöveti sejtmembrán -komponensek alapján nyert ismert BAA-gok iránt, amelyek képesek reagálni a szervezet homeosztázis-paramétereinek változására, nagy az érdeklődés /SU-A-1412596; EP-A-0106285; EP-A-0157427/.

Az ilyen, vakcina formában nyert készítményekkel bizonyos különleges patológiai folyamatoknál /mégpedig neoplázia folyamatoknál/ a sejtek felületén megjelenő antigéneket használják, és ezzel kapcsolatban a vakcina alkalmazása az e patológia eliminációjára irányul. Az említett, a BAA alapján nyert gyógyszerek hatásossága

Közvetlenül a szervezetben levő antigének mennyiségétől függ és a neoplázia eliminációjával megszűnik, ami az önszabályozó kétoldalu összefüggésre utal.

Az ismert gyógyszerek hiányossága abban nyilvánul meg, hogy azok nagy sajátosságot mutatnak az eredeti patológia iránt, vagyis hatásuknak nagyon szűk spektruma van és ennek következtében elvileg nem gyakorolhatnak széles spektrumu hatást a szervezet elettni állapota paramétereinek helyreállításánál /rendezésénél/.

A másik hiányosságuk az, hogy ezeket az oltóanyagokat csak a patológia eliminálására alkalmazzák és csak közvetett uton irányulnak az elettni állapot rendezésére. Azonkívül az is hiányosság, hogy az ismert BAA-gok nem aktiválják a regenerációs és redukciós folyamatokat. Az ilyen BAA-goknál fokozottak a nyert antigén tisztasága /homogenitása/ iránti követelmények a mellékhatások kiküszöbölése érdekében.

Az ismert BAA-gokat ismert eljárásokkal állítják elő, amelyeknek megfelelően az állati alapanyagot felaprítják és homogenizálják a homogen termékben levő állati szövet sejtmembránjai elkülönítésével, amelyekből a szalubizáció után a sejtmembrán-komponenseket glikoproteinek formájában nyerik meg /SU-A-1412596; LP-A-0106285; LP-A-0157427/.

Az ismert eljárás előnye, az, hogy lehetővé teszi a nagy különlegességgel rendelkező szénhidrátartalmu sejtmembránkomponensek elnyerését, amelyek képesek kiváltani a szervezet immunrendszere válaszreakcióját a különleges daganatu antigen jelenlétére.

Azonkívül az ismert eljárás előnye, hogy különleges lektinok segítségével lehetővé teszi a különleges sajátossággal rendelkező szénhidrátartalmu sejtmembrán-komponensek kiváltását, amelyek képesek kapcsolatokat létesíteni egy meghatározott szénhidrát végmaradványokkal.

De az ismert eljárás műveleteinek megvalósításánál a sejtmembránokat detergenssek segítségével szalubizáció hatása alá vetik szokásosan a nem ionos természetű detergenssek, pl. a Triton X-100 detergens segítségével, amelyektől nehéz megszabadulni az eljárás további műveletei alatt, és amelyek örmaguk is mellékhatásokat idéznek a készítmény klinikai alkalmazásánál.

Az ismert eljárás hiányosságához tartozik az is, hogy a készítmény előállítása viszonylag alacsony termelékenységgel rendelkezik és nagy munkaigényt követel, ami az alapanyagként használt különleges rákszövetek jelenlététől függ.

A találmány szerinti BAA-ot legjobban az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a szervezet élettani állapotának rendezéséhez használandó, a felapritott és homogenizált sejtmembrán-komponensek szerves vegyületei által képviselt BAA közelíti meg. /EP-A-0318030/.

A fent említett hasonló anyagokhoz képest az ismert gyógyszer még nagyobb hatásossággal rendelkezik, amely a killeraktivitás a kontrollhoz képest 62%-s fokozódásával jellemezhető a különleges daganatsejtek iránt. Ez azzal magyarázható hogy a BAA a rosszindulatú sejtek növekedésének jelzője és különleges hatást gyakorol az ilyen sejtek eliminációjára irányított killeraktivitásra.

Azonban az ismert BAA megőrzi a fent felsorolt, a hasonló anyagokra jellemző összes hiányosságot, mégpedig:

- az eredeti patológia /neoplázia/ iránti nagy sajátosságát, vagyis az e készítmény szűk spektrumu gyógyító hatását;
- csak a killeraktivitás jelenlétét;
- a mellékhatások fellelésének magas szintű veszélyét, amely azzal van kapcsolatban, hogy az ismert BAA nagymolekulájú vegyület

Mint a fent említett esetekben, az ismert BAA tulajdonságai elsősorban az anyag különleges aktivitása, közvetlen kapcsolatban vannak az anyag előállításának eljárásával, amely magába foglalja az állati alapanyag felapritását és homogenizálását, az ezt követő ultracentrifugálást és a sejtmembránokat tartalmazó homogenizálás termékéből való üledék elkülönítését, amelyből reszuszpendálás és szolubizáció után elnyerik a céltermékként használandó sejtmembrán komponenseket /EP-A-0318030/.

A BAA előállításának fent említett eljárásaihoz képest az ismert eljárás előnye az, hogy lehetővé teszi a még nagyobb különlegességgel rendelkező szénhidrát-tartalmú sejtmembrán-komponensek elnyerését, amelyek képesek kiváltani a szervezet immunrendszer válaszütemációját a különleges daganatú antigén jelenlétére.

Azonkívül az ismert eljárás előnye a szénhidrát-tartalmú komponensek hatásosabb kiváltásában nyilvánul meg.

Azonban az ismert eljárásnál jelen vannak a fent említett hiányosságok is, mégpedig:

- a detergenssek felhasználásának szüksége, amelyekből a továbbiakban nehéz megszabadulni és amelyek jelenléte negatív mellékhatásokat vált ki a készítmény klinikai alkalmazásánál;
- az ismert eljárás viszonylag alacsony termelékenységű és magas munkaigényű;
- az eredeti alapanyagban lévő különleges rákszövetektől való függés.

Ismert olyan, az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez való, a sejtmembrán-komponensek szerves vegyületei által képviselt gyógyszer /EP-A-0518030/. A készítményt a szervezetbe hosszabb időn keresztül adagolják be mindennapos intravénás vagy intramusculáris injekciók révén 0,001-1000 g adagban, amely a páciens életkorától, nemétől, betegségének szakaszától függ.

Intramusculáris bevitelnél töltőanyagként a nátrium-klorid fiziológiai oldatot vagy bufferoldatot használnak.

E készítmény fő hatóanyaga a különleges daganatu antigén által képviselt BAA, amely a szervezet immunreakcióját váltja ki. Az ilyen reakció fokozásához és a hatás prolongálásához az antigént a liposzómákba építik be. Intramusculáris injekciónál a készítmény töltőanyagai különböző adjuvánsok, amelyek főleg azokból az olajokból állnak, amelyekben a nyert BAA-t szuszpendálják.

Az ismert gyógyszer hiányossága az, hogy a gyógyszer a szervezet immunrendszerének nagyon különleges serkentését biztosítja, amely csak egy meghatározott patológia /konkrét fajta neoplázia/ megsemmisítésére irányul és a nagymolekulájú vegyületek jelenléte miatt egy egész sor mellékhatással jár együtt, amelyek zavarják a homeosztázis más paramétereit. Így, intramusculáris vagy bőr alatti beadagolásnál helyi gyulladás, intravénás beadagolásnál pedig általános gyulladás, valamint allergia, lasított típusú hiperérzékenység és más tünetek lépnek fel.

Ismert olyan, az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez való, az állati szövet sejtmembrán-komponensei szerves vegyületein alapuló biológiailag aktív anyagot és töltőanyagot tartalmazó készítmény, amelyet a sérült testrészekre rakják fel /US-A-4455302/.

Az ismert készítmény hiányossága az, hogy a szervezet immunrendszerének serkentése csak lokálisan, a gyógyszer sértült testrészekre való rátételével történik. Ezért a készítmény hatásossága viszonylag alacsony.

Az említett hiányosságok ki vannak küszöbölve egy hasonló, immunmoduláló hatással rendelkező, az állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez használandó készítménynél, amelyet a szervezetbe intramusculáris injekció révén 0,75-1,0 ml/1 kg testsúlyra 3 napos időközzel adagolják be, és így nem lokálisan használják.

Az e készítmény hiányossága az, hogy viszonylag alacsony hatásossággal rendelkezik a benne lévő immundepresszánsok miatt, valamint az, hogy alkalmazása mellékhatásokat vált ki a benne lévő immunitást idéző anyagok miatt, amelyek allergiát, lassított hiperérzékenységet, stb. okoznak.

Alapanyagként viszonylag nagymennyiségű immundepresszánsokat tartalmazó állati szövet felhasználása, valamint az a tény, hogy az ismert eljárásnál végrehajtott műveletekkel lehetetlen a gyógyszer előállításához használt BAA összetételét javítani, jelentősen csökkenti az ismert BAA és az anyag alapján előállított készítmény hatásosságát.

Az ismert készítmény lényeges hiányosságának tekinthető az is, hogy összetételében az elegendő hatásosság biztosításához nagymennyiségű különböző biológiailag aktív anyagokat tartalmaz, ami egyrészt a túladagolás veszélyét, mellékhatásokat idézhet elő, másrészt pedig növeli a készítmény költségeit.

Ismert az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez használandó eljárás, amelyet főleg a szervek és szövetek funkcionális elégtelensége által idézett betegségek esetén alkalmaznak, és amely előírja az állati szövet sejtmembrán-komponenseinek szerves vegyületei alapján nyert készítmény a szervezetbe való bevitelét /SU-A-904707/.

Az ismert eljárás alacsony hatásossággal rendelkezik a készítmény fent említett hiányosságai miatt, beleértve azt is, hogy alkalmazásánál nagy, 1 kg testsúlyra 10 mg biológiailag aktív anyagot tartalmazó adagok bevitelére van szükség, és ez együttjár a túladagolás, valamint a mellékhatások veszélyével.

A találmány feltárása

A fent említett hiányosságok ki vannak küszöbölve a találmány szerinti, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyagban, az anyag és az anyag alapján nyert készítmény előállításának eljárásában, valamint az anyag felhasználásának eljárásában a szervezet élettani állapotának rendezésénél.

Az ismert BAA-gok és azok előállításának ismert eljárásai, amelyek ismérveinek összesége meghatározza az adott ágazat műszaki szintjét, lehetővé tette megfogalmazni a széles spektrumu immunmoduláló hatással, nagyfoku hatásossággal rendelkező BAA létrehozásának feladatát, amelynél azonkívül ki vannak küszöbölve a fent említett, különböző mellékhatásokkal kapcsolatos, az ismert BAA-gok alkalmazásánál fellépő és allergia, stb. formában megnyilvánuló hiányosságok.

E feladat, amelyet az ismert találmányokban nem jutott megoldásra, megoldása a bejelentendő találmánycsoport alapja. A feladat abban áll, hogy az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező és a szervezet élettani állapotának rendezéséhez használandó, beleértve a szervek és szövetek funkcionális aktivitásának helyreállítását is, a homogenizált állati szövet sejtmembrán-komponensei szerves vegyületei által képviselt BAA termostabil, kismolekulájú, antigén szerkezettel rendelkező módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz, amelyek az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamat alatt lettek módosítva.

Emellett a találmány szerinti BAA a módosított sejtmembrán-komponenseket $T_m \leq 120^\circ \text{C}$ -nál termostabil komponenseként, valamint kismolekulájú $M=0,3-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponenseként és szénhidrát-tartalmu komponenseként tartalmazhatja.

A találmány szerinti anyag a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalekban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-60,0
Aminosavak	0,5-35,5
Szénhidrátok	16,0-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5-17,0

A találmány szerinti BAA a szerves vegyületek összetételében a szénhidrátokat a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

- nagymolekulájú, $M_{TH} > 10,0$ kDa molekuláris
tömegű vegyületek 3,0
- kismolekulájú, $M_{TH} = 0,8-10,0$ kDa moleku-
lális tömegű vegyületek 11,5-57,9
- szabad monomerek, $M < 0,8$ kDa 3,5-17,0

A találmány szerinti BAA-ban a $M_{TH} = 0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű szerves vegyületek összetételében a szénhidrátok és peptidok tömegtartalmának aránya $G = 0,6-2,0$ között van.

Azonkívül a találmány szerinti BAA a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	40,0-60,0
Aminosavak	12,9-17,1
Szénhidrátok	16,0-52,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	4,4-10,6

Azonkívül a találmány szerinti BAA a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	34,0-50,1
Aminosavak	16,6-22,6
Szénhidrátok	22,7-34,2
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,4-10,6

Azonkívül a találmány szerinti BAA a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-33,6
Aminosavak	16,5-31,5
Szénhidrátok	26,9-37,9
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	8,6-17,0

Azonkívül a találmány szerinti BAA a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	29,0-36,3
Aminosavak	0,5-nél kevesebb
Szénhidrátok	57,7-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5- 5,5

A találmányban kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező BAA előállításának eljárásánál, amelynél az állati szövetből nyert alapanyagot felapritják és homogenizálják, és a homogenizálás termékéből elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyből a reszuszpendálás után sejtmembrán-komponenseket nyernek, alapanyagként az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamat alatt módosított állati szövetet használnak, amely homogenizálásának termékét szűrés és/vagy 150-250 g gyorsulással történő, 10-15 percig tartó centrifugálással megtisztítják a le nem roncsolt szövetelemektől és elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyet hidrolízis hatása alá vetik, a hidrolizátumot megszürik és/vagy 1500 g gyorsulással 20-40 percig centrifugálják a hidrolizátumból való céltermékként sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatans elkülönítésével.

Alapanyagként a következő sorból kiválasztandó szöveteket használják: embrionális szövet, a tymusz differenciált timocita-szövetét, a herék spermatogónáit és spermatoцитáit, a placentáris szövetet, az epiteális belsőszövetet, a csontvelő sejteket, a regeneráló bőrszövetet, a regeneráló májszövetet, a kételtűek regeneráló végtagjainak szövetét, a patológiailag elváltozott, a regenerációs szakasz előtt levasztott szövetet.

Emellett a sejtmembránokat tartalmazó üledéket 1500-9000 g gyorsulással centrifugálás és/vagy a pórusok $F < 1 \mu m$ jellegzetes mérettel rendelkező szűrőn való szűrése után elkülönítik a homogenizálás megtisztított termékétől és az utána következő reszuszpendálás és ismételt centrifugálás és/vagy szűrés útján történő kimosással olyan üledéket nyernek, amelyben a sejtmembrán-tartalom legalább 60 tömegszázalék az üledékben képviselt szerves vegyületekhez képest.

Azonkívül a sejtmembránokat tartalmazó üledéket a hidrolízis előtt kiegészítően 20000-100000 g gyorsulással 1-2 óra alatt sűrűségi gradiensben centrifugálják a plazmás sejtmembránok elkülönítésével.

A hidrolízist $T_p = 4-45^\circ C$ hőmérsékleten hajtják végre. Emellett azt tartósítószer jelenlétében is végre lehet hajtani.

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátumot $T_H=60-120^{\circ}C$ hőmérsékleten hőkezelik a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig és kiegészítő szűréssel és/vagy 1500 g gyorsulása, 20-40 percig tartó centrifugálással céltermékként elkülönítik a termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatansot.

Azonkívül a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatant és hidrolizátumot féláteresztő filmen keresztül történő dialízis és/vagy ultraszűrés, és/vagy gélszűrés segítségével frakcionálják a kismolekulájú, $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

A hidrolizátum sejtmembrán-komponenseket tartalmazó kismolekulájú frakcióját a lektinek bevonásával affín kromatográfia hatása alá vetik a céltermékként szénhidrát tartalmu komponenseket tartalmazó frakció elkülönítésével.

A találmányban kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez való, az állati szövet sejtmembrán-komponensei szerves vegyületei által képviselt biológiailag aktív anyagot és töltőanyagot tartalmazó ismert készítmény összetételében biológiailag aktív anyag minőségében termostabil, kismolekulájú, antigén szerkezetű módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz, amelyek az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamat során lettek módosítva, és a biológiailag aktív anyag tartalma a készítményben 0,001-85,0 tömegszázalék, a többi töltőanyag.

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a készítményben lévő biológiailag aktív anyag a módosított sejtmembrán-komponensek összetételében a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-60,0
Aminosavak	0,5-31,5
Szénhidrátok	16,0-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5-17,0

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	40,0-60,0
Aminosavak	12,9-17,1
Szénhidrátok	16,0-32,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	4,4-10,6

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett arányban tartalmazza:

Peptidek	34,0-50,1
Aminosavak	16,6-22,6
Szénhidrátok	22,7-34,2
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,4-10,6

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-35,6
Aminosavak	16,5-31,5
Szénhidrátok	26,9-37,9
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	8,6-17,0

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmazza:

Peptidek	29,0-36,3
Aminosavak	0,5-nél kevesebb
Szénhidrátok	57,7-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5- 5,5

Töltőanyagként a készítmény nátrium-klorid fiziológiai oldatot és/vagy sós pufferoldatot, és/vagy szénhidrát-vegyületeket, és/vagy ásványi, állati, növényi vagy szintetikus eredetű olajok vagy azok keverékét tartalmazhatja.

A készítmény kiegészítően tartósítószerrel is tartalmazhat.

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az ismert, az ember és az állatok élettani állapotának rendezéséhez használt eljárásnál az olyan, főleg a szervek és szövetek funkcionális elégtelensége miatt idézett betegségeknél, amelyeknél előírják az

allati szövet sejtmembrán-komponenseinek szerves vegyületei alapján nyert készítmény a szervezetbe való bevitelét, készítményként 0,001-85,0 tömegszázalék biológiailag aktív anyagot és 15,0-99,999 tömegszázalék töltőanyagot tartalmazó kompozíciót használnak, és az ilyen biológiailag aktív anyag összetételében antigén szerkezetű módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz, amelyek az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamat alatt lettek módosítva, és a készítmény szervezetbe való bevitelét az említett szer 0,005-0,5 mg/I kg testsúlyra adagu intramusculáris, 1-7 nap időközzel beadott injekciók, és/vagy 0,012-0,12 mg/I kg testsúlyra adagu, 4-48 óra időközzel alkalmazott inhalációk, és/vagy 0,012-0,12 mg/I kg testsúlyra adagu 4-48 óra időközzel alkalmazott szublingvális bevitel, és/vagy 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagu 1-10 nap időközzel alkalmazott feltáplálás, és/vagy 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagu, 1-10 nap időközzel interalisan alkalmazott tabletták, és/vagy napi 0,001-0,05 mg/I kg testsúlyra adagu, 2-24 óra időközzel alkalmazott intranazális bevitel, és/vagy 1-10 nap időközzel a nyalkamártás vagy sérült felületre alkalmazott borogatás, kup, hintópor, kenőcs és gél formájában valósítják meg, az élettani állapot paramétereinek rendezéséig.

Emellett az ember és az állatok élettani állapotának rendezését az immunrendszer serkentése által valósítják meg, főleg a retikulendoteliális rendszer, a T- és B-rendszer, a neutrofilok és/vagy a természetes killernépeség aktiválása révén.

Meg van állapítva, hogy a találmány szerinti és a találmány szerinti eljárás szerint nyert BAA hatásossága az anyag magas biológiai aktivitásában nyilvánul meg, és elsősorban az anyag fokozott immunmoduláló hatásában /tulajdonságában/.

Az ismert és a találmány szerinti BAA-gok összehasonlító elemzése azt mutatja, hogy ha a fent említett ismert BAA-gok csak szűk irányú immunmoduláló hatással rendelkeznek, amely általános biológiai hatásossága nem elegendő, és negatív mellékhatásokat váltanak ki, és alkalmazásuknál pontos adagolást követelnek, ugyanakkor a találmány szerinti BAA széles spektrumu hatással, nagy hatásossággal rendelkezik, nem kritikus a tuladagoláshoz és mellékhatásokat sem vált ki.

Kísérletileg meg van állapítva, hogy a találmány szerinti, a találmány szerinti eljárás szerint nyert BAA gyakorlati hatás-

ssága az anyag magas biológiai aktivitásában nyilvánul meg, és elsősorban az anyag fokozott immunmoduláló és regeneráló hatásában /tulajdonságában/, ami az anyag a szervezetbe való bevitelénél biztosítja:

a. a regenerációs folyamatok fokozott serkentését, olyanokat, mint a hepatitnál a májszövet funkcionális aktivitásának helyreállítását és a máj hepatektomia utáni felújulását, a fekélyek, sebek és a bőrreteg gyógyulását sérülések vagy sebesülések esetén, a vérképlet helyreállítását vérveszteségnél és más esetben;

b. heves respirátoros betegségek, valamint gyulladásos folyamatok /tüdőgyulladás, emlőgyulladás, endometrit, stb./ esetén a gyógyító hatás megnyilvánulását;

c. az állatok fertőzőes betegségeinek /parainfluenza, stb./ gyógyítását, amelynél a szarvasmarha növendékállatok átlagos 38 %-os gyógyulását lehet megfigyelni, ugyanakkor az ismert BAA-gok alkalmazásánál ugyan olyan feltételek mellett a gyógyulás átlagosan legfeljebb 70 % volt, spontán kontroll gyógyításkor pedig 58-67 %;

d. az állatok a fertőzőes betegségek iránti fokozott ellenálló-képességét, és ennek következményében az állatállomány elhullásának csökkenését;

e. az állatok általános biológiai állapotának javulását, ami kedvezően hat az állatállomány hozamának növelésére.

A találmány szerinti BAA alkalmazása igazolta azt, hogy az anyag nem toxikus és mellékhatásokat /allergiát, lasított típusú hiperérzékenységet, stb./ nem vált ki.

Az említett eredményeket a találmány szerinti BAA különleges tulajdonságainak köszönhetően érték el, amelyek megnyilvánulását az anyag összetételében lévő, a módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponensekből kiváltott módosított komponensek biztosítják. Meg kell jegyezni, hogy a szövetsejtek fiziológiai státusának megváltozása a sejtmembránok szerkezetének antigén módosításában jut kifejezésre, amely együtt jár a sejtmembrán-komponensek módosításával és a szövet immunitást kiváltó tulajdonságának megváltozásával, és így a szervezet immunrendszerének reakciójával.

A sejtmembránok antigén szerkezete ilyen módosításának foka és az immunrendszer ennek megfelelő reakciójának foka a szövetsejtek fiziológiai státusa megváltozásának fokától függ.

Meg van állapítva, hogy a sejtmembránok, és elsősorban a plaz

matikus sejtmembránok módosított antigén szerkezete immunitást kiváltó tulajdonságának fokozását az állati szövetek a fent említett embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia folyamat szakaszán biztosítják, amelyek megelőzték és/vagy követik a szövet regenerációját és/vagy reparációját.

Az ilyen szövetek, pl. a következők:

- a tymusz differenciálódó timocitái /a sejtszétválasztás folyamata/;

- a herék spermatogóniái és spermatoцитái, a csontvelősejtek, az epithelialis belső szövet /a proliferáció és a sejtszétválasztás folyamata/;

- az embrionális, placentáris szövet /a proliferáció, sejtszétválasztás, embriogenezis folyamata/;

- a kételtűek végtagjainak regeneráló szöveve, a patkányok részleges hepatektomia vagy szén-tetraklorid / CCl_4 / hatása utáni regeneráló mája, a regeneráló bőrszövet, valamint a patológiát tartalmazó szövet, pl. gangrénánál, vegyi vagy termikus sérülésnél /a fent említett folyamatok különböző kombinációja/.

Az említett állati szövetek alapanyagként való felhasználása a találmány szerinti eljárásnál biztosítja a vast tulajdonságokkal rendelkező BAA előállítását.

Ugyancsak meg van állapítva, hogy a felsorolt szövetek jellegzetes sajátosságához tartozik a sejtmembránok immunitást kiváltó szerkezetének megváltozása, amely együtt jár a szövet sejtmembrán-komponenseinek módosításával, és lehetővé teszi azok elkülönítését a felnőtt egyedek intakt vagy nyugvó szövetsejtjeitől. Az említett szövetek sejtmembrán-komponenseinek e sajátossága lehetővé teszi azok felhasználását a találmány szerinti BAA-ban, amely az emberi vagy állati szervezetbe való bevitelénél biztosítva van a a szervezet patológiára irányított válaszreakciója serkentésének lehetősége. Ebben a folyamatban a szervezet immunrendszerének kulcsszerepe van.

Az említett szövetekben lezajló, fent felsorolt folyamatoknál és/vagy a normától való eltéréseknél, az információk anyagi hordozójaként a különleges sejtmembrán-komponensek lépnek fel. A találmány szerinti BAA módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponenseket tartalmaz, amelyek használatánál biztosítja a szervezet fent említett válaszreakciójának serkentését.

A szervezet válaszreakciója jelentősen fokozódik a találmány szerinti BAA bevitele után, amely összetételében a módosított sejtmembrán-komponenseket termostabil, vagyis $T_m \leq 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten is stabil, kismolekulájú, vagyis $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek formájában, valamint szénhidrát-tartalmú sejtmembrán-komponensek formájában tartalmazza, főleg glikopeptidek, glikolipidek, oliszénhidrátok, nukleotidok és/vagy szabad mono-szenhidrátok formájában.

Emellett, a sejtmembrán-komponensek magas statikus és dinamikus koncentrációjának köszönhetően, a találmány szerinti BAA-ban csökken az immuninhibitorok és ballaszt vegyületek tartalma, és ezzel kapcsolatban a BAA nagy különleges aktivitása mellett gyakorlatilag nem mutat mellékhatásokat.

A találmány szerinti BAA-ot hatóanyagként használják olyan készítményekben, amelyekben rendeltetésektől függően különböző töltőanyagokat használnak.

Emellett egy nem nyilvánvaló összefüggés lett feltárva a készítmény hatásossága és a BAA összetétele között. Ez lehetővé tette, hogy a készítményben jelentősen csökkentsek a hatóanyag tartalmát a készítmény szükséges hatásosságának megőrzésével, és ezzel meg lehet előzni a tulajdolás lehetőségét, a mellékhatások megnyilvánulását, valamint jelentősen csökken a készítmény ára.

Azonkívül fel lett fedezve, hogy a készítmény fent említett új tulajdonságai lehetővé teszik a készítmény felhasználását a szervezet élettani állapotának rendezésénél, annak a szervezetbe való bevitelével bármilyen, 0,001-től néhány gramm/1 kg testsúlyra adagban.

Az említett tulajdonságokat a továbbiakban a találmány konkrét megvalósításának példáin mutatjuk be, mégpedig a 9., 11., 17., 24., 27.-33. sz. és más példáin.

A fent említett eljárásnál az új készítmény együttes tényezői felhasználásának, a készítmény konkrét adagolásának, bevitele oszthatóságának, valamint az emberi és állati szervezetbe való beviteli módszerének köszönhetően biztosítva van az olyan betegségek gyógyítása, amelyek főleg a szervek és szövetek funkcionális elégtelensége által vannak kiváltva, amit az alábbiakban a találmány konkrét felhasználásának példáin, mégpedig a 13., 16.-18., 20., 21., 23., 24., 31., 32. sz. és más példákon mutatjuk be.

Belső alkalmazásra a készítményt injekciós formában rendelik és töltőanyagként nátrium-klorid fiziológiai oldatot vagy sós pufferoldatot használnak.

Külsőleges alkalmazásra a felsorolt oldatokon kívül töltőanyagként a gélek alkotókomponenseit is fel lehet használni: állati és növényi ... származású szénhidrát vegyületeket, pl. mézt, növénynedvet vagy növényhust, stb., vagy kenőcsöket: ásványi, állati, növényi vagy szintetikus olajokat vagy azok keverékét.

A rajzok rövid leírása

A rajzon vázlatosan ki vannak mutatva a találmány szerinti BAA hatásosságának hőmérsékelt-ido függvénygörbéi a sejtmembránt tartalmazó üledék hidrolizálásának folyamata alatt.

A találmánycsoport megvalósításának változatai

A találmánynak megfelelően az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a szervezet élettani állapotának rendezéséhez való biológiailag aktív anyagot következőképpen nyerik meg.

Alapanyagként az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamat alatt módosított állati szövetet használnak. Az említett állati szövetet kimossák és felapritják, ezután a fiziológiai vagy a pufferoldatban homogenizálják a sejtek teljes leromcsolódásáig, és a homogenizált keveréket szűrés és/vagy 150-250 g gyorsulással, 10-15 percig tartó centrifugálással megtisztítják a szövet le nem romcsolt elemeitől. A homogenizálás megtisztított termékéből 1500-90000 g gyorsulással végrehajtott centrifugálás és/vagy a pórusok jellegzetes, $F \leq 1 \mu m$ mérettel rendelkező szűrőn való szűrés útján elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyet hidrolizis hatása alá vetik, a hidrolizátumot megsűrítik és/vagy 1500 g gyorsulással 20-40 perc alatt centrifugálják a hidrolizátumból való, sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatans céltermékként való elkülönítésével a szervezet élettani állapotának rendezéséhez, mégpedig külsőleges alkalmazáshoz /inhalációk, borogatások, intranazálisan, kenőcsök összetételében, stb./.

A céltermék hatásossága a benne lévő módosított sejtmembrán-komponensek tartalmától függ. Azok tartalmának fokozását a szövetekben lezajló módosító folyamatok fokozott intenzitásával és az alapanyag megmunkálási eljárása optimális feltételeinek kiválasztásával érik el.

Az állati szövetből való alapanyag kiválasztása az anyagban lezajló, a sejtmembrán-szerkezetek antigén módosító folyamatának intenzitásától függ, amely együtt jár a sejtmembrán-komponensek módosításával és a szövet immunitást kiváltó tulajdonságának megváltozásával.

Meg van állapítva, hogy a módosított sejtmembrán-szerkezetek antigén szerkezetének, elsősorban az állati szövetekben lévő plazmatikus sejtmembránok immunitást kiváltó tulajdonságának fokozása fokozása a bennük lezajló embriogenezis és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a proliferáció, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamatok által van biztosítva.

Az ilyen állati szövet minőségében a következőket használják:

- a tymusz differenciálódó timocitáit /a sejtszétválasztás folyamata/;
- a herék spermatogónáit és spermatocitáit, a csontvelő sejteket, az epiteliális belsőszövetet /a proliferáció és sejtszétválasztás folyamata/;
- az embrionális szövetet, placentáris szövetet /a proliferáció, sejtszétválasztás, embriogenezis folyamata/;
- a kételtűek regeneráló végtagjainak szövetét, a részleges hepatektomia utáni vagy szén-tetrakloriddal / CCl_4 / megtámadott regeneráló patkánymáj szövetét, a regeneráló bőrszövetet, valamint a patológiával rendelkező szövetet, pl. gangrénánál, vegyi vagy termikus sérülésnél /a fent említett folyamatok különböző kombinációja/.

A fent említett állati szövetek alapanyagként való felhasználása a találmány szerinti eljárásnál biztosítja a várható tulajdonságokkal rendelkező biológiailag aktív anyag elnyerését.

Meg van állapítva, hogy a felsorolt szövetfélék jellegzetes sajátosságához tartozik a sejtmembránok antigén szerkezetének megváltozása, amely együtt jár a szövet sejtmembrán-komponenseinek módosításával, és lehetővé teszi azok elválasztását a szövet felnőtt egyedei intakt vagy nyugvó sejtjeitől. Az említett szövetek e sajátossága lehetővé teszi a szövet felhasználását a találmány szerinti BAA-ban, amely az emberi vagy állati szervezetbe való bevitelle biztosítja a szervezet különleges válaszreakciójának serkentését a szervezet saját patológiájára. Ebben a folyamatban kulcs szerepe van a szervezet immunrendszerének.

Előnyösebb felhasználni a módosító folyamat inkrement szakaszán vett állati szövetet. Ezt a szakaszt empirikusan határozzák meg az immunitást kiváltó tulajdonság változásának jellege szerint. Így, az embrionális szövet felhasználása esetén ez a szakasz az embriogenezis első felével egyenlő. A regeneráló patkánymájt a részleges hepatektomia utáni 4-12-ig órában használják, a kételtüek regeneráló végtagjainak felhasználása esetén-a blasztomaképződés szakaszán.

A találmány szerinti anyag elnyeréséhez az említett szövetek mindegyikét az előzetes, husdara állapotig tartó felapritás után egy homogenizáló készülékben háromszoros volumenu fiziológiai oldatban homogenizálják a sejtek teljes leroncsolásáig és a homogén massa elnyeréséig. A homogén termeket megtisztítják a le nem roncsolt szövetelemektől és az egész sejtektől szűréssel és/vagy 150-250 g gyorsulásu, 10-15 percig tartó centrifugálással, és az így megtisztított termékből elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyet hidrolízis hatása alá vetik.

A le nem roncsolt szövetelemektől való megtisztítást 150-250 g gyorsulásu, 10-15 percig tartó centrifugálással hajtják végre, ez azzal magyarázható, hogy magasabb értékű gyorsulásnál és a folyamat hosszabb időtartama alatt a sejtmembránok leülepednek, a 150 g értéknél kisebb gyorsulásnál pedig a tisztítás nem hatásos.

A le nem roncsolt elemektől való megtisztítást nagypórusú szűrőn is meg lehet valósítani, pl. néhány gézrétegen, pamutszöveten vagy kapronhálón keresztül.

A sejtmembránokat tartalmazó üledéket a megtisztított homogén termékből 1500-90000 g gyorsulásu, 20-60 percig tartó centrifugálással és/vagy szűréssel különítik el.

A gyorsulási sáv kiválasztását a szükséges sejtmembrán-frakció elkülönítésének feltételei határozzák meg, amelyeknél maximális mennyiségű plazmatikus sejtmembránt különítenek el.

1500 g értéknél kisebb gyorsulásoknál a membránok elkülönítése nem hatásos, 90000 g értéknél nagyobb gyorsulásnál pedig más, ballaszt sejtképződmények is leülepednek, amelyek rontják a BAA minőségét.

A céltermék hatásossága növelésének érdekében a sejtmembrán-üledéket megtisztítják az abszorbeált és az onдохólyag /vesicula/ és orgánella komponensekbe foglalt szövetkivonattól. Ezzel a céllal az üledéket többszörösen, friss pufferoldatban vagy desztill-

llált vízben történő szuszpendálás által kimossák, ismételten centrifugálják és/vagy megszűrlik a sejtmembránokat legalább 60 tömegszázalékban tartalmazó üledék elnyeréséig /az üledékben képviselt szerves vegyületekhez képest/.

A hidrolízis végrehajtásához elkülönített üledékben a sejtmembránok viszonylagos tartalmát a reszuszpéndálás és 100000-150000 g gyorsulással 40-60 perc alatt végrehajtott centrifugálás folyamán nyert üledék és szupernatants fehérje- és szénhidrát-tartalma alapján határozzák meg.

A céltermék hatásossága jelentősen növekedik a termék plazmatikus sejtmembrán-komponens tartalmának növelésével. Ezzel a céllal a sejtmembránokat tartalmazó üledéket a hidrolízis előtt kiegészítően reszuszpéndálják és 20000-100000 g gyorsulással 1-2 óra alatt sűrűségi gradiensben, pl. sacharóz, fikola, pertola és hasonló vegyületek gradiensében centrifugálják a plazmatikus sejtmembránok elkülönítésével.

Szacharóz használata esetén a plazmatikus sejtmembrán-frakciót d=1,14-1,18 sűrűségi sávban különítik el az ismert módszernek megfelelően /H.M. Berman, W. Gram, M.A. Spirtes, -Biochemistry et biophysical acta, -1969, -v.183, -1, -p.10-18; J. Gurd, W. Evans, H. Perkins, -Biochemistry Journal, -1973, -v.135, -4, -p.827-832; G. Schapira, J. Dobocz, -Biochemistry et biophysical acta, -1974, -v.345, -3, -p.348-358/.

Az így nyert plazmatikus membránfrakciót megtisztítják a szacharóztól és az abszorbeált kivonat komponensekből fiziológiai oldatban való 20 000-100 000 g gyorsulása, 20-40 percig tartó centrifugálással, és plazmatikus sejtmembránokat tartalmazó üledéket nyernek.

Az így nyert, sejt- és/vagy plazmatikus sejtmembránokat tartalmazó üledéket fiziológiai és/vagy pufferoldatban való reszuszpéndálás után hidrolízis hatása alá vetik, a hidrolizátumot megszűrlik és/vagy 1500 g feletti gyorsulással centrifugálják a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elkülönítésével.

A céltermék hatásossága növekedik a sejtmembrán-komponensek kismolekulájú komponensek formájában való felhasználása esetén. Ez lehetővé teszi, egyrészt kiküszöbölni a nem kívánatos mellékhatások megnyilvánulását, másrészt pedig széles hatású, az állatfajta különlegessége által nem korlátozott és az orvostan követelményeinek megfelelő készítmény elnyerését. Ezzel a céllal a

sejtmembránokat hidrolízis hatása alá vetik, amely segítségével a nagymolekulájú szerkezetű sejtmembrán-képződményeket kisebb molekuláris tömegű komponenseket tartalmazó termékekre bontották. A hidrolizátum hatásossága a hidrolízis különlegességétől függ, amely nagy mértékben a hőmérséklet-idő függvény jelleggörbéjétől függ.

Meg van állapítva, hogy a találmány szerinti anyag immunmoduláló tulajdonsága, mégpedig a patkányok hashártya váladéka makrofágjai aktivitásának növelése in vitro a hidrolízis $T_m=4-45^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletsávban való lebonyolítása esetén maximális, és az ettől való eltérések nem kívánatosak, mivel:

- ha a T_m 4°C , akkor jelentősen növekedik a hidrolízis időtartama, és ez csökkenti a gazdaságosságot;

- ha a $T_m > 45^{\circ}\text{C}$, akkor csökken az alapanyag hidrolízisét biztosító fermentek aktivitása és meggyorsul az aktív komponensek bomlási folyamata. Végeredményben pedig romlik a minőség.

A hidrolízis időtartamát a találmány szerinti anyag immunitást serkentő hatásának /tulajdonságának/ maximális szintje szerint állapítják meg., mégpedig a hashártya-váladék makrofágjainak aktivizálása alapján a HCT-teszt szerint.

A hosszú ideig tartó hidrolízist tartósítószer jelenlétében hajtjuk végre.

A kismolekulájú komponensek tartalmának /relatív koncentrációjának/ viszonylagos növekedése a hidrolizátumban a nagymolekulájú termolabilis vegyületek tartalmához képest a hidrolizátum hőkezelése által van biztosítva a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, amelyeket azután legalább 1500 g gyorsulású 20-24 perces centrifugálás és/vagy szűrés segítségével üledékként távolítják el. A termostabil komponenseket tartalmazó szupernatantst céltermékként használják fel.

A hidrolizátum hőkezelése $T_H=60-120^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleti sávban történik, mert az e sávon kívüli kezelés csökkenti a BAA különleges aktivitását.

Igy, $T_H < 60^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten nem minden fehérje van a denaturálásnak kitéve, és ennek következményében a céltermékben fokozott lesz a termolabilis vegyületek tartalma. Emiatt pedig az anyag különleges aktivitása csökken. $T_H > 120^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten a szerkezeti változások gyorsasága a céltermék peptid és szénhidrát

termékeiben ugrásszerűen növekedik, és ezáltal csökken a céltermék minősége.

A hőkezelés után a termostabil komponensek elkülönítését 1500 g gyorsulásu, 20-40 percig tartó centrifugálással hajtják végre, mert az e érték csökkenése esetén jelentősen csökken a denaturált termolabilis vegyületek eltávolításának mértéke, a 20-40 perces időtartam pedig a legoptimálisabb.

A koagulált, denaturált termolabilis vegyületeket a szupernatantsból papírszűrőn keresztül való szűréssel lehet elkülöníteni.

A termostabil komponenseket tartalmazó céltermék fokozott különleges aktivitással rendelkezik a hidrolizátum szupernatantsához képest és lehetővé teszi a szélesebb spektrumú feladatok megoldását is. A célterméket injekciós anyagként is fel lehet használni az állatorvostan és az orvostan keretében.

A BAA különleges aktivitásának további növelését úgy érik el, hogy a hidrolizátumból egy félíg át nem eresztő film és/vagy ultra- és/vagy gelszűrés révén megvalósított dialízis segítségével elkülönítik a kismolekulájú $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű komponenseket, ami lehetővé teszi a nagymolekulájú, mellékhatásokat idéző vegyületek teljes eltávolítását.

Ahogy már említettük, a találmány szerinti BAA hatásossága jelentős mértékben az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű szénhidrát-tartalmu sejtmembrán-komponensek összetételétől függ. Ezzel kapcsolatban ahhoz, hogy a célterméket a lehető legnagyobb különleges aktivitással nyerjük el, a kismolekulájú frakcióból az affinkromatográfia segítségével és a lektinek bevonásával glikopeptidok, glikolipidek, oliszénhidrátok, nukleotidok, valamint szabad monoszénhidrátok formájában elkülönítik a szénhidrát-tartalmu komponenseket és azokat céltermékként használják fel.

A céltermék így elért, fokozott hatásossága és a mellékhatások hiánya lehetővé teszi a nyert céltermék széles körű felhasználását az orvostanban.

A találmány szerinti BAA-t hatóanyagként gyógyszerek előállításához használják, ahol az anyag koncentrációja a készítmény felhasználási céljától függ. Az állatok feltáplálásához és felhizlásához a BAA koncentrációja a használt készítményben alacsony, és fokozódik az injekciókhoz alkalmazott készítményekben, valamint a kenőcsökben, gélekben és porokban.

A készítmény rendeltetésétől függően különböző töltőanyagot használnak. Így, az injekciókhoz, inhalációkhoz, borogatásokhoz és intranazális felhasználáshoz való készítményeknél nátrium-klorid fiziológiai oldatot vagy sós pufferoldatot használnak. Töltőanyagként szénhidrát vegyületeket a méhek feltáplálásához /pl. 10 %-s cukorszörp/ vagy gélek készítéséhez /pl. méz, növénylé és növényhus/ alkalmazott készítményekben használnak. Kenőcsökhöz töltőanyagként ásványi, állati, növényi vagy szintetikus eredetű olajokat vagy azok keverékét használják.

Az alábbiakban a találmánycsoport konkrét kivitelezési példáit, valamint a BAA összetételének és tulajdonságainak meghatározásához használt módszereket ismertetjük.

I. sz. példa

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag előállításához alapanyagként szarvasmarha embrionális szövetet használtak a tehének terhességének első szakaszán. Az embriókból a kálium-permanganát $/\text{KMnO}_4/$ gyenge oldatában való fertőtlenítés után kivágták a bőr- és izomszövetet, a májt, a lépét, a hasnyálmirigyet, a veséket, a tüdőt és a szívet, amelyeket felaprították és homogenizálták. Azután 10 kg húsdarát összekevertek 30 kg pH=7,2 értékű centimoláris foszfát sós pufferoldattal $/0,01 \text{ M PBS}/$, amely kétszer helyettesített centimoláris nátrium-foszfátot és tizenötcentimoláris nátrium-klorid oldatot tartalmaz $/0,01 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4/$ és $0,15 \text{ M NaCl}/$, és kolloid örlőkészülékben homogenizálták a homogén masszát elnyeréséig. A le nem roncsolt szövetelemeket 150 g gyorsulással, 10 percig tartó centrifugálás után üledék formában távolították el. A szupernatantot a flotációs zsiradék szűréssel való eltávolítása után 1500 g gyorsulással 60 perc alatt centrifugálták. Az így nyert, az üledékben lévő szerves vegyületekhez képest 80 % sejtmembránokat tartalmazó üledéket 15 kg Centimoláris foszfát pufferoldatban $/0,01 \text{ M PBS}/$ reszuszpendálták és 5000 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták. Az üledéket újból reszuszpendálták 7,5 kg desztillált vízben és 20 000 g gyorsulással 30 percig centrifugálták, miután a vízben történő reszuszpendálás műveletét még egyszer megismételték és utána 40 perces centrifugálás következett. Az üledéket 4-szer 7,5 kg centimoláris foszfát pufferoldatban $/0,01 \text{ M PBS}/$ reszuszpendálták és 20 000 g gyorsulással 20 percig centrifugálták.

Az így kimosott, 90 %-ban sejtmembránokat tartalmazó üledéket 5,0 kg centimoláris foszfát sós bufferoldatban /0,01 M PBS/ való szuszpendálása és tartósítószer /chonozol/ hozzáadása után a végső, 0,08 tömegszázalékos koncentrációig, 4° C hőmérsékleten 6 hét alatt hidrolízis hatása alá vetették.

Az így nyert hidrolizátumot 1500 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elkülönítésével, amely szerves vegyület összetételétől az általa kiváltott különleges aktivitást a BAA hatásának mennyiségi mutatói formájában az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 1,0 tömegszázalékban tartalmazó-a többi töltőanyag-célterméket gyógyszerként intranazálisan használták a nők emlőgyulladásának gyógyításához. Mindegyik orrlyukba a készítmény 2-2 cseppjét adták be az utána következő masszírozással, hogy a folyadék szétfolyon a nyálkahártyán. Az eljárást naponta 2-3-szor ismételték meg. A gyógyító hatás 1-3 nap múlva jelentkezett és azt a mell állapota alapján /a tömörülés, gennyes váladék jelenlete alapján/ és a véranalízis alapján ellenőrizték.

2. sz. példa

Az I. sz. példához hasonlóan nyert embrionális szövetet felaprították és háromszoros volumenu nátrium-klorid fiziológiai oldatban késses homogenizáló készülékben homogenizálták a leronsolt sejtek homogén masszájának elnyeréséig. A le nem ronsolt szövet-elemek, beleértve a kötőszövet-elemeket is, eltávolításához a homogenizált masszát 250 g gyorsulással 10 percig centrifugálták. A centrifugálás utáni üledéket eltávolították, az így nyert szupernatantst pamutszöveten szűrték meg, és 90 000 g gyorsulással 20 perc alatt ismételtén centrifugálták. A centrifugálás eredményeként elkülönített üledéket az eredetihez képest fele volumenu fiziológiai oldatban reszuszendálták és ugyan olyan feltételek mellett centrifugálták. Azután az üledéket kétszer a desztillált vízben, egyszer pedig a fiziológiai oldatban reszuszendálták, utána pedig 90 000 g gyorsulással 20 percig centrifugálták. Az így nyert, sejtmembránokat tartalmazó üledéket a fiziológiai oldat 44 volumenében reszuszendálták és a tartósítószer hozzáadása után 0,08 tömegszázalékos végső koncentrációig $T_p=20^{\circ}$ C hőmérsékleten 8 napon keresztül hidrolízis hatása alá vetették.

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása	A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően			
		I. sz.	2. sz.	3. sz.
1. A patkányok has- hártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásá- nak növekedése, %-ban az ellenőrzés- hez képest	a fermenta- tív aktivitás /HCT-teszt/ az E. Coli sze- rinti fagocita aktivitás	69,7 60,2	79,I 73,5	6I,3 49,3
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenőr- zéshez képest	a fermenta- tív aktivitás /HCT-teszt/ az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	82,7 60,5	93,7 70,I	74,9 52,I
3. A blasztátalakulá- lasi reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál B- limfocitok- nál	57,I 75,4	64,8 85,9	52,4 69,3
4. A timikus savó- tényező títorszámá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		302,6	387,4	234,5
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest		69,3	8I,3	6I,9
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl_4 be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- -ázok veramino- transzferaz a hepatocitok K^+ koncentrá- ciója	34,2 70,7 24,6	40,5 8I,9 30,I	30,3 6I,3 20,7

I. sz. táblázat

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően		
		5. sz.	9. sz.	II. sz.
1. A patkányok has-	a fermenta-			
hártyaváladéka mak-	tív aktivitás	101,9	109,6	86,8
rofágjai aktivitásá-	/HCT-teszt/			
nak növekedése,				
%-ban az ellenőrzés-	az E. Coli sze-	90,4	98,7	77,7
hez képest	rinti fagocita			
	aktivitás			
2. A vérneutrofi-	a fermenta-	125,9	124,5	102,1
lok aktivitásának	tív aktivitás			
növekedése,	/HCT-teszt/			
%-ban, az ellenőr-	az E. Coli	78,4	81,3	67,5
zéshez képest	szerinti fago-			
	cita aktivitás			
3. A blasztátalakulá	T-limfocitok-	83,5	87,4	65,8
lasi reakció serken-	nál			
tése, %-ban, a kont-				
rollhoz képest	B- limfocitok-	118,8	126,1	100,4
	nál			
4. A timikus savó-				
tényező títorszámá-		497,2	432,7	426,5
nak növekedése,				
%-ban, a kontroll-				
hoz képest				
5. A patkányszplenocitok természetes				
killeraktivitásának serkentése,		99,2	106,4	89,2
%-ban, a kontrollhoz képest				
6. Az aktivitást	Na, K-ATF-	57,4	60,8	49,2
redukáló patkány-	-ázok			
hepatocitok repa-	véramino-	92,4	93,5	86,8
rálóképességének	transzferaz			
fokozása CCl ₄ be-	az hepatocitok	42,6	44,1	35,8
adása után, %-ban	K ⁺ koncentrá-			
a kontrollhoz ké-	ciója			
pest				

I. sz. táblázat

A biológiailag aktív any- anyagok /BAA/ immunmodulá- ló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mu- tatói, a példáknak megfelelő- en		
		I3. sz.	I6. sz.	I7. sz.
1. A patkányok has- hártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásá- nak növekedése, %-ban az ellenörzés- hez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	II7,8	I73,I	I44,I
	az E. Coli sze- rinti fagocita aktivitás	I06,5	I54,2	I2I,8
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenör- zéshez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	I3I,3	I49,I	I29,0
	az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	85,9	I04,2	85,8
3. A blasztátalakulá- lási reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál	I0,6	I32,5	III,4
	B- limfocitok- nál	I37,2	I93,6	I63,9
4. A timikus savó- tényező títorszámá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		566,5	766,2	649,7
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest		II3,6	I45,2	II7,2
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl ₄ be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- ázok	63,4	87,I	78,4
	véramino- transzferaz	96,0	97,I	93,0
	a hepatocitok K ⁺ koncentrá- ciója	46,6	67,2	58,0

I. sz. táblázat

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példákhoz megfelelően		
		I8. sz.	20. sz.	21. sz.
1. A patkányok has- hártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásá- nak növekedése, %-ban az ellenőrzés- hez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	201,5	200,1	224,7
	az E. Coli sze- rinti fagocita aktivitás	185,4	171,7	200,9
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenőr- zéshez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	168,4	161,0	181,6
	az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	120,6	113,6	129,2
3. A blasztátalakulá- si reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál	152,0	160,3	191,9
	B- limfocitok- nál	220,9	224,7	262,5
4. A timikus savó- tényező titer-számá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		358,9	389,8	1007,6
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest		170,0	182,0	212,2
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl ₄ be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- ázok	94,0	91,4	100,0
	véramino- transzferaz	100,0	96,2	100,0
	a hepatocitok K ⁺ koncentrá- ciója	74,5	75,1	93,5

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban		
	I. sz.	2. sz.	3. sz.
Polipeptidek	37,7	34,7	40,9
Peptidek	18,0	18,5	19,1
Összesen:	55,7	53,2	60,0
Aminosavak	12,9	13,2	13,4
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	5,0	4,0	1,0
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	15,5	19,5	11,5
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	6,5	5,5	3,5
Összesen:	27,0	29,0	16,0
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	4,4	4,6	10,6
Összesen:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	0,86	1,05	0,60
K, hatásossági számolótényező	0,61	0,76	0,47

2. sz. táblázat

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban		
	5. sz.	9. sz.	II. sz.
Polipeptidek	20,6	21,9	1325,1
Peptidek	20,1	23,9	25,0
Összesen:	40,7	45,8	50,1
Aminosavak	17,1	17,5	16,6
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	2,2	0,8	0,4
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	24,1	21,0	15,0
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	6,5	9,5	7,3
Összesen:	32,8	31,3	22,7
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	9,4	5,4	10,6
Összesen:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	1,20	0,38	0,60
K, hatásossági számolótényező	1,06	0,98	0,72

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban		
	I3. sz.	I6. sz.	I7. sz.
Polipeptidek	13,7	0,3-nál kevesebb	
Peptidek	20,3	27,7	33,3
Összesen:	34,0	28,0	33,6
Aminosavak	22,6	31,5	24,0
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	1,4	0,2-nél kevesebb	
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	22,3	23,2	20,0
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	10,5	8,5	6,7
Összesen:	34,2	31,9	26,9
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	9,2	8,6	15,5
Összesen:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	1,10	0,84	0,60
K, hatásossági számolótényező	1,15	1,60	1,47

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban		
	18. sz.	20. sz.	21. sz.
Polipeptidek	0,3-nél kevesebb		
Peptidek	27,7	36,0	28,7
Összesen:	28,0	36,3	29,0
Aminosavak	16,5	0,5-nél kevesebb	
Szénhidrátok:	0,2-nél kevesebb		
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;			
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	30,8	41,4	57,9
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	6,9	16,1	11,9
Összesen:	37,9	57,7	70,0
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	~~8,5~~	5,5	0,5
Összesen:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	1,20	1,15	2,00
K, hatásossági számolótényező	1,90	1,90	2,20

G és K : az M= 0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek viszony-
lagos szénhidrát-tartalmát jellemző tényezők:

- a peptidek iránt /G/,
- a BAA különböző molekuláris tömeggel rendelkező szerves
vegyületei iránt /részletesebben ld. a "A találmány szerin-
ti BAA és az anyag alapjánnnyert készítmény összetételének
elemzése" fejezetben/.

Az így nyert hidrolizátumot 15 000 g gyorsulásaal 20 perc alatt centrifugálták a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szuszpenziót céltermékként való elkülönítésével, amely szerves vegyület összetételét és az általa kiváltott különleges aktivitás a BAA hatásának mennyiségi mutatói formájában az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 1,0 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket a nátrium-klorid fiziológiai oldat 5 volumenével keverték össze és gyógyszerként borogatás formában a lábakon fellépő varikózis vénatágulás gyógyításához használták. A borogatásokat naponta éjszakára rakták fel. A gyógyító hatás az 5-14 napon jelentkezett, és azt az erek állapota, a lábak dagadt-sága és a fájdalomérzés alapján ellenőrizték.

3. sz. példa

Az embrionális szövet homogenizálását a 2. sz. példához hasonlóan hajtották végre. A le nem roncsolt szövetelemek eltávolításához a homogén masszát vákuumban, pamutszövet felhasználásával nutsche-szűrőn szűrték meg. Utána 50 kg filtrátumot az AR-2,0 készülék VPU-100-PA /TU 6-12-15I-87/ üreges szálai segítségével ultraszűrés alá vetették. Az üreges szálakon keresztül történő keringés folyamán a homogén termékből eltávolítottak az $M > 100$ kDa molekuláris tömegű szövetkivonat-komponenseket, a nagymolekulájú vegyületek töményítése érdekében. Az 50 kg tömegű homogén terméket a sejtmembrán-szuszpenzió elnyeréséig töményítették, amely tömege 5 kg-t tett ki. Azután a szuszpenziót 45 kg fiziológiai oldattal keverték össze és újból töményítették, ilyen módon megtisztítva a sejtmembrán-frakciót az $M > 100$ kDa molekuláris tömegű váladék-komponensektől. Ezt a műveletet 4-szer hajtották végre. Az így nyert szuszpenzió a benne képviselt szerves vegyületekhez képest 60 tömegszázalék sejtmembránt tartalmaz. 10 kg fiziológiai oldat hozzáadása után a keveréket 45° C hőmérsékleten 48 óra alatt autolízis hatása alá vetették.

Az így nyert hidrolizátumot egy papírszűrő segítségével megszűrték, a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó filtrátumot céltermékként használták fel, amely szerves vegyület összetételét és az általa kiváltott különleges aktivitást a BAA hatása mennyiségi mutatójának formájában az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 1,0 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket 9 volumen uborkahussal keverték össze és gyógyszerként az arcra való gélmaszk formában kozmetikus célokra használták fel. Hosszu idejű tároláshoz a gélhez tartósítószerrel /nipozint és nipazolt 5:1 tömegrész arányban/ adtak hozzá 0,1 tömegszázalékos végső koncentrációig. A gél 2-3 órára vitték fel az arcra. Az eljárást hetenként 1-2-szer ismételték meg. A gyógyító hatás 2-6 kezelés után jelentkezett és azt a bőr állapota szerint ellenőrizték.

4. sz. példa

Az embrionális szövetből nyert, a le nem roncsolt elemektől a 3. sz. példához hasonlóan megtisztított homogén terméket GF/S típusu, az 1 μ m-től nagyobb méretű részecskéket visszatartó üreges szálak segítségével szűrték meg. Az utána következő többi műveleteket a 3. sz. példával azonosan hajtották végre, és végeredményben ugyanolyan összetételű és tulajdonságokkal rendelkező célterméket nyertek.

5. sz. példa

A sejtmembránokat tartalmazó, az 1. sz. példához hasonlóan 4-szeres kimosás után nyert üledéket tömitett, a nyert szuszpenzió $d_1 \leq 1,25$ értékű végső sűrűségű szacharóz-oldatban szuszpendálták amelyet 100 000 g gyorsulású 60 percig tartó ultracentrifugálás hatása alá vetették a szacharóz lépcsőzetes $d_1 \leq 1,25$; $d_2=1,20$; $d_3=1,18$; $d_4=1,16$; $d_5=1,14$; $d_6=1,12$ sűrűségi gradienseivel. A plazmatikus membránok frakcióját $d=1,18-1,14$ sűrűségi sávban különítették el. Utána a membránokat fiziológiai oldatban 20 000 g gyorsulással 60 percig tartó centrifugálással kimosták a szacharóztól. Az üledéket pH=7,2 értékű, 4-szeres volumenu centimoláris sós foszfát pufferoldatban /0,01 M PBS/ reszuszendálták, és a tartósítószer hozzáadása után a 0,08 tömegszázalékos végső koncentrációig a plazmatikus sejtmembránokat $T_p=4^\circ$ C hőmérsékleten 6 héten át hidrolízis hatása alá vetik.

Az így nyert hidrolizátumot 1500 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták a céltermékként plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatans elkülönítésével, amely szerves vegyület-összetételét és az általa kiváltott különleges aktivitást a BAA hatásának mennyiségi mutatói formájában az 1. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 1,0 tömegszázalékban-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a hurutos tüdőgyulladás inhalációs gyó-

gyításához alkalmazták. Minden nap éjszakára az inhaláló készüléken szájon keresztül IO-I5 mély lélegzetet vettek és orron keresztül kilégzést végeztek. A gyógyító hatás 2-8 nap múlva jelentkezett és azt a tüdők állapota és a véranalízis alapján ellenőrizték

6. sz. példa

Az 5. sz. példánál nyert, $d \leq 1,25$ végső sűrűséggel rendelkező szacharózban lévő sejtmembrán-szuszpenziót 20 000 g gyorsulással 2 óra alatt centrifugálták ugyan olyan lépcsőzetes szacharóz gradiensben. A többi műveleteket az 5. sz. példával azonosan hajtották végre és ugyan olyan összetételű és tulajdonságú célterméket nyertek.

7. sz. példa

Ahoz, hogy a találmány szerinti, az I.-6. sz. példákban nyert BAA-ban meghatározzák a sejtmembrán-komponensek összetételének százalékban /tömegben/ kifejezett arányát a kötőszövet- és kivonatkomponensekhez képest, aminosavas elemzést hajtottak végre, valamint meghatározták a szuszpenzió 100 000-150 000 g gyorsulással 60 percig tartó, hidrolízis előtti centrifugálása révén nyert üledékben és szupernatantsban lévő fehérjék és szénhidrátok mennyiségét. Az üledékben lévő fehérjemennyiség összetétele a sejtmembrán-komponensek és a kivonat fehérje arányát mutatja.

Az üledékben és a szupernatantsban lévő fehérjetartalom meghatározását a szuszpenzió ultracentrifugálása után hajtottak végre. A szupernatants eltávolítása után 0,1 ml üledékhez 4,9 ml fiziológiai oldatot adtak hozzá, és a szuszpendálás után 0,1 ml-t elkülönítettek a fehérje mennyiség fotometrikus meghatározásához az oldat elszíneződésének intenzitása alapján az SDD-Louri módszer szerint /U.K. Laemmli.-Nature,-1970-v.227,-5259,-p.680-685/.

A szupernatantsban lévő fehérjemennyiség meghatározásához 0,1 ml-t különítettek el. Az I., 2. és 5. sz. példákban nyert anyag fehérje elemzésénél a sejtmembrán-komponensek tartalma 88 ± 3 % volt, a 3. sz. példában 70 ± 10 %.

A kötőszövet-komponenseket aminosavas elemzéssel határozták meg, az oxilizin és oxiprolin jelenléte alapján. A találmány szerinti BAA-ban ezek az aminosavak nem voltak jelen.

A vizsgált mintákban a szénhidrátok mennyiségét az antron-reakció szerint határozták meg /S. Seifter, S. Dayton, C. Hovic.-Arch. Biochemistry and Biophysical,-1950,-25,-I,-p.191-200/.

Emellett figyelembe vették a szénhidrátok hidrolízis utáni általános tartalmát és a monomer formában fellelő szabad szénhidrátok tartalmát is. Az e mérések értékeinek különbsége alapján határozták meg a szabad szénhidrátok mennyiségét a különböző vegyületek összetételében.

Az általános hidrolízis végrehajtásához 1,0 ml vizsgálandó mintát 1 ml négynormális sósav oldattal kevertek össze /4,0 N HCl/. A hidrolízist 105° C hőmérsékleten 2 órán át hajtották végre, azután a hidrolizátumot egy száraz, marónátronos /NaOH/ szárítókészülékben vákuum alatt elpárolgatták. A kiszáritott mintát 1,0 ml desztillált vízben feloldották és így az elemzéshez használták.

A szabad szénhidrátok mennyiségének meghatározását közvetlenül a BAA-ban vagy a savas hidrolízis után következőképpen hajtották végre: 1 ml mintát 1 ml desztillált vízzel kevertek össze, azután -5° C hőmérsékleten állandó keverés közben hozzáadtak 4 ml 0,2 %-s 95 % kénsavon /H₂SO₄/ előkészített antronreagenset. Az így nyert keveréket 95° C hőmérsékleten 10 perc alatt forralták, és le hűlés után 620 nm hullámhosszon meghatározták az optikai sűrűséget. Standardként 20 g/ml koncentrációjú glikozt használtak.

Az M < 0,8 kDa molekuláris tömegű szerkezeti vegyületek összetételéhez tartozó szénhidrátok koncentrációja a találmány szerinti az 1., 2., 3., és 5. sz. példákban nyert BAA-ban megfelelően 20,5 %, 24,5 %, 12,5 %, és 26,4 % volt a többi szövetiingrediensekhez képest.

Itt és a továbbiakban a szövegben a kísérletileg meghatározott mennyiségek azok középértéke által vannak kifejezve, a középtől való maximális eltérést pedig a Student-próba szerint számították ki.

3. sz. példa

Az 1. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát hőkezelés hatása alá vetették különböző hőkezelési hőmérsékleten: T_{H1}=55° C; T_{H2}=60° C; T_{H3}=95° C; T_{H4}=120° C; T_{H5}=135° C. A melegítés a hidrolizátumban lévő termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig tartott, utána 1500 g gyorsulása, 30 percig tartó centrifugálás következett a termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elkülönítésével. Az így nyert céltermék minden egyes esetben saját immunmoduláló tulajdonsággal rendelkezett, amelyek értékét a 3. sz. táblázat tartalmazza ahol a különleges aktivitás /a makrofágok serkentése/ a hidrolizátum felmelegítésének hőmérséklet-sávjától függően van kimutatva,

valamint az e sav határain kívül. Optimális a $T_H=95^\circ$ °C felmelegítési hőmérséklet, amelynél a nyert céltermék maximális fermentatív és fagocitáris aktivitás fokozódást biztosított a kontrollhoz képest, és ez megfelelően $102,3 \pm 5,5$ % és $92,1 \pm 7,4$ % volt. $T_H=55^\circ$ C hőmérsékleten a különleges aktivitás fokozódása a kontrollhoz képest átlagosan $76,8 \pm 4,6$ % a HCT-teszt szerint és $53,8 \pm 5,1$ % a fagocitóz szerint. $T_H > 120^\circ$ C hőmérsékleten ugrásszerűen növekedik a peptidek és a szénhidráttartalmu vegyületek szerkezeti változásának gyorsasága, ami a céltermék-komponensek szerkezeti változásához vezet és csökkenti az anyag különleges aktivitásának értékét. Így, $T_H=135^\circ$ C hőmérsékleten a találmány szerinti anyag különleges aktivitásának fokozódása a kontrollhoz képest átlagosan $68,4 \pm 5,0$ % a HCT-teszt szerint és $66,2 \pm 6,1$ % a fagocitóz szerint. A BAA különleges aktivitásának maximális értéke a kontrollhoz képest $T_H=60-120^\circ$ C hőmérsékleti sávban van biztosítva, amelynél a patkányok hashártya váladéka makrofágjai /in vitro/ aktivitásának növekedése átlagosan $102,3 \pm 5,5$ % a fermentatív aktivitás fokozódása alapján /HCT-teszt/ és $92,1 \pm 7,4$ % a fagocita-aktivitás fokozódása alapján /E. Coli szerint/.

9. sz. példa

Az I. sz. példában nyert szupernatants hidrolizátumát forralással hőkezelés hatása alá vetették $T_H=95^\circ$ C hőmérsékleten a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után 1500 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták. A denaturált vegyületekből álló üledéket eltávolították, és céltermékként a termostabil, sejtmembráns-komponenseket tartalmazó szupernatantst használták fel. A hidrolizátum szerves vegyület összetételét és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 1,0 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a dermatózisok gyógyításához kenőcs formában használták, amelyet a lanolin, vazelin és a BAA-t tartalmazó céltermék 1:3:1 tömegrészű összekeverésével állítottak elő. A kenőcsöt naponta bedörzsölték a bőrbe. A gyógyító hatás 2-8 nap múlva jelentkezett, és azt a bőr állapota szerint ellenőrizték.

10. sz. példa

Az I.sz. példában nyert hidrolizátumot forralással hőkezelték $T_H=95^\circ$ C hőmérsékleten a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után 1500 g gyorsulással 40 percig centrifugálták. A denaturált vegyületeket tartalmazó üledéket eltávolí-

3. sz. táblázat

A felmelegítési /hőkezelési/ hőmérséklet, °C	A patkányok hashártyaváladéka makrofágjainak aktiválása /in vitro/ a találmány szerinti BAA hatásának eredményként, különböző hőkezelésnél, százalékban a kontrollhoz képest	A fermentatív aktivi- tás fokozódása /HCT-teszt/	A fagocita-aktivitás fokozódása E. Colli szerint
55		76,8 ± 4,6	53,8 ± 5,1
60		82,5 ± 4,9	70,8 ± 6,5
95		102,3 ± 5,5	92,1 ± 7,4
120		88,4 ± 5,1	78,3 ± 7,0
135		68,4 ± 5,0	66,2 ± 6,1

A kontrolltól való eltérések megbízhatósága P 0,05

4. sz. táblázat

A frakció sorszama	A frakciók mole- kuláris tömege, M, kDa	A patkányok hashártyaváladéka makrofág- jainak aktiválása a találmány szerinti BAA kismolekulájú frakciójainak hatása következtében, százalékban a kontroll- hoz képest
1	$M_1 > 50,0$	58,4 ± 4,5
2	$10,0 < M_2 < 50,0$	103,6 ± 9,2
3	$M_3 < 10,0$	170,3 ± 18,1
4	$M_4 < 5,0$	186,8 ± 14,2
5	$M_5 < 1,0$	138,7 ± 12,3
6	$M_6 < 0,8$	36,2 ± 7,7
7	$M_7 < 0,5$	55,1 ± 6,4

A kontrolltól való eltérések megbízhatósága P 0,05

tották, a termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatantst pedig céltermékként használták fel, amely ugyan olyan összetételű és ugyan olyan tulajdonságokkal rendelkezők, mint a 9. sz. példában.

II. sz. példa

A 3. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát $T_H=95^{\circ}$ C hőmérsékleten hőkezelték a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után nutsch-szűrőn, szűrőpapíron keresztül megszűrték. A termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó filtrátumot céltermékként használták fel.

A hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A célterméket liofilisan kiszáritották és szublingválisan gyógyszerként használták a nők emlőgyulladásának gyógyításához. Az eljárást minden nap alkalmazták. A gyógyító hatás I-3 nap múlva jelentkezett, és azt a mell állapota /tömörülések, gennyes váladék jelenléte/ és a véranalízis alapján ellenőrizték.

I2. sz. példa

A 3. sz. példában nyert hidrolizátumot $T_H=95^{\circ}$ C hőmérsékleten hőkezelték a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után nutsch-szűrőn, szűrőpapíron keresztül megszűrték. A termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó filtrátumot céltermékként használták fel, amely ugyan olyan összetétellel és tulajdonsággal rendelkezik, mint a II. sz. példában.

I3. sz. példa

Az 5. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát forrással $T_H=95^{\circ}$ C hőmérsékleten hőkezelték a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után 50 000 g gyorsulással 20 percig centrifugálták. A denaturált vegyületeket tartalmazó üledéket eltávolították és céltermékként a termostabil plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatantst használták fel.

A hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,5 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag- tartalmazó célterméket gyógyszerként a tehenek tüdőgyulladásának gyógyításához injekciós formában használták, az injekciókat intramusculárisan, háromnaponként, 0,05 ml/I kg testsúlyra adagban adták be. A gyógyító hatás I-4 injekció után jelentkezett, és azt a

a tőgy állapota szerint és a bimbókból való gennyes váladék mennyisége alapján ellenőrizték.

I4. sz. példa

Az 5. sz. példában nyert hidrolizátumot forralással, $T_H=95^\circ \text{C}$ hőmérsékleten hőkezelték a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után 50 000 g gyorsulással 20 percig centrifugálták. A denaturált vegyületeket tartalmazó üledéket eltávolították és céltermékként a termostabil vegyületeket tartalmazó szupernatantst használták fel, amely ugyan olyan összetétellel és tulajdonsággal rendelkezik, mint a I3. sz. példában.

I5. sz. példa

Az I. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát az "Amicon" ultraszűrő készüléken frakcionálták olyan ultraszűrők használatával, amelyek áteresztik az 50,0 kDa, 10,0 kDa, 5,0 kDa, 1,0 kDa, 0,8 kDa és 0,5 kDa, vagy kisebb molekuláris tömegű vegyületeket.

Az így nyert, 1. $M_1 < 50,0 \text{ kDa}$; 2. $10,0 < M_2 < 50,0 \text{ kDa}$; 3. $M_3 < 10,0 \text{ kDa}$; 4. $M_4 < 5,0 \text{ kDa}$; 5. $M_5 < 1,0 \text{ kDa}$; 6. $M_6 < 0,8 \text{ kDa}$ és 7. $M_7 < 0,5 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű vegyületeket tartalmazó frakciók biológiai aktivitását olyan szempontból elemezték, hogy azok mennyire képesek aktiválni a patkányok hashártyaváladéka makrofágjait a HCT-teszt szerint. A vizsgálatok eredményeit a 4. sz. táblázat tartalmazza.

A 4. sz. táblázat adatainak elemzése lehetővé teszi a következő következtetések levonását:

1. a különleges aktivitás frakcióként való elosztásának kifejezett maximuma van, amely a molekuláris tömeg értékének 0,8 kDa-tól 10,0 kDa-ig terjedő sávjában helyezkedik el;

2. a különleges aktivitás csökkenése a molekuláris tömeg $M > 10,0 \text{ kDa}$ értéknél a céltermékben lévő inhibitorok fokozódásával és az aktiv szubsztancia koncentrációjának csökkenésével van kapcsolatban;

3. a különleges aktivitás csökkenése $M < 0,8 \text{ kDa}$ értéknél az aktiv, $M < 0,8 \text{ kDa}$ értékű oligomer vegyületek formájában képviselt szubsztancia koncentrációjának csökkenésével van kapcsolatban.

I6. sz. példa

Az ugyan úgy, mint az I. és 9. sz. példákban nyert hidrolizátum szupernatantsát az AR-2,0 készülék VPV-I58PA /TU-6-I2-I5I-87/ típusu üreges szálak segítségével ultraszűrésnek vetették alá. Az így nyert kismolekulájú, $M < 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű komponenseket tartalmazó ultrafiltrátumot céltermékként használták fel,

amely az $M < 10,0$ kDa értékkel rendelkező kismolekulájú sejtmembrán-komponenseket tartalmazza.

A hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a patkányok kísérleti hepatitiszének gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban, kétnaponként adták be /a kezelés jellegét és eredményét részletesen a 42. és 43. sz. példáknál ismertetjük/.

17. sz. példa

A 3. sz. példában nyert hidrolizátumot 16-24 óra alatt dialízis hatása alá vetették cellofán filmen keresztül olyan fiziológiai oldat ellenáramában, amely 1 kg-ja 0,8 kg tartósítószerrel tartalmazott. Az így nyert dializátumot céltermékként használták fel, amely $M < 10,0$ kDa értékű kismolekulájú sejtmembrán-komponenseket tartalmazott.

A hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként használták fel a borjúk homeosztázis-paramétereinek rendezéséhez injekciós formában, az injekciókat a normától való eltérést mutató borjúknak intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban 1-2 hónaponként adták be. A hatást az állatok súlyának hónapos mérésével ellenőrizték, a mérések eredményei a napi átlagos súlygyarapodás 60-100 %-s növekedéséről adtak tanúsítást a kontrollcsoporttal szemben, ahol az állatokat a készítménnyel nem kezelték.

18. sz. példa

Az ugyanugy, mint az 5. és 13. sz. példákban nyert hidrolizátum szupernatansát az AR-2,0 készülék VPU-15-PA /TU 6-12-151-87/ típusú üreges szála segítségével ultraszűrés hatása alá vetették. Az így nyert, $M < 10,0$ kDa molekuláris tömegű, kismolekulájú komponenseket tartalmazó ultrafiltrátumot céltermékként használták, amely kismolekulájú, $M < 10,0$ kDa értékű plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmazott.

A hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként, injekciós formában a patkányok kísérleti gyomorfekélyének gyógyításához használták. 20 mindennapos injekciót intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban és 0,5 ml/1 kg testsúlyra adagban adták be /a kezelés jellegét és eredményeit részletesebben a 44. sz. példánál ismertetjük/.

19. sz. példa

Az I. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát 3-28-szefadexben történő gél-szűrésnek vetették alá d=26 mm átmérőjű és h=600 mm hosszú egydecimoláris /0,01 M/, pH=7,2 értékű, tizenöt-centimoláris nátrium-kloridot /0,15 M NaCl/ tartalmazó foszfát pufferoldattal kiegyensúlyozott oszlopban. A hidrolizátum szupernatantsának a molekuláris tömegek szerinti frakcionálását az oszlop eluálásával hajtották végre ugyan azzal a pufferoldattal, és az eluátum kromatográfiás profilját spektrometrikusan ellenőrizték 280 nm hullámhosszon. A hidrolizátum kismolekulájú, sejtmembrán-komponenseket tartalmazó frakcióját céltermékként eluálták, amely ugyan olyan összetétellel és tulajdonságokkal rendelkezik, mint a 16. sz. példában.

20. sz. példa

A 16. sz. példában nyert kismolekulájú komponensek frakcióját a "Pharmacia" cég Kon-A-Szefarozsa készülékén affin kromatográfia hatása alá vetették. A 2 cm átmérőjű és 10 cm hosszú, Kon-A-Szefarozsal töltött oszlopot a cég javaslata szerint helyezték üzembe.

A huszmillimoláris, pH=7,4 értékű trisz-sósavas pufferoldatot /0,02 M Trisz-HCl/ és másféldecimoláris nátrium-kloridot /0,15 M NaCl/ tartalmazó befogó pufferoldattal való átöblítés után a Kon-A-Szeforázt egydecimoláris, pH=6,5 értékű nátrium-acetát /0,1 M CH_3COONa / pufferoldatot, millimoláris Kalcium-kloridot /1 mM CaCl_2 /, millimoláris magnézium-kloridot /1 mM MgCl_2 / és egy-moláris nátrium-kloridot /1 M NaCl/ tartalmazó töltő-pufferoldattal kezelték, utána ismételten befogó pufferoldattal öblítették ki. A 16. sz. példában nyert kismolekulájú komponensek frakcióját a pH=7,4 értékig való titrálás után rávitték az oszlopra és befogó pufferoldattal a nem abszorbeált vegyületek teljes eltávolításáig öblítették.

A szénhidrát tartalmu, a Kon-A-Szeferázzal affin kapcsolatban lévő komponensek elkülönítését decimoláris, pH=3,5 értékű nátrium-acetát /0,1 M CH_3COONa / bufferoldattal hajtották végre nátrium-klorid fiziológiai oldatban. Az eluálást spektrofotometrikusan, 280 nm hullámhosszon ellenőrizték. Az affin módon elkülönített frakciót a szénhidrát tartalmu sejtmembrán-komponensekkel együtt a frakció savasságának marónátronnal történő semlegesítése után pH=7,4 értékig és a tartósítószer hozzáadása után 0,08 tömegszázalék végső koncentrációig, céltermékként használták fel, amely szerves vegyület tartalmát, és az általa kiváltott különleges aktivitást az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,1 tömegszázalékban- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a petefészek-gyulladás gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban kétnaponként egyszer adták be. A gyógyító hatás 6-10 injekció után jelentkezett, és azt a gyulladásos reakció paraméterei szerint ellenőrizték.

21. sz. példa

A 18. sz. példában nyert kismolekulájú komponensek frakcióját Kon-A-Szeferoz készüléken affin kromatográfia hatása alá vették a 20. sz. példával azonosan. A plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum szerves vegyület tartalmát és a BAA hatásának mennyiségi mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a diabetikus betegeknek felépítő végtag-cukorgangréná gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban 1-3 naponként adták be. A gyógyító hatás 5-15 injekció után jelentkezett, és azt a végtag-szövetek és azok állapota szerint ellenőrizték.

22. sz. példa

A találmány szerinti BAA hatásosságának az anyag módosított sejtmembrán komponensek tartalmától való függését olyan állatszövet-alapanyag felhasználásával határozták meg, amelyben embriogenezis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia folyamatok zajlottak le a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőzően és/vagy azt követően. Az így nyert szövetet a 9. sz. példával azonosan kezelték. Az így, mégpedig az em-

litett sejtszerkezet, vagyis a sejtmembránok módosításával rendelkező szövetek felhasználásával nyert céltermék tulajdonságait az 5. sz. táblázat szemlélteti.

Az 5. sz. táblázat elemzése kimutatja, hogy a találmány szerinti anyag immunmoduláló hatása és az e hatás jelentős fokozása a felhasznált alapanyagtól, amelyből a módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátumot nyerik el, függ.

Igy, állati szövet alapanyagként, mégpedig a proliferáció és sejtszétválasztás szakaszán nyert alapanyagként a patkányok heréinek spermagónáit és spermatocitjait, a csontvelő sejteket, a patkányok epiteliás bélszövetét használták fel, embriogenezis folyamatokkal rendelkező alapanyagként pedig a patkányok embrionális szövetét. A regenerációt megelőző patológiai folyamatokkal rendelkező alapanyagként a patkányok részleges hepatektomia utáni májszövetét, és a regenerációt követő patológiával rendelkező alapanyagként az akszolut regeneráló végtagjainak szövetét, a patkányok bőr alá beadott szén-tetraklorid / CCl_4 / által sérült májszövetét használták.

A kísérleti adatokkal egyidejűleg az 5. sz. táblázatban az összehasonlítás érdekében fel vannak sorolva az immunmoduláló hatásról szóló adatok is, amelyeket a felnőtt himpatkányok intakt izom- és májszövetének alapanyagként való felhasználásánál értek el.

Az 5. sz. táblázat elemzése azt mutatja, hogy az olyan, amelyeket az embriogenezis, proliferáció és patológia, a regenerációt és/vagy a reparációt megelőző és/vagy azt követő folyamatok lezajlása alatt nyertek, szövetek felhasználása esetén a találmány szerinti BAA immunmoduláló hatása jelentősen fokozottabb, mint az ismert, állati szövetet alapanyagként használó anyagoknál, amelyeknél az említett folyamatok hiányoztak.

Azonkívül olyan következtetést is le lehet vonni, hogy az olyan szöveteknél, amelyeknél az említett folyamatok megfigyelhetők, legnagyobb immunmoduláló hatással a regeneráló májszövet, a regeneráló akszolut vágtagok és az embrionális szövet rendelkezik.

23. sz. példa

A találmány szerinti anyag előállításához alapanyagként a patkányok regeneráló májszövetét a hepatektomia utáni 4-12-ik órá-

5. sz. táblázat

A felhasznált állati szövetek	A patkányok hashártyaváladéka makrofágjainak aktiválása /in vitro/ a találmány szerinti, különböző alapanyagokból nyert TS-BAA hatásának eredményeként, százalékban a kontrollhoz képest	
	A fermentatív aktivitás fokozódása /HCT-teszt/	A fagocita-aktivitás fokozódása E. Colli szerint
Az intakt májhepatocitok	55,3 ± 4,7	43,9 ± 4,1
A felnőtt állatok intakt izomszöve	62,6 ± 4,8	55,7 ± 4,3
A here spermatogóniák és spermatocitok	81,3 ± 5,6	70,2 ± 4,8
Epiteliális bélszövet	84,5 ± 5,9	73,2 ± 5,4
Májhepatocitok a CCl ₄ beadagolása után	88,4 ± 5,4	78,8 ± 5,1
Csontvelő sejtek	90,3 ± 6,8	81,6 ± 6,1
Az abszolút regeneráló végtagjai *	92,4 101,2	83,6 94,1
Embriionális izomszövet	95,6 ± 6,2	88,2 ± 5,7
A hepatektomia után regeneráló patkány májhepatocitok	112 ± 6,3	104,6 ± 6,2

A kontrolltól való eltérések megbízhatósága P 0,05

* - az a szövet, amely részére a mutató táblázatban kimutatott értékei a kísérlet konkrét kivitelezésénél voltak meghatározva.

ban használtak, a hepatektomiát egy ismert módszer szerint hajtották végre /G.M. Higgins, R.M. Anderson.-Experimental pathology of the liver.-Arch. Pathology,-1931,-NI2,-p.186/.

A májszövetet az I., 9. és I6. sz. példával azonosan dolgozták fel.

Az így nyert céltermékek különleges aktivitását kísérletileg a patkányok májhepatocitjai a máj szén-tetrakloriddal /CCl₄/ való sérülése utáni reparáló képességének aktivizálása alapján határozták meg, amelynél a Na,K-ATF-aktivitás $38,6 \pm 5,4$ %-al redukálódott az I. sz. példával azonosan nyert céltermék esetén; $58,6 \pm 4,2$ %-al a 9. sz. példával azonosan nyert céltermék esetén, és $88,5 \pm 8,6$ %-al a I6. sz. példával azonosan nyert céltermék esetén az állatok kontrollcsoportjához képest, amelynél a találmány szerinti anyagot nem adták be.

A véraminotranszferáz aktivitása megfelelően- az I. sz. példánál $71,6 \pm 10,3$ %-al, a 9. sz. példánál $89,2 \pm 6,2$ %-al, a I6. sz. példánál $98,7 \pm 1,3$ %-al redukálódott a májhepatocitok káliumkoncentrációja pedig az I. sz. példában $28,4 \pm 4,4$ %-al, a 9. sz. példában $36,8 \pm 5,4$ %-al és a I6. sz. példában $71,8 \pm 8,8$ %-al.

A BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben-a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként a hepatitban szenvedő borjúk gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan 0,05 ml/I kg testsúlyra adagban 3 naponként adták be. A gyógyító hatás 4-8 injekció után jelentkezett, és azt az aminotranszferáz aktivitása és a vér bilirubin-és nitrogénkoncentrációja alapján ellenőrizték.

24. sz. példa

A találmány szerinti anyag előállításához alapanyagként a bikaherékből nyert kisajtolási maradékot használták, amelyet a here-~~lúsz~~ lidáza elkülönítése után a szövet homogenizálása révén nyert termék 3 %-s ecetsavval történő extrahálása által nyertek meg.

A herék így nyert kisajtolási maradékát, amely a lidázaelőállítás hulladéka, háromszoros volumenu fiziológiai oldatban ismételtén homogenizálták egy késes homogenizáló készüléken és 250 g gyorsulással 10 perc alatt centrifugálták a le nem roncsolt szövetelemek eltávolításának érdekében. A céltermék elnyerésének további műveleteit az I., 9., I6. sz. példákhoz hasonlóan hajtották végre.

Az így nyert céltermékek különleges aktivitását kísérletileg állapították meg a patkányok hashántyaváladéka makrofágjai és vérneutrofiljai aktivizálása alapján. A 16. sz. példához hasonlóan nyert céltermék alkalmazása esetén a makrofágok fermentatív aktivitása $125,2 \pm 14,1$ %-al növekedett, az E. Coli szerinti fagocitáris aktivitás pedig $115,4 \pm 10,8$ %-al. A vérneutrofiloknál ezek a mutatók megfelelően $115,4 \pm 14,5$ %-al és $83,4 \pm 8,6$ %-al növekedtek.

A BAA-t 1,0 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket 50 volumen vízzel keverték össze és gyógyszerként a tyukok feltáplálásához használták fel azok homeosztázis paramétereinek rendezéséhez. Az említett paraméterektől eltérésekkel rendelkező tyukokat a készítménnyel 5 ml/1 kg testsúlyra adagban 2-6 hetenként táplálták fel. A hatást a tyukok tojóképeségének megszámlálásával ellenőrizték, amely eredményei a tojóképeség 20-40 %-s növekedéséről adtak tanúsítást a készítménnyel nem kezelt kontrollcsoporthoz képest.

25. sz. példa

A találmány szerinti anyag előállításához alapanyagként a tehén placentáris szövetét használták fel, amelyet az 1., 9. és 16. sz. példákhoz hasonlóan kezeltek.

Az így nyert céltermék különleges aktivitását kísérletileg állapították meg a patkányok hashántyaváladéka makrofágjai és vérneutrofiljai a kontrollhoz képest aktivizálása alapján. A 16. sz. példához hasonlóan nyert céltermék alkalmazása esetén a makrofágok fermentatív aktivitása $183,6 \pm 17,4$ %-al, a fagocitáris aktivitása pedig $131,4 \pm 11,8$ %-al növekedett. A vérneutrofiloknál ezek a mutatók megfelelően $156,1 \pm 17,2$ % és $111,2 \pm 12,3$ %.

A BAA-t 0,5 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként az endometrit betegségben szenvedő tehén gyógyításához használták fel injekciós formában. az injekciókat intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban 3 naponként adták be. A gyógyító hatás 4-8 injekció után jelentkezett, és azt a gyulladásos reakció paraméterei szerint ellenőrizték.

26. sz. példa

A találmány szerinti anyag előállításához alapanyagként a tymusz-olajpogácsát használták fel, amelyet a homogenizálás révén nyert termék oldhatatlan szövetkomponenseinek elkülönítése után nyertek el. Ezek a szövetkomponensek a tymusz előállításának a hulladékjai.

A tymusz-olajpogácsát az I. és a I6. sz. példákhoz hasonlóan kezelték.

Az így nyert céltermékek különleges aktivitását kísérletileg határozták meg a T-lymphociták blaszttranszformációs reakciójának serkentése alapján, amely a kontrollhoz képest 212,4[±]15,5 %-al növekedett a I6. sz. példában nyert céltermék felhasználása esetén

A BAA-t 0,5 tömegszázalék mennyiségben- a többi töltőanyag-tartalmazó célterméket gyógyszerként intranazálisan az emberek fertőzőses megbetegetésének megelőzéséhez használták. Az ember mindegyik orrlyukába 2-2 csepp készítményt vittek be, azután masszírozták, biztosítva a folyadék szétfolyását a nyálkahártyán. Az eljárást naponta 2-szer ismételték meg. A hatást a szervezet átlagos állapota és a testhőmérséklet alapján ellenőrizték.

27. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-I4., I6.-2I. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert készítményt 0,00I tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként IO %-s szacharóz-oldatot használtak. A készítményt a méhek feltáplálásához használták. A készítmény egy méhcsaládra I l mennyiségű egyszeres feltáplálása a kontrollhoz képest:

- az életbenmaradás IO0-I60 %-s növekedését;
- a kirepülések számának I50-200 %-s növekedését;
- a mézhordás 35-85 %-s növekedését

biztosította.

28. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-I4., I6.-2I. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert az említett BAA liofilis száritása után 85 tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként fertőtlenítő anyagot használtak. A készítményt a liofilisan kiszáritott porból készült hintőpor formában az égéseknél, sérüléseknél és nyálkahártya-erózióknál fellépő nyílt sebek gyógyításához használták fel. A készítmény alkalmazása a kontrollhoz képest 3-IO-szer gyorsította meg a felújulás folyamatát.

29. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-I4., I6.-2I. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert az említett BAA I,0 tömegszázalék mennyiségű tartalmával állították elő. Töltőanyagként növény-

husos uborka-, alma- és őszibarackpüré típusu gélt használtak. A készítményt kozmetikus célokra használták fel. A gyógyító hatás 2-6 kezelés után jelentkezett, és azt a bőr elasztikussága alapján ellenőrizték.

30. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert 1,0 tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként mézből /15 rész/, vöröshagyma nedvből /3 rész/, fokhagyma nedvből /1 rész/ és bogancsolj^aból /1 rész/ álló gélt használtak. A készítményt maszkként a szőrzet megerősítéséhez használták. A gélt az ember fejére 2-3 órára rakták fel. Az eljárást hetenként 1-szer ismételték meg. A gyógyító hatás 3-10 kezelés után jelentkezett, és azt a szőrzet állapota szerint ellenőrizték.

31. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert 1,0 tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként szpermacettel 1:3 arányban összekevert lanolint használtak. A készítményt kenőcs formában az epidermisz dermatózis utáni helyreállításához használták. A készítmény alkalmazása elősegítette a felújulási folyamatok a kontrollhoz képest 3-6-szoros meggyorsulását.

32. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert 0,1 tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként kakaóolajat használtak. A készítményt kup formában az endometrit betegségek gyógyításához alkalmazták. A gyógyító hatás 10-20 nap múlva jelentkezett, és azt a gyulladásos reakció mutatói, a hisztológiai vizsgálatok, a véranalízis és a váladékok elemzése alapján ellenőrizték.

33. sz. példa

A BAA alapján az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert gyógyszert 1,0 tömegszázalék mennyiségű BAA-tartalommal állították elő. Töltőanyagként 1:3 arányu lanolin-vazelin keveréket használtak. A készítményt kenőcs formában a nyálkahártya-erózió gyógyításához használták, és az elősegítette a felújulási folyamatok a kontrollhoz képest 4-8 szoros gyorsulását.

Kutatási anyagok és módszerek

34. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA aminosavas állományának megvizsgálását három irányban végezték el, és ezeknél a BAA:

- általános aminosav-tartalmát,
- a peptidek és szabad aminosavak a savban nem oldódó fehérjék hiányában való aminosav-tartalmát,
- szabad aminosav-tartalmát

határozták meg.

I. Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA általános aminosavas elemzését az anyag 6-normális sósavban /6 N HCl/, 110° C hőmérsékleten 24 órán keresztül vakuumban végzett hidrolizise útján hajtották végre. A hidrolizis után a mintákat vakuum alatt száraz marónátronnal /NaOH/ kipárolták. A száraz maradékot feloldották kétdecimoláris /0,2 N/ pH=2,2 értékű nátrium-citrát pufferoldatban, és rávitték az aminosav-elemző műszer ioncsérelő oszlopára.

2. A savban nem oldódó fehérjék eltávolításához 0,5 ml mintához 0,5 ml 3 %-s szulfoszalicilsavat adtak hozzá és 1 órán keresztül időnként megkeverték. A denaturált fehérjéket 8000 g gyorsulással 15-20 percig tartó centrifugálás útján távolították el. Az így nyert szupernatantst általános aminosavas elemzésnek vették alá.

3. Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA szabad aminosavtartalmát a minták kétdecinormális /0,2 N/ nátrium-citrát, 2,2 pH-értékű pufferoldattal való egyensúlyozása után határozták meg, és hamutlanított papírszűrőn keresztül való szűrés után az aminosav-elemző készülék ioncsérelő oszlopára vették rá.

Az oszlopokban lévő aminosavak eluálását pH=3,25, pH=4,25 és pH=5,28 értékű nátrium-citrát pufferoldatokkal végezték. A frakcionált aminosavakat ninhidrin reagenssel kezelték, és azok optikai sűrűségét egy átfolyós fotométeren 440 és 570 hullámhosszon határozták meg.

35. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA-ban lévő általános lipidek tartalmát következőképpen határozták meg. 0,5 ml

BAA-t összekeverték 1,5 ml tömény kénsavval /H₂SO₄/ és 95° C hőmérsékleten

H_2SO_4 és 95°C hőmérsékleten 15 percig forralták. Lehűlés után a 0,1 ml hidrolizátumhoz hozzáadták a Chemopol" cég /Csehszlovákia/ 1,5 ml foszfovanilin reagensét, és az általános lipidek tartalmát egy ismert, a különleges elszíneződésen alapuló meghatározási módszer szerint határozták meg /J.M. Knight, S. Anderson, J.M. Rawle. -Clinical Chemistry-1972, -18-p.199/. Az oldat optikai sűrűségét 530 nm hullámhosszon határozták meg.

36. sz. példa

Az I.-26. sz. példához hasonlóan nyert BAA nukleotidtartalmának elemzését következőképpen hajtották végre. A savakban oldódó purin és pirimidin nukleotidokat 1,5-5,5 ml mintából 5 %-s hűtött klórsavval HClO_4 extrahálták. 20 perc hideg extrahálás után a mintákat 2500 g gyorsulással 10 percig centrifugálták, az üledéket 5 %-s klórsavban HClO_4 háromszor kámosták, a szupernatansokat egyesítették és a savban oldódó nukleotidok elkülönítéséhez használták fel. A savban oldódó frakciót egymoláris klórsavval 1 M HClO_4 100°C hőmérsékleten 1 óra alatt hidrolizálták a pirimidin monofoszfátok és a puridin savgyök megjelenéséig. Az oldatokat marókáli KOH segítségével semlegesítették, és a hidrolizátumot a "DAUEX" 50x4 kationcserélőn szétválasztották, a szétválasztáshoz lépcsőzetes eluálást használtak: a hűgysavat és az uridinmonofoszfátot UMF -párlattal H_2O ; a xantint és a citozinmonofoszfátot kétdecimoláris klórsavval $0,2\text{ M HClO}_4$; a hipoxantint négydecimoláris klórsavval $0,4\text{ M HClO}_4$; a guanint egydecimoláris klórsavval $0,1\text{ M HClO}_4$; az adenint pedig kétmoláris klórsavval $2,0\text{ M HClO}_4$ eluálták.

A nukleotidokat azok a kationcserélőn mutatott kromatografikus mozgékonyága szerint, a standarddal összehasonlítva azonosították, valamint a 200-300 nm-n felderített elnyelési szinképek alapján. A nukleotidok mennyiségét a moláris extincia-tényezők értékének felhasználásával határozták meg.

37. sz. példa

Az I.-26. sz. példához hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ a Wister-vonalu patkányok hashártyaváladéka makrofágjainak aktivitása alapján, in vitro kísérletekkel határozták meg, a fermentatív aktivitás a nitrokék tetrazolium diformazanba való redukálásánál /HCT-tesztelés/ mutatott fokozódása

és az E. Coli szerint meghatározott fagocitáris aktivitás fokozódása alapján.

A dekapitirozott állatok hasüregébe tűfecskendővel 20 ml szintelen, 20 egységet/I ml heparinra tartalmazó Chenks oldatot adtak be. A has 2-3 perces masszírozása után a hasüregből egy bemetszésen keresztül a beadott folyadékot ugyan azzal a fecskendővel elszívták, és nylon szűrőn való szűrés után 150-200 g gyorsulással 15 percig centrifugálták. Az így nyert üledéket fél térfogatnyi friss Chenks-oldatban szuszpendálták és újból, ugyan olyan feltételek mellett centrifugálták. Az elkülönített sejtek kimosását 3-4-szer hajtották végre, miután a szuszpenzióban lévő sejtek koncentrációját 80×10^6 sejt/ml értékre vitték. Az összes sejtek szövetváladékában lévő makrofágok tartalma 25-30 %-t tett ki.

A patkányok hashártyaváladéka makrofágjai fermentatív aktivitását spektrofotometriai módszerrel határozták meg a nitrokék tetrazolium diformazanba való redukálása révén. A patkányok hashártyaváladéka sejtjeit szintelen Chenks-oldattal felhígították 80×10^6 sejt/ml koncentrációig. 50 μ l sejtsuszpenzióhoz hozzáadtak 50 μ l pH=7,4 értékű, 1,0 mg/ml koncentrációju mintát. A keveréket 37° C hőmérsékleten, vízfürdőben, állandó rázás mellett 30 perc alatt keltették, azután 50 μ l 20° C hőmérsékleten telített, a "Reanal" /Magyarország/ cég által szállított nitrokék tetrazol oldatot adtak hozzá, és még 30 percig tovább keltették. Utána 3 ml acetont vittek be és 2000 g gyorsulással 20 perc alatt centrifugálták. Az üledék feletti acetonkivonatot 515 nm hullámhosszon fotometrálták.

A fermentatív aktivitás összehasonlító ellenőrzéséhez fiziológiai oldatban készített, tartósítószerrel tartalmazó mintát alkalmaztak.

A patkányok hashártyaváladéka sejtjeinek fagocitáris aktivitását azok E. Coli lekötésképesége alapján határozták meg.

50 μ l sejtsuszpenzióhoz 50 μ l pH=7,4 értékű, 0,05 mg/l peptidkoncentrációval rendelkező mintát adtak hozzá. A keveréket 37° C hőmérsékleten vízfürdőben, állandó rázás mellett, 30 perc alatt keltették. Az inkubáció befejezése után a keveréket 10 ml szintelen Chenks-oldatban 4° C hőmérsékleten szuszpendálták és 150-200 g gyorsulással 15 perc alatt centrifugálták. A patkányok hashártyaváladéka sejtjeinek így nyert üledékét Chenks-oldattal

$2,5 \times 10^6$ sejt/ml koncentrációig hígították. Az így nyert szuszpenziót 0,2 ml mennyiségben 18×18 mm méretű üveglapra vitték rá, és 37°C hőmérsékleten 30 perc alatt 5 %-s szén-dioxid CO_2 atmoszférában keltették a makrofágok üveghez tapadásának céljából.

Az inkubáció után az oda nem tapadott sejtek eltávolításához az üveget háromszor egy Chenks-közeget tartalmazó pohárban kiöblítették. Az üvegen megmaradott sejtekhez 0,2 ml 20×10^6 sejt/ml koncentrációju E. Coli szuszpenziót adtak hozzá és azonos körülmények között keltették 45 perc alatt. A továbbiakban az üveget újból háromszor kiöblítették, metanollal rögzítették és Románovszkij-Gimze szerint megszineztek.

A fagocitáris indexszámot /FI/ a következő képlet szerint határozták meg:

$$FI = \frac{0 + 2,5n + 6t + 9p + 10R}{\text{sejtmennyiségre}} \quad /I/$$

ahol: 0- az E. Colit nem fagocitáló sejtek mennyisége;

n- 1-4 sejtet elnyelt sejtek mennyisége;

t- 5-7 sejtet elnyelt sejtek mennyisége;

p- 8-9 sejtet elnyelt sejtek mennyisége;

R- 10 és több E. Coli sejtet elnyelő sejtek mennyisége.

A makrofágok azonosítását a nem specifikus eszteráza elszíneződése alapján hajtották végre.

38. sz. példa

Az I.-26. sz. példához hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ a Wister-vonalu patkányok vérneutrofiljai aktiválása alapján határozták meg, in vitro kísérleteknél, a nitrokék tetrazolium diformazonba való reakciója révén mutatott fermentatív aktivitásának fokozódása alapján /HCT-teszt/, és az E. Coli iránt mutatott fagocitáris aktivitás fokozódása alapján.

A patkány farokartériájából a vért azonnal a szintelen, geparinnel hígított Chenks-oldattal töltött kémcsövekbe szedték össze és összekeverték. Az így nyert keverékhez 6 %-s dektrán T-500-t 3:1 arányban adtak hozzá és egy órára a hűtőszekrénybe helyezték. Az eritrocitok leülepedése után az üledék feletti leukocita réteget pipettával szedték fel, és 250 g gyorsulással 15 percig centrifugálták. Az eritrocitok eltávolítását a leukocita tömegből hemolízis útján valósították meg, a leukocita üledék desztillált vízben való szuszpendálásával, azután pedig Chenks oldatot adtak hozzá és a keveréket centrifugálták. A leukocita üledéket

újából friss Chenks-oldatban szuszpendálták és azonos feltételek mellett centrifugálták. A leukocitok kimosását 3-szor ismételték meg.

A vérneutrofilok fermentatív aktivitását spektrofotometrikus módszerrel a nitrokék tetrazolium diformazánba való redukálása alapján határozták meg.

A patkányok fehér vérsejtjei üledékét szintelen Chenks-oldattal higitották 80×10^6 sejt/ml koncentrációig. $100 \mu\text{l}$ sejtsuszpenzióhoz $300 \mu\text{l}$, az I.-26. sz. példák szerint nyert BAA-t adtak hozzá, amely pH-értékét 7,4-re és a peptidek koncentrációját $1,0 \text{ mg/l}$ értékre vitték. A keveréket 37°C hőmérsékleten, vízfürdőben, 30 perc alatt, állandó rázás mellett keltették, miután $400 \mu\text{l}$, a "Reanal" /Magyarország/ cég által gyártott nitrokék tetrazolium oldatot adtak hozzá és az ezt követő műveleteket a 37. sz. példával azonos sorrendben hajtották végre.

A patkányok fehér vérsejtjei fagocitáris aktivitását azok az E. Coli sejtek iránt mutatott lekötőképességük alapján határozták meg.

$50 \mu\text{l}$ leukocitasuszpenzióhoz $50 \mu\text{l}$, pH=7,4 értékű és $0,05 \text{ mg/ml}$ peptidkoncentrációju BAA-t adtak hozzá. A keveréket keltették, majd 4°C hőmérsékleten 10 ml szintelen Chenks-oldatot adtak hozzá és $150\text{--}200 \text{ g}$ gyorsulással 15 percig centrifugálták. A leukocita üledéket $0,3 \text{ ml}$ Chenks-oldattal higitották és $0,05 \text{ ml}$ 500×10^6 sejt/ml koncentrációval rendelkező E. Coli szuszpenziót adtak hozzá, majd 30 perc alatt 37°C hőmérsékleten keltették. A keltetés után keneteket készítettek, amelyekben a színezés után a fagocitáló sejtek mennyiségét és a fagocitózis mutatót a 37. sz. példához hasonlóan számították ki.

39. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ in vivo kísérletekkel a BALB/C vonalú egereknek határozták meg. Az állatoknak a készítményből bőr alá adott injekciót adtak be két nap időszakkal, $0,5 \text{ ml/I kg}$ testsúlyra adagban és $1,0 \text{ mg/ml}$ peptidkoncentrációval. Az immunmoduláló tulajdonságok vizsgálatát az utolsó injekció után eltelt két nap múlva hajtották végre. Minden egyes kísérletnél legalább 10 állatot használtak. Kontrollként az említett séma szerint $0,08 \%$ -s fiziológiai oldatban oldott tartósítószerrel kezelt állatok szolgáltak.

A lymphociták blaszttranszformálási reakciójának meghatározásához a T-sejtmitogén minőségében a fitohemaglutimint /FHH/ használták, a B-sejtmitogén minőségében pedig az E. Coli lipopolidszacharidot /LPSz/. A patkányok lépéből elkülönített lymphocitákat az adott mitogénekkal együtt 37°C hőmérsékleten 72 óra alatt 5 %-s széndioxid atmoszférában keltették. A sejtek proliferációjának szintjét radiometrikus módszerrel értékelték a ^3H -timidin bekapcsolása szerint. E célból a kultúrákhoz ^3H -timidint adtak hozzá $/3,7 \times 10^4 \text{ Bk/I mintára/}$, és 3 óra alatt keltették. Utána a mintákat millipórusos szűrőkre vitték rá /"Szinpor", 5. sz., CsSzSzR/, a I99-s közegben háromszor, majd ~~szűrőre~~ triklórecetsavban /TKE/ és etanolban mosták ki. A szűrőket kiszáritották, ZsSz-IO6 típusú szcintilláló folyadékot tartalmazó üvegbe helyezték, és a minták radioaktivitását a "Marék-III" számláló segítségével határozták meg.

40. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló hatásosságát /tulajdonságát/ az egérszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése alapján határozták meg in vivo kísérleteknél. Az állatoknak két nap alatt két, bőr alá beadott 0,05 ml/I kg testsúlyra adagu, 1,0 mg/ml peptidkoncentrációval rendelkező injekciót adtak be. Az immunmoduláló tulajdonságok megvizsgálását az utolsó injekciót követő napon végezték el. Minden egyes kísérletnél legalább 10 állatot használtak fel. Kontrollként az említett séma szerint 0,08 %-s fiziológiai oldatban oldott tartósítószerrel kezelt állatok szolgáltak.

A szplenocitok természetes killeraktivitásának állapotát az YAC-I2 egerek ^{51}Cr krómizotóppal jelzett lymphomasejtjein határozták meg. A keltetést 18 óra alatt a céltábla-sejtek és effektor-sejtek 1:25 $/1 \times 10^5 : 2,5 \times 10^6 \text{ sejt/}$ arányában végezték. Az effektor-sejtek citotoxikus aktivitásának megfelelő ^{51}Cr krómizotóp specifikus felszabadulását a következő képlet szerint számították ki:

$$^{51}\text{Cr} = \frac{\text{/a kísérletnél felszabadult/} - \text{/spontánan felszabadult/}}{\text{/maximális felszabadult/} - \text{/spontánan felszabadult/}} \times 100$$

ahol a maximális felszabadulás olyan radioaktivitást jelent, a amelynél az összes sejtek lizitáltak.

Kontrollként az ajánlott BAA-gok természetes killeraktivitásának meghatározásához a fiziológiai oldatban oldott tartósítószeret alkalmazták.

4I. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló hatásosságát /tulajdonságát/ az egerek tymusza funkcionális aktivitásának alapján határozták meg in vivo körülmények között végrehajtott, a 39. sz. példával azonos kísérletekkel. A hatást a timikus szérumtényező /TSzT/ títerszáma alapján értékelték. A módszer a pajzsmirigy-hormonok azon képességén alapul, hogy azok redukálják a felnőtt, timektomált egerek spontán rozetta sejtjeinek az antitimocita sav iránti érzékenységét.

A kísérleti egerek vérsavóját az "Amicon" cég CENTROFILO CF-50A rendszer ultraszűrőjén engedték át. A reakciónál 0,1 ml tiszta és sorozatban I99-s közeggel hígított savót használtak fel. Kontrollként a I99-s közeg szolgált.

Az egerek lépjét a timektomia után IO-I4 nap múlva vették el. A lépből a sejteket preparáló tű segítségével a I99-s közegben történő szövetszétosztatás révén nyerték ki. A kapronsztán keresztül való szűrés után a sejteket kétszer kimosták a I99-s közegben 4000 g gyorsulással. Az üledéket a közegben reszuszpendálták 4×10^7 sejt/ml koncentrációig és így 0,1 ml térfogatnyi lebegőanyagot nyertek, amelyet hozzáadtak a savót és I99-s közeget tartalmazó kémcsövekbe. A kémcsövek tartalmát pipetta segítségével keverték össze és 37° C hőmérsékleten 60 perc alatt keltették.

A keltetés után mindegyik kémcsőbe 0,1 ml antitimocita savót és tengeri malac védőanyagot adtak hozzá I:IO arányu hígítással. A lebegőanyagot 37° C hőmérsékleten még 30 percen keresztül keltették. Utána a keverékhez 0,1 ml bárányvérsejt-szuszpenziót adtak hozzá 12×10^7 sejt/ml/, összekeverték, 250 g gyorsulással 5 perc alatt centrifugálták és $4-8^{\circ}$ C hőmérsékleten 60 perc alatt keltették. A kémcsövekben lévő üledéket 5 percig reszuszpendálták. A rozettákat a Gorjájev-kamrában számolták. Rozetta minőségben a négy és több vérsejtet magához csatoló lymphocitát vették figyelembe. A TSzF-titer minőségében a savó utolsó hígítása számított, amely a rozettaalkotó sejtek /RAS/ 50 %-s redukcióját váltja ki a kontrollhoz képest. Az eredményeket a titer 2-alapu logaritmus alakjában fejezték ki, vagyis $\log_2 A$ alakban, ahol A- a titer érték

42. sz. példa

Az I.-26. sz. példához hasonlóan nyert BAA hatásosságát, amely a patkánymáj-hepatocitok reparálóképességének fokozódásában mutatkozik in vivo, a szén-tetraklorid / CCl_4 / bőr alá adott befejecskendezése után, a Na,K-ATF-ázis aktivitásának redukciója alapján, következőképpen határozták meg.

A 230-250 g súlyú Wistar-vonalú himpatkányoknak 4 nap alatt minden napon szén-tetraklorid / CCl_4 /, növényolajjal 1:1 arányban keverve egyesített, 4,0 ml/1 kg testsúlyra adagú bőr alatti injekciót adtak be. 4 órával az első szén-tetraklorid / CCl_4 / injekció után a kísérleti állatoknak beadták a 4 közül a készítmény első bőr alatti injekcióját 0,05 mg/1 kg testsúlyra adagban és egy nap időszakkal. Az anyag hatásosságát az utolsó injekció utáni napon regisztrálták. Az összehasonlító kontrollhoz az állatok hasonlóan szén-tetrakloriddal megtámadott, de a vizsgálandó BAA alkalmazása nélkül kezelt máját használták fel, valamint az intakt állatok máját.

A Na,K-ATF-aktivitás meghatározásához a hepatocit sejtmembránok frakcióit használták fel. E célból három patkány hűtött májának 15 g-ját 150 g pH=7,5 értékű egymillimoláris borát pufferoldatban /1 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ / homogenizálták ötvendecimillimoláris kálium-klorid /0,5 mM CaCl_2 / oldat jelenlétében, és ehhez egy kézi üveg-teflontörővel ellátott homogenizáló készüléket használtak. A homogenizált keveréket 4° C hőmérsékleten 150 g gyorsulással 10-12 percig centrifugálták. Az így nyert szupernatantot ismételtén 20 percig centrifugálták 100 000 g gyorsulással, és a kinyert üledéket 3-szor 130 ml pufferoldatban kimosták a centrifugálás azonos feltételei mellett. A kimosás után az üledéket pufferoldatban reszuszpendálták, a fehérje-koncentráció értéket az SDS-Louri módszer szerint 3,0 mg/ml értékig emelve, amelyet az elemzéshez használtak fel.

A membrán-frakció elnyerésének összes műveletét hideg állapotban hajtották végre.

A hepatocitok plazmatikus membránjának Na,K-ATF-aktivitását standard, hatvanhatmillimoláris nátrium-kloridból /66 mM NaCl/, harmincnégymillimoláris kálium-kloridból /34 mM KCl/, ötmillimoláris magnézium-kloridból /5 mM MgCl_2 /, huszonötmillimoláris /25 mM/ Trisz-HCl-ből álló közegben határozták meg, amelybe a ki-

sérlet előtt ötmillimoláris adenozintrifoszforsavat /5 mM ATF/ adtak hozzá.

Az említett 1,8 ml standard közeghez 0,2 ml, 3,0 mg/ml fehérjekoncentrációju szuszpenziót adtak hozzá, és 37° C hőmérsékleten 15 perc alatt keltették, utána a reakciót megszüntették, hozzáadva 0,6 ml 50 %-s triklórecetsav /TKE/ oldatot. A keveréket 300-500 g gyorsulással 15 percig centrifugálták. Az így nyert 1,0 ml szupernatantshoz 4 ml kétdecimoláris /0,2 M/ pH=4,0 értékű acetát pufferoldatot, 0,5 ml 1 %-s kénsavban /H₂SO₄/ oldott, ammonium-molibdát oldatot, 0,5 ml 0,16 %-s rézgalic /CuSO₄/ oldatban oldott aszkorbinsavat adtak hozzá, és keverés után 25° C hőmérsékleten 10 percig keltették. Az optikai sűrűséget spektrométeres módszerrel 700 nm hullámhosszon határozták meg.

A Na,K-ATF-aktivitást az általános ATF-aktivitás és az Mg-ATF-aktivitás különbsége alapján számították ki. A Mg-ATF-aktivitás meghatározásához hasonló vizsgálatokat végeztek, de 0,6 ml triklórecetsav helyett /TKE/ a keverékbe 0,3 ml 0,05 %-s sztrofantin oldatot adtak hozzá.

Meg van állapítva, hogy a máj szén-tetrakloriddal /CCl₄/ való toxikus sérülése esetén a Na,K-ATF-aktivitás 3,5-szer csökken, de a találmány szerinti BAA alkalmazása esetén, mint a 16. sz. példában, ez az aktivitás a kísérletnél a normához képest legalább 80 %-al helyreállt. Ugyan ilyen feltételek mellett az ismert "Eszenciálé" készítmény a Na,K-ATF-aktivitást 43,0[±]4,8 %-l állítja helyre.

43. sz. példa

Az I.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA hatásosságát, amely a patkánymáj hepatocitok reparálóképességének fokozódásában nyilvánul meg /in vivo/ a szén-tetraklorid /CCl₄/ bőr alá való beadása után, a véraminotranszferázok aktivitásának helyreállása és a patkánymáj-hepatocitok káliumkoncentrációjának /K⁺/ alapján a következőképpen határozták meg.

A 42. sz. példához hasonlóan kezelt állatoknál a vér-amino-transzferázok aktivitását a "Chemapol" /Csehszlovákia/ cég teszt-rendszere szerint fotometrikus módszerrel a különleges elszíneződés alapján vizsgálták meg /S. Reitman, S. Frankel, -American Journal of Clinical Pathology, -1957-28-56/

0,25 ml egydecimoláris /0,1 M/ Leaszpartát oldatot, kétmillimoláris /0,002 M/ 2-oxodutarat és egydecimolá-

ris /0,1 M/ foszfát pufferoldatot tartalmazó, pH=7,4 értékű oldathoz 0,05 ml patkány vérsavót adtak hozzá és 37° C hőmérsékleten 60 perfig keltették. A keltetés után az oldatba 0,25 ml millimoláris /0,001 M/, egymoláris sósavban /1 M HCl/ oldott 2,4-dinitrofenidhidrazint adtak hozzá, és amintát 20 percig szobahőmérsékleten tartották, azután pedig 2,5 ml négydecimoláris /0,4 M/ marónátront /NaOH/ adtak hozzá, megkeverték, és 20 percel utána 520 nm hullámhosszon megmérték az oldat optikai sűrűségét a kontroll oldathoz képest, amelybe 0,05 ml vérsavó helyett 0,05 ml fiziológiai oldatot adtak hozzá.

A máj szén-tetraklorid /CCl₄/ toxikus sérülése egyúttjár a hepatocitok roncsolásával és megfelelő aminotranszferáz-hozammal, és ezzel kapcsolatban azok aktivitása a vérsavóban a 2-szeresére növekszik. Ugyanakkor a találmány szerinti BAA a 16. sz. példához hasonló alkalmazása lehetővé teszi, hogy a kísérletben az ilyen aktivitást a normához képest teljesen helyre állítsák.

Az ismert "Eszenciálé" készítmény ugyan olyan feltételek mellett a vérben lévő aminotranszferázok aktivitását 87,2[±]7,4 %-1 állítja helyre.

A kísérleti patkányok májhepatocitjaiban lévő káliumkoncentrációt /K⁺/ szabványos lángfotometriai Brikker-módszerrel, a PFM-I típusu lángfotométeren határozták meg /Brikker V.N. A K, Na-tartalom meghatározása lángfotometrius módszerrel.-Laboratornoe gyelo-I96I-7-3-6. old/.

Meg lett állapítva, hogy a máj szén-tetraklorid /CCl₄/ által való toxikus sérülésénél a Na,K-ATF-aktivitás 3,5-szer csökken, és ez egyúttjár a májhepatocitokban a K⁺-koncentráció 40 %-s csökkenésével. Ugyanakkor a találmány szerinti, a 16. sz. példához hasonlóan nyert BAA alkalmazása lehetővé teszi a K⁺-koncentráció legalább 55 %-s helyreállítását.

Az ismert "Eszenciálé" készítmény ugyan olyan feltételek mellett a hepatocitok K⁺-koncentrációját 33,0[±]6,2 %-1 állítja helyre.

44. sz. példa

A 16. sz. példával azonosan nyert BAA és az anyag alapján nyert készítmény alkalmazásánál fellépő regeneráló folyamatok serkentését a patkányok kriogén hatással kiváltott gyomorfekélyének kísérleti modelljén hajtották végre.

A I90-200 g súlyú himpatkányoknál éteres narkózis alatt végrehajtották a hasfal felső harmada laparotómiáját, a gyomrot kivezették és a gyomor nyálkahártyáját 10 másodperc alatt folya-

dék nitrogénben 7 mm átmérőjű fémpálcával kriogén hatás alá vetették egy ismert módszer szerint /Vertelkin V.A. A kísérleti gyomorfekély kiváltásának kriogén módszere.- Ptológia, fiziológia és kísérleti módszerek-I987-2. sz.-77-78 old./ . Azután a gyomrot vissza helyezték a hasüregbe és a sebet bevarrták. Az 5-ik napra az állatoknál gyomorfekély jelentkezett, amely morfológiailag az ember gyomorfekélyéhez hasonlít, és az állatok gyógyítása nélkül a 3-4 heten behegedet.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján nyert készítmény regeneráló tulajdonságának hatásosságát a sebek behegedésének gyorsulása alapján határozták meg az állatok nem kezelt kontrollcsoportjához képest, valamint az Alkoloid-Skopje /Jugoszlávia/ cég ismert "Szolkoszeril" biostimuláló szer által kiváltott hatásához képest, amelyet a "Solco Basel" /Svájc/ cég licence alapján gyártják. A regeneráló folyamat ellenőrzését biokémiai módszerrel a műtét utáni 5-ik, 15-ik és 25-ik napon a fekélyben lévő malondialdehid /MDA/ szint szerint, patomorfológiailag pedig a megtámadott gyomor rész metszete alapján a nyálkahártya sérülési területének megméréssel hajtották végre.

A megtámadott gyomorszövet MDA szintjét tiobarbitursav segítségével határozták meg és kiszámították a MDA fajlagos koncentrációját a mintában 1 mg fehérjéhez képest egy ismert módszer szerint /Sztálynájá I.D. Korszerű biokémiai módszerek,-M.,-I977,-66-68 old./.

A regeneráló folyamatokra gyakorolt hatás tanulmányozását a BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben - a többi töltőanyag - tartalmazó, a 16. sz. példához hasonlóan nyert készítmény alkalmazásával hajtották végre, töltőanyagként pH=7,2 értékű centimoláris sós foszfát pufferoldatot használtak /0,01 M PBS/.

A műtét utáni ötödik naptól kezdve, amikor kialakult a gyomorfekély, az állatoknak 20 nap alatt minden napon csoportonként intramusculáris injekciókat adtak be:

1. kontrollcsoport: /0,01 M PBS/ 0,5 ml adagban;
2. Kísérleti csoport: a találmány szerinti BAA-t 0,5 ml/kg adagban;
3. Kísérleti csoport: a találmány szerinti BAA-t 0,05 ml/kg adagban;
4. "Szolkoszeril" hasonló gyógyszert 0,5 ml/kg adagban.

Az intakt állatcsoport volt az a minta, amely szerint összehasonlították a homeosztázis paraméterek rendezését.

A kísérlet folyamatán meg lett figyelve, hogy a 15-ik napon

a találmány szerinti BAA 0,05 ml/kg adagban az MDA szintet az állatok nem kezelt kontrollcsoportjához képest 80 ± 12 %-1 állította helyre, és ez a szint $87 \pm 1,3$ %-1 maradt magasabb, mint az intakt állatoknál, 0,5 ml/kg adagban pedig rendezte ezt a szintet az intakt állatok állapotáig. Ugyan ez határidő alatt a "Szorkoszeril" készítmény 38 ± 16 %-1 csökkentette az MDA szintet és a 25-ik napon sem mutatott hatást, vagyis ugyan azon a szinten maradt és 21 ± 9 %-1 volt magasabb, mint az intakt állatoknál. A 2. és 3. kísérleti csoportoknál az MDA szint a 25-ik napon teljesen helyreállt.

Hasonló eredményeket értek el a patomorfológiai vizsgálatoknál is. A műtét utáni 5-ik napon a patkányok gyomorja nyálkahártyájának sérülési területe $13,0 \pm 1,0$ mm volt és a 15-ik napra a kontrollcsoport állatoknál 9,5 mm-ig csökkent.

A 2. és 3. sz. állatcsoportoknál erre a határidőre a sérülési övezetek csatlakoztak egymással, a 4. sz. csoportnál elmosódtak és gyengén kifejezettek voltak.

A sérült gyomor-rész-metszetek hisztológiai vizsgálatánál megjegyezték, hogy a 2. sz. csoportnál a desztuktív változások gyengébben vannak kifejezve, a reparációs folyamatok korábban kezdődtek, mint a többi állatcsoportnál.

A fekélyszélek a kötőszövet és az e területre nem jellegzetes nyálkahártya-mirigyhám kiszélesedése által csatlakoztak egymáshoz. A nyálkahártya hiányossága teljesen pótlódott a mirigyparenchima szerkezeti átalakulása következtében, a granuláris és érett kötőszövet mérsékelten volt kifejezve.

A "Szorkoszeril" készítménynél az ilyen hatás kisebb mértékben jelentkezett és a desztuktív zavarok nem csak a nyálkahártyán hanem a gyomor piloranterális nyálkahártyáján is jelen voltak. Termékeny gyulladásos reakcióval rendelkező, fibrióblasztokkal, plazmatikus sejtekkel, hisztiocitokkal és leukocitokkal gazdag mezők is találhatók. E ismérvek szerint ez a csoport nagyon hasonlított az állatok kontrollcsoportjához.

Igy az ilyen jellegű kísérleti adatok megmutatják a találmány szerinti BAA képességét a regeneráló folyamatok serkentését illetően, és emellett a találmány szerinti BAA hatásossága lényegesen felülmúlja a hasonló ipari, széles körben ismert regeneráló biostimuláló "Szorkoszeril" készítményt.

A találmányt az idézett konkrét kivitelezések nem határolják be. A szabadalmi igénypontok által meghatározott lényeg és terje-

delem keretében különböző más kivitelezés is megvalósítható.

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag
és az anyag alapján nyert készítmény összetéte-
lének és tulajdonságainak elemzése

A találmány szerinti BAA azonosítása a többi biológiailag aktív anyagok között közvetlenül az anyag biokémiai analizise alapján és közvetve a találmány szerinti anyag által mutatott immunmoduláló hatás értéke alapján lehetséges.

Még van állapítva, hogy éppen a találmány szerinti BAA-ban lévő módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponensek tartalma biztosítja a szervezet immunreakciójának a kontrollhoz képest lényeges fokozódását. Ez lehetővé teszi a találmány szerinti BAA a következő mutatók szerinti azonosítását:

a. A patkányok hashártyaváladéka makrofágjai aktivitása fokozódásának alapján, mégpedig a makrofágok HCT-teszt szerinti fermentatív-aktivitásának legalább 61 %-s növekedése alapján /a kísérleteknél a magyar "Reanal" cég HCT-nitrokék tetrazoliuma használata esetén/, és az E. Coli fagocita-aktivitás legalább 49 %-s növekedése alapján;

b. A patkányok vérneutrofiljai aktivitásának növekedése alapján, mégpedig a HCT-teszt szerint ellenőrzött fermentatív-aktivitás legalább 75 %-s növekedése alapján /a kísérleteknél a magyar "Reanal" cég HCT-nitrokék tetrazoliuma használata esetén/ és az E. Coli fagocita-aktivitás legalább 52 %-s növekedése alapján;

c. A T-lymphociták blaszttranszformációs reakciójának legalább 52 %-s, és a B-lymphociták legalább 69 %-s növekedése alapján;

d. A tymusz funkcionális aktivitásának fokozódása alapján, a patkányvérben a timikus savótényező /TST/ tartalmának legalább 234 %-s értéke alapján;

e. A patkányszplenociták természetes killeraktivitásának legalább 62 %-s növekedése alapján;

f. A szén-tetraklorid /CCl₄/ beadása után a patkánymáj-hepatocitok által mutatott, a plazmatikus membránokat stabilizáló képesség növelése alapján:

- az Na,K-ATP-aktivitás legalább 30 %-s helyreállításával;
- a patkányok vértranszferáza-aktivitásának legalább 61 %-s helyreállításával;

- a patkánymáj-hepatocitoknál a kálium /K/ és nátrium /Na/ arány legalább 20 %-s helyreállításával.

Emellett az összehasonlítás alapjául azt az ellenőrzést használták fel, amelynél a szervezetbe a fiziológiai oldatban oldott tartósítószerrel adták be.

A fent említett találmány szerinti BAA immunmoduláló és regeneráló hatásának /tulajdonságának/ mutatórendszere lehetővé teszi a BAA azonosítását az anyag által tanúsított biológiai aktivitás alapján, mégpedig az anyag az immunmoduláló és regeneráló folyamatok stimulátora minőségében.

A találmány szerinti BAA-nál és az anyag alapján nyert készítménynél kifejezett, a regeneráló folyamatok serkentésére és különböző patológiáknál a szervek és szövetek funkcionális aktivitásának helyreállítására, valamint a gyulladásos betegségek gyógyítására irányuló hatás figyelhető meg, amelyeknél az anyag hatásossága jelentősen felülmúlhatja az ismert BAA-gok és hasonló rendeltetésű készítmények hatásosságát.

Igy, a máj a hepatit modellen végzett sérülésének feltételei mellett kiváltott reparáló folyamatok aktiválása védőhatást gyakorol a hepatocitok plazmatikus membránjaira a citolízis szindróma jelentős csökkentésével /az aminoszferáz-koncentráció a vérben a 16. sz. példához hasonlóan nyert BAA alkalmazása esetén legfeljebb 5 %-al növekedik a kontrollhoz képest 110-140 %-al szemben/. A membrán összekötetésű fermentek /Na,K-ATF-ázok/ aktivitása a kontrollhoz képest 75-90 %-al redukálódik, ami nagy mértékben helyreállítja a sejten belüli és sejten kívüli K/Na ionegyensúlyt. A találmány szerinti készítmény az e mutatók szerinti hatása felülmúlja az ismert hepatotrop "Eszenciálé" készítmény hatását, amelynél ezek a mutatók megfelelően 7-20 %-t és 38-48 %-t tesznek ki /a 42., 43. sz. példák/. A találmány szerinti BAA alapján nyert készítmény jelentősen felülmúlja az "Eszenciálé" készítményt a bilirubin-koncentrációt, a lipid-anyagcserét, és a máj antitoxikus funkciójának normalizálását illető képességében is.

A találmány szerinti BAA alapján nyert készítmény inhibitor hatást gyakorol a lipidek a mérgezett állatok hepatocitjai membránjain lezajló peroxid oxidálásának folyamatára és növeli a vér glutationfüggő antioxidáns rendszerének aktivitását, és emellett nem változtatja a máj mikroszóm oxidálásáért felelős fermentek aktivitását és az R-450 citokrómtartalmat.

A találmány szerinti BAA jelentős mértékben aktiválja nem csak a reparációs, de a regeneráló folyamatokat is, amelyek elősegítik a szerv tömegének helyreállítását és az elpusztult sejtek proliferáló sejtekkel való helyettesítését a szerv megmaradott részéből.

Igy, a patkánymáj részletes hepatektomia utáni regeneráló folyamat aktiválására irányuló kísérletnél meg lett állapítva, hogy a 16. sz. példa szerint nyert készítmény az állatoknak a műtét előtti 2 naponkénti 4 injekciójának beadása jelentősen serkentette a transzszkripció-folyamatok gyorsulását, valamint a hepatocitok DNS-polimeráz magösszeségének aktivitásának megnyilvánulását. A találmány szerinti készítmény aktiválja a B-DNS-polimerázt, amely a sejt genetikai szerkezetének reparációjáért felelős, és proliferációs folyamatoknál serkenti az A-DNS-proliferáz aktivitását, amely a replikációért felelős. Ez lehetővé teszi a sejtek proliferációjának és a más, a regenerációnál lezajló redukáló folyamatok ütemének jelentős növelését.

Az ilyen hatás jelentőségét egy olyan körülmény figyelembevételével kell értékelni, hogy az adott modellrendszer elég mereven van meghatározva és nagyon nehezen engedi meg a bármilyen aktiválást.

A találmány szerinti BAA által aktivált sejten belüli folyamatok elősegítik a patológiai folyamatoknál a funkcionális mutatók rendezését, és emellett nem zavarják az intakt állatok funkcionális állapotát és májszerkezetét.

E jelenség nagy mértékben a szervezet immunrendszerében lezajló felújulási folyamatokra gyakorolt hatásán alapul, és elsősorban a mononukleáris fagocita rendszerre /MFR/ gyakorolt hatáson, ahol a szövetmakrofágok szerepe a meghatározó. A májban az ilyen makrofágok a Cooper-sejtek, amelyek ellenőrzik a szerv regeneráló és reparáló folyamatait.

Azok serkentéséhezmeleg a készítmény néhány injekciója. Azután már a második napon az összes MFR-sejtek, és elsősorban a Cooper-sejtek kiterjesztett reakciója mutatkozik, ami a vérmederből való idegen anyagok eltávolításának gyorsulására utal. Növekszik a baktérium elleni aktivitás és a hashártyaváladék makrofágjai és vérneutrofiljai fagocitózának befejezettsége, aminek nagy jelentősége lehet a baktériumok által kiváltott fertőzések, valamint gyulladásos betegségek gyógyításánál és megelőzésénél.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján nyert készítmények hatása a regeneráló folyamatok serkentéséhez a sebesüléseknél és sérüléseknél szenvedett fekélyek, sebek, epidermisz-sérülések gyógyításánál is mutatkozik.

Ilyen viszonyban hatásosságuk felülmúlja a készítmény ipari analógja- a "Szolkoszeril" ismert regeneráló biostimulátor hasonló mutatóit /44. sz. példa/.

A találmány szerinti anyag és az anyag alapján nyert készítmény felhasználása pozitív eredményekhez vezetett az állatok szervezetébe való beadagolásnál a gyulladásos folyamatok gyógyításánál. Így, a kísérletileg a Szelje-szerinti Rosen- módosításu "zsebmodellen" kiváltott proliferációs gyulladás gyógyításánál /A standard aszeptikus gyulladás regenerálódásának módszere,- Patológiai és kísérleti fiziológia,-1961-5, 6. sz.-72-76 old/ a találmány szerinti BAA alapján nyert készítmény a "Szolkoszeril" készítményhez képest kétszer hatásosabban nyomta el a granulátos-rostos szövet alakulását és a váladék képződését.

A tehenek tüdőgyulladásának gyógyításánál a kigyógyulást az esetek 80-93 %-ban figyelték meg, ugyanakkor az ismert BAA-gok alkalmazásánál, ugyancsak, mind az antibiotikumok a "Masztiszan" gyulladás elleni készítménnyel együttes használatánál a kigyógyulást csak az esetek 70 %-ban figyelték meg, és a kontrollcsoport spontán gyógyítása esetén az esetek 53-63 %-ban. A borjúk tüdőgyulladásának gyógyításánál a következő eredményeket érték el: a találmány szerinti BAA használata esetén a kigyógyulást az esetek 85-95 %-ban figyelték meg; az ismert BAA-nál az esetek 69 %-ban; antibiotikumok és a "Boviverex" készítmény alkalmazásánál az esetek 60-70 %-ban, a kontrollcsoportnál az esetek 48-61 %-ban. A teheneknél fellépő endometritok gyógyításánál a kigyógyulást az esetek 80-95 %-ban figyelték meg, ugyanakkor az ismert BAA alkalmazásánál, ugyancsak, mint az antibiotikumok az "Oxitocin" készítménnyel együttes alkalmazásánál a kigyógyulást legfeljebb az esetek 70 %-ban figyelték meg.

A kísérlet folyamán az ismert és a találmány szerinti BAA immunmoduláló és regeneráló tulajdonságait egy, a megvizsgálandó objektumokat azonosító munkacsoportnak megfelelően határozták meg. A kísérleti eredményeket a 6. sz. táblázat tartalmazza, amelyben ki vannak mutatva az ismert I.sz. BAA hatásának mennyiségi mutatói, amelyet az US-A-4455302-ben ismertett technológia szerint nyertek, és a 2. sz.BAA hatásának mennyiségi mutatói az EP-A-

-03I8030-ban közölt adatok alapján és a találmány szerinti BAA a WS, PM, TS, LM és CW csoportok szerint: képviselt és a következő eredmények alapján összefoglalt mutatói:

WS- az I.-4. sz. példák /a sejtmembrán-komponensek/ alapján;

PM- az 5.-6. sz. példák /a plazmatikus sejtmembrán-komponensek/ alapján;

TS- a 9.-14. sz. példák /a termotabil sejtmembrán-komponensek/ alapján;

LM- a 16-19. sz. példák /a kismolekulájú, $M < 10,0$ kDa értékű sejtmembrán-komponensek/ alapján;

CW- a 20-21. sz. példák /a kismolekulájú szénhidrát-tartalmu sejtmembrán-komponensek/ alapján.

A kontroll objektum minőségében a tartósítószer tartalmazó nátrium-klorid fiziológiai oldatot használták. Az eredményeket a 6. sz. táblázat foglalja magába, és azok összehasonlítónak jellemzik a találmány szerinti és az ismert BAA-gokat.

A kimutatott eredmények a találmány szerinti, meg nem állapított szerkezetű keverék alakjában nyert BAA jellemzéséhez tartoznak és szükségesek az anyag rendeltetését feltételező hatásán keresztül való azonosításához.

A találmány szerinti BAA azonosításának lehetőségén kívül, a 6. sz. táblázat adatainak elemzése lehetővé teszi a találmány szerinti BAA által biztosított eredmény értékelését is, amely a biológiai aktivitás tulajdonságának jelentős javulásából áll és a benne lévő módosított szerkezetű sejtmembrán-komponensek, amelyek hatása az ismert BAA nem ismert, általános mennyiségi mutatóként kezelhető.

Azonkívül a 6. sz. táblázat adatainak elemzéséből az is következik, hogy a találmány szerinti BAA-nál az immunmoduláló hatás lényegesen fokozódik olyan esetekben, amikor az anyag PM-BAA plazmatikus sejtmembrán-komponenseit, az ST-BAA termotabil sejtmembrán-komponenseit, valamint a LM-BAA kismolekulájú komponenseit és a CW-BAA szénhidrát-tartalmu komponenseit tartalmazza, emellett az említett hatás e sorbani növekedése balról jobbra irányul.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmény tulajdonságai szoros összefüggésben vannak az anyag összetételével.

Ahogy azt a biokémiai elemzés eredményei is kimutatják /a 7. sz. táblázat/ a BAA összetétele. . . főleg olyan szerves vegyületeket tartalmaz, mint a polipeptidek, peptidek, aminosavak, kötött és szabad szénhidrátok, lipidek, nukleotidok és más vegyületek. A 7. sz. táblázat adatai kimutatják a BAA összetételében lévő szerves vegyületek tömeg szerinti elosztását, ha alapanyakként szarvasmarha embrionális szövetet használtak fel. Azonkívül a 7. sz. táblázatban ki vannak mutatva a találmány szerinti BAA különböző kivitelezésű /WS, PM, TS, LM, CW/ elnyerésének eredményei, következésképpen az összes találmány szerinti eljárás szerint.

Az olyan eljárás, amely biztosítja a WS-BAA elnyerését és amely megvalósításánál alapanyagként a sejtmembránok a fent említett folyamatok alatt módosított antigén szerkezetű állati szövetet használnak, megvalósításának eredményén kívül a 7. sz. táblázat magába foglalja a találmány szerinti BAA módosított plazmatikus PM-BAA komponensekkel, a termotabil TS-BAA komponensekkel, a kismolekulájú LM-BAA komponensekkel, valamint a CW-BAA szénhidrát-tartalmu, főleg glikopeptidek, glikollipidek, oligoszénhidrátok, nukleotidok és/vagy szabad monoszénhidrátok alakjában lévő komponensekkel való elnyerésének eredményeit is.

A 6. és 7. sz. táblázatok adatai lehetővé teszik a BAA találmány szerinti és ismert . . . előállításának eredménye összehasonlító elemzését, valamint a BAA-gok összetételének és tulajdonságainak összehasonlítását.

Az összehasonlító elemzés megmutatja, hogy a különleges aktivitás a BAA hatásának minőségi mutatója alakjában az anyagok összetételétől függ- az ismert BAA-nál az összetétel-ingrediensek aránya nem biztosítja a szükséges hatást, ugyanakkor a találmány szerinti BAA-ban az ingrediensek aránya jelentősen növeli a különleges aktivitást.

A találmány szerinti BAA biokémiai összetételének jellegzetes sajátossága a szénhidrát-tartalmu komponensek jelenléte, amelyek nagy mértékben meghatározzák a szövet-sejtmembránok antigén szerkezetét a módosítási folyamatok alatt. Eppen ezért a kismolekulájú, $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű /oligoszénhidrátok, glikolipeptidek, glikollipidek, nukleotidok/ sejtmembrán-komponensek legaktívabb frakcióinak szénhidrát-tartalma meghatározó a találmány szerinti BAA azonosításánál és jellemzésénél. Ezzel kapcsolatban lényeges mutató a szénhidrát- és peptidtartalom aránya az

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően		
		I. sz.	2. sz.	WS
1. A patkányok has- hártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásá- nak növekedése, %-ban az ellenőrzés- hez képest	a fermenta- tív aktivitás /HCT-teszt/	46,8 ± 4,3		70,2 ± 8,9
	az E. Coli sze- rinti fagocita aktivitás	33,4 ± 4,3		61,4 ± 12,1
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenőr- zéshez képest	a fermenta- tív aktivitás /HCT-teszt/	67,2 ± 3,8		84,3 ± 9,4
	az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	44,2 ± 5,7		61,1 ± 9,0
3. A blasztátalakulá- si reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál	42,3 ± 4,6		58,6 ± 6,2
	B- limfocitok- nál	46,3 ± 4,7		58,6 ± 8,1
4. A timikus savó- tényező títorszámá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		117,8 ± 9,1		310,6 ± 76,7
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest		53,8 ± 5,4	62,0 ± 30,0	71,8 ± 9,7
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl ₄ be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- ázok	22,6 ± 3,4		35,4 ± 5,1
	véramino- transzferaz	23,4 ± 4,8		71,6 ± 10,3
	a hepatocitok K ⁺ koncentrá- ciója	14,2 ± 3,1		25,4 ± 4,7

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően			
		PM	TS	LM	CW
1. A patkányok has- hártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásá- nak növekedése, %-ban az ellenőrzés- hez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	93,6 ±8,3	102,3 ±15,5	172,8 ±28,7	212,4 ±12,3
	az E. Coli sze- rinti fagocita aktivitás	81,7 ±9,2	92,1 ±14,4	153,6 ±31,8	186,3 ±14,6
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenőr- zéshez képest	a fermenta- tiv aktivitás /HCT-teszt/	105,2 ±10,7	116,7 ±14,6	148,7 ±19,7	171,3 ±10,3
	az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	72,3 ±6,1	76,7 ±9,2	103,2 ±17,4	121,4 ±7,8
3. A blasztátalakulá- si reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál	75,4 ±8,1	83,2 ±17,4	131,7 ±20,3	176,1 ±15,8
	B- limfocitok- nál	101,4 ±17,4	118,8 ±18,4	192,4 ±28,5	243,6 ±18,9
4. A timikus savó- tényező títorszámá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		412,7 ±84,5	496,4 ±70,1	764,3 ±94,6	948,7 ±58,9
		88,3 ±10,6	101,4 ±12,2	143,6 ±26,4	197,1 ±15,1
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest					
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl ₄ be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- ázok	51,2 ±6,2	56,3 ±7,1	86,2 ±7,8	95,7 ±4,3
	veramino-	85,3	91,4	96,5	98,1
	transzferaz	±7,1	±4,6	±3,5	±1,9
	hepatocitok	36,8	41,2	66,7	84,3
	K ⁺ koncentrá- ciója	±5,8	±5,4	±8,7	±9,2

7. sz. táblázat

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban		
	I.sz	2.sz.	WS
Polipeptidek	32,1±6,1	43,5±6,5	36,5±8,0
Peptidek	16,3±3,2	-	18,0±3,5
Aminosavak	31,7±6,2	-	15,0±2,0
Összesen:	80,1±5,1	43,5±6,5	69,5±6,0
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	1,9±0,8	56,5±6,5	3,0±2,0
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	3,0±0,5	-	15,5±4,0
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	10,0±2,7		4,5±1,0
Összesen:	14,9±2,7	56,5±6,5	23,0±7,0
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	5,0±1,6	-	7,3±3,0
Összesen:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	0,18	-	0,86
K, hatásossági számolótényező	0,17	-	0,63
A BAA száraz maradékaának súlya mg/ml	32,6 ±9,6	- -	9,3 ±2,2
Az antiszeptikum súlya, mg/ml	-	-	0,7
A porkompozícióban lévő BAA koncentrációja, tömegszáza- lékban	-	-	93,0 ±1,3

A kontrolltól való eltérések P 0,05 értékkel megbízhatók

* az értékek a táblázatban közölt statisztikai átlagérték alapján
vannak kiszámítva

7. sz. táblázat

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban	
	PM	TS
Polipeptidek	33,0 ± 7,5	20,5 ± 6,8
Peptidek	18,5 ± 3,3	23,4 ± 3,1
Aminosavak	15,0 ± 2,1	19,6 ± 3,0
Összesen:	66,5 ± 5,1	63,5 ± 6,8
Szénhidrátok:		
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	1,5 ± 0,9	0,9 ± 0,5
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	20,5 ± 4,8	18,7 ± 3,7
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	4,0 ± 2,5	3,9 ± 1,6
Összesen:	26,0 ± 6,8	28,5 ± 5,8
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	7,5 ± 3,1	8,0 ± 2,6
Összesen:	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	1,11	0,80
K, hatásossági számolótényező	0,82	0,91
A BAA száraz maradékaának sulya mg/ml	8,7 ± 2,0	7,2 ± 1,8
Az antiszeptikum sulya, mg/ml	0,7	0,7
A porkompozícióban lévő BAA koncentrációja, tömegszáza- lékban	92,6 ± 1,3	91,1 ± 1,7

A kontrolltól való eltérések P 0,05 értékkel megbízhatók
* az értékek a táblázatban közölt statisztikai átlagérték alapján
vannak kiszámítva

7. sz. táblázat

Szerves vegyületek	A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma, tömeg- százalékban	
	LM	CW
Polipeptidek	0,3-nél kevesebb	
Peptidek	30,5 ± 2,8	32,3 ± 3,7
Aminosavak	24,0 ± 7,5	0,5-nél kevesebb
Összesen:	54,8 ± 7,5	33,1 ± 3,7
Szénhidrátok:		
- a nagymolekulájú M 10,0 kDa mo- lekuláris tömegű vegyületek össze- tételében;	0,2- nél kevesebb	
- a kismolekulájú M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	24,9 ± 5,9	49,7 ± 8,3
- a szabad monomerek vagy M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	7,3 ± 1,2	14,0 ± 2,1
Összesen:	32,4 ± 5,5	63,9 ± 6,1
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	12,8 ± 4,2	3,0 ± 2,5
Összesen:	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom arány, G	0,82	1,54
K, hatásossági számolótényező	1,60	2,04
A BAA száraz maradékaának súlya mg/ml	5,2 1,6	3,5 0,9
Az antiszeptikum súlya, mg/ml	0,7	0,7
A porkompozícióban lévő BAA koncentrációja, tömegszáza- lékban	88,1 2,6	83,3 3,3

A kontrolltól való eltérések P 0,05 értékkel megbízhatók
 * az értékek a táblázatban közölt statisztikai átlagérték alapján
 vannak kiszámítva

M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű komponensekben /2. és 7. sz. táblázatok/, amelyet a következő képlet szerint határozzák meg:

$$G = \frac{C_y}{C_p}, \text{ ahol}$$

C_y és C_p megfelelően a szénhidrát- és peptidkoncentráció az M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű komponensekben.

A találmány szerinti BAA-nál e mutató értéke $G=0,6-2,0$, ugyanakkor az ismert BAA-nál e mutató értéke $G_1 = 0,25$.

Igy a G mutató értéke összefogóan jellemzi a hidrolizátum tulajdonságát és a találmány szerinti eljárásnál felhasznált alapanyagtól, az említett anyag feldolgozásánál használt műveletektől és a hidrolízis lebonyolítási üzemétől függ.

Meg kell jegyezni, hogy a céltermék hatásossága a hidrolízis folyamat hőmérséklet-idő karakterisztikájától függ, és e függvényt grafikusan is ki lehet fejezni./ld. a rajzot/. A rajzon ábrázolt I., 2. és 3. görbe sematikus illusztrálja a találmány szerinti BAA hatásosságának változását a hidrolízis művelet t időtartamától függően, amelyet különböző munkahőmérsékleten hajtanak végre, úgy, hogy $T_{p1} < T_{p2} < T_{p3}$.

A 2.-ik görbénél a $t=0$ és $t=t_2$ intervallumban a találmány szerinti BAA hatásosságának értéke E, mint az anyag különleges aktivitása mutatóinak összesége, $E=0$ -tól $E=R_{\max}$ -ig növekedik, és ez a céltermékben a hidrolízis folyamata alatt a kismolekulájú szénhidrát-tartalma, $M_{yH}=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek részének növekedésével magyarázható a nagymolekulájú, immuninhibitor és ballaszt vegyületek részének egyidejű csökkenésével.

A $t=t_2$ -tól $t=t_4$ -ig terjedő intervallumban a hatásosság $E=R_{\max}$ értéktől $E=0$ értékig csökken annak következtében, hogy a hidrolízis folytatása az M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömegű szénhidrát-tartalma komponensek szerkezetének változásához vezet, és első-sorban a glikolpeptidek változásához, azok peptidalapja hidrolízisével kapcsolatban, amely néhány diszénhidrát láncot köt össze, valamint maguk a diszénhidrátok módosítása következtében, vagy nem aktiv monomer formák megjelenése miatt.

A fent említett folyamatok hőmérséklet-függőek, és világosan kifejezett maximummal rendelkeznek, amely összegezve a megfelelő I., 2. és 3. sz. görbék maximumai által van kifejezve, vagyis az

emlitett folyamatok sebessége és megfelelően az említett kémiai reakciók gyorsasági tényezője nagy mértékben a T_p üzemhőmérséklet értékétől függnék a megállapított hőmérsékleti sávban, amelyben biztosítva van a fermentek funkcionális aktivitásának megőrzése, és amelyek segítségével megvalósítják a kiinduló alapanyag hidrolizisét. A T_p hőmérséklet növelésénél az 1., 2. és 3. sz. görbék maximumai balra tolódnak el, a koordináta-rendszer kezdete felé. Ezért az üzemhőmérséklet, pontosabban az üzemhőmérséklet-sáv kiválasztásánál egyidejűleg a hidrolizis folyamat időintervallumának kiválasztásával jár együtt, mégpedig olyan intervallumának, amelyben az E hatásosság értéke legalább $0,8 R_{max}$, vagyis

$$E \geq 0,8 R_{max} \quad /4/.$$

A kiinduló alapanyag, a hidrolizis időtartamának kiválasztása és az üzemhőmérséklet fenntartása, valamint a hidrolizis rögzített befejezésének lehetősége biztosítják a találmány szerinti BAA szükséges, viszonylag nagyobb hatásosságát $/E/$ az ismert BAA-hoz képest.

Azonkívül a felsorolt feltételek biztosítják az eredmények reprodukálhatóságát, vagyis lehetővé teszik a találmány szerinti BAA megadott tulajdonságokkal rendelkező elnyerésének szabványosítását, mégpedig a megadott, rögzített különleges aktivitással rendelkező BAA részére.

Kísérletileg meg van állapítva, hogy a találmány szerinti BAA immunmoduláló tulajdonságai, különösen a patkányok hashártyaváladáka makrofágjai aktivitásának növekedése in vitro a hidrolizis hőmérséklet-idő függvényétől függ a $T_p = 4-45^\circ \text{C}$ hőmérsékleti sávban. Ebben a sávban az üzemhőmérsékletet a következő adatokból kiindulva választják meg:

- $T_p < 4^\circ \text{C}$ hőmérsékleten jelentősen növekedik a hidrolizis időtartama, és ez csökkenti a találmány szerinti eljárás gazdaságosságát;

- $T_p > 45^\circ \text{C}$ hőmérsékleten csökken az alapanyag hidrolizisét biztosító fermentek aktivitása és meggyorsulnak a céltermék aktív komponensei felbomlásának folyamatai. Ennek eredményeként csökken a céltermék minősége és a találmány szerinti eljárás gazdaságossága.

Meg kell jegyezni, hogy a találmány szerinti BAA hatásossága nagy mértékben nem csak az anyagban lévő szükséges hatóanyag jelen

lététől, hanem az egész céltermék összetételétől is függ, tehát a céltermék előállításának eljárásától, és a nyert anyag minősége értékelésének sokoldalúságára utal.

Az immunmoduláló hatáshoz legnagyobb hozzájárulással a frakciók összetételében lévő /3,4 és 5 a 4 sz. táblázatban/ szénhidrát-tartalmu komponensek vannak, amelyek $M_{yH}=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömeggel rendelkeznek /oliszénhidrátok, glikopeptidek, glikolipidek, nukleotidok/. A továbbiakban azokat feltételelesen mint oliszénhidrátokat /OSZ/ jelöljük meg. De figyelembe kell venni, hogy az említett oliszénhidrátok a találmány szerinti BAA immunmoduláló tulajdonságára gyakorolt hatása elég bonyolult és több hatással van korrelálva.

Igy, kísérletileg fel lett derítve, hogy a hatásosság értékét összefoglalóan tükröző mutató értéke a következő összefüggés által fejezhető ki:

$$R = Fx/A + B + C / \quad /5/, \text{ ahol}$$

R- a hatásosság értékét összefoglalóan, mint a különleges aktivitás mutatói összeségét jellemző mutató;

F - az alapanyagként felhasznált állati szövet sejtmembrán-komponensei módosításának mértékét jellemző tényező;

A, B, C - a BAA tartalmának az ingrediensek arányát kifejező funkcionális jellemzők. Emellett:

A - az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű /OSZ/ összetételében lévő szénhidrátok viszonylagos koncentrációja a BAA többi ingredienseihez képest, vagyis

$$A = \frac{\text{OSZ}}{\text{PP-P+Ams+P}_{sz} \cdot \text{OSZ+MSZ+Gl+L+N}} \quad /6/;$$

B - az OSZ viszonylagos koncentrációja az $M < 0,8$ kDa molekuláris tömegű ingrediensekhez képest, vagyis

$$B = \frac{\text{OSZ}}{\text{PP+ P + PSZ + OSZ + Gl}} \quad /7/;$$

C - az OSZ viszonylagos koncentrációja az $M > 10,0$ kDa molekuláris tömegű ingrediensekhez képest, vagyis

$$C = \frac{\text{OSZ}}{\text{PP + PSZ + OSZ}} \quad /8/,$$

ahol a BAA ingredienseinek koncentrációja

OSZ - "oliszénhidrátok", vagyis az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek összetételében lévő szénhidrátok,
 PSZ - "poliszénhidrátok", vagyis az $M>10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek összetételében lévő szénhidrátok,
 MSZ - "monoszénhidrátok", vagyis a monomer alaku, vagy $M<0,8$ kDa molekuláris tömegű szénhidrátok,
 PP - $M>10,0$ kDa molekuláris tömegű "polipeptidek",
 P - $M<10,0$ kDa molekuláris tömegű "peptidek",
 Amsz - szabad aminosavak,
 Gl - glikolipidek,
 L - lipidek,
 N - nukleotidok
 által van kifejezve.

Az /5/-ik egyenlet szerint az R mutató értéke nem csak a BAA elnyeréséhez használt és az F tényező értékével jellemzett kiinduló alapanyag természetétől függ, hanem a BAA előállításának eljárásától is, amely az

$$A + B + C = K \quad /9/$$

összeg értékét határozza meg.

Akkor az /5/ egyenlet következő alaku lesz:

$$R = FxK \quad /10/, \text{ ahol}$$

K - a találmány szerinti, a találmány szerinti eljárás által nyert BAA hatásosságának értékét jellemző tényező.

Ahogy a /3-8/ egyenletekből meg lehet látni, a K mutató értéke nagy mértékben az OSZ oliszénhidrátok és a nagymolekulájú vegyületek - azaz PP polipeptidek és PSZ poliszénhidrátok koncentrációjától függ, amelyek értékei képviselve vannak az egyenletek mindegyik tagjánál. De az e komponensek hozzájárulása a BAA különlegeségéhez különböző irányú, és a K tényező értéke növekedik az OSZ oliszénhidrátok koncentrációjának növelésével és a nagymolekulájú vegyületek koncentrációjának csökkenésével.

Végül, a 3-8 egyenletek elemzéséből azt a következtetést is le lehet vonni, hogy a találmány szerinti BAA immunmoduláló tulajdonságának legjelentősebb viszonylagos javulását az e BAA találmány szerinti előállításának egyedi /különös/ kivitelezése esetén lehet biztosítani. Ez azzal magyarázható, hogy a találmány szerinti eljárás minden egyes szakaszának lejátszódása után a találmány sze-

rinti BAA-ban nő az OSZ oliszénhidrátok koncentrációja és csökken a PP polipeptidek és PSZ poliszénhidrátok alakjában fellépő nagymolekulájú vegyületek koncentrációja.

Az ilyen jellegű adatok jól egyeztethetők a találmány szerinti^{et} és ismert BAA-gok ingrediensei elemzésének eredményeivel, amelyek értékét a 7. sz. táblázat tartalmazza.

A 2. és 7. sz. táblázatok adatainak elemzéséből kiderül, hogy a K mutató értéke az ismert BAA-nál lényegesen kisebb, mint a találmány szerinténél. Emellett a K értéke jól korrelál az OSZ oliszénhidrátok és a nagymolekulájú vegyületek /PP + PSZ/ tartalmával.

Igy, a 7. sz. táblázatban az ismert I. sz. BAA-ban /US-A-4455302/ az oliszénhidrátok koncentrációja OSZ=3,0 %, a nagymolekulájú vegyületek koncentrációja PP + PSZ = 34,0 % és a K tényező értéke K = 0,17. Ugyanakkor a találmány szerinti BAA nál a hasonló mutatók értéke /a 2. és 7. sz. táblázatok/ megfelelően: OSZ = 11,5-30,8; PP + PSZ = 39,5 és a K mutató értéke K=0,47-1,90. A szénhidrát-tartalmu komponensekből nyert BAA-nál a koncentráció értéke OSZ = 49,7 %, PP + PSZ . értéke kevesebb 0,5 %-nál, és a mutató értéke K = 2,20 /2. sz. táblázat/.

Igy, a találmány szerinti BAA immunmoduláló tulajdonsága, ahogy ez a 2. és 7. sz. táblázatok adatainak elemzéséből következik. lényegesen magasabb, mint az ismert BAA-nál. Az adatok elemzése olyan következtetésre is utal, hogy ugyan olyan alapanyag felhasználása esetén, és következésképpen az F tényező ugyan olyan értéke mellett a találmány szerinti BAA hatásossága /R/ a találmány szerinti eljárás különböző kivitelezésénél nyert céltermékek K mutatójának értékével korrelál. Ezt a következtetést a vizsgálatok eredményei is igazolják /I. és 6. sz. táblázat/.

Igy, a patkányok hashártyaváladéka makrofágjainak fermentatív aktivitása a HCT-teszt szerint /ld. a 6. sz. táblázatot/ a kontroll csoportéhoz képest 70 %-al növekedik a találmány szerinti BAA vízbe oldódó komponenseinél, és 170 %-al a kismolekulájú komponenseknél, vagyis a különleges aktivitás e mutató szerinti műszaki eredménye 2,4-szeresére növekedik. Hasonlóan, a makrofágok fagocitáris aktivitásának műszaki eredménye 2,5-szer javul. Az ilyen jellegű adatok a termékeknél jól korrelálnak a K tényező értékeivel, amelyek 2,6-szer különböznek egymástól.

Igy, az elért, viszonylag magasabb műszaki eredmény a találmány szerinti BAA-ot illetően ok-okozat összefüggésben van az anyag ismérveinek összességével. Így, a találmány szerinti BAA különleges aktivitása minden esetben fokozódik a találmány szerinti BAA megvalósított ismervei mennyiségének növelésével /a 6. sz. táblázatban balról jobbra/.

Az anyag ipari alkalmazhatósága

A biológiailag aktív anyagra, az anyag és az anyag alapján nyert gyógyszer előállításának eljárására vonatkozó találmányok a kiinduló alapanyag kiválasztásán, a BAA és a garantáltan magas különleges aktivitással rendelkező készítmény elnyerési folyamatának körülményeinek kiválasztásán alapulnak.

Emellett a BAA elnyeréséhez kiválasztott technológia biztosítja az eredmények reprodukálhatóságát /ismételhetőségét/, vagyis lehetővé teszi a megadott tulajdonsággal rendelkező találmány szerinti BAA elnyerésének szabványosítását, mégpedig a megadott rögzített immunmoduláló aktivitással rendelkező anyag elnyerését, amely a találmány felhasználásánál meghatározza a megfelelő farmakológiai, belgyógyászati és általános biológiai hatást.

A BAA találmány szerinti előállítási eljárásának révén az általános és különös esetekben nyert céltermékek a biológiai hatásukat illetően egyenértékűek, de különböznek különleges aktivitásukat illetően. Ezért a konkrét BAA felhasználásának célszerűségét az objektum, amely részére rendelve van az anyag, követelményei határozzák meg, vagyis az állatorvostan és/vagy orvostan által támasztott követelmények. Ezzel kapcsolatban a céltermék felhasználásának konkrét esetén a BAA változatának kiválasztását minden egyes esetben az anyag immunmoduláló aktivitásához és hatásosságához támasztott követelmények és az anyag előállítása gazdaságosságának aránya határozza meg. Így az $M < 10,0$ kDa molekuláris tömegű kismolekulájú komponenseket tartalmazó találmány szerinti LM-BAA és a szénhidrát-tartalmu CW-BAA komponensek nagy hatásossága a makrofágok, neutrofilok, lymphociták, természetes killerek aktivitásának növekedésében mutatkozik meg, és ez biztosítja a regenerációs folyamatokat /a 6. sz. táblázat/. A mezőgazdasági állatoknál az ilyen hatások együtt járnak az állatok intenzív hizlalásánál jelentkező kiegészítő súlygyarapodás növekedésével /8. sz. táblá-

zat/. A respirátoros és fertőzőes betegségeknél /parainfluenza/ az ilyen előny nem olyan nagy, és itt gazdaságilag célszerű a vizbenmoldódó sejtmembrán-komponenseket tartalmazó MS-BAA és RM-BAA komponenseit használni. A gyulladásos folyamatok gyógyításánál /emlőgyulladás, endometritek/ előnyösebb a termostabil ST - BAA komponenseket tartalmazó anyag felhasználása.

Külsőleg kenőcs, kup, gél, borogatás alakjában, intranazálisar vagy az állatok feltáplálására használandó készítmények előállításánál az LM-BAA helyett gazdaságosabb a termostabil ST-BAA komponensek használata.

Emellett a maximális hatás elnyerésének érdekében a találmány szerinti anyagot célszerű a regeneráló folyamatok aktiválásához és serkentéséhez, és a szervek és szövetek funkcionális aktivitásának helyreállításához különböző patológiák esetén, valamint a gyulladásos betegségek gyógyításához, ahol az anyag hatásossága jelentősen felülmúlja a fent említett ismert BAA-gok és hasonló rendeltetésű készítmények hatásosságát, alkalmazni.

Azonkívül, a találmány szerinti BAA és az anyag alapján nyert készítmények hatékony eszközök a fertőzőes betegségek /parainfluenza, heves respirátoros betegségek, stb./ gyógyításánál. Az anyag alkalmazása esetén a szarvasmarha növendékállatok gyógyulását az esetek 88-95 %-ban figyelték meg, ugyanakkor az ismert BAA ugyan olyan körülmények közötti felhasználása, ugyanugy mint az antibiotikumok és a "Boviverex" készítmény alkalmazása esetén a gyógyulás az esetek csak 70 %-ban volt megfigyelhető, a kontrollcsoportnál való spontán gyógyulásnál pedig az esetek 58-67 %-ban.

A találmány szerinti BAA növeli az állatok fertőzőes betegségek iránti ellenállóképességét, és ezáltal jelentősen csökkenti az állomány elhullási szintjét.

A találmány szerinti BAA alkalmazása kórmegelőző célokra a borjuk parainfluenzában való megbetegedésének szintjét 5 %-ra vitte le, míg az ismert BAA alkalmazása esetén ez a szint 12-17 % volt, a kontrollcsoportnál pedig 22-28 %.

A készítmény által az állatok általános biológiai állapotának rendezése hozzájárult a termelési mutatók javulásához is, és különösen az élősúly kiegészítő súlytöbbletének helyreállításához a hus minőségének romlása nélkül ugy, hogy ezek a mutatók megközele-

tik az intenzív hizlalásnál genetikailag beprogramozott szintet. Ez a sajátosság előnyösen megkülönbözteti a találmány szerinti BAA-t és az anyag alapján előállított készítményeket a hormonális és más, a növekedést serkentő készítményektől, amelyek a mennyiségi mutatók növelése mellett negatív hatással vannak az állatok homeosztázisára, és csökkentik a termék minőségét.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmények bevitele a homeosztázis paraméterek eltérését mutató állat szervezetébe intenzív hizlalásnál biztosította a kiegészítő súlytöbblet a kontrollhoz képest 52-I45 %-s növelését. Ugyanakkor az ismert, hasonló BAA-gok /I. sz. anyag/ ugyan olyan feltételek mellett a kontrollhoz képest csak I2-24 % súlytöbbletet biztosítottak. A kontroll és kísérleti szarvasmarha állatcsoportokat I4-I8 egykoru borjuból állították össze, átlagosan ugyan olyan kezdeti súllyal és az etiológia normától való eltéréssel.

A homeosztázis paraméterek rendezése azonkívül elősegíti:

- a szarvasmarha és aprómarha tejhozam növelését;
- a prémes állatok prémminőségének javulását;
- az állatnövendékek életben maradását;
- a méhek mézhordását, stb.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmények nem toxikusak, mellékhatásokat nem váltanak ki /allergia és stb./.

A találmány szerinti készítmény a regeneráló folyamatok fokozott serkentését váltotta ki, mégpedig hepatitnál a májszövet funkcionális aktivitásának helyreállítását és a máj részleges hepatektomia utáni regenerációját, a sebesüléseknél, sérüléseknél fellépő fekélyek, sebek és az epidermisz behegedését, nagy vérvesztéseknél és más esetekben a vérképlet helyreállítását.

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján nyert készítmény az állatoknál való alkalmazása esetén fellépő farmakológiai, belgyógyászati és általános biológiai hatását a 8. sz. táblázat összehasonlító adatai tartalmazzák. E táblázat elemzése megmutatja, hogy a találmány szerinti BAA biológiai aktivitása jelentősen felülmúlja a hasonló anyagok biológiai aktivitásának értékét.

Igy, a találmány szerinti BAA és az anyag alapján nyert készítmény az állatorvostan és az orvostan területén széles spektrumú alkalmazási lehetőséggel rendelkezik, és azt fel lehet használni a szervezet élettani állapotának rendezéséhez olyan betegségeknél amelyek ellenőrzése a szervezet immunrendszere hatáskörének kere-

A biológiailag aktív anyagoknál
fellépő használatánál fellépő
farmakológiai, belgyógyászati
és általános biológiai hatás
/tulajdonság/

A mennyiségi jellemzők

Ismert Találmány szerinti
BAA BAA

I.sz.

WS

ST

LM

I. Gyümölcs	Tehenek					
dásos fo-	Tőgygyu-	Kísérlet	70 $\pm$ 5	80 $\pm$ 5	86 $\pm$ 5	93 $\pm$ 5
lyamatok	lladása,					
	kigyógyu-	Kontroll	61 $\pm$ 5	58 $\pm$ 8	63 $\pm$ 7	53 $\pm$ 8
	lási %					
	Tüdőgyul-	Kísérlet	69 $\pm$ 6	85 $\pm$ 5	92 $\pm$ 6	95 $\pm$ 5
	adás, ki-					
	gyógyulási	Kontroll	55 $\pm$ 7	51 $\pm$ 8	61 $\pm$ 6	48 $\pm$ 6
	%					
2. Fertő-	Parain-					
zéses be-	fluenza,	Kísérlet	70 $\pm$ 6	38 $\pm$ 6	94 $\pm$ 6	95 $\pm$ 5
tegségek	HRB, ki-					
	gyógyulási	Kontroll	64 $\pm$ 7	58 $\pm$ 6	61 $\pm$ 7	67 $\pm$ 5
	%					
3. A borjúk súlytöbbletének						
fokozódása, %-ban a kontrollhoz			24 $\pm$ 7	54 $\pm$ 8	70 $\pm$ 12	145 $\pm$ 31
képest						
4. Erős mérgező hatás, LD ₅₀ ,			25-nél			
ml/kg /mg/kg/ testsúlyra			több			
			/250/	25-nél több /260%		

A kontrolltól való eltérések megbízhatósága P 0,05

tében valósul meg.

A találmány szerinti BAA a szervezetbe való bevitele a találmány szerinti készítmény alakjában lehetővé teszi:

- hepatitnál a májszövet funkcionális aktivitásának serkentését;
- hepatektomia után a máj regenerációját;
- sebesüléseknél, sérüléseknél a fekélyek, sebek, az epidermisz behegedését;
- a gyulladásos betegségek /emlőgyulladás, tüdőgyulladás, endometriték/ gyógyítását;
- a fertőzőes betegségek /parainfluenza, heves respirátoros betegségek/ gyógyítását;
- az állatok fertőzőes és gyulladásos folyamatok iránti ellenállóképességének fokozását;
- a szervezet általános biológiai állapotának javulását;
- az állatok súlygyarapodásának növelését.

A találmány szerinti BAA gyakorlati alkalmazása igazolta, hogy az anyag nem toxikus és negatív mellékhatásokat-allergiát, lasított típusu hiperérzékenységet- nem vált ki.

A mellékhatások hiánya a BAA és az anyag alapján előállított gyógyszer alkalmazásánál, és az állat szervezetére gyakorolt farmakológiai, belgyógyászati és általános biológiai hatások adatai meghatározták a BAA és az anyag alapján előállított készítmény klinikai kipróbálásának lehetőségét.

Egy pácienscsoport mrgvizsgálatánál meg lett határozva a szervezet élettani állapotára gyakorolt pozitív hatás, valamint az állatokon végrehajtott klinika előtti kísérleti vizsgálatokhoz viszonyított, gyakorlatilag teljes azonosság.

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag előállításának eljárását mind ipari, mind laboratóriumi körülmények között is meg lehet valósítani.

A figyelembe vett információforrások

- I. 24I39I2 sz., A6IK 35/44, 1978.OI. IO kelt francia igénylés,-
Bountemps R.- Embrió alapján nyert gyógyszerek és azok előállításának eljárása.
2. 4455302 sz. USA-szabadalom, 1982.03.I8.- H.J. Robertson.- A fehérje orvostani hidrolizátuma előállításának eljárása és a sérült testrészek gyógyításához való alkalmazása.
3. I4I2596 sz., A6IK 39/00, 1988.07.23; SzSzkSz-beli szabadalom.-
- Macakacu Idaszi /Japán/;- A ráksejtek iránt citotoxikus lymphocitok elnyerésének és a glikokötött antigén elnyerésének eljárása.
4. A OI06285 sz. EPV A6IK 39/I00, 37/02 1984.04.25. kelt igénylés.
-Otsuka pharmaceutical Co. Ltd. /Japán/.-Glikozid kapcsolatokkal rendelkező antigén, annak elnyerési eljárása, és ezt az antigént aktiv ingrediensként tartalmazó rák elleni szer.
5. A OI57427 sz. EPV, A6IK 37/02, 1985.I0.09. kelt igénylés.-Otsuka pharmaceutical Co. Ltd. /Japán/.- Glikozid összekötésekkel rendelkező antigén előállítási eljárása.
6. A O3I8030 sz. EPV A6IK 37/02 1987.II.26. kelt igénylés.-Otsuka pharmaceutical Co. Ltd. /Japán/.- Glikoprotein, a glikoprotein előállítási eljárása, ezt a fehérjét tartalmazó gyógyszerek és azok alkalmazása.
7. 904767 sz. A6IK 35/26, 35/28 SzSzkSz-beli találmányi bizonyítvány, 1982.- A.M. Szmirnov és társai /Leningrádi Állatorvostani Intézet/.- Az állatnövénydek szervezet ellenállóképességét fokozó anyag és az anyag előállítási eljárása.
8. H.M. Berman, W. Gram, M.A. Spirtes.- Biochemistry et biophysical acta,-1969, v. I83,-I,-p.I0-I8;
9. J. Gurd, W. Evans, H. Perkins.- Biochemistry Journal,- 1973, -v. I35,- 4,-p.827-832.
10. G. Schapira, J. Dobocz.-Biochemistry et biophysical acta, -1974,-v.345,-3,-p.348-358.
- II. G.M. Higgins, R.M. Anderson.- Experimental pthology of the liver.- Arch. Pathology- I93I-NI2-p.I86.
- I2. U.K. Laemmli.-Nature,-1970,v.227,-5259,-p.680-685.
- I3. S. Seifter, S. Dayton, C.Hovic.-Arch. Biochemistry and Biophysical,-1950,-25,-I,-p.I9I-200.
- I4. J.M. Knight, S. Anderson, J.M. Rawle.-Clinical Chemistry,-1972,-I8,-p.I99.

- I5. S. Reitman, S. Frankel.-American Journal of Clinical Pathology, -1957-28-56.
- I6. V.N. Brikkar. A Na, K-tartalom meghatározása lángfotometrikus módszerrel.-Laboratornoe gyelo, -1961-7-3-6 old.
- I7. Vertelkin V.A. A kísérleti gyomorfekély kialakításának kriogén módszere.-Patológiai fiziológia-1987, -2. sz.-77-78 old.
- I8. Sztálynájá I.D. Korszerű biokémiai módszerek, -M., -1987, -
- 66-68 old.
- I9. Rozen V.B. A standard aszeptikus gyulladás előidézésének módszere.- Patológiai fiziológia-1961-5, -6.sz., 72-76 old.

Szabadalmi igénypontok

I. Immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a homogenizált állati szövet sejtmembrán-komponenseinek szerves vegyületei alapján nyert biológiailag aktív anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag termotabil, kismolekulájú, módosított, az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamatok alatt módosított antigén szerkezetű sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

2. Az I. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy módosított, az embriogenezis és/vagy a Proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azt követő folyamatok alatt módosított antigén szerkezetű plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

3. Az I. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy $T_H < 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten termotabil módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

4. A 2. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy $T_H < 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten termotabil módosított plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmaz,

5. Az I. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű kismolekulájú módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

6. A 2. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű, kismolekulájú módosított plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

7. A 3. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű, kismolekulájú módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

8. A 4. sz. pont szerinti anyag, azzal jellemezve, hogy az anyag $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű kismolekulájú módosított plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

9. Az 5. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag szénhidrát-tartalma módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

10. A 6. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag szénhidrát-tartalma módosított plazmatikus sejtmembrán-komponenseket tartalmaz.

II. A 7. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag szénhidrát-tartalma módosított sejtmembrán-komponenseket tartalmaz

I2. Az I. vagy 2., vagy 3., vagy 4., vagy 5., vagy 6., vagy 7., vagy 8., vagy 9., vagy 10., vagy 11. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a szerves vegyületeket a következő -tömegszázalékban kifejezett- arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-60,0
Aminosavak	0,5-31,5
Szénhidrátok	16,0-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5-17,0

I3. A I2. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az a anyag a szerves vegyületek összetételében a szénhidrátokat a következő -tömegszázalékban kifejezett- arányban tartalmazza:

- a nagymolekulájú, M_{yB} 10,0 kDa molekuláris tömegű vegyületek 3,0-ig
- a kismolekulájú, $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű vegyületek 11,5-57,9
- az M_{yM} 0,8 kDa értékű szabad monomerek 3,5-17,0

I4. Az I. vagy 2., vagy 3., vagy 4. vagy 5., vagy 6., vagy 7., vagy 8., vagy 9., vagy 10., vagy 11. sz. pontok szerinti anyag azzal JELLEMEZVE, hogy az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű szerves vegyületekben a szénhidrátok és peptidek tömegaránya $G=0,6-2,0$ határok között van.

I5. Az I. vagy 2., vagy 3., vagy 4., vagy 5., vagy 6., vagy 9., vagy 10. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a szerves vegyületeket a következő -tömegszázalékban kifejezett- arányban tartalmazza:

Peptidek	40,0-60,0
Aminosavak	12,9-17,1
Szénhidrátok	16,0-32,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	4,4-10,6

I6. A 3. vagy 4., vagy 7., vagy 8., vagy II. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a szerves vegyületeket a következő-tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	34,0-50,1
Aminosavak	16,6-22,6
Szénhidrátok	22,7-34,2
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,4-10,6

I7. Az 5. vagy 6., vagy 7., vagy 8., vagy 9., vagy 10., vagy II. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-33,6
Aminosavak	16,5-31,5
Szénhidrátok	26,9-37,9
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	8,6-17,0

I8. A 9. vagy 10., vagy II. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	29,0-36,3
Aminosavak	0,5-nél kevesebb
Szénhidrátok	57,7-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5- 5,5

I9. Immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyag előállításának eljárása, amelynél az állati szövetű alapanyagot felaprítják és homogenizálják, a homogenizálás termékéből elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyből a reszuszpendálás után elnyerik a sejtmembrán komponenseket, azzal JELLEMEZVE, hogy alapanyagként az embriogenezis és /vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azokat követő folyamatok alatt módosított állati szövetet használnak, amely homogenizálásának termékét a szövet le nem roncsolt elemeitől szűrés és/vagy 150-250 g gyorsulása, 10-15 percig tartó centrifugálás útján tisztítják meg és elkülönítik a sejtmembránokat tartalmazó üledéket, amelyet hidrolízis hatása alá vetik, a hidro-

lizátumot megszűrjük és/vagy 1500 g gyorsulással 20-40 percig centrifugáljuk a hidrolizátumból való sejtmembrán-komponenseket tartalmazó komponensek céltermékként való elkülönítésével.

20. A 19. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy alapanyagként a következő sorból kiválasztott anyagot használnak: embrionális szövetet, a tymusz differenciálódó timocitjai szövetét, a here spermatogóniáit és spermatocitjait, a placentáris szövetet, az epiteális bélszövetet, a regeneráló máj szövetét, a két-éltűek végtagjainak regeneráló szövetét, a patológiailag megváltozott a regeneráció szakaszán vett szövetet, vagy azok bármilyen kombinációját.

21. A 19. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembránokat tartalmazó üledéket a homogenizálás megtisztított termékéből 1500-9000 g gyorsulással való centrifugálás és/vagy egy $F < 1$ mm jellegzetes méretű szűrőn keresztül való szűrés útján különítik el az utána következő reszuszpendálás által megvalósított átöblítéssel és ismételt centrifugálással és/vagy szűréssel a sejtmembránokat az üledékben képviselt szerves vegyületekhez képest legalább 60 tömegszázalék mennyiségben tartalmazó üledék elnyerésével.

22. A 21. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembránokat tartalmazó elnyert üledéket a hidrolízis előtt kiegészítően 20 000-100 000 g gyorsulással 1-2 órána át sűrűségi gradiensben centrifugáljuk a plazmatikus sejtmembránok elkülönítésével.

23. A 19. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a hidrolízist $T_p = 4^{\circ} - 45^{\circ}$ C hőmérsékleten hajtják végre.

24. A 19. sz. pont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a hidrolízist tartósítószer jelenlétében hajtják végre.

225. A 19. vagy 20., vagy 21., vagy 22., vagy 23., vagy 24. sz. pontok szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum szupernatantsát $T_H = 60^{\circ} - 120^{\circ}$ C hőmérsékleten hőkezelik a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és kiegészítő szűréssel és/vagy 1500 g feletti gyorsulásu, 20-40 percig tartó centrifugálással a termostabil sejtmembrán-komponenseket tartalmazó szupernatantst céltermékként különítik el.

26. A 19. vagy 20., vagy 21., vagy 22., vagy 23., vagy 24. sz. pontok szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátumot szűrés és/vagy centrifugálás előtt $T_H = 60^{\circ} - 120^{\circ} \text{ C}$ hőmérsékleten hőkezelésnek vetik alá a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig.

27. A 19. vagy 20., vagy 21., vagy 22., vagy 23., vagy 24. sz. pontok szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum szupernatantját féláteresztő filmen keresztül történő dialízis és/vagy ultraszűrés, és/vagy gélszűrés segítségével frakcionálják az $M < 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű kismolekulájú komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

28. A 19. vagy 20., vagy 21., vagy 22., vagy 23., vagy 24. sz. pontok szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátumot féláteresztő filmen keresztül történő dialízis és/vagy ultraszűrés, és/vagy gélszűrés segítségével frakcionálják az $M < 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű kismolekulájú komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

29. A 25. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum szupernatantját féláteresztő filmen keresztül történő dialízis és/vagy ultraszűrés, és/vagy gélszűrés segítségével frakcionálják az $M < 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű kismolekulájú komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

30. A 27. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum kismolekulájú frakcióját lektineken végrehajtott affín kromatográfia hatása alá vetik a szénhidrát-tartalmú komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

31. A 29. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a sejtmembrán-komponenseket tartalmazó hidrolizátum kismolekulájú frakcióját lektineken végrehajtott affín kromatográfia hatása alá vetik a szénhidrát-tartalmú komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

32. Az ember és az állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez való, az állati szövet sejtmembrán-komponensei szerves

vegyületei által képviselt biológiailag aktív anyagot tartalmazó készítmény és töltőanyag, azzal JELLEMEZVE, hogy összetételében biológiailag aktív anyag minőségében termostabil, kismolekulájú módosított, az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azokat követő folyamatok alatt módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponenseket tartalmaz, és a készítmény az anyagot 0,001-85,0 tömegszázalék mennyiségben tartalmazza, a többi töltőanyag.

33. A 32. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-60,0
Aminosavak	0,5-31,5
Szénhidrátok	16,0-70,0
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	0,5-17,0

34. A 33. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	40,0-60,0
Aminosavak	12,9-17,1
Szénhidrátok	16,0-32,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	4,4-10,6

35. A 33. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	34,0-50,1
Aminosavak	16,6-22,6
Szénhidrátok	22,7-43,2
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,4-10,6

36. A 33. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek	28,0-33,6
Aminosavak	16,5-31,5

Szénhidrátok

26,9-37,9

Lipidek, nukleotidok és más
szerves vegyületek

8,6-17,0

37. A 33. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag a szerves vegyületeket a következő - tömegszázalékban kifejezett - arányban tartalmazza:

Peptidek

29,0-36,3

Aminosavak

0,5-nél kevesebb

Szénhidrátok

57,7-70,0

Lipidek, nukleotidok és más
szerves vegyületek

0,5- 5,5

38. A 33. vagy 34., vagy 35., vagy 36., vagy 37. sz. pontok szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy töltőanyagként nátrium-klorid fiziológiai oldatot és/vagy sós pufferoldatot, és/vagy szénhidrát vegyületeket, és/vagy ásványi, állati, növényi vagy szintetikus eredetű olajokat, vagy azok keverékét tartalmazza.

39. A 33. vagy 34., vagy 35., vagy 36., vagy 37. sz. pontok szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy kiegészítően tartósítószeret tartalmaz.

40. Az ember és az állatok élettani állapota rendezésének eljárása, amely előírja az állati szövet sejtmembrán-komponensei szerves vegyületeinek alapján nyert készítménynek a szervezetbe való bevitelét, azzal JELLEMEZVE, hogy készítmény minőségében a biológiailag aktív anyag 0,001-85,0 tömegszázaléku módosított, az embriogenezis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy azokat követő folyamatok alatt módosított antigén szerkezettel rendelkező sejtmembrán-komponensekből és 15,0-99,999 tömegszázalék mennyiségű töltőanyagból álló kompozíciót alkalmaznak, a készítmény szervezetbe való bevitelét pedig intramusculáris injekciók által 0,005-0,5 mg/I kg testsúlyra adagban, az injekciók közötti 1-7 nap időközzel, és/vagy inhalációk által 0,012-0,12 mg/I kg testsúlyra adagban, az inhalációk közötti 4-48 óra időközzel, és/vagy szublingválisan 0,012-0,12 mg/I kg testsúlyra adagban, a beadagolások közötti 4-48 óra időközzel és/vagy feltáplálás által 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagban a, feltáplálások közötti 1-10 nap időközzel, és/vagy tablettá alakban interálisan, 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagban, a beadagolások

közötti I-IO nap időközzel, és/vagy intranazálisan, 0,00I-0,05 mg/I kg testsulyra adagban, a beadagolások közötti 2-24 óra időközzel, és/vagy a nyálkahártyára vagy a sebesült felületre való borogatások, kupok, hintőporok, kenőcsök és gélek alakjában, az alkalmazások közötti I-IO nap időközzel hajtják végre az élettani állapot paramétereinek rendezéséig.

A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
12.

Felelős

1/1

