



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

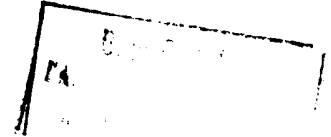
(19) SU (11) 1449012 A3

(5D) 4 C 12 Q 1/32, G 01 N 33/48

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ



- (21) 3633940/28-14
(22) 05.08.83
(31) P 3231288.1
(32) 23.08.82
(33) DE
(46) 30.12.88. Бюл. № 48
(71) Меди-Фарма Фертрибс-Гезельшафт
МБХ (DE)
(72) Р.В. Штайбах (DE), А.К. Роу
(IN) и П. Краусс (DE)
(53) 612.015(088.8)
(56) Патент Англии № 893301,
кл. C 12 Q 1/32, 1978.
(54) СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ДИАГНОСТИ-
ЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАК-
ТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИД-
КОСТЯХ
(57) Изобретение относится к медици-
не, точнее к способам получения сред-

ства для обнаружения повышенной кон-
центрации лактатдегидрогеназы. Цель
изобретения - повышение диагностичес-
кой точности средства. Для этого го-
товят водный р-р из следующих ком-
понентов, мг: п-нитроблаунитрозоль-
хлорид (0,490), гидрохлорид триэтанол-
ламина 49,00, ацетат натрия 18,500,
NAD(аденозин 5'-тригидрофосфат¹)
5'-(5'-эфир с гидроокисью 3-)амино-
карбонил (-1-β-D-рибофуранозил-пири-
дина, внутренняя соль) 2, фенацин-
метасульфат 0,049, вода очищенная
1948,961. Добавляя 3 н.НС1 устанав-
ливают рН р-ра равной 3, смесь нано-
сят на гигиенический тампон, находя-
щийся в оболочке из сополимера винил-
хлорида и поливинилиденхлорида. 2
2 з.п. ф-лы, 2 табл.

(19) SU (11) 1449012 A3

Изобретение относится к медицине, в частности к способам получения средства для обнаружения повышенной концентрации лактатдегидрогеназы.

Цель изобретения — повышение диагностической точности средства.

Пример 1. Готовят водный раствор из указанных ниже компонентов. Указанные количества наносят соответственно на тампон.

Состав раствора следующий, мг:

п-Нитробляунитрозолийхлорид	0,490	
Гидрохлорид триэтанолamina	49,000	15
Натрий ацетат NAD (аденозин 5'-тригидроидифосфат) 5'-(5'-эфир с гидроксью 3-)аминокарбонил (-1-β-D-рибофуранозилпиридина, внутренняя соль)	18,500	20
Фенацинметасульфат	2,000	25
Вода очищенная	0,049	
	1948,961	

	2019,000	30

Соответствует 2,00 мл.

Добавлением 3 н. соляной кислоты устанавливают pH=3 и затем в количестве 2,00 мл смесь наносят на обычный гигиенический тампон, который находится в упаковочной коробочке с внутренним покрытием из химически инертной пленки, состоящей из сополимера винилхлорида и поливинилиденхлорида. Эта оболочка в свою очередь находится в алюминиевой трубочке.

Всю систему высушивают при замораживании. Непосредственно после этого алюминиевую трубочку закрывают в вакууме резиновой пробкой. Алюминиевую трубочку открывают лишь непосредственно перед применением содержащегося в ней диагностического средства, которое вынимают.

Пример 2. Готовят водный раствор из компонентов, указанных в примере 1.

Затем добавлением 3 н. соляной кислоты устанавливают pH = 4,9 и поступают, как описано в примере 1.

Полученное таким образом диагностическое средство дает такой же положительный эффект.

Диагностическое средство предназначено для распознавания патологических состояний организма путем выявления с его помощью повышенных концентраций лактатдегидрогеназы во внеклеточных жидкостях. Так могут быть установлены раковые заболевания женских органов, а также могут быть определены инфекции, вызванные бактериями, паразитами, грибами. При серийных исследованиях с гистологически определенными карциномами в генитальной области на стадиях I и IV только 10% диагнозов оказались неправильными.

Средство в виде тампона, применяемое для исследования внутри тела, например во влагалище, не вызывает раздражения слизистой оболочки, при этом перехода красителя на слизистую и другие ткани не происходит и не вызывает побочных реакций внутри и на теле исследуемого пациента.

В отсутствие носителя полярными группами окрашивания смеси не происходит. Исследованию могут подвергаться: влагалищный секрет, сыворотка крови, желудочный и кишечный сок, желчь, выделения бронхов, простаты, уретры.

В качестве субстрата в средстве предпочтителен лактат натрия, но может использоваться лактат калия или кальция.

В качестве буферной системы используют триэтаноламингидрохлорид или эквивалентную смесь триэтанолamina и соляной кислоты.

В качестве красителя используют соли тетразолия, бензидиновые красители, индофенолы.

Соединением, передающим водород, могут быть фенозиметасульфат, диафоразен, менадион, мелдола-блау.

Опытные данные об испытаниях различных носителей приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

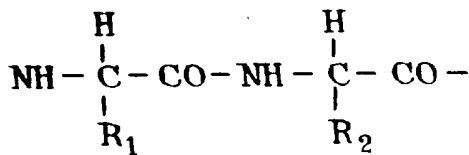
Носители	Химическое строение	Происхождение
1	2	3
Шерсть	Белки	Природный
Дралон	Полиакрилонитрил	Синтетический
Найлон	Полиамид 6.6	Синтетический

Продолжение табл. 1

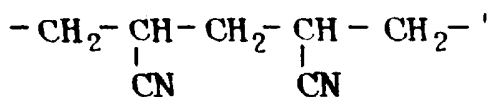
1	2	3
Полинозик	Целлюлоза, модифицированная	Регенерат
Дунова	Полиакрил, модифицированный	Синтетический
Диолен	Полиэфир	Синтетический

Носители имели следующие химические строения.

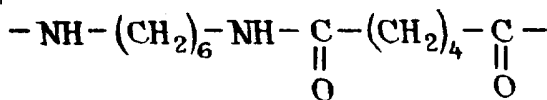
Шерсть: полипептид из различных аминокислот. Главная составная часть шерсти - кератин:



Полиакрилонитрил - полимерное волокно следующей структуры:



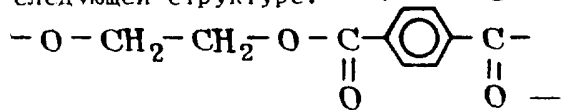
Полиамид 6,6 (наилон): поликонденсат со структурой амида кислоты (белковая связь) из гексаметилендиамина и адипиновой кислоты следующей структуры:



Регенерат целлюлозы. Различие в вискозных волокнах лежит лишь в гистологическом строении волокон. Функциональными группами являются гидроксильные, ацетальные, альдегидные и кар-

боксильные группы. Полиакрилонитрил (дунова): различие для обычных полиакриловых волокон (дралона) лежит в строении волокна. функциональными группами являются та-

кие группы, как в случае полиакрилонитрила. Полиэфиры - поликонденсатные волокна с сложноэфирными группами дикарбоновых кислот и двувалентных спиртов, и соответствуют, например, следующей структуре:



Используемые волокнистые носители экстрагировали в течение 10 мин при 35°С метиленхлоридом.

Из экстрагированных волокон приблизительно одинаковые количества помещали в реакционный сосуд и смешивали с 1 мл индикаторного раствора следующего состава, мг:

n-Нитроблаутетразо-	
лийхлорид	0,490
Гидрохлорид	
триэаноламина	49,000
Ацетат натрия	18,500
NAD(аденозин 5'-	
дигидрофосфат)5'-	
(5'-эфир с 3-)ами-	
нокарбонил(1-β-1-	
рибофуранозил-пи-	
ридинийгидроксидом,	
внутренняя соль)	2,000
Фенацинметасульфат	0,049
Вода очищенная	1948,961

2019,000

Соответствует 2,00 мл.

Раствор, добавленным 3 н. соляной кислоты, устанавливают на значении pH 4,4-4,6. Пробы носителей, приготовленные с полученным индикаторным раствором, вымораживали в течение 2 ч в морозильном шкафу и затем высушивали вымораживанием в течение 17 ч. Затем в заключение в результате добавления соответственно 1 мл 1 М раствора аскорбата натрия проводили реакцию, протекающую как при применении средства в соответствии с изобретением в случае положительного диагноза (образование красителя).

Результаты приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2

Носитель	Окраска	Время реакции, с	Смачивание
1	2	3	4
Белок (шерсть)	Темно-синяя	5-8	3

Продолжение табл. 2

1	2	3	4
Полиакрилонитрил (дралон)	- " -	3-5	1-2
Полиамид 6.6 (найлон)	- " -	5-8	3
Полинозик (модифицированная целлюлоза)	- " -	3	1
Полиакрил (дунова)	- " -	3-5	2
Полиэфир (диолен)	- " -	4-6	2-3

В табл. 2 в графе "смачивание" указаны цифровые значения, которые дают степень смачиваемости носителя индикаторным раствором при визуальной оценке. Шкала оценки принята от 1 (очень хорошо) до 5 (недостаточно).

Для определения "прочности окраски" или степени фиксирования образующегося на волокне красителя (диформаза) на соответствующем носителе испытывали окрашенные пробы следующим образом:

а) пробы промывали в моющей ванне при соотношении 1:40, т.е. 1 г носителя в 40 мл жидкости, при 20°C в течение 5 мин. После этого визуально оценивали соответствующее помутнение или окрашивание воды;

б) пробы были промыты метиленхлоридом или хлороформом, окрашивание растворителя также оценивали визуально.

Результаты, полученные в пунктах а и б, даны дополнительно в табл. 3.

Т а б л и ц а 3

Носитель	Вода	Метиленхлорид
1	2	3

Белок (шерсть) Прозрачная 2 Слегка синий 2

Полиакрилонитрил (дралон) Прозрачная 3 Слегка синий 1-2

Полиамид 6,6 (найлон) Прозрачная 4 Слегка синий 3

Продолжение табл. 3

1	2	3
Полинозик (модифицированная целлюлоза)	Прозрачная 1	Слегка синий 1-2
Полиакрил (дунова)	Прозрачная 3	Слегка синий 3-4

При применении хлороформа в качестве растворителя в основном получают такие же результаты, как в случае метиленхлорида.

Как видно из табл. 3, краситель диформаза глубоко фиксируется на волокнах. В то время, как при обработке водой смывается лишь незафиксированный диформаза, метиленхлоридом или хлороформом он частично растворяется. В результате этого следует также подкрашивание органического растворителя.

В табл. 3 в графах "вода" и "метиленхлорид" указаны цифровые значения, которые соответствуют количеству незафиксированного красителя (в случае воды смываемого с волокна красителя, в случае органического растворителя красителя, перешедшего в раствор). С увеличением числовых значений количество смываемого или растворенного красителя увеличивается.

Во всех случаях испытаний прочности окраски носитель имел темнее окрашивание, т.е. краситель

был чрезвычайно прочно зафиксирован на носителе.

Как видно из результатов опытов, все исследованные носители пригодны для применения средства в соответствии с изобретением.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

1. Способ изготовления диагностического средства для определения лактатдегидрогеназы в биологических жидкостях, включающий растворение окислительно-восстановительного красителя, буферной системы, никотинамидаденин-динуклеотида, соединения, передающего водород, и лактата, коррекцию pH полученной смеси, нанесе-

ния этой смеси на носитель, связывающий окислительно-восстановительный краситель, отличающийся тем, что, с целью повышения диагностической точности средства, используют носитель, имеющий полярные группы, а pH смеси корректируют в диапазоне 3,0-4,9.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве носителя используют целлюлозные волокна.

3. Способ по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что буферную систему используют в виде триэтаноламингидрохлорида или в форме нестехиометрической смеси из триэтаноламина и хлористого водорода.

Составитель А. Агуреев

Редактор А. Долинич

Техред Л.Олийнык

Корректор Д. Пилипенко

Заказ 6856/58

Тираж 520

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4