

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. (5063049) UA

1992. 12. 17. (93030288) UA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/UA93/00003

A nemzetközi közzététel száma: WO

K I V O N A T

A találmány tárgya immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a felaprított állati szövet-komponensek hidrolizátumában lévő, vízben oldódó szerves vegyületekből álló biológiailag aktív anyag (BAA), amely a hidrolizátumban termostabil, kis-molekulájú, 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 sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz.

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

P9500410

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



Képviselő:
DANUBIA Kft.

"3"

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

Nyikolajenko Alexandr Nyikolajevics^h, Kijev, Ukrajna

Feltalálók:

Nyikolajenko A.N., Kijev, UA

Soroh, D.B., és Kijev UA

Sevcsenko A.A. Kijev UA

A nemzetközi bejelentés napja: 1993. 07. 20.

Elsőbbsége: 1992. 07. 21. (5063049) UA

1992. 12. 17. (93030288) UA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/UA93/00003

A nemzetközi közzététel száma: WO 94/02404

81074-8516 BÉ/Pk

Immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyag; az anyag előállításának eljárása; az anyag alapján nyert készítmények; 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 rendezése céljából alkalmaznak, konkrétan az ellenállóképesség és az állatállomány-hozam növeléséhez.

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

Az emberi és állati szervezetben fellépő különböző patológia 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 idézett paraméterek normában való fenntartásában, ha a paraméterek eltérnek a normától/, vagy a szervezetre gyakorolt olyan hatásban, amely által e paraméterek rendeződnek.

A találmánycsoport a biológiailag aktív anyagokra vonatkozik, az anyag előállításának eljárására, és az anyag alapján előállított olyan készítmény előállítására, 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 homeosztáz-paraméterek rendezéséért felelős rendszereire, szerveire és szöveteire gyakorolt hatással.

A hormonális készítmények, mediátorok, növekedési tényezők beadagolása a kémoterápia és hasonló eszközök befogadása révén biztosítja a célsejtekre gyakorolt közvetlen hatást. Például,

a cukorbetegség kezelésénél inszulint adnak be, amely pótolja a hasnyálmirigy funkcionális fogyatékosságát; az idegrendszer funkcionális aktivitásának zavaránál neuromediátorokat adagolnak be, amelyek elősegítik a neuronok küszöbérzékenységének rendezését, és ennek megfelelően, az idegimpulzusok továbbítását; a szervezet immunrendszere funkcionális zavara esetén az immunválaszt korreláló immunmediátorokat használják, és így tovább.

A szervezetre gyakorolt közvetített hatással a betegségek gyógyítását a szervezet belső erőforrásai mozgósításával biztosítják. Így, a szervek és szövetek regenerációjával kapcsolatos folyamatok lezajlásánál azok működésének rehabilitációja vagy helyreállítása révén hajtják végre, valamint gyulladásos és fertőzőes folyamatoknál a szervezet immunrendszerét serkentik. Ennek köszönhetően biztosítva van a szervezet immunállapotának, és, ennek köszönhetően, 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 szabályozza a sejtcserét /FR-A-2413912/. Az idézett biológiailag aktív anyagot /a továbbiakban: BAA/ a magzattól 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 köszönhetően felhasználása biztosítja a szervezet élettani állapotának rendezését, beleértve a gyógykezelést, az állatállomány-hozam a kontrollcsoportéhoz képes 5-10 %-s növelését is.

Az ismert BAA hatásossága mégsem elegendő, annak következtében, hogy az immunmoduláló tényezők mellett az anyagban immundepresszánsok is találhatók, amelyek gátolják az immunmoduláló hatás teljes megnyilvánulását. Az említett anyag immunmoduláló tulajdonsága lényegében egy összefoglalt eredmény, amely az anyagban jelenlévő immunserkentő tényezők és depresszánsok egyidejű hatása által van biztosítva. Tehát az ismert BAA tényleges különleges aktivitása, amely az immunserkentő tényezők és a depresszánsok

koncentrációjának arányától függ, a jelentős depresszánskoncentráció következtében alacsony.

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

A fent idézett BAA hiányosságai nagy mértékben az anyag előállításához alkalmazott eljárástól függnének, amelyben a technológiai folyamat az állati szövetből nyert alapanyag felapritás^a és homogenizálása műveletével fejeződik be, és ez ahhoz vezet, hogy az összetételében állandóan jelentős mennyiségű depresszáns és nagymolekulájú vegyület van jelen.

Ismert olyan, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező BAA is a szervezet élettani állapotának rendezéséhez, amely az állati magzat szerveinek kivonata ~~MEP~~-A-0249563/, és a felapritott és homogenizált szövet ingredienseiből van előállítva.

Az idézett anyag előállítása az állati szövetből nyert alapanyag aprításából és homogenizálásából, az utána következő feloldatlan vegyületek eltávolításából, valamint az extrahált, oldott anyagok céltermékkénti kihasználásából áll /EP-A-0249563/.

Az idézett eljárás alapján nyert anyagok különleges aktivitása, amelyet az immunserkentő és immuninhibitor hatások eredményező összefüggése alapján határozzák meg, szintén nem elegendő. Ez azzal magyarázható, hogy az ismert BAA kivonatként való elnyerésének eljárása szerint csak oldódó fehérjéket használnak, a szerkezeti fehérjéket pedig eltávolítják, ami jelentősen csökkenti az anyagban lévő immunserkentő tényezők tartalmát.

Azonkívül, az ismert BAA olyan nagymolekulájú vegyületeket is tartalmaz, amelyek a szervezet mellékhatású immunreakcióját váltják ki.

Ismert ugyancsak BAA az aprított és homogenizált állati szövet ingrediensei alapján, amelyet a szervezet élettani állapota rendezéséhez, beleértve a szervezet ellenállóképességének és az állatállomány hozamának növelését is, az immunmórázó szervek /tymusz, lép, nyirokcsomó/ termotabil szövetkomponensei kivonata, vagy a hormontermelőszövetek kivonata formájában nyernek el /SU-A-I442064/.

Az ismert BAA rendeltetése a T-immunrendszer szabályozása, és felhasználása gyakorlatilag nem vált ki mellékhatású immunreakciókat /allergia, lasított hiperérzékenység, stb./. Az anyag különleges aktivitása a már említett BAA-hoz képest, magasabb, az immunserkentő tényezők fokozottabb tartalma miatt.

De az idézett anyag alkalmazása a szervezet élettani állapota rendezéséhez korlátozott az anyag mediátor és/vagy hormonális termé- szete következtében, amely kizárja a tulajdagsolást, amely révén nő a szervezet homeosztáz- paraméterei zavarának veszélye.

A szervezet élettani állapotának rendezéséhez biztonságosabb az aprított állati szövet termostabil komponensei kivonata formá- jában nyert BAA alkalmazása, amelyben nem annyira jelentős a mediá- tor vagy a hormontermelő aktivitás /SU-A-I39404/. Az adott BAA ugyan olyan előnyökkel rendelkezik, mint a korábban vizsgált BAA, de nem tanúsít ingerátviteli és/vagy hormonális aktivitást, habár ebben az esetben kissé csökken az anyag immunmoduláló aktivitása. Az ismert BAA e tulajdonságai az anyag előállításának eljárásával vannak kapcsolatban, amely az állati szövet aprításából, kétszeres hőkezeléséből és aszeptikus feltételek melletti kisereléséből áll /SU-A-I39404/.

Egy más, a szervezet élettani állapota rendezéséhez, beleért- ve a sérült testrészek gyógyítását is, használt immunmoduláló tulaj- donsággal rendelkező BAA az állati szövetből nyert alapanyag-in- grediensek, amelyeket előnyösen a ki nem fejlett állatokból nyerik ki, vizben oldódó hidrolizis-termékei alapján van előállítva /US- -A-4455302/. Emellett az anyag ásványanyagokat, oldódó szerves ve- gyületeket, olyanokat, mint a peptidek, aminosavak, és a szövet hidrolizise eredményeként nyert ásványanyagokat tartalmaz.

Az adott anyag a szervezet élettani állapota rendezését ille- tően nagy hatásossággal rendelkezik. Ez azzal magyarázható, hogy az ismert BAA az anyag összetételében nagy arányú immunserkentő és immuninhibitor hatásokkal jellemezhető az anyag összetételében lévő fokozottabb immunserkentő tényezők tartalma következtében.

De az említett BAA hatásossága mégsem elegendő, ez az össze- tételében lévő viszonylag nagy mennyiségű ballasztanyag- és immun- depresszánstartalommal van kapcsolatban. Azonkívül az ismert BAA használása mellékhatásokat is idézhett /allergia, stb./. Az is- mert BAA hiányosságához tartozik az is, hogy az elnyert céltermék összetétele nem állandó és tételenként ingadozó, és ennek követ- keztében az anyag szabványosítása nehézségekbe ütközik.

Az ismert BAA tulajdonságai, elsősorban az immunmoduláló ak- tivitása, közvetlen kapcsolatban van az anyag előállítása eljárá- sával.

Az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a szervezet élettani állapota rendezéséhez használt BAA előállításának eljárása szerint végrehajtják az állati szövetből nyert, aprított és kimosott alapanyag-ingredientensek hidrolizisét és azutáni centrifugálását a hidrolizis-termékek szűrésével és a céltermék por- vagy gélformájú elnyerésével. A hidrolizist gyengénsavas, hígított, 3,6-6,5 pH értékű szerves sav oldatban, 68° C hőmérsékleten hajtják végre, alapanyagként a fejletlen, legfeljebb 9-hetes koru, háziszárnyasok lábait használják /US-A-4455302/.

Az alkalmazott alapanyag, valamint a hidrolizis előtt az anyag homogenizálását és a le nem roncsolt szövetelemektől való megtisztítását és a morfol plazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó ingredientensekből álló szupernatans elkülönítését biztosító műveletek nem teszik lehetővé, hogy az említett komponensek magas koncentrációjával /30 % feletti/ rendelkező célterméket kapjunk, valamint, hogy csökkentsük az anyag immundepresszáns-, semleges- és ballasztvegyülettartalmát.

Ismert olyan, az emberi és állati szervezet élettani állapota rendezéséhez használt, az idézett állatszövet-ingredientensek hidrolizis-termékeiben képviselt szerves vegyületekre alapozott gyógyszer, amelyet a sérült testrészek bevonására használják /US-A-4455302/.

Az idézett hátrányokon kívül a BAA alapján előállított gyógyszer hiányossága az, hogy a szervezet immunrendszerének serkentése csak lokálisan, a gyógyszernek a sérült testrészekre történő rátételével történik. Ezért a készítmény hatásossága viszonylag alacsony.

Az idézett hiányosságok részben ki vannak küszöbölve az ismert, az emberi és állati szervezet állapota rendezéséhez használt immunmoduláló hatással rendelkező, hatékony alapu biológiailag aktív anyagot és töltőanyagot tartalmazó készítményben, az állati szövet ingredientensei hidrolizis-termékei alapján, amelyet a szervezetbe 0,75-1,0 ml/1 kg testsúlyra adagu intramusculáris injekciók által viszik be, 3-napos időközzel, és ilyen módon nem lokálisan használják /SU-A-904707/.

A gyógyszer az ismert eljárás szerinti felhasználásának hiányossága az, hogy azt a szervezetbe csak injekció révén vihető be, valamint az, hogy használata mellékhatásokat vált ki, mivel összetételében allergiát, lasított hiperérzékenységet okozó immunizást kiváltó vegyületek vannak.

Alapanyagként viszonylag nagy mennyiségű immundepresszánt 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 annak alapján előállított készítmény hatásosságát.

Az ismert készítmény lényeges hiányosságának tekinthető az is, hogy összetételében az elegendő hatásosság biztosításához nagy mennyiségű, különböző típusú biológiailag aktív anyagokat tartalmaz, ami, egyoldalról, a tuladagolás veszélyét, mellékhatásokat idézhet elő, másoldalról pedig növeli a készítmény költségeit.

Ismert az emberi és állati szervezet élettani állapota rendezésére szolgáló eljárás, amelyet főleg patológiai elváltozások és/vagy idegen sejtek, mikroorganizmusok, és/vagy azok élettevékenységének termékei által idézett betegségek esetén használnak, és amely előírja az állati szövet hidrolizis-termékei ingrediensei alapján nyert készítménynek a szervezetbe való bevitelét /SU-A- 904707/.

Az ismert eljárás hatásossága alacsony a készítmény fent említett hiányosságai miatt, beleértve azt is, hogy használatánál nagy adagra van szükség, amely 1 kg testsúlyra 10 mg biológiailag aktív anyagot tartalmaz, és ez együttjár a tuladagolás, valamint a mellékhatások veszélyével.

A találmány feltárása

A fent idézett hiányosságok ki vannak küszöbölve a találmány szerinti, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező biológiailag aktív anyagnál, az anyag és az anyag alapján nyert készítmény előállításának eljárásánál, valamint az anyag felhasználásának eljárásánál a szervezet élettani állapota rendezéséhez.

A találmány alapvető feladata egy biológiailag aktív, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező anyag, az anyag előállításának eljárása, valamint az anyag alapján nyert gyógyszer létrehozása, amelyek ^{által} magas biológiai aktivitást tudnak biztosítani toxicitás és különböző mellékhatások megnyilvánulása nélkül, valamint biztosítják a meghatározott összetételű, adott tulajdonságokkal rendelkező céltermék előállítását.

A kitűzött feladatot úgy oldják meg, hogy az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, biológiailag aktív, az aprított állati

szövet ingrediensei vízben oldódó hidrolizis-termékeinek szerves vegyületei által képviselt anyag hidrolizis-termékei termostabil, kismolekulájú sejtmorfoplazma és sejtglikokalix, az embriógenézis és/vagy a proliferáció, és/vagy a sejtek szétválasztása, és/vagy a patológia folyamat során, amely megelőzte vagy követi a szövet regenerációját és/vagy reparációját, módosított komponenseket tartalmaznak.

Megjegyezendő, hogy a "morfoplazma" szakkifejezést itt széles értelemben használjuk, és az magába foglalja a sejt citoplazma szerkezetre bontott, sejtorganellumok, membránok, sejtvázak és más sejtszerkezetek által képviselt részét /Jasuo Kagava. Biomembránok.-Moszkva-Viszsájá skolá"-1985-13,15 oldal/, a "glikokalix" szakkifejezést pedig a szénhidrátokat tartalmazó, a sejt plazmatikus membránja külső oldalához csatlakozó réteg megjelölésére használják /B. Alberts, D. Brey, J. Lewis. A sejt molekuláris biológiája.-"Mir"-1986-97. oldal/.

Azonkívül a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek összetételében a találmány szerinti BAA $T_H \leq 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten termostabil komponenseket is tartalmaz. Emellett a kismolekulájú komponensek aránya a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseiben tömegre számítva 30-100 %.

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy a találmány szerinti anyag a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseiből álló hidrolizis-terméke szerves vegyületeket is tartalmaz a következő tömegszázalékos arányban:

Poliipeptidek	26,0-ig
Peptidek	10,0-22,5
Aminosavok	32,0-60,1
Szénhidrátok	10,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	2,0-11,0

Emellett a találmány szerinti anyag szerves vegyületei következő arányu, tömegszázalékban kifejezett, szénhidrátokat tartalmaznak:

$M_{yB} > 10,0$ kDa molekuláris tömegű nagymolekulájú vegyületek	2,0-ig
--	--------

$M_{yH} = 0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű
kismolekulájú vegyületek

2,5-II,5

$M_{yM} < 0,8$ kDa molekuláris tömegű
szabad monomerek

6,0-I7,0

A találmány szerinti BAA-ban a $M_{yH}=0,8-10,0$ kDa értékű molekuláris tömeggel rendelkező szerves vegyületek összetételében a szénhidrátok és peptidek tömegtartalmának aránya $G=0,25-0,60$.

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy a találmány szerinti anyag sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseiből álló hidrolizátuma szerves vegyületeket is tartalmaz a következő tömegszázalékos arányban:

Poliptidek	I6,3-24,7
Peptidek	II,9-I7,I
Aminosavak	32,0-48,2
Szénhidrátok	I4,6-20,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,I-9,3

Azonkívül a találmány szerinti anyag sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseiből álló hidrolizátuma szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban adott arányban is tartalmaz:

Poliptidek	5,5-I2,7
Peptidek	I3,6-2I,6
Aminosavak	37,I-52,9
Szénhidrátok	I6,I-25,I
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,3-II,0

Szintén a találmány szerinti anyag sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseiből álló hidrolizátuma a szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban adott, arányban is tartalmazza:

Poliptidek	0,3-nál kevesebb
Peptidek	I4,9-22,5
Aminosavak	43,5-60,I
Szénhidrátok	I5,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,0-9,2

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező BAA előállításának eljárásánál, amelynél az állati szövetből nyert, kimosott alapanyagot felapritják, az így nyert ingredienseket pedig hidrolízis hatása alá vetik a hidrolizátum utána következő elkülönítésével, szűrésével, valamint a szupernatants céltermékként való elkülönítésével, alapanyagként az embriógenézis és/vagy proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy követő folyamat során módosított állati szövetet használnak, és hidrolízis előtt a szövetet homogenizálják és megtisztítják a szövet le nem roncsolt elemeitől a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket magába foglaló ingredienseket tartalmazó szupernatants elkülönítése érdekében.

Alapanyagként embrionális szövetet, a herék spermatogóniáit és spermatocitáit, placentáris szövetet, a bél epithelialis szövetét, csontvelő-sejteket, a thymusz differenciált timocitaszövetét, regeneráló bőrszövetet, regeneráló májszövetet, a kétéltűek regeneráló végtagjai szövetét, patológiailag elváltozott, a regeneráció szakaszán elkülönített szövetet használnak.

Emellett az anyag le nem roncsolt szövetelemeitől való, a homogenizálás utáni fiziológiai- és/vagy nufferoldatban történő megtisztítását szűrés és/vagy 150-250 g gyorsulással végzett, 10-15 percre tartó centrifugálás révén hajtják végre.

Azonkívül az állati szövetből nyert alapanyag aprítását a homogenizáció előtt hajtják végre és a homogenizálás a sejtek épsége leroncsolásáig tart a tartalom utána következő extrahálásával, majd a szűréssel egyesített kiegészítő kimosás és/vagy 300-1500 g gyorsulással 10-20 percre tartó centrifugálás révén, az aprított, extrahált szövet elkülönítésével.

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a hidrolízis hatása alá vetett ingrediensek összetételében a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek tartalma a szerves vegyületek össz tömegének 30-60 %-ka.

A hidrolízist $T_p = 4-45^{\circ} \text{C}$ hőmérsékleten hajtják végre. Emellett a hidrolízis tartósítószer jelenlétében is lehetséges.

A kitűzött feladat még azáltal is meg van oldva, hogy az ingrediensek hidrolizátumát $T_H = 60-120^{\circ} \text{C}$ hőmérsékleten hőkezelik a

termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, utána megszűrjük és/vagy 1500 g gyorsulás mellett 20-40 percig centrifugáljuk a termostabil komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elkülönítésével.

Azonkívül az ingrediensek hidrolizátumát féláteresztő filmen keresztül történő, és/vagy ultraszűrés, és/vagy gélszűrés által történő dialízis révén frakcionáljuk, a kismolekulájú $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű komponenseket tartalmazó frakció céltermékként való elkülönítésével.

A találmányban kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezéséhez használt, az állati szövet ingrediensei hidrolizátuma alapján nyert biológiailag aktív anyagot és töltőanyagot tartalmazó készítmény a biológiailag aktív anyag minőségében a hidrolizátum összetételében termostabil, kismolekulájú, az embriogenezis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválás, és/vagy patológia, a szövet regenerálását és/vagy reparálását megelőző és/vagy követő folyamat során módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket 0,001-85,0 tömegszázalékban tartalmaz, a többi töltőanyag.

A feladat azáltal is meg van oldva, hogy a készítményben lévő biológiailag aktív anyag a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensekből álló hidrolizátumában következő arányu szerves vegyületeket tartalmaz, tömegszázalékban:

Polipeptidek	26,0-ig
Peptidek	10,0-22,5
Aminosavak	32,0-60,1
Szénhidrátok	10,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más	2,0-11,0
szerves vegyületek	5,1-9,3

Azonkívül a kitűzött feladatot azáltal is meg lehet oldani, hogy a BAA következő arányu szerves vegyületeket tartalmaz, tömegszázalékban:

Polipeptidek	16,3-24,7
Peptidek	11,9-17,1
Aminosavak	32,0-48,2
Szénhidrátok	14,6-20,8
Lipidek, nukleotidok és más	
szerves vegyületek	5,1-9,3

-II-

A találmányban kitűzött feladatot úgy is meg lehet oldani, hogy a BAA következő arányu szerves vegyületeket tartalmaz, tömegszázalékban:

Polipeptidek	5,5-12,7
Peptidek	13,6-21,0
Aminosavak	37,1-52,9
Szénhidrátok	16,1-25,1
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,3-11,0

A találmány szerinti készítményben fel lehet használni olyan biológiailag aktív anyagot is, amely a következő arányu szerves vegyületeket tartalmazza, tömegszázalékban:

Polipeptidek	legalább 0,3
Peptidek	14,9-22,5
Aminosavak	43,5-60,1
Szénhidrátok	15,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,0-9,2

Töltőanyagként a készítmény nátrium-klórból és/vagy puffer sóoldatból készült, és/vagy szénhidrát vegyületet, és/vagy ásvány-állat-, növény- vagy műolajat, vagy azok keverékét tartalmazó fiziológiai oldatott tartalmazhat.

A készítményben kiegészítően tartósítószer is alkalmazhatnak.

A kitűzött feladat azáltal is meg van oldva, hogy az olyan, főleg patológiailag elváltozott, és/vagy idegen sejtek, mikroorganizmusok, és/vagy azok élettevékenységének termékei által kiváltott betegségeknél, amelyeknél elő van irányozva az állati szövet ingrediensei hidrolizátuma alapján nyert készítmények a szervezetbe való beadagolása, készítményként az emberi és állati szervezet élettani állapota rendezéséhez a biológiailag aktív anyag 0,001-85,0 tömegszázalékos összetételét /kompozícióját/ használják, amely a hidrolizátum keverékében sejt-morfoplazma és sejt-glikokális, az embriogenezis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválás, és/vagy patológia, a szövet regenerálását és/vagy reparálását megelőző és/vagy követő folyamat során módosított komponenseket, valamint 15,0-99,999 tömegszázalék töltőanyagot tartalmaz, a készítmény szervezetbe való beadagolását pedig intramusculáris injekciók révén, 0,005-0,5 mg/1 kg testsúlyra

adagban 1-7 nap időszakkal, és/vagy 0,012-0,12 mg/1 kg testsúlyra adagu 4 48 óránként ismétlődő inhaláció, és/vagy 0,02-1,0 mg/ 1 kg testsúlyra adagu 1-10 napos feltáplálással, és/vagy 0,02-1,0 mg/ /1 kg testsúlyra adagu tableták 1-10 napos beadagolásával, és/vagy 0,001-0,05 mg/1 kg testsúlyra adagu intranazális 2-24 óránkénti beadásával, és/vagy a nyálkahártyára, vagy a sérült felületekre való borogatások, hintőporok, kenőcsök, gélek és kupok 1-10 naponkénti alkalmazásával hajtják végre, az élettani állapot paraméterei rendezéséig.

Emellett az emberi és állati szervezet élettani állapotának rendezését az immunrendszer serkentése útján valósítják meg, főleg a retikulendoteliális rendszer, a T-, B-rendszer, a neutrofi-
lok és/vagy természetes killerek aktivitásának növelésével.

Meg van állapítva, hogy a találmány szerinti eljárás által nyert BAA gyakorlati hatásosságát az anyag fokozott biológiai aktivitása határozza meg, és elsősorban az anyag fokozott immunmoduláló hatása /tulajdonsága/.

Nagymértékben a szervezet homeosztázisa paramétereinek rendezésénél ezzel határozzák meg a találmány szerinti BAA a szervezetre gyakorolt hatását.

Irányítottan aktiválva az immunrendszert, elsősorban a makrofágális-granulocitáris sorhoz tartozó sejteket, a találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmény biztosítja:

1. nem a konkrét patológiára való hatást, hanem a szervezet általános élettani állapotának javulását, a homeosztázis összes paraméterei rendezésére irányuló, beleértve az adott patológiát is, belső tartalékok mozgósításával. Emellett mellékhatások nélkül korrigálják a patológiát követő, vagy azáltal kiváltott eltéréseket a normától. Rendezve a megváltozott paramétereket, a találmány szerinti BAA, sok más gyógyszerrel ellentétben, nem rontja a szervezet homeosztázisa többi paramétereit;

2. azt az összesített hatást, amely lehetővé teszi a BAA alkalmazási területének szélesítését egy egész sor betegséget illetően, amelyek ellenőrzéséért a szervezet immunrendszere felelős;

3. a homeosztázis paraméterei rendezésére irányuló hatásosság olyan mértékét, amely korrelálva van a normától való eltérés mértékével.

A gyógykezelés során az eltérések hiánya, vagy a paraméterek rendezése esetén az immunrendszersejtek a készítmény által serkentett aktivitása már néhány nappal a találmány szerinti BAA bevitel után rendeződik bármilyen, a szervezetre kiható következmény nélkül, és így a BAA hatása megszűnik. Emellett a visszacsatolás elve valósul meg- minél kisebb az eltérés, annál kisebb a hatás, és fordítva.

Az idézett eredmények a találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmény különleges tulajdonságainak köszönhetők, amelyek hiányoznak az összehasonlításnál figyelembe vett anyagoknál, és amelyek megnyilvánulását a BAA összetételében lévő sejtmorfoplazma és sejtglikokalix, az embriógenézis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy követő folyamat során módosított komponenseket tartalmazó hidrolizátum biztosítja.

Meg van állapítva, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek fokozott tartalma a fent idézett embriógenézis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy követő folyamat során nyert állati szövetek felhasználása által van biztosítva.

Az ilyen szövetek a következők:

- a tymusz differenciálódó timocitái;
- a herék spermatogóniái és spermacitái; csontvelősejtek, a bél epiteliás szövet;
- embrionális szövet, placentáris szövet;
- a kétéltűek végtagjai regeneráló szöve, vagy a regeneráló máj-, részleges hepatektomia vagy mérgező anyag, pl. szén-tetraklorid/ CCl_4 /, hatása után regeneráló bőrszövet, valamint patológiát tartalmazó szövet, pl. gangrénánál, vegyi vagy termikus sérülésnél.

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

Ugyancsak meg van állapítva, hogy a felsorolt szövetek jellegzetes sajátosságához tartozik a módosított sejtmorfoplazma és

sejtglikokalix komponensek jelenléte, amely lehetővé teszi azok elválasztását a felnőtt egyedek intakt vagy nyugvó szövetsejtjeitől.

Az idézett szövetek sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseinek e sajátossága lehetővé teszi azok felhasználását a találmány szerinti BAA-ban, és az anyag alapján előállított készítményben, amely az állati és emberi szervezetbe való bevitelénél biztosítva van a szervezet patológia iránti, irányított viszontreakciója serkentésének lehetősége. Ebben a folyamatban kulcsszerepe van a szervezet immunrendszerének.

Az idézett, az említett szövetekben lezajló folyamatoknál, és/vagy a normától való eltéréseknél az információk hordozójaként a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix szerkezetéhez tartozó, a sejtek fiziológiai státusa változásánál módusoló komponensek lépnek fel. A találmány szerinti BAA, és az anyag alapján előállított készítmény ilyen módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz, ami használatuknál biztosítja a szervezett fent említett viszontreakciójának serkentését.

Az aprított szövet a hidrolízis folyamata előtti kimosása a a szövet, és vérvivonat komponensektől, egyesítve a homogenizálással, amely után a le nem roncsolt szövetelemektől való tisztítást hajtják végre, biztosítja a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek magas koncentrációját /30-60 %/ a találmány szerinti BAA-ban és az anyag alapján előállított készítményben, valamint az immundepresszáns-tartalom, a különleges aktivitás iránt semleges és ballaszt-, a céltermék maradéktömegét képző vegyületek jelentős csökkentését.

A szervezet viszontreakciója jelentősen felerősödik a találmány szerinti anyag bevitelénél, amely sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz termostabil / $T_H \leq 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten stabilok/ és kismolekulájú $M \leq 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű komponensek formájában.

A találmány szerinti BAA-ot hatóalaptételként használják a készítményben, amelyben, a készítmény rendeltetésétől függően, különböző töltőanyagokat használnak.

Belsőleg a készítményt injekció formában rendelik, és töltőanyagként a nátrium-klór oldatot vagy a puffer sóoldatot használják. Külsőlegi gyógyszerként az idézett oldatokon kívül, töltőanyagként használhatók az összetett gélkomponensek: állati vagy növényi eredetű szénhidrát vegyületek is, pl. méz, lé, növényhus,

stb., vagy ásvány-, állat-, növény- vagy műolaj, vagy azok keveréke alapján előállított kenőesők.

Emellett a készítmény hatásossága és a BAA összetétele között egy nem nyilvánvaló összefüggés lett felderítve. Ez lehetővé tette, hogy a készítmény hatóanyagát jelentősen csökkentse és ezáltal kiküszöböljék a tulajdagolás, mellékhatások lehetőségét, valamint jelentősen csökkentse a készítmény árát is.

Azonkívül meg lett állapítva, hogy a készítmény fent említett új tulajdonságai lehetővé teszik a készítmény felhasználását a szervezet élettani állapota rendezésénél a szervezetbe bármilyen adagban való bevitelénél, mégpedig 0,001-től néhány grammig 1 kg testsúlyra számítva.

Az idézett tulajdonságokat a továbbiakban a készítmény konkrét megvalósításának példáin mutatjuk be, mégpedig az 1., 2., 4., 8., 9., 12., 16., 18.-25. sz. és a többi példakon.

A fent említett eljárásnál az új készítmény együttes tényezői felhasználásának, konkrét adagolásának, adagolása ²o²thatóságának, valamint az emberi és állati szervezetbe való beviteli módszerének köszönhetően biztosítva van az olyan betegségek gyógyítása, amelyek főleg patológiailag elváltoztatott és/vagy idegen sejtek, mikroorganizmusok, és/vagy azok élettevékenységének termékei váltanak ki, és amit a továbbiakban a találmány konkrét felhasználása példáin, mégpedig a 3., 4., 7., 8., 11.-13., 15.-17. sz. példakkal mutatjuk be.

A találmánycsoport megvalósításának változatai

A találmány szerinti, immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a szervezet élettani állapotát rendező biológiailag aktív anyagot következőképpen állítják elő.

Alapanyagként az embriógenezis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy követő folyamat során módosított állati szövetet használnak. Az említett állati szövetet ki-mossák és felaprítják, azután a sejtek teljes leromcsolásáig fizi-ológiai- és/vagy pufferoldatban homogenizálják, majd a homogeni-zált keveréket megtisztítják a le nem romcsolt szövetelemektől, szűrés és/vagy centrifugálás útján a sejtmorfoplazma és sejtgliko-kalix komponenseket tartalmazó ingrediensek elkülönítésével, utána

a keveréket hidrolizis hatása alá vetik. A hidrolizátumot centrifugálás és szűrés után céltermékként használják fel a szervezet élettani állapota rendezéséhez, különösen külsőleges használatnál /inhaláció, applikáció, intranazálisan, kenőesők összetételében, stb./.

A céltermék hatásossága a benne lévő sejtmorfol plazma és sejtglikokalix módosított komponensek tartalmától függ. E komponensek tartalmának növelését olyan alapanyag kiválasztásával érik el, amelynél a szövetekben a módosítási folyamatok nagy intenzitással zajlanak le, valamint az alapanyagkezelés optimális feltételei kiválasztásával.

Az alapanyag kiválasztását az a körülmény határozza meg, hogy a sejtmorfol plazma és sejtglikokalix komponensek elég sajátosⁿ viselkednek, a sejtek élettani állapota változására saját szervezetük strukturális megváltoztatásával válaszolnak, amely következtében a szövet immunitást^{kiváltó hatása} is változik, és ezáltal kiváltja a szervezet immunrendszere megfelelő reakcióját. Meg van állapítva, hogy a módosított szerkezet immunitást^{kiváltó hatása} a fent említett folyamatok /embriógenézis és hasonló/ lezajlása alatt biztosítva van.

Állati szövetként különösen:

- a tymusz differenciálódó timocitjait /a sejtszétválasztás folyamata/;

- a herék spermatogóniáit és spermatocitáit, csontvelősejteket, a bál epiteliás szövetét /a proliferáció és sejtszétválasztás folyamatai/;

- embrionális, placentáris szövetet / a proliferáció, sejtszétválasztás, embriógenézis folyamatai/;

- a kétéltű állatok regeneráló végtagjai szövetét, a patkányok részbeli hepatektomia vagy a máj^{szén-tetrakloróddal} /CCl₄/ való megmérgezése után regeneráló májszövetét;

- regeneráló bőrszövetet, valamint patológiát tartalmazó szövetet, pl. gangrénánál, vegyi vagy termikus sérülésnél vett szövetet /a felsorolt folyamatok különböző kombinációja esetén/ használják.

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 sajátossággal rendelkeznek, mégpedig ezeknél a szöveteknél a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek szerkezete megváltozik, ami lehetővé teszi azok elválasztását a felnőtt egyedek szövete intakt vagy nyugvó sejtjeitől. A sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseinek sajátossága lehetővé teszi azok felhasználását a találmány szerinti BAA-ban, amely az állati vagy emberi szervezetbe való bevitelénél biztosítva van a szervezet : által a patológiára gyakorolt válaszreakció ösztönzésének lehetősége. Ebben a folyamatban kulcsszerepe van a szervezet immunrendszerének.

Előnyösebb, ha a módosító folyamat inkrement szakaszán nyert állati szövetet használjuk. Ezt a szakaszt empirikusan az immunitási kiváltó ^{hatás} változása jellegének alapján határozzák meg. Így, az embrionális szövet felhasználása esetén ez az időszak az embriogenezis első feléig tart. A patkányok regeneráló máját a részleges hepatektomia utáni 4-12 óra leteltével használják, a kételtű állatok regeneráló végsőtagjai felhasználása esetén a blasztoma képződésének szakaszán.

A sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek tartalmának viszonylagos növelését a találmány szerinti eljárás olyan üzemmódjával valósítják meg, amely megvalósításának egyik nélkülözhetetlen feltétele a le nem roncsolt szövetelemek, amelyeket főleg a kötőszövet képviseli, eltávolítása.

A le nem roncsolt elemektől való megtisztítást centrifugálással biztosítják 150-250 g gyorsulással 10-15 perc alatt. Ez azzal magyarázható, hogy nagyobb gyorsulásnál és a folyamat hosszabb időtartama esetén a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix elemek is leülepednek, és 150 g alatti gyorsulás esetén pedig a tisztítás nem hatásos.

A le nem roncsolt elemektől való megtisztítást azonkívül nagyporusu szűrő segítségével végzett szűréssel is biztosítják, pl. néhány gézrétegen, pamutszöveten vagy kapronhálón keresztül.

A céltermék immunmoduláló tulajdonságának fokozásához homogenálás előtt a szövetet felaprítják a sejtek épségének leroncsolásáig, és utána úgy extrahálják, hogy fiziológiai-és/vagy szerves sav oldatban való kiegészítő kimosás és szűrés és/vagy 300-1500 g gyorsulással történő 10-20 percnyi centrifugálás révén megnyerjék

a felapritott, extrahált szövetet, majd azt homogenizálják.

E folyamat révén egyrészt az immunodepresszánsok nagy részét, amelyek a vérsavóban és a szövetkivonatban jelen vannak, eltávolítják, másrészt elérik a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek viszonylagos tartalmának növelését, ami fontos olyan szöveteknél, ahol ez a tartalom alacsony szintű.

A felhasznált, felapritott állati szövet kiegészítő, homogenizálás előtti átöblítése 300-1500 g értékű 10-20 percnyi centrifugálás révén, lehetővé teszi, hogy az extrahált szövetet ipari körülmények között a lehetőleg legjobb minőséggel különítsük el a kivonatból. Hasonló hatást érünk el nagypórusú szűrőn végzett szűréssel is, pl. néhány gézrétegen, pamutszöveten vagy kapronhálón keresztül.

A hidrolizishez nyert szöveti ingrediensekben a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek viszonylagos tartalmát a sejtszerkezet fehérje- és szénhidráttartalma alapján határozzák meg.

A céltermék hatásossága nagy mértékben nő, ha a sejtmorfoplazma és a sejtglikokalix komponenseket kismolekulájú komponensek formájában használják fel.

Ez, egyrészt, lehetővé teszi, hogy elkerüljék a nem kívánatos mellékhatásokat, másrészt, hogy széles hatású készítményt nyerjünk, amely nincs korlátozva az állatfajták sajátossága szempontjából, és megfelel az orvostudomány követelményeinek is. E célból a szövet sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponenseit tartalmazó ingredienseket hidrolizis hatása alá vetették, amely a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix nagymolekulájú szerkezetű képződményeit olyan termékekre bomlasztja, amelyek kisebb molekuláris tömeggel rendelkező komponenseket tartalmaznak. A hidrolizátum hatásossága a hidrolizis sajátosságától függ, amely pedig nagymértékben a hő-idő karakterisztika függvénye.

Meg van állapítva, hogy a találmány szerinti anyag immunmoduláló tulajdonsága, mégpedig a patkányok hashártyaváladáka makrofágjai aktivitásának növelése in vitro a hidrolizis $T=4-45^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletsávban való lebonyolítása esetén maximális.

Eltérések ettől az értéktől nem kívánatosak, mivel:

- ha a $T_m < 4^{\circ}\text{C}$, akkor jelentősen növekedik a hidrolizis időtartama, ami csökkenti a gazdaságosságot;

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

A hidrolizis időtartamát a találmány szerinti anyag immunitás-serkentő hatása /tulajdonsága/ maximális szintje szerint állapítják meg, mégpedig a hashártyaváladék makrofágok aktivizálása alapján, a HCT-teszt szerint.

A hosszú ideig tartó hidrolizist tartósítószer jelenlétében hajtják végre.

A kismolekulájú komponensek tartalmának /relatív koncentrációjának/ viszonylagos növekedése a hidrolizátumban a nagymolekulájú termolabilis vegyületek tartalmához képest a hidrolizátum hőkezelésével van biztosítva a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, amelyeket azután legalább 1500 g gyorsulása, 20-24 perces centrifugálás és/vagy szűrés útján üledékként távolítják el. A sejtmorfoplazma és sejtglikokalix termotabil komponenseket tartalmazó szupernatátst céltermékként használják fel.

A hidrolizátum hőkezelése $T_m = 60-120^\circ \text{C}$ hőmérsékletsávban történik, mert az e sávon kívüli kezelés csökkenti az anyag különleges aktivitását.

Igy, $T_m < 60^\circ \text{C}$ -nál nem minden fehérje van a denaturálásnak kitéve, és ennek következtében a céltermékben fokozott lesz a termolabilis vegyületek tartalma. Emiatt pedig csökken az anyag különleges aktivitása. $T > 120^\circ \text{C}$ hőmérsékletnél a szerkezeti változások gyorsasága a céltermék peptid és szénhidrát termékeiben ugrásszerűen növekedik, és ezáltal csökken a céltermék minősége.

A hőkezelés után a termotabil komponensek kiválasztását 1500 g értékű, 20-40 perces centrifugálással hajtják végre, mert ezen érték csökkenése esetén jelentősen csökken a denaturált termolabilis vegyületek eltávolításának mértéke, a 20-40 perc időtartam pedig a legoptimálisabb.

A koagulált, denaturált termolabilis vegyületeket a szupernatansból papírszűrőn keresztül megvalósított szűréssel lehet elválasztani.

A sejtmorfoplazma és sejtglikokalix termotabil komponenseket tartalmazó céltermék fokozott különleges aktivitással rendelkezik, és lehetővé teszi a szélesebb spektrumu feladatok megoldását is. A célterméket injekciós anyagként mind az állatorvostan, mind az orvostan keretében használják.

A BAA különleges aktivitása további növelését úgy érik el, hogy a hidrolizátumból egy félig át nem eresztő film és/vagy ultra-, és/vagy gélszűrés révén megvalósított dialízis segítségével kinyerik a kismolekulájú $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömeggel rendelkező komponenseket, ami lehetővé teszi a nagymolekulájú, mellékhatásokat idéző vegyületek eltávolítását.

A hatásosság ezáltal elérhető értéke lehetővé teszi a célterhek orvostannál való széles körű felhasználását.

A találmány szerinti BAA-t hatóanyagként használják a gyógyszerek előállításánál, és itt a BAA koncentrációját a felhasználás célja határozza meg. Az állatok itatásához és felhizlalásához használt készítményeknél a BAA koncentrációja nem nagy, és növekedik az injekciókhoz használt készítményekben, valamint a kenőcsökben, gélekben és porokban.

A rendeléstől függően a készítményekben különböző töltőanyagokat használnak. Így, injekciókhoz, inhaláláshoz, rátételhez, valamint az intranazálisan használt készítményeknél nátrium-klorid fiziológiai oldatot vagy sós pufferoldatot alkalmaznak, szénhidrát vegyületeket töltőanyagként olyan készítményeknél alkalmaznak, amelyek a méhek táplálásához vannak rendelkezve /pl. 10%-s cukorszörp/, vagy különböző gélek előállításához /pl. méz, növénylé vagy növényhús/. Kenőcsöknél töltőanyagként ásvány-, állat-, növény vagy szintetikus származású olajokat, vagy azok keverékét alkalmazzák.

A továbbiakban a találmány szerinti csoportok kivitelezését és felhasználását konkrét példákon mutatjuk be, valamint ismertetjük a biológiailag aktív anyagok összetétele meghatározásánál használt eljárásokat és az ilyen anyagok tulajdonságait is.

I. sz. példa

A találmány szerinti BAA előállításához a tehének terhessége első felének szakaszán nyert embrionális szövetét használták. Az embriókból, kálium-permanganát $/KMnO_4/$ gyenge oldatában való fertőtlenítés után kivágták az embrió izom- és bőrszövetét, máját, lépét, hasnyálmirigyét, veséit, tüdőjét és szívét, amelyeket husdaráló segítségével durván felaprították.

Azután 10 kg darált anyagot összekevertek 30 kg fiziológiai oldattal és késkeverőben homogenizálták a homogén massa megjele-

néséig. A keveréket a le nem roncsolt szövetelemektől dekantáció útján tisztították meg, és a megnyert üledék felletti szövetingredienseket tartalmazó folyadékot, amely a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket foglalja magába, 48 óra alatt, $T_H=45^\circ \text{C}$ hőmérsékleten autolizis hatásának vetették alá.

Az így nyert hidrolizátumot egy papírszűrőn megszűrték, a ki-nyert, sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó filtrátumot pedig céltermékként használták fel, amely szerves vegyületeinek tartalmát és az általa kiváltott különleges aktivitást az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

Az I,0 tömegszázalék BAA-t tartalmazó célterméket- a többi töltőanyag- összekeverték 9 térfogatnyi uborka-körtehuszal és gyógyszerként kozmetikai célokra használták fel géles arcmaszk formában. Hosszidejű tárolás esetén a gélhez tartósítószer adnak hozzá /nipagint és nipazolt 5:1 tömegarányban/ 0,1 tömegszázalékos végleges koncentrációban. A gél 2-3 órára rakták fel az arcra. Az eljárást hetenként 1-2 szer ismételték meg. A gyógyító hatás 4-10 kezelés után jelentkezett, és azt a bőr állapota alapján ellenőrizték.

2. sz. példa

Az I. sz. példához hasonlóan nyert embrionszövetet felapri-tották. Utána 10 kg husdarát összekeverték 30 kg fiziológiai ol-dattal és a homogén massa megjelenéséig homogenizálták. Ahoz, hogy a le nem roncsolt szövetelemeket, beleértve a kötőszövet-ele-meket is, eltávolítsák, a homogenizált masszát 250 g gyorsulással 10 perc alatt centrifugálták. A centrifugálás utáni üledéket eltá-volitották, a szupernatanst pamutszöveten keresztül megszűrték a flotációs zsiradék eltávolítása céljából. Az így megtisztított ho-mogén filtrátumhoz, amely ingredienseként 30 tömegszázalék sejt-morfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz, tartósító-szer adtak hozzá /chinozolt/, hogy a végleges koncentráció 0,08 tömegszázalék legyen. Összekeverés után a homogén terméket $T_P=40^\circ \text{C}$ hőmérsékleten 6 hét alatt hidrolizis hatása alá vetették.

Az így nyert hidrolizátumot 15000 g gyorsulással 20 perc alatt centrifugálták, és céltermékként sejtmorfoplazma és sejtgli-kokalix komponenseket tartalmazó szupernatanst nyertek. Az így nyert céltermék szerves vegyületeit és az azok által kiváltott kü-lönleges aktivitást az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

A biológiailag aktív any- anyagok /BAA/ immunmodulá- ló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelő- en			
		I. sz.	2. sz.	3. sz.	4. 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	52,3	54,2	71,0	58,3
2. A vérneutrofi- lok aktivitásának növekedése, %-ban, az ellenőr- zéshez képest	a fermenta- tív aktivitás /HCT-teszt/ az E. Coli szerinti fago- cita aktivitás	66,7	71,2	85,0	75,4
3. A blasztátalakulá- lási reakció serken- tése, %-ban, a kont- rollhoz képest	T-limfocitok- nál B- limfocitok- nál	40,2	44,8	51,3	46,2
4. A timikus savó- tényező títorszámá- nak növekedése, %-ban, a kontroll- hoz képest		156,3	167,4	249,8	210,4
5. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának serkentése, %-ban, a kontrollhoz képest		65,7	66,1	78,5	72,3
6. Az aktivitást redukáló patkány- hepatocitok repa- rálóképességének fokozása CCl ₄ be- adása után, %-ban a kontrollhoz ké- pest	Na, K-ATF- ázok vérámino- transzferaz a hepatocitok K ⁺ koncentrá- ciója	20,1	24,3	29,1	26,7
		18,7	22,1	32,3	27,4
		10,3	13,8	19,8	16,8

I. sz. táblázat

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően		
		7.sz.	8.sz.	9.sz.
1. A patkányok has-	a fermenta-			
hártyaváladéka mak-	tív aktivitás	102,6	73,0	87,6
rofággjai aktivitásá-	/HCT-teszt/			
nak növekedése,				
%-ban az ellenőrzés-	az E. Coli sze-	73,9	54,7	64,1
hez képest	rinti fagocita			
	aktivitás			
2. A vérneutrofi-	a fermenta-	109,2	81,6	95,4
lok aktivitásának	tív aktivitás			
növekedése,	/HCT-teszt/			
%-ban, az ellenőr-	az E. Coli	78,9	61,9	60,2
zéshez képest	szerinti fago-			
	cita aktivitás			
3. A blasztátalakulá-	T-limfocitok-	79,7	59,3	69,2
lási reakció serken-	nál			
tése, %-ban, a kont-				
rollhoz képest	B- limfocitok-	93,3	71,9	83,4
	nál			
4. A timikus savó-		364,3	273,1	307,4
tényező titer-számá-				
nak növekedése,				
%-ban, a kontroll-				
hoz képest				
5. A patkányszplenocitok természetes		120,6	90,0	105,0
killeraktivitásának serkentése,				
%-ban, a kontrollhoz képest				
6. Az aktivitást	Na, K-ATF-	34,6	28,2	30,8
redukáló patkány-	-ázok			
hepatocitok repa-	véramino-	53,6	38,8	45,2
rálóképességének	transzferaz			
fokozása CCl ₄ be-	a hepatocitok			
adása után, %-ban	K ⁺ koncentrá-	27,0	22,2	24,6
a kontrollhoz ké-	ciója			
pest				

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A BAA hatásának mennyiségi mutatói, a példáknek megfelelően		
		II.sz.	I2.sz	I3. sz.
1. A patkányok has-	a fermenta-			
hártyaváladéka mak-	tív aktivitás	I58,2	I27,0	I5I,I
rofágjai aktivitásá-	/HCT-teszt/			
nak növekedése,				
%-ban az ellenőrzés-	az E. Coli sze-	I24,7	II6,I	I22,4
hez képest	rinti fagocita			
	aktivitás			
2. A vérneutrofi-	a fermenta-			
lok aktivitásának	tív aktivitás	I79,5	I38,3	I67,6
növekedése,	/HCT-teszt/			
%-ban, az ellenőr-	az E. Coli	I34,3	II2,9	I25,4
zéshez képest	szerinti fago-			
	cita aktivitás			
3. A blasztátalakulá	T-limfocitok-	I49,3	I20,3	I4I,3
lási reakció serken-	nál			
tése, %-ban, a kont-				
rollhoz képest	B- limfocitok-	I89,6	I46,8	I76,2
	nál			
4. A timikus savó-				
tényező titer számá-		706,0	543,4	650,8
nak növekedése,				
%-ban, a kontroll-				
hoz képest				
5. A patkányszplenocitok természetes				
killeraktivitásának serkentése,		2II,0	I78,4	I94,4
%-ban, a kontrollhoz képest				
6. Az aktivitást	Na, K-ATF-	64,8	50,4	60,2
redukáló patkány-	-ázok			
hepatocitok repa-	véramino-	82,0	59,2	75,6
rálóképességének	transzferaz			
fokozása CCl ₄ be-	a hepatocitok			
adása után, %-ban	K ⁺ koncentrá-	52,5	43,9	50,4
a kontrollhoz ké-	ciója			
pest				

2. sz. táblázat

Szerves vegyületek A példák szerint nyert BAA szervesvegyület-tartalma
tömegszázalékban

	I.sz.	2.sz.	3.sz.	4.sz.	5.sz.	6.sz.	7.sz.	8.sz.	9.sz.	10.sz.	11.sz.	12.sz.
Poliipeptidek	26,0	16,3	21,8	20,5	11,0	5,5	12,7	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
Peptidek	10,0	11,6	20,0	11,9	21,0	13,6	18,6	19,1	14,9	22,5		kevesebb
Aminosavak	51,5	48,2	32,0	44,3	37,1	52,9	47,3	43,5	60,1	49,8		
Szénhidrátok:												
- a nagymolekulájú, M 10,0 kDa molekuláris tömeggel rendelkező vegyületek összetételében;	2,0	0,3	1,1	0,6	0,6	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
- a kismolekulájú, M=0,8-10,0 kDa molekuláris tömeggel rendelkező vegyületek összetételében	2,5	3,3	10,3	5,0	11,0	4,0	7,4	11,5	4,9	11,0		kevesebb
- a szabad monomerek, vagy az M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	6,0	11,0	9,4	12,6	13,5	12,8	8,3	17,0	10,4	11,2		
ÖSSZESEN:	10,5	14,6	20,8	18,2	25,1	17,0	16,1	28,7	15,5	22,4		
Lipidek, nukleotidok, valamint más szerves vegyületek	2,0	9,3	5,4	5,1	5,8	11,0	5,3	8,5	9,2	5,0		
ÖSSZESEN:	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0		
A szénhidrát és a peptidtartalom aránya, G	0,25	0,28	0,52	0,42	0,52	0,30	0,40	0,60	0,33	0,50		

G: együtttható, amely a szénhidrátok a neótidekhez képes relatív tartalmát jellemezi az
M= 0,8-10,0 kDa molekuláris tömeggel rendelkező vegyületeknél.



Az I,0 tömegszázaléknyi BAA-t tartalmazó-a többi töltőanyag-célterméket gyógyszerként használták fel az elgyengült prémes állatnövényedékek, valamint baromficsirkék megőrzése fokozásának érdekében, egy különleges kamrában történő inhaláció segítségével, ahol az állatok 15-20 percet tartózkodtak. A kamrában a készítményt aeroszol eljárással porlasztották szét, 0,5 ml készítményt 1 m^3 számítva 1 perc alatt. Az eljárást 7 naponként ismételték meg. A hatást az állatnövényedékek elhullásának csökkenésével ellenőrizték, amely 30-40 %-t tett ki.

3. sz. példa

Az I. sz. példához hasonlóan nyert embrionális szövetet felapritották. Az így nyert húsdarát állandó keverés mellett leöntötték kétszeres térfogatnyi fiziológiai oldattal. A keveréket 1500 g gyorsulással 20 perc alatt centrifugálták. Az üledéket kiszedték, újból megkeverték kétszeres térfogatnyi fiziológiai oldatban és azonos feltételek mellett centrifugálták. A húsdara kimosását 3-szor ismételték meg. Utána a 10 kg kimosott húsdarát összekeverték 30 kg pH=7,2 értékű centimoláris foszfátsós pufferoldattal /0,01 M PBS/, amely kétszeresen helyettesített centimoláris nátrium-foszfát és tizenötcentimoláris nátrium-klór oldatot /0,01 M Na_2HPO_4 és 0,15 M NaCl/ tartalmaz, és kolloid örlőgépen a homogén massa megjelenéséig homogenizálták. A le nem roncsolt szövetelemeket 150 g gyorsulással 15 perc alatt végzett centrifugálás után megkapott üledékként távolították el. A szupernatantot a flotálási zsiradék pamutszöveten történő kiszűrése után tartósítószerrel kezelték 0,08 tömegszázaléknyi végső koncentrációig. Az összekeverés után^a 60 tömegszázalék sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó homogén terméket 6 hét alatt $T_p = 4^\circ\text{C}$ hőmérsékleten hidrolízis hatása alá vetették.

A megnyert hidrolizátumot 1500 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták, ami eredményeként sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó célterméket nyertek, amely szervesvegyület-összetételét és az általa kiváltott különleges aktivitást az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

A célterméket, amely I,0 tömegszázalék BAA-t tartalmaz-a többi töltőanyag- gyógyszerként a parainfluenzában szenvedő borjúk gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan adták be 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban, háromnapos

időszakkal. A gyógyító hatás I-5 injekció után mutatkozott, és azt a testhőmérséklet és a vérben jelenlévő vírusok alapján ellenőrizték.

4. sz. példa

Az első példához hasonlóan nyert, a husdarálón durván felapri-
tott husdarát kétszeres térfogatnyi 3 %-s ecetsavval állandó keve-
rés közben öntötték le. A keveréket vákuumban, pamutszövet felhasz-
nálásával nutsch-szűrőn szűrték meg. Az üledéket kiszedték, újból
megkeverték kétszeres térfogatnyi fiziológiai oldattal és 300 g
gyorsulással 20 perc alatt centrifugálták. 10 kg kiműsolt husdarát
összekeverték 30 kg pH=7,2 értékű centimoláris foszfát sós buffer-
oldattal /0,01 M PBS/, amely kétszeresen helyettesített centimolá-
ris nátrium-foszfát és tizenötcentimoláris nátrium-klór oldatot
/0,01 M Na_2HPO_4 és 0,15 M NaCl/ tartalmaz, és kolloid örlőgépen
a homogén massa megjelenéséig homogenizálták. A le nem roncsolt
szövetelemek eltávolításához a homogén masszát pamutszöveten keresz-
tül szűrték meg. Az így nyert filtrátumhoz tartósítószerrel adtak
hozzá a 0,08 tömegszázalékos végleges koncentráció eléréséig. Össze-
keverés után az 50 tömegszázalék sejtmorfoplazma és sejtglikokalix
komponenseket tartalmazó homogén terméket 8 nap alatt $T_p = 20^\circ \text{C}$
hőmérsékleten hidrolízis hatása alá vetették. A további művelete-
ket a 3. sz. példa szerint végezték.

A céltermék szervesvegyület-tartalmát, és az általa kiváltott
különleges aktivitás mutatóit az I. és 2. sz. táblázatok tartalmaz-
zák.

A célterméket, amely 1,0 tömegszázalék BAA-t- a többi töltő-
anyag-tartalmaz, gyógyszerként a bőrbetegségek gyógyításához ke-
nőcs formában, a lanolin, vazelin és a céltermék 1:3:1 tömegrész
arányban való összekeverése révén használták. A kenőcsöt a bőrbe
naponta egyszer dörzsölték be. A gyógyító hatás 4-12 nap múlva je-
lentkezett, és azt a bőr állapota szerint ellenőrizték.

5. sz. példa

A sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek relatív tar-
talmát százalékban /tömegarányban/ a hidrolízis lebonyolításához
adott kötőszövet- és szövetingrediens-kivonat komponensekhez képest
a le nem roncsolt elemektől megszabadított sejtszerkezetek fehérje-
és szénhidráttartalma alapján határozták meg.

Erre a célra a le nem roncsolt szövetelemekből az I-4. sz.
példákhoz hasonlóan megtisztított homogén terméket 100 000 g gyor-

sulással 60 perc alatti ultracentrifugálás hatása alá vetették.

A fehérjemennyiség aránya az egész üledékben és a szupernatantsban a sejtmorfoplazma- és sejtglikokalix-fehérje, és a kivonat-fehérje arányát adja meg.

Az üledék és a szupernatants fehérje-tartalmát a homogenizálás termékének ultracentrifugálása után határozták meg. A szupernatants eltávolítása után 0,1 ml üledékhez 4,9 ml fiziológiai oldatot adtak hozzá, és szuszpendálás után 0,1 ml-t elvettek a fehérjemennyiség fotometrikus megállapításához SDS-Louri módszerrel, az oldatszínintenzitás mérése alapján /U.K. Laemmli.-Nature, -1970-V. 227,-5229,-p.680-685/.

A szupernatants fehérje-tartalmának megállapításához 0,1 ml szupernatantshoz 0,9 ml fiziológiai oldatot adtak hozzá, és keverés után 0,1 ml keveréket vettek el a fehérjemennyiség SDS-Louri szerinti méréséhez.

A kötőszövet-komponensek tartalmát aminosavas elemzéssel határozták meg az oxilizin és oxiprolin jelenléte alapján.

Az ismert anyagoktól eltérően, a vizsgálatnál a BAA ezeket az aminosavakat nem tartalmazta.

A sejtglikokalix komponensek tartalmát a komponensek homogenizálásának termékében lévő szénhidrátok, amelyek a 0,8 kDa molekuláris tömeggel rendelkező vegyületekben találhatók, mennyisége alapján határozták meg az antronreakció szerint, a glikolén-granulátumok a homogenizálás termékéből való eltávolítása után. /S.Seifter, S. Doyton, C. Havic.-Arch. Biochemistry and Biophysical, -1950,-25-I,-p. 191-200/.

Erre a célra a szövet homogenizálásának termékéből 20 ml-t 30 ml ürtartalmu ultracentrifugás kémcsövekben 5 ml $d=1,40$ sűrűségű szacharózra rétegezték fel és 100 000 g gyorsulással 60 perc alatt ultracentrifugálták. A kémcső aljában leülepedett glikogént eltávolították, a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix elemeket pedig az interfázisban kiválasztották és, miután a szacharóztól kimosták, fiziológiai oldatban centrifugálták, majd felhasználták az elemzéshez.

A szénhidrátok a vizsgált mintákban való meghatározásánál a szénhidrátok hidrolizis utáni általános tartalmát és a monomer

formában lévő szabad szénhidrátok tartalmát vették figyelembe. A mérések értékeinek különbsége alapján meghatározták a különböző vegyületek összetételében lévő szabad szénhidrátok mennyiségét.

Az általános hidrolizishez 1,0 ml megvizsgálandó mintát összekevertek 1 ml négyszeres sósav-normáloldattal /4,0 N HCl/. A hidrolizist 105° C hőmérsékleten, 2 óra alatt hajtották végre, utána a hidrolizátumot száraz nátronlugos /NaOH/ vakuumos szárítókészülékben gőzölték. A kiszáritott mintát 1,0 ml desztillált vízben feloldva használták az elemzéshez.

A szabad szénhidrátok mennyiségének meghatározását közvetlenül a BAA-ban vagy a savas hidrolizis után a következőképpen hajtották végre: 1 ml mintát összekevertek 1 ml desztillált vízzel, majd állandó keverés mellett -5° C hőmérsékleten 4 ml 0,2 %-s, 95 %-s kénsavval készített antronreagenset adtak hozzá. Az így nyert keveréket 95° C hőmérsékleten 10 perc alatt forralták, és lehűlés után 620 nm hullámhosszon meghatározták az optikai sűrűséget. A szabvány minőségében 20 µg/ml koncentrációban glükózt használtak.

Az 1. és 2. sz. példákban nyert BAA fehérje-elemzésénél a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek tartalma $37,6 \pm 7,4$ %-t tett ki, a 3. és 4. sz. példáknál pedig $51,8 \pm 8,2$ %-t.

Itt és tovább a szövegben, valamint a bemutatott táblázatokban a kísérletileg meghatározott értékek a középértékük által vannak kifejezve, és a középértéktől való eltérési határok pedig a Student-próba figyelembevételével lettek kiszámítva.

6. sz. példa

A 3. sz. példában a hidrolizátumból nyert szupernatantsot hőkezelésnek vetették alá $T_{h1}=55^{\circ}\text{C}$, $T_{h2}=60^{\circ}\text{C}$, $T_{h3}=95^{\circ}\text{C}$, $T_{h4}=120^{\circ}\text{C}$ és $T_{h5}=135^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten.

A felmelegítés a hidrolizátumban lévő termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig tartott, utána 1500 g gyorsulással 30 perces centrifugálás következett a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix termostabil komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elnyerésével. Az így kinyert céltermék minden egyes esetben saját immunmoduláló hatással /tulajdonsággal/ rendelkezett, ezeket az értékeket a 3. sz. táblázat tartalmazza, amelyben fel van tüntetve a találmány szerinti BAA különleges aktivitása értékének elosztása

a kiválasztott hőkezelési sávban, valamint a sávhatárokon kívül. Ezáltal az optimális hőkezelési hőmérséklet $T_h = 95^\circ \text{C}$, amelynél a kinyert céltermék maximális ferment- és fagocitaaktivitása biztosított, megfelelően 72,8 % és 64,3 % . $T = 55^\circ \text{C}$ hőmérsékleten a különleges aktivitás értékének fokozása a kontrollhoz képest a HCT-teszt szerint átlagosan 61,1 %, a fagocitóz szerint pedig 52,3 %. $T_h > 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten a peptideket és szinhydrátokat tartalmazó vegyületek szerkezetének változása ugrásszerűen növekedik, és ez a céltermék-komponensek szerkezeti változásához vezet, ami a BAA különleges aktivitása csökkenésében mutatkozik. Így, $T_h = 135^\circ \text{C}$ hőmérsékleten a találmány szerinti BAA különleges aktivitása a kontrollhoz képest átlagosan 57,3 % a HCT-teszt szerint, a fagocitóz szerint pedig 43,0 %. A BAA különleges aktivitása a kontrollhoz képest $T_h = 60-120^\circ \text{C}$ hőmérsékletsávban maximális, és ebben a sávban a patkányok hashártyaváladéka makrofágjai aktivitásának növekedése /in vitro/ átlagosan 72,8 % a ferment-aktivitást illetően /HCT-teszt/, a fagocita-aktivitást illetően pedig 64,3 % /E. Coli szerint/.

7. sz. példa

A 3. sz. példa szerint a hidrolizátumból nyert szupernatantst hőkezelésnek vetették alá $T_h = 95^\circ \text{C}$ hőmérsékleten való forralással a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehűlés után 1500 g gyorsulással 40 perc alatt centrifugálták. A leülepedett denaturált vegyületeket eltávolították, céltermékként pedig a szupernatantst használták fel, amely a peptidekre számítva 60 tömegszázalék termotabil komponenseket tartalmazott a hőkezelés előtti, vízben oldódó vegyületek hidrolizátumához képest.

A kísérletileg megállapított, a hidrolizátumban található szerves vegyületek tartalmát és a nyert anyag különleges aktivitásának mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

A BAA-0,5 tömegszázalék mennyiségben tartalmazó célterméket a többi töltőanyag- gyógyszerként alkalmazták a tehenek tőgygyulladás gyógyításánál injekciós formában, az injekciók intramusculáris beadásával 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban, minden harmadik napon. A gyógyító hatás I-4 injekció után mutatkozott és azt a tőgy állapota és a bimbókból való gennyes váladék mennyisége alapján ellenőrizték.

3. sz. táblázat

Hőkezelési /felmelegítési/ hőmérséklet °C	A patkányok hashártyaváladéka makrofágjai aktivitásának növekedése /in vitro/ a talál- mány szerinti BAA hatása eredményeként, külön- böző hőkezelésen, %-ban a kontrollhoz képest
	a ferment-aktivitás növekedése /HCT-teszt/ a fagocita-aktivitás növekedése, E. Coli szerint
55	61,1 ± 2,2
60	65,7 ± 3,8
95	72,8 ± 4,8
120	64,3 ± 5,1
135	57,3 ± 5,3
	52,3 ± 2,8
	55,1 ± 2,1
	64,3 ± 5,6
	58,3 ± 4,2
	43,0 ± 3,4

A kontrolltól való eltérések $P < 0,05$ értékkel megbízhatók

4. sz. táblázat

A frakciók sorszám	A frakciók mole- kuláris súlya, M kDa	A patkányok hashártyaváladéka mak- rofágjai aktivitásának növekedése a találmány szerinti BAA kismoleku- láru frakciói hatásának következté- ben, %-ban a kontrollhoz képest
1	$M_1 > 50,0$	52,1 ± 4,8
2	$10,0 < M_2 < 50,0$	93,8 ± 7,6
3	$M_3 \leq 10,0$	148,4 ± 17,4
4	$M_4 \leq 5,0$	160,7 ± 15,1
5	$M_5 \leq 1,0$	120,5 ± 11,7
6	$M_6 \leq 0,8$	87,3 ± 8,7
7	$M_7 \leq 0,5$	53,4 ± 7,2

A kontrolltól való eltérések $P < 0,05$ értékkel megbízhatók

giai oldat ellenáramában, az oldat 1 kg-ja 0,8 g tartósítószerrel tartalmazott. Az így nyert dializátumot céltermékként használták fel, amely a peptidekre számítva 30 tömegszázalék mennyiségben $M \leq 10,0$ kDa értékű kismolekulájú komponenseket tartalmazott a dialízis előtti hidrolizátum vizben oldódó vegyületeihez képest. A szerves vegyületek tartalmát, valamint a nyert BAA különleges aktivitásának mutatóit az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

A célterméket, amely a BAA-t 0,1 tömegszázalék mennyiségben tartalmazza - a többi töltőanyag - gyógyszerként használták, injekciós formában a borjuk homeosztázis-paramétereinek rendezése céljából. A normától eltérést mutató borjuknak a készítményt injekciós formában intramusculárisan, 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban, 1-2 hónapos időközzel adták be. A hatást az állatok súlyának hónapos mérésével ellenőrizték, a mérések eredményei a napi átlagos súlygyarapodás 45-70 %-s növekedéséről adtak tanúsítást, a kontrollcsoporttal szemben, amelynél nem használták a készítményt.

13. sz. példa

A 7. sz. példa szerint nyert hidrolizátum szupernatantsát G-25-s szefadexben történő gél-szűrésnek vetették alá $d=26$ mm átmérőjű és $h=600$ mm hosszú, egydecimoláris /0,01 M/ pH=7,2 értékű, tizenötdecimoláris nátrium-klórt /0,15 M NaCl/ tartalmazó, foszfát pufferoldattal kiegyensúlyozott oszlopban. A hidrolizátum szupernatantsának a molekuláris tömeg szerinti frakciókra való felosztását az oszlop eluálásával végezték ugyan azzal a pufferoldattal, és az eluátum kromatográfiás profilját spektrometrikusan ellenőrizték 280 nm hullámhosszon. A hidrolizátum kismolekulájú komponenseinek frakcióját, amely sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz, céltermék minőségében eluálták.

A hidrolizátumban lévő szerves vegyületek tartalmát, valamint a nyert anyag különleges aktivitásának kísérletileg megállapított mutatóit az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

A célterméket, amely a BAA-t 0,1 tömegszázalékban tartalmazza - a többi töltőanyag - gyógyszerként használták a hurutos tüdőgyulladásban vagy heves respirátorbetegségben szenvedő borjuk gyógyításához, injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan, minden harmadik napon 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban adták be. A gyógyító hatást, amely 1-7 injekció után jelentkezett, a testhőmérséklet szerint ellenőrizték.

Az így nyert, a következő molekuláris tömeggel rendelkező:

1. $M_1 > 50,0$ kDa; 2. $10,0$ kDa $< M_2 < 50,0$ kDa; 3. $M_3 < 10,0$ kDa;
 4. $M_4 < 5,0$ kDa; 5. $M_5 < 1,0$ kDa; 6. $M_6 < 0,8$ kDa; 7. $M_7 < 0,5$ kDa
- vegyületeket tartalmazó frakciók biológiai aktivitását a patkányok hashártyaváladáka makrofágjainak aktivitását növelő képességük szerint elemezték a HCT-teszt szerint. a vizsgálatok eredményét a 4. sz. táblázat tartalmazza.

A 4. sz. táblázat adataiból a következőket lehet levonni:

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

2. a különleges aktivitás a molekuláris tömeg $M > 10,0$ kDa értékénél fellépő csökkenése a céltermékben lévő inhibitorok hatásának fokozásával és az aktiv szubsztancia koncentrációjának csökkenésével van összefüggésben;

3. a különleges aktivitás a molekuláris tömeg $M < 0,8$ kDa értékénél fellépő csökkenése az $M > 0,8$ kDa értékkel rendelkező oligomer vegyületek alakjában képviselt aktiv szubsztancia koncentrációjának csökkenésével van összefüggésben.

II. sz. példa

A 3. sz. példában nyert hidrolizátum szupernatantsát az AR-2,0 készületben VPU-I5-PA /a 6-I2-I5I-87 sz. műszaki feltételek/ üreges szálak segítségével ultraszűrés hatása alá vetették. Az így nyert ultrafiltrátumot, amely $M \leq 10,0$ kDa értékű kismolekulájú sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz, olyan céltermékként használták fel, amelyben az $M \leq 10,0$ kDa értékű kismolekulájú komponensek a peptidre számítva 60 tömegszázalékot tesznek ki a hidrolizátum ultraszűrés előtti vízben oldódó vegyületeihez képest.

A szerves vegyületek tartalmát a hidrolizátumban és a kinyert anyag különleges aktivitásának kísérletileg meghatározott mutatóit az I. és 2. sz. táblázatok tartalmazzák.

A célterméket, amely a BAA-t $0,1$ tömegszázalékban tartalmazza- a többi töltőanyag - gyógyszerként a patkányok kísérleti hepatitiszének gyógyításához használták, injekciós formában; az injekciókat intramusculárisan, $0,05$ ml/I kg testsúlyra adagban, kétnaponként adták be /a gyógyítás jellege és eredménye részletesebben a 34. és 35. sz. példák-nál van leírva/.

I2. sz. példa

A 2. sz. példa szerint nyert hidrolizátum szupernatantsát dialízis hatása alá vetették 16-24 óra alatt celofánfilmen keresztül a fizioló-

8. sz. példa

A 2. sz. példa szerinti hidrolizis révén nyert szupernatantst hőkezelés^s hatása alá lett vetve. $T_h = 95^\circ \text{C}$ hőmérsékleten a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehülés után 150000 g gyorsulással 20 perc alatt centrifugálták. Az üledéket eltávolították, céltermékként pedig a szupernatatsot használták, amely a pentidekre számítva 30 tömegszázalék mennyiségben tartalmazta a termostabil komponenseket a hidrolizátum hőkezelés előtti vízben oldódó vegyületeihez képest. A hidrolizátum szerves vegyületeinek tartalmát és a nyert anyag különleges aktivitásának kísérletileg megállapított mutatóit az I. és 2. sz. táblázat tartalmazza.

Az így nyert célterméket, amely 0,5 tömegszázalék BAA-t tartalmaz-a többi töltőanyag- gyógyszerként használták a borjuk parainfluenza betegsége megelőzésének céljából, injekciós formában. Az injekciókat intramusculárisan adták be, 0,05 ml/I kg testsúlyra adagban kétszer, 14 napos időközzel. A készítmény alkalmazásának hatásosságát az egy hónap alatt megbetegedett állatok feljegyzésével állapították meg, amely a kísérleti csoportban nem volt több 10 %-nál, míg a kontrollcsoportban 22-28 % volt.

9. sz. példa

A 4. sz. példában nyert hidrolizátumot hőkezelés hatása alá vetették $T_h = 95^\circ \text{C}$ hőmérsékleten a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig, és lehülés után nutsch-szűrőn, szűrőpapíron keresztül megszűrték. A hidrolizátum hőkezelés előtti vízben oldódó vegyületeihez képest, a peptidekre számítva 45 % termostabil komponenseket tartalmazó filtrátumot céltermékként használták fel.

A célterméket liofil módon kiszáritották, és szublingvális módon gyógyszerként használták a nők emlőgyulladásának gyógyításánál. Az eljárást naponta ismételték. A gyógyító hatás 1-4 nap múlva jelentkezett, és azt az emlő állapota /tömörülés, gennyes váladék/, valamint a véranalízis alapján ellenőrizték.

10. sz. példa

A 3. sz. példa szerint nyert hidrolizátum szupernatantsát egy ultraszűrős "Amicon" berendezésen 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-l egyenlő vagy kisebb molekuláris tömeggel rendelkező vegyületeket.

I4. sz. példa

A találmány szerinti BAA hatásosságának függését az anyag sejtmorfoplazma és sejtglikokalix módosított komponensei tartalmától olyan állatszövetekből nyert alapanyag felhasználásával határozták meg, amelyekben embriogenezis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia folyamatok zajlottak le a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőzően és/vagy azzal egyidőben. Az így nyert szövetet a 7. sz. példával azonosan dolgozták fel. Az így, vagyis az említett módosított sejtszerkezetekkel rendelkező szövetek felhasználásával nyert céltermék tulajdonságait az 5. sz. táblázat tartalmazza.

Az 5. sz. táblázat adatainak elemzése megmutatja, hogy a találmány szerinti BAA immunmoduláló hatása és az e hatás jelentős fokozása a felhasznált alapanyagtól, amelyből a hidrolizátumot nyerték ki és amely a sejtmorfoplazma és a sejtglikokalix módosított komponenseit tartalmazza, függ.

Igy, az élő szövetek közül, mégpedig a proliferáció és sejtszétválasztás szakaszán nyert alapanyag minőségében patkányhere-spermatogónákat és -spermatocitákat, csontvelő-sejteket, patkánybélhámuszövetet használtak, az embriogenezis folyamatokkal rendelkező alapanyagként pedig a patkányok embrionális szövetét használták. Regeneráció előtti patológia folyamatokkal rendelkező alapanyagként a részleges hepatektomián átesett patkányok májszövetét használták, a regenerációt kísérő patológiai alapanyagként pedig az aksziotl-végtagok regeneráló szövetét, patkánymáj-szövetet a szén-tetraklorid bőr alá való befecskendezése után.

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

Az 5. sz. táblázat elemzése azt mutatja, hogy a találmány szerinti BAA, amelyet a szövetekben lezajló embriogenezis, proliferáció- és patológia folyamatok szakaszán, amelyek megelőzték és/vagy kísérték a regenerációt és/vagy reparációt, hatása jelentősen fokozott az ismert anyagokhoz képest, amelyeknél alapanyagként olyan élő szövetet használnak, amelyben ezek a folyamatok hiányoznak.

5. sz. táblázat

A felhasznált állati
szövetek fajtái

A patkányok hashártyaváladéka makrofágja-
inak aktivitása /in vitro/ a találmány
szerinti, különböző szövetekből nyert
TS-BAA hatása következtében, %-ban a
kontrollhoz képest

A fermentaktivitás A fagocitaaktivitás
fokozása /HCT-teszt/ fokozása
/E. Coli szerint/

Az intakt májhepatocitok	32,2 ± 5,4	30,8 ± 2,7
A felnőtt állatok intakt izomszöve	43,6 ± 6,8	35,2 ± 2,6
Here-spermatogónák és -spermatociták	63,8 ± 3,5	55,4 ± 3,2
Bélhámshözvet	68,2 ± 6,3	61,3 ± 5,2
Májhepatocitok a CCl ₄ beadása után	72,1 ± 4,2	64,4 ± 4,3
Csontvelősejtek	74,2 ± 6,1	67,5 ± 4,1
Az abszolút regeneráló végtag-szöve *	82,5 87,3	70,2 77,4
Embrionális izomszöve	83,7 ± 5,2	73,6 ± 4,8
A regeneráló patkánymáj hepatocitjai, hepatektomia után	94,8 ± 5,7	78.8 ± 5,6

A kontrolltól való eltérés megbízhatósága $P < 0,05$ szinten van meghatá-
rozva.

* -olyan szöve, amelynél a mutatók a táblázatban kimutatott értékei
a kísérlet konkrét megvalósításánál lettek megállapítva.

Azon kívül olyan következtetést is le lehet vonni, hogy olyan szövetekből, amelyeknél megfigyelhetők a fent említett folyamatok, a legnagyobb immunmoduláló hatással a regeneráló májszövet, az embrionális szövet és a kétélűek végtagjainak regeneráló szövete rendelkezik.

I5. sz. példa

Alapanyagként a patkányok regeneráló máját a hepatektomia után 4-12-ik órában használták, a hepatektomiát egy ismert módszer szerint hajtották végre /G.M. Higgins, R.M. Anderson- Experimental pathology of the liver.- Arch. Pathology,- 1931-N 12-p.186/.

A májszövetet apróra vágták és háromszoros térfogatnyi fiziológiai oldattal keverték össze, utána pedig 15000 g gyorsulással 10 perc alatt centrifugálták, az így nyert üledéket összekeverték háromszoros térfogatnyi fiziológiai oldattal és azonos feltételek mellett centrifugálták. A felaprított májszövet kimosásának műveletét 3-szor ismételték meg, és utána, a céltermék elnyerésének további szakaszait a 3., 7. és 11. sz. példa szerint végezték.

Az így nyert céltermékek különleges aktivitását kísérletileg, a patkánymáj hepatocitjai reparálóképességének aktivizálása alapján, a máj szén-tetrakloriddal /CCl₄/ való sérülése után határozták meg, amelynél a Na,K-ATF-aktivitás megfelelően $32,7 \pm 3,1$ %-al, $43,6 \pm 3,9$ %-al és $85,4 \pm 7,8$ %-al redukálódott az állatok kontrollcsoportjához képest, amelyeknek a találmány szerinti készítményt nem adták be.

A vér-aminosavtranszferázok aktivitása megfelelően $37,4 \pm 2,8$ %-al, $47,2 \pm 3,4$ %-al és $98,3 \pm 1,7$ %-al redukálódott, a máj hepatociták kálium-koncentrációja pedig $22,6 \pm 1,8$ %-al, $28,9 \pm 2,5$ %-al és $59,1 \pm 4,7$ %-al.

A BAA-t 0,1 tömegszázalékban tartalmazó - a többi töltőanyag-célterméket gyógyszerként használták a hepatitisben beteg borjúk gyógyításához injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan adták be 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagban, minden harmadik napon. A gyógyító hatás 7-14 injekció után jelentkezett, és azt az aminosavtranszferázok aktivitása, a vérbilirubin és a vérben lévő nitrogénkoncentráció alapján ellenőrizték.

I6. sz. példa

Alapanyagként a bikaherékből nyert kisajtolási maradékot használták, amelyet a herelidáza elkülönítése után a szövet homogenizálása termékének 3 %-s ecetsavval történő extrahálása révén nyertek meg.

A herék így nyert kisajtolási maradékát, amely a lidáza természetes hulladéka, ismételten homogenizálták késes homogenizáló készüléken háromszoros térfogatnyi fiziológiai oldatban, és 250 g gyorsulással 15 percig centrifugálták a le nem roncsolt szövetelemek eltávolítása érdekében. A marónátron decinormális vizes oldata /0,1 N NaOH/ segítségével a közeg savasságát pH=7,4 értékre vitték, és a homogenizálás termékébe, amely a proliferáció és sejtszétválasztás folyamatok során módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokallix komponensekből álló ingredienseket tartalmaz, tartósítószert adtak hozzá, és keverés után hidrolízis és az utána következő megmunkálás alá vetették a 3., 7. és II. sz. példákhoz hasonlóan.

Az így nyert céltermékek különleges aktivitását kísérletileg a patkányok hashártyaváladéka makrofágjai és vérneutrofiljai aktivizálása alapján határozták meg. A II. sz. példához azonosan nyert céltermék felhasználásánál a makrofágok fermentatív aktivitása $108,3 \pm 13,2$ %-al növekedett, az E. Coli szerinti fagocitativitás pedig $92,2 \pm 10,2$ %-al. A vérneutrofiloknál ezek a mutatók megfelelően $99,2 \pm 14,1$ %-al és $72,4 \pm 8,3$ %-al növekedtek.

Az 1,0 tömegszázalék mennyiségben BAA-t tartalmazó - a többi töltőanyag - célterméket 50 térfogatnyi vízzel keverték össze, és gyógyszer minőségben a tyukok feltáplálására használták azok homeosztázis-paramétereinek rendezéséhez. Az ilyen paraméterek normától való eltérését mutató tyukokat a készítménnyel 5 ml/1 kg testsúlyra adagban 2-6 hetenként táplálták fel. A hatást a tojókéesség ellenőrzésével állapították meg, az eredmény a tojókéesség 15-30 %-s növekedéséről adott tanúsítást a kontroll, a készítménnyel nem kezelt, csoporthoz képest.

I7. sz. példa

Alapanyagként a tehének placentáris szövetét használták, amelyet a 3., 7. és II. sz. példákhoz hasonlóan kezelték olyan céltermékek kinyerésével, amelyek különleges aktivitását kísérletileg a patkányok hashártyaváladéka makrofágjai és vérneutrofiljai aktivizálása alapján határozták meg a kontrollhoz képest. A II. sz. példához hasonlóan nyert céltermék felhasználásánál a makrofágok fermentatív aktivitása $150,6 \pm 17,4$ %-al növekedett, a fagocita-

-aktivitása pedig $109,3 \pm 12,7$ %-al. A vérneutrofilok megfelelő mutatói $137,6 \pm 16,8$ % és $95,7 \pm 11,3$ %.

A BAA-t 0,5 tömegszázalékban tartalmazó - a többi töltőanyag - célterméket gyógyszerként az endometrit betegségben szenvedő tehenek gyógyításához használták injekciós formában, az injekciókat intramusculárisan, 0,05 ml/I kg testsúlyra adagban 3-napos időszakkal adták be. A gyógyító hatás 6-10 injekció után jelentkezett, és azt a gyulladásos reakció mutatói, a szövettani vizsgálatok és a gennyes váladékok alapján ellenőrizték.

18. sz. példa

A találmány szerinti BAA előállításához alapanyagként a tymusz-olajpogácsát használták, amelyet a homogenizálási termék oldhatatlan szövetkomponensei - a timozin előállításának hulladékai elkülönítése után nyertek el.

A tymusz-olajpogácsát a 3., 7. és II. sz. példához hasonlóan kezelték, és eredményként olyan céltermékeket nyertek, amelyek különleges aktivitását kísérletileg a T-limfociták blaszttranszformációs reakciójának serkentése alapján határozták meg, amely a kontrollhoz képest $165,6 \pm 13,7$ %-s növekedést mutatott a II. sz. példa szerint előállított céltermék felhasználása esetén.

A BAA-t 0,5 tömegszázalékban tartalmazó - a többi töltőanyag - célterméket gyógyszerként intranazálisan az emberi fertőzőes betegségek megelőzésére használták. Az ember mindegyik orrlyukába 2 készítmény-cseppet vittek be, utána az orrt masszírozták, hogy a gyógyszer folyon szét a nyálkahártyán. Az eljárást naponta 2-szer ismételték. A gyógyító hatást a szervezet általános állapota és a testhőmérséklet alapján ellenőrizték.

19. sz. példa

Az I.-4., 7.-9., II.-13. és 15.-17. sz. példákhoz hasonlóan előállított BAA alapján nyert gyógyszert az említett BAA 0,001 tömegszázalékos tartalmával készítették. Töltőanyagként 10 %-s szacharózoldatot használtak. A készítményt a méhek feltáplálására alkalmazták. A készítmény I méhcsaládnak I l mennyiségben való egyszeri feltáplálása:

- az életben maradás növekedését 85-140 %-al;
- a kirepülések mennyiségét 100-160 %-al;
- a mézhordás növekedését 27-64 %-al biztosította a kontrollhoz képest.

20. sz. példa

Az I.-4., 7.-9., II.-13. és 15.-17. sz. példákhoz hasonlóan előállított BAA alapján nyert gyógyszert az említett BAA liofil kiszáritása után a készítményben 85 tömegszázalékos mennyiségben alkalmazták. Töltőanyagként egy fertőtlenítő anyag szolgált. A készítményt a liofilisen kiszáritott porból készült hintőpor formájában nyitott égési, sérülési és eróziós sebek kezeléséhez alkalmazták. A készítmény alkalmazása a kontrollhoz képest 2-7 szer gyorsította a felujulás folyamatát.

21. sz. példa

Az I.-4., 7.-9., II.-13. és 15.-17. sz. példák szerint előállított BAA alapján nyert gyógyszert az említett BAA 1,0 tömegszázalékával készítették. Töltőanyagként növényhusos uborka-, alma-, őszibarackpüré típusú gélt használtak. A készítményt kozmetikai célokra alkalmazták. A gyógyító hatás 4-8 kezelés után jelentkezett és azt a bőr elasztikussága alapján ellenőrizték.

22. sz. példa

Az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. példákhoz hasonlóan nyert BAA alapján előállított gyógyszert 1,0 tömegszázalékos BAA-tartalommal készítették. Töltőanyagként a méz /15 rész/, vöröshagymalé /3 rész/, fokhagymalé /1 rész/ és bogáncsolaj /1 rész/ alapján készült gélt használtak. A készítményt maszk minőségében alkalmazták a szőrzet megerősítéséhez. A gélt az ember fejére 2-3 órára rakták fel. A kezelést 1 héten egyszer ismételték. A gyógyító hatás 5-12 kezelés után jelentkezett, és azt a szőrzet állapotát alapján ellenőrizték.

23. sz. példa

Az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA alapján előállított gyógyszert 0,1 tömegszázalékos BAA-tartalommal készítették. Töltőanyagként a spermacettel 1:3 arányban összekevert lanolint használtak. A készítményt kenőcs formában az epidermisz dermatóz utáni helyreállításához használták. A készítmény alkalmazása elősegítette a redukciós folyamatok 2-5-szörös felgyorsulását a kontrollhoz képest.

24. sz. példa

Az I.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA alapján előállított gyógyszert 0,1 tömegszázalékos BAA-

-tartalommal készítették. Töltőanyagként kakaóolaj szolgált. A készítményt kup formában az endometrit betegségek gyógyításához használták. A gyógyító hatás a készítmény alkalmazásának 14-21 napján jelentkezett, és azt a gyulladásos reakció mutatója, a hisztológiai vizsgálatok, a vér- és váladékok elemzése alapján ellenőrizték.

25. sz. példa

Az 1.-6., 9.-14., 16.-21. és 23.-26. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA alapján előállított gyógyszert 1,0 tömegszázalékos BAA-tartalommal készítették. Töltőanyagként a vazelinnal 1:3 arányban összekevert lanolint használták. A készítményt kenőcs formában a nyálkahártya-erózió gyógyításához használták, és a készítmény elősegítette a redukciós folyamatok 3-5-szörös felgyorsulását a kontrollhoz képest.

Kutatási anyagok és eljárások

26. sz. példa

Az 1.-8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA aminosavas állományának megvizsgálását három irányban végezték, és ezeknél a BAA:

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

1. Az 1.-8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA általános aminosavas elemzését az anyag 6-normális sósavban /6 N HCl/, 110° C hőmérsékleten, 24 órán keresztül a vakuumban végzett hidrolizise után hajtották végre. A hidrolizis után a mintákat vakuum alatt száraz marónatronnal /NaOH/ kipárolgatták. A száraz maradékot feloldották kétdecinormális /0,2 N/ pH=2,2 értékű nátrium-citrát pufferoldatban és rávitték az aminosav-elemző műszer ioncserélő oszlopára.

2. A savban nem oldódó fehérjék eltávolításához 0,5 ml mintához 0,5 ml 3 %-s szulfo-szalicilsavat 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 szupernatantsot általános aminosavas elemzésnek vették alá.

3. Az I.-I8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA szabad aminosav-tartalmát a minták kétdecinormális /0,2 N/ 2,2 pH-értékű nátrium-citrát pufferoldattal való egyensúlyozása után határozták meg, és hamutlanított papírszűrőn keresztül való szűrés után az aminosav-e1mző készülék ioncserélő oszlopára vitték rá.

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

27. sz. példa

Az I.-I8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA-ban lévő általános lipidek tartalmát következőképpen határozták meg. 0,5 ml BAA-t összekevertek 1,5 ml tömény kénsavval /H₂SO₄/ és 95° C hőmérsékleten 15 percig forralták. Lehűlés után a 0,1 ml hidrolizátumhoz hozzáadták a "Chemapol" cég /Csehszlovákia/ 1,5 ml-nyi foszfovanilin reagensét, és az általános lipidek tartalmát ismert, a különleges elszíneződésen alapuló módszer szerint határozták meg /J.M. Knight, S. Anderson, J.M. Rawle.-Clinical Chemistry-1972,-I8- p.199/. Az oldat optikai sűrűségét 530 nm hullámhosszon határozták meg.

28. sz. példa

Az I.-I8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA nukleotid-tartalmának elemzését következőképpen hajtották végre. A savakban oldódó pirin- és pirimidin-nukleotidokat 1,5-5,5 ml mintából 5 %-s hűtött klórossavval /HClO₄/ extrahálták. 20 perc hideg extrahálás után a mintákat 2500 g gyorsulással 10 percig centrifugálták, az üledéket 5 %-s klórossavval /HClO₄/ háromszor kimosták, a szupernatantsokat egyesítették és a savban oldódó nukleotidok elkülönítéséhez használták fel. A savban oldódó frakciót egymoláris klórossavval /1 M HClO₄/ 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 "DAUER" 50x4 kationcserélőn szétválasztották, a szétválasztáshoz lépcsőzetes eluálást használtak: a hűgysavat és az uridin-monofoszfátot /UMF/ párlattal /H₂O/; a xantint és a citozin-monofoszfátot kétdecimoláris klórossavval /0,2 M HClO₄/; a hipoxantint négydecimoláris klórossavval /0,4 M HClO₄/; a guamint egydecimoláris klórossavval /0,1 M HClO₄/; az adenint pedig kétmoláris klórossavval /2,0 M HClO₄/ eluálták.

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

29. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ a Wister-vonalu patkányok hashártyavádéka 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 fagocita-aktivitás fokozódása alapján.

A dekapitírozott állatok hasüregébe tüfecskendővel 20 ml szintelen, 20 egység/I ml heparin~~ta~~ tartalmazó Chenks-oldatot adtak be. A has 2-3 perces masszírozása után a hasüregből, bemetszésen keresztül a beadott folyadékot ugyan azzal a fecskendővel elszívták, és nylon szűrőn keresztül való szűrés után 150-200 g gyorsulással 15 percig centrifugálták. Az így nyert üledéket fél-térfogatnyi friss Chenks-oldatban szuszpendálták, és újból, ugyanolyan 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 hashártyavádéka makrofágjainak fermentatív aktivitását spektrofotometriai módszerrel határozták meg, a nitrokék tetrazolium diformazanba való redukálása révén. A patkányok hashártyavádéka 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 koncentrációjú mintát. A keveréket 37° C hőmérsékleten, vízfürdőben, állandó rázás mellett 30 perc alatt keltették, azután 50 μ l 20° C hőmérsékleten telített, a "heanal" /Magyarország/ cég által szállított, nitrokék tetrazol oldatot adtak hozzá, és még 30 percen át 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 iránt mutatott lekötőképessége alapján határozták meg.

50 ml sejtszuszpenzióhoz 50 ml pH=7,4 értékű, 0,05 mg/l peptid-koncentrációval rendelkező mintát adtak hozzá. A keveréket 37° C hőmérsékleten, vízfürdőben, 30 perc alatt, állandó rázás mellett 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 18x18 mm méretű üveglapra vitték rá, és 37° C hőmérsékleten, 30 perc alatt, 5 %-s szén-dioxid /CO₂/ atmoszférában keltették a makrofagok az üveghez való tapadásának céljából.

Az inkubáció után az oda nem tapadt sejtet eltávolításához az üveget háromszor egy Chenks-közeget tartalmazó pohárban kiöblítették. Az üvegen megmaradt sejtet 0,2 ml 20×10^6 sejt/ml koncentrációjú E. Coli szuszpenziót adtak hozzá, és azonos körülmények között keltették 45 perc alatt. A továbbiakban az üveget újból háromszor kiöblítették, metanollal rögzítették, és Romanovszkij-Gimze szerint megszínezték.

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

$$FI = /0 + 2,5n + 6t + 9p + 10r/ \text{ sejt mennyiséggel,}$$

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

n- 1-4 sejtet elnyelő sejtet mennyisége;

t- 5-7 sejtet elnyelő sejtet mennyisége;

p- 8-9 sejtet elnyelő sejtet mennyisége;

r- 10 és több E. Coli sejtet elnyelő sejtet mennyisége.

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

30. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BIA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ a Wistar-vonalu patkányok vérneutrofiljai aktiválása alapján határozták meg, in vitro kísérleteknél, a nitro-kék tetrazolium diformazanba való redukciója révén mutatott

fermentatív-aktivitás fokozódása alapján /HCT-teszt/, és az E. Coli iránt mutatott fagocita-aktivitás fokozódása alapján.

A patkány farokartériájából a vért azonnal a szintelen, geparinnal hígított Chenks-oldattal töltött kémcsövekbe szedték össze és összekeverték. Az így nyert keverékhez 6 %-s dextrans T-500-t 3:1 arányban adtak hozzá, és egy órára a hűtőszekrénybe helyezték. Az eritrociták leülepedése után az üledék feletti leukocita réteget pipettával szedték fel, és 250 g gyorsulással 15 perc alatt centrifugálták. Az eritrociták 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 újból friss Chenks-oldatban szuszpendálták, és azonos feltételek mellett centrifugálták. A leukociták kimosását háromszor ismételték meg.

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

A patkányok fehér vérsejtjei üledékét szintelen Chenks-oldattal hígították 80×10^6 sejt/ml koncentrációig. $100 \mu\text{l}$ sejtsuszpenzióhoz $300 \mu\text{l}$, az I.-26. sz. példák szerint nyert BAA-ot adtak hozzá, amely pH-értékét 7,4-re, és a peptid koncentrációját 1,0 mg/l-re vitték. A keveréket 37°C hőmérsékleten, vízfürdőben, 30 perc alatt keltették, állandó rázás mellett, miután $400 \mu\text{l}$, a "Reanal" /Magyarország/ cég által gyártott nitrokék tetrazolium oldatot adtak hozzá, és az ezt követő műveleteket a 29. sz. példával azonos sorrendben hajtották végre.

A patkányok fehér vérsejtjei fagocita-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 mg/ml peptidkoncentrációju BAA-t adtak hozzá. A keveréket keltették majd 4°C hőmérsékleten 10 ml szintelen Chenks-oldatot adtak hozzá, és 150-200 g gyorsulással 15 percig centrifugálták. A leukocita üledéket 0,3 ml Chenks-oldattal hígították és 0,05 ml 500×10^6 sejt/ml koncentrációval rendelkező E. Coli szuszpenziót adtak hozzá majd 30 percig 37°C hőmérsékleten keltették. A keltetés után ke-

neteket készítettek, amelyekben a színezés után a fagocitáló sejtek mennyiségét és a fagocitózis mutatóit a 29. sz. példához hasonlóan számították ki.

31. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ in vivo kísérleteknél a BALB/C-vonalu egereknél határozták meg. Az állatoknak a készítményből két, bőr alá adott injekciót adtak be kétnapos időszakkal, 0,5 ml/1kg testsúlyra adagban és 1,0 mg/ml peptidkoncentrációval. Az immunmoduláló tulajdonságok vizsgálatát az utolsó injekció után eltelt két nap múlva hajtották végre. Minden kísérletnél legalább 10 állatot használtak. Kontrollként az említett séma szerint 0,08 %-s fiziológiai oldatban oldott tartósítószerrel kezelt állatok szolgáltak.

A limfociták blaszttranszformálási reakciójának meghatározásához a T-sejtmitogén minőségében a fitohemaglutinint /FHH/ használták, a B-sejtmitogén minőségében pedig az E. Coli lipopoliszachararidot /LPSZ/. Az egerek lépéből elkülönített limfocitákat az adott mitogénnel együtt 37° C hőmérsékleten 72 óra alatt 5 %-s szén-dioxid /CO₂/ atmoszférában keltették. A sejtek proliferációjának szintjét radiometrikus módszerrel értékelték a ³H-timidin-bekapcsolás szerint. E célból a kulturákhoz ³H-timidint adtak hozzá /3,7x10⁴ Bk/1 mintára/, és 3 óra alatt keltették. Utána a mintákat millipórus szűrőkre vitték rá /"Szinpor", 5. sz., CsSzSZk/ az 199-s közegben háromszor, majd triklórecetsavban /TKE/ és etanolban mosták ki. A szűrőket kiszáritották, ZsSz-106 típusu szcintilláló folyadékot tartalmazó üvegbe helyezték, és a minták radioaktivitását a "Mark-III" számláló segítségével határozták meg.

32. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló aktivitását /tulajdonságát/ az egérszplenocitok természetes killer-aktivitásának serkentése alapján határozták meg in vivo kísérleteknél. Az állatoknak két nap alatt két, bőr alá beadott 0,05 ml/1 kg testsúlyra adagu, 1,0 mg/ml peptidkoncentrációval rendelkező injekciót adtak be. Az immunmoduláló tulajdonságok megvizsgálását az utolsó injekciót követő napon végezték el. Minden 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 limfomasejtjein határozták meg. A keltetést 18 óra alatt a céltábla-sejtek és effektor-sejtek 1:25 ... / 1×10^5 : $2,5 \times 10^6$ sejt/ arányában végezték. Az effektor-sejtek citotoxikus aktivitásának megfelelő ^{51}Cr krómizotóp specifikus felszabadulását a következő képlet szerint számították ki:

$$^{51}\text{Cr} = \frac{\text{a kísérletnél felszabadult} / \text{spontán felszabadult}}{\text{maximálisan felszabadult} / \text{spontán felszabadult}} \times 100$$

ahol a maximális felszabadulás olyan radioaktivitást jelent, amely-nél az összes sejtek lizitáltak. Kontrollként az ajánlott BAA-ok természetes killeraktivitásának meghatározásához a fiziológiai oldatban oldott tartósítószer alkalmazták.

33. sz. példa

Az I.-I8. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA immunmoduláló hatásosságát /tulajdonságát/ az egerek tymuszának funkcionális aktivitása alapján határozták meg in vivo körülmények között végrehajtott, a 31. sz. példával azonos kísérleteknél. 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 rozettaalaku sejtjeinek az antitimocita sav iránti érzékenységét.

A kísérleti egerek vérsavóját az "Amicon" cég CENTROFILO CF-50A rendszere ultraszűrőjén keresztül engedték át. A reakcióban 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 nappal vették el. A lépből a sejteket preparáló tű segítségével, a I99-s közegben történő szövet-szétosztás révén nyerték ki. A kapronsztán keresztül való szűrés után a sejteket kétszer kimosták a I99-s közegben 4000 g gyorsulású centrifugálással. 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 közegzet tartalmazó kémcsövekbe. A kémcsövek tartalmát pipetta segítségével keverték össze, és 37°C hőmérsékleten 60 perc alatt keltették.

A keltetés után minden 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 bárányvérsajt-szuszenziót adtak hozzá $/12 \times 10^7$ sejt/ml/, összekeverték, majd 250 g gyorsulással 5 perc alatt centrifugálták, és $4-8^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten 60 percet keltették. A kémcsövekben lévő üledéket 5 percig reszuszendálták. A rozettákat a Gorjajev-kamrában számolták. Rozetta minőségben a négy és több vérsajtet magához csatoló limphocitát 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 $\log_2 A$ alakjában, ahol A-a titer értéke.

34. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA hatásosságát, amely a patkánymáj hepatocitok reparálóképességének fokozódásában mutatkozik, in vivo a szén-tetraklorid $/\text{CCl}_4/$ bőr alá adott befecskendezése után, a Na,K-ATF-aktivitásának redukciója alapján a következőképpen határozták meg.

A 230-250 g súlyu Wistar-vonalu himpatkányoknak 4 nap alatt minden nap szén-tetraklorid $/\text{CCl}_4/$, növényolajjal 1:1 arányban egyesített 4,0 ml/1 kg testsúlyra adagú bőr alatti injekciót adtak be. 4 órával az első szén-tetraklorid $/\text{CCl}_4/$ injekció után a kísérleti állatoknak beadták a 4 közül a készítmény első bőr alatti injekcióját 0,05 mg/1 kg testsúlyra adagban és 1-napos időszakok. Az anyag hatásosságát az utolsó injekció utáni napon regisztrálták. Az összehasonlító kontrollhoz az állatok hasonlóan szén-tetrakloriddal megtámadott, de a vizsgálandó BAA használata nélkül kezelt máját használták fel, valamint az intakt állatok máját.

A Na,K-ATF-aktivitás meghatározásához a hepatocit-sejtmembránok frakciójait használták fel. E célból három patkány hűtött májának 15 g-ját 150 g pH=7,5 értékű egymillimoláris borát pufferoldatban $/1 \text{ mM } \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/$ homogenizálták az ötvendecimillimoláris kálium-klorid $/0,5 \text{ mM } \text{CaCl}_2/$ oldat jelenlétében, és ehhez egy kézi, üvegből készült, teflontörővel ellátott homogenizáló készüléket használtak. A homogenizált keveréket 4°C hőmérsékleten 150 g gyorsulással 10-12 percig centrifugálták. Az így nyert szupernatantsot ismételten 20 percig centrifugálták 100000 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 értékét az SDS-Louri módszer szerint 3,0 mg/ml értékig emelve, amelyet az elemzéshez használtak fel.

A membrán-frakció minden műveletét hideg állapotban végezték.

A hepatocitok plazmamembránjának Na,K,-ATF-aktivitását szabványos, hatvanhat millimoláris nátrium-kloridból /66 mM NaCl/, harmincnégy millimoláris kálium-kloridból /34 mM KCl/, ötmillimoláris magnézium-kloridból /5 mM MgCl₂/, huszonötmillimoláris /25 mM/ Trisz-HCl-ből álló közegben határozták meg, amelybe a kísérlet előtt ötmillimoláris adenosin-trifoszforsavat /5 mM ATF/ adtak hozzá.

Az említett, 1,8 ml szabványos közeghez 0,2 ml, 3,0 mg/ml konfehérje-koncentrációju membránfrakció-szuszpenziót adtak hozzá, és 37° C hőmérsékleten 15 perc alatt keltették, utána a reakciót megszüntették, hozzáadva 0,6 ml 50 %-s triklór-ecetsav /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 rézgálic /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. Az Mg-ATF-aktivitás meghatározásához hasonló vizsgálatokat hajtottak végre, de 0,6 ml triklór-ecetsav helyett /TKE/ a keverékbe 0,3 ml 0,05 %-s sztrofantin oldatot adtak hozzá.

Meg van állapítva, hogy a máj szén-tetrakloriddal való /CCl₄/ toxikus sérülése esetén a Na,K-ATF-aktivitás 3,5-szer csökken, de a találmány szerinti BAA alkalmazása esetén, a II példához hasonlóan, ez az aktivitás a kísérletnél legalább 50 %-al helyreállt a normához képest.

35. sz. példa

Az I.-18. sz. példákhoz hasonlóan nyert BAA hatásosságát, amely a patkánymáj hepatocitok /in vivo/ reparálóképességének foko-

zódásában nyilvánul meg, a szén-tetraklorid / CCl_4 / bőr alá való beadása után a véraminotranszferázok aktivitásának helyreállása, és a patkánymáj-hepatocitok káliumkoncentrációja / K^+ / alapján a következőképpen határozták meg.

A 34. sz. példához hasonlóan kezelt állatoknál a véraminotranszferázok 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/ L-aszpartát oldatot, kétmillimoláris /0,002 M/ 2-oxoglutarát oldatot és egydecimoláris /0,1 M/ foszfát pufferoldatot tartalmazó, pH=7,4 értékű oldathoz 0,05 ml patkány vérsavót adtak hozzá, és 37° C hőmérsékleten 60 percig keltették. A keltetés után az oldatba 0,25 ml millimoláris /0,001 M/ egymoláris sósavban /1 M HCl/ oldott 2,4-dinitrofenil-hidrozin-t adtak hozzá, és a mintát 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 kontrolloldathoz képest, amelybe a 0,05 ml vérsavó helyett 0,05 ml fiziológiai oldatot adtak hozzá.

A máj szén-tetraklorid / CCl_4 / toxikus sérülése együttjár a hepatocitok roncsolásával és megfelelő aminotranszferáz-hozammal, és ezzel kapcsolatban az aminotranszferázok aktivitása a vérsavóban a 2-szeresére növekszik. Ugyanakkor a találmány szerinti BAA a II. sz. példához hasonló felhasználása lehetővé teszi, hogy a kísérletben az ilyen aktivitást a normához képest 50 %-al helyre lehet állítani.

A kísérleti patkányok májhepatocitjai kálium-koncentrációját / K^+ / szabványos lángfotometriai Brikker-módszerrel, a PFM-I típusú lángfotométeren határozták meg /Brikker V.N., A Na,K-tartalom lángfotometrikus módszerrel való meghatározása.-Laboratornoe gyelo-1961-7-3-6 old./.

Meg lett alapítva, hogy a máj szén-tetraklorid / CCl_4 / által való toxikus sérülésénél a Na,K-ATF aktivitás 3,5-szer csökken, és ez együttjár a májhepatocitok K^+ -koncentrációjának 40 %-s csökkenésével. Ugyanakkor a találmány szerinti, a II. sz. példához hason-

lóan nyert BAA alkalmazása lehetővé teszi a K^+ -koncentráció legalább 43 %-s helyreállítását.

A találmányt az idézett konkrét kivitelezések nem határolják be. A szabadalmi igénypontok által meghatározott lényeg és terjedelem keretében különböző más kivitelezések is megvalósíthatók.

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag
összetételének és tulajdonságainak elemzése

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

Meg van állapítva, hogy éppen a találmány szerinti BAA-ban lévő, módosított szerkezetű sejtek sejtmorfol plazma és sejtglikokallix tartalma biztosítja a szervezet immunreakciójának lényegesen fokozódását a kontrollhoz képest. Ez lehetővé teszi a találmány szerinti BAA a következő mutatók szerinti azonosítását:

a. A patkányok hashártyaváladék makrofágjai aktivitásának fokozódása alapján, mégpedig a makrofágok HCT-teszt szerinti fermentatív-aktivitásának legalább 54 %-s növekedése alapján /a kísérleteknél a magyar "Reanál" cég HCT-nitrokék tetrazoliuma felhasználása esetén/, és az E. Coli fagocita-aktivitás legalább 39 %-s növekedése alapján;

b. A patkányok vérneutrofiljai aktivitásának növekedése alapján. mégpedig a HCT-teszt szerint ellenőrzött fermentatív-aktivitás legalább 67 %-s növekedése alapján /a kísérleteknél a magyar "Reanál" cég HCT-nitrokék tetrazoliuma felhasználása esetén/, és az E. Coli fagocita-aktivitás legalább 44 %-s növekedése alapján;

c. A T-limphociták blaszttranszformációs reakciójának legalább 42 %-s, és a B-limphociták legalább 50 %-s fokozódása alapján;

d. A tymusz funkcionális aktivitásának fokozódása alapján, a patkányok vérében a timikus savótényező /TST/ tartalmának legalább 167 %-s értéke alapján;

e. A patkányszplenocitok természetes killeraktivitásának legalább 66 %-s növekedése alapján;

f. A szén-tetraklorid / CCl_4 / beadása után a patkányok májhepatocitjai által mutatott, a plazmamembránt stabilizáló képesség növekedése alapján:

- a Na,K-ATF-aktivitás legalább 24 %-s helyreállításával,
- a patkányok vértranszferáza aktivitásának legalább 22 %-s helyreállításával,
- a patkányok májhepatocitjaiban a kálium /K/ és nátrium /Na/ arányának legalább 13,8 %-s helyreállításával.

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

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

A találmány szerinti BAA-nál, és az anyag alapján előállított készítménynél a szervezet immunrendszere védőfunkciójának serkentésére gyakorolt hatást lehet megfigyelni, amely a belső patológia eliminálására /a természetes killerek aktivitásának serkentésére/ és a szervezet a fertőzőes betegségek iránti általános ellenálló képességének növelésére irányul, és ez nagy mértékben felülmúlja a fent említett ismert BAA-gok hasonló mutatóit.

Kísérletileg meg lettek határozva a különböző biológiailag aktív anyagok immunmoduláló tulajdonságai egy, a megvizsgálandó objektumokat azonosító mutatócsoportnak megfelelően. A kísérleti eredményeket a 6. sz. táblázat tartalmazza, amelyben ki vannak mutatva az ismert. I., 2., 3. sz., az RP-A-02499563, SU-A-139404 és SU-A-4455302 találmányokban leírt technológiák szerint nyert BAA, valamint a találmány szerinti, a WS, TS és LM csoportok által bemutatott BAA mennyiségi mutatói, mégpedig a következő összefoglaló eredmények alapján:

WS: az I.-4. sz. példák /a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek/ alapján;

TS: a 7.-9. sz. példák /a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix termotabil komponensek/ alapján;

LM: a II.-13. sz. példák /a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix kismolekulájú, $M \leq 10,0$ kDa komponensek/ alapján.

A kontroll objektum minőségében a tartósítószer tartalmazó nátrium-klorid fiziológiai oldatot használták. Az eredményeket a 6. sz. táblázat foglalja magába, és azok összehasonlítón jellemezik a találmány szerinti és az ismert BAA-gokat. A kimutatott eredmények a találmány szerinti, meg nem állapított szerkezetű keverék formájában nyert BAA jellemzéséhez tartoznak és szükségesek az anyag rendeltetését feltételező hatásán keresztül való azonosításához.

A 6. sz. táblázat adatainak elemzése, a találmány szerinti anyag azonosításának lehetőségén kívül, lehetővé teszi a konkrét eredmény értékelését is, amelyet a találmány szerinti BAA biztosít, és amely a biológiai aktivitás tulajdonságainak az anyagban lévő módosított szerkezetű sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó hidrolizátum által való javulásából áll, és amelyek hatása az ismert BAA-nál nem ismert.

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 összetételében 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 alapanyagként szarvasmarha embrionális szövetet használtak fel. Azonkívül a 7. sz. táblázat tükrözi a találmány szerinti BAA különböző csoportjai /WS, TS és LM/ elnyerésének eredményét, következetesen minden egyes találmány szerinti eljárás szerint. Annak az eljárásnak a megvalósításán kívül, amelynél biztosítva van a WS-BAA elnyerése és amely megvalósításánál alapanyagként a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek módosításának szakaszán vett állati szövetet használják fel, a 7. sz. táblázat magába foglalja a találmány szerinti BAA termostabil ST-BAA komponensek és kismolekulájú LM-BAA komponensek formájában való előállításának eljárásait is.

A 7. sz. táblázat adatai lehetővé teszik a BAA előállítása a találmány szerinti és az ismert eljárásának összehasonlító elemzését, mégpedig a találmány szerinti és az ismert BAA összehasonlító

elemzését annak a körülménynek a figyelembevételével, hogy az ismert BAA-gok között az anyagok jellemzői szerint a 3. sz. /US-A-4455302/, 2. sz. /SU-A-139404/, és az 1. sz. /LP-A-0249563/ BAA-gok a legjobbak.

A találmány szerinti és az ismert BAA különleges aktivitásának összehasonlító elemzése /a 6. és 7. sz. táblázatok/ azt mutatja, hogy az anyagok különleges aktivitása az ingrediensek összetételétől függ, amelyek aránya lényeges hatással van a különleges aktivitás értékére.

A találmány szerinti BAA biokémiai összetételének jellegzetes sajátossága az, hogy benne szénhidrátot tartalmazó komponensek vannak, amelyek módosítása nagy mértékben meghatározza az anyag tulajdonságát.

Emellett a legaktívabb frakciók /a 3., 4. és 5. sz. frakciók a 4. sz. táblázatban/ kismolekulájú, $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponenseinek /oligoszénhidrátok, glikopeptidok, glikolipidek, nukleotidok/ szénhidrát-tartalma meghatározó a BAA azonosításánál és jellemzésénél.

Igy, a különleges aktivitás és az ingrediensek összetételének összehasonlító elemzése /a 6. és 7. sz. táblázatok/ azt mutatja, hogy a találmány szerinti BAA a hasonlóhoz képest magasabb aktivitása az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek nagyobb szénhidrát-tartalmával van korrelálva. A találmány szerinti anyag-nál ezek az értékek: $6,8 \pm 3,5 \%$, $7,5 \pm 3,5 \%$ és $8,2 \pm 3,3 \%$, míg a hasonló, az 1., 2. és 3. sz. BAA-nál megfelelően legfeljebb: $0,2 \%$, $2,7 \pm 1,1 \%$ és $3,0 \pm 0,5 \%$. Ez az összefüggés még nagyobb mértékben korrelál a fajlagos szénhidrát-tartalommal az e frakció más szerves vegyületeihez képest.

Ezzel kapcsolatban lényeges mutató az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek szénhidrát- és peptid-tartalmának aránya / a 2. és 7. sz. táblázatok/, amelyet a következő képlet szerint határozzák meg:

$$G = \frac{C_y}{C_p} \quad /3/, \text{ ahol}$$

C_y és C_p az $M=0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű komponensek szénhidrát- és peptidkoncentrációja.

6. sz. táblázat

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A hatások mennyiségi mutatói az ismert BAA-nál		
		I.sz.	2.sz.	3.sz.
1. A patkányok has-	a fermenta-			
hártyaváladékak mak-	tív aktivitás	27,1	42,2	46,8
rofágjai aktivitásá-	/HCT-teszt/	±2,6	-2,4	±4,3
nak növekedése,				
%-ban az ellenőrzés-	az E. Coli sze-	15,6	21,4	33,4
hez képest	rinti fagocita	±2,1	±4,2	±4,3
	aktivitás			
2. A vérneutrofi-	a fermenta-			
lok aktivitásának	tív aktivitás	33,8	60,6	67,2
növekedése,	/HCT-teszt/	±5,9	±3,7	±3,8
%-ban, az ellenőr-	az E. Coli			
zéshez képest	szerinti fago-	25,4	25,1	38,4
	cita aktivitás	±1,6	±3,7	±5,7
3. A blasztátalakulá	T-limfocitok-	24,6	25,1	38,4
si reakció serken-	nál	±2,8	±2,4	±4,6
tése, %-ban, a kont-				
rollhoz képest	B- limfocitok-	22,1	28,8	46,3
	nál	±3,2	±2,4	±4,7
4. A timikus savó-				
tényező titer-számá-		52,4	56,7	117,8
nak növekedése,		±4,2	±6,2	±9,1
%-ban, a kontroll-				
hoz képest				
5. A patkányszplenocitok természetes		65,6	17,6	53,8
killeraktivitásának serkentése,		±4,8	±4,2	±5,4
%-ban, a kontrollhoz képest				
6. Az aktivitást	Na, K-ATF-	0	13,2	22,6
redukáló patkány-	-ázok		±3,1	±3,4
hepatocitok repa-	véramino-	0	0	23,4
rálóképességének	transzferaz			±4,8
fokozása CCl ₄ be-	a hepatocitok			
adása után, %-ban	K ⁺ koncentrá-	0	5,2	14,2
a kontrollhoz ké-	ciója		±1,2	±3,1
pest				

A biológiailag aktív anyagok /BAA/ immunmoduláló és regeneráló hatása		A hatások mennyiségi mutatói a találmány szerinti BAA-nál		
		WS	TS	LM
1. A patkányok has-	a fermenta-	62,6	87,8	142,6
hártyaváladéka mak-	tív aktivitás	+8,4	+4,8	+15,6
rofágjai aktivitásá-	/HCT-teszt/			
nak növekedése,				
%-ban az ellenőrzés-	az E. Coli sze-	46,8	64,3	120,4
hez képest	rinti fagocita	+77,7	+9,6	+4,3
	aktivitás			
2. A vérneutrofi-	a fermenta-	76,2	95,4	158,9
lok aktivitásának	tív aktivitás	+8,8	+13,8	+20,6
növekedése,	/HCT-teszt/			
%-ban, az ellenőr-	az E. Coli	52,3	70,4	123,6
zéshez képest	szerinti fago-	+7,5	+8,5	+10,7
	cita aktivitás			
3. A blasztátalakulá	T-limfocitok-	46,6	69,5	134,8
lasi reakció serken-	nál	+4,7	+10,2	+14,5
tése, %-ban, a kont-				
rollhoz képest	B- limfocitok-	55,6	82,6	168,2
	nál	+5,4	+10,7	+21,4
4. A timikus savó-		208,6	318,7	624,7
tényező títorszámá-		+41,2	+45,6	+81,3
nak növekedése,				
%-ban, a kontroll-				
hoz képest				
5. A patkányszplenocitok természetes		72,3	105,3	194,7
killeraktivitásának serkentése,		+6,2	+15,3	+16,3
%-ban, a kontrollhoz képest				
6. Az aktivitást	Na, K-ATF-	26,7	31,4	57,6
redukáló patkány-	-ázok	+2,4	+3,2	+7,2
hepatocitok repa-	véramino-	27,2	46,2	70,6
rálóképességének	transzferaz	+5,1	+7,4	+11,4
fokozása CCl ₄ be-	a hepatocitok	16,8	24,6	48,2
adása után, %-ban	K ⁺ koncentrá-	+3,0	+2,4	+4,3
a kontrollhoz ké-	ciója			
pest				

7. sz. táblázat

Szerves vegyületek	Az ismert BAA szervesvegyület- tartalma, tömegszázalékban		
	1.sz.	2.sz.	3.sz.
Poliipeptidek	72,7 ±9,4	47,4 ±8,7	32,1 ±6,1
Peptidek	13,5 ±2,1	35,8 ±7,4	16,3 ±3,2
Aminosavak	4,7 ±1,7	3,7 ±0,8	31,7 ±6,2
ÖSSZESEN:	90,9 ±6,0	86,9 ±5,8	80,1 ±5,1
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú, M 10,0 kDa molekulá- ris tömegű vegyületek összetételében	0,5 ±0,2	0,9 ±0,2	1,9 ±0,8
- a kismolekulájú, M=0,8-10,0 kDa mole- kuláris tömegű vegyületek összetételé- ben	0,2-nél kevesebb	2,7 ±1,1	3,0 ±0,5
- a szabad monomerek, vagy az M 0,8 kDa molekuláris tömegű vegyületek összetételében	7,3 ±2,4	2,1 ±0,6	10,2 ±2,7
ÖSSZESEN:	8,0 ±1,8	5,7 ±1,6	14,9 ±2,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	1,1 ±0,3	7,4 ±2,1	5,0 ±1,6
ÖSSZESEN:	100,6	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom aránya G*	0,01-nél kevesebb	0,08	0,18
A BAA-ban a száraz maradék sulya , mg/ml	20,0 ±4,2	11,4 ±3,7	32,6 ±9,6
Az antiszeptikum sulya, mg/ml	-	-	-
A BAA koncentrációja a por összetételé- ben, tömegszázalékban	-	-	-

A kontrolltól való eltérések valódisága $P < 0,05$

* Ezek az értékek a táblázatban kimutatott statisztikai középértékek alapján vannak kiszámítva.

Szerves vegyületek	A találmány szerinti BAA szerves- vegyület-tartalma, tömegszázalékban		
	WS	TS	LM
Poliipeptidek	20,00 ±3,5	9,1 ±3,6	0,3-nál kevesebb
Peptidek	15,0 ±5,0	17,3 ±3,7	18,7 ±3,8
Aminosavak	40,1 ±8,1	45,0 ±7,9	51,8 ±8,3
ÖSSZESEN:	75,1 ±5,1	71,4 ±4,8	70,5 ±5,3
Szénhidrátok:			
- a nagymolekulájú, M 10,0 kDa moleku- lális tömegű vegyületek összetételében	0,7 ±0,4	0,4 ±0,2	0,2-nél kevesebb
- a kismolekulájú, M=0,8-10,0 kDa mole- kulális tömegű vegyületek összetételé- ben	6,8 ±3,5	7,5 ±3,5	8,2 ±3,3
- a szabad monomerek, vagy az M 0,8 kDa molekulális tömegű vegyületek össze- tételében	10,0 ±2,7	12,7 ±2,9	13,7 ±3,5
ÖSSZESEN:	17,7	20,6	22,1
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	7,2 ±2,1	8,0 ±2,7	7,1 ±2,1
ÖSSZESEN:	100,0	100,0	100,0
A szénhidrát- és peptidtartalom aránya g*	0,43	0,43	0,44
A BAA-ban a száraz maradék sulya, mg/ml	12,8 ±3,6	8,4 ±2,2	6,1 ±1,8
Az antiszeptikum sulya, mg/ml	0,7	0,7	0,7
A BAA koncentrációja a por összetételében, tömegszázalékban	94,8 ±1,1	92,3 ±1,5	89,7 ±2,2
A kontrolltól való eltérések valódisága $P < 0,05$			
*: ezek az értékek a táblázatban kimutatott statisztikai középértékek alapján vannak kiszámítva.			

A találmány szerinti BAA-nál ez a mutató $G_3=0,25-0,60$, míg az ismert BAA-nál a mutató értéke nem haladja meg a $G_{ism} < 0,25$ értéket.

Igy a G-mutató értéke általánosan jellemzi a hidrolizátum tulajdonságát, és a találmány szerinti eljárásnál használt alapanyagtól, az alapanyag feldolgozásához használt eljárási műveletektől és a hidrolízis lebonyolításának üzemétől függ, és a találmány szerinti BAA biokémiai azonosításának egyik jellemző mutatója.

A találmány szerinti biológiailag aktív anyag ismérveinek összessége és ezzel az összességgel egy alkotó alapgondolattal összekapcsolt és az anyag alapján nyert készítmény előállításának eljárását meghatározó ismérvek összessége és a BAA különleges aktivitása között ok és okozat kapcsolat van.

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 kinyerési folyamata körülményeinek kiválasztásán alapulnak.

Emellett a BAA elnyeréséhez kiválasztott technológia biztosítja az eredmények reprodukálhatóságát ~~bizmételhetőségét~~/, 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 a találmány szerinti előállítása eljárásának révén az általános és különös esetekben nyert céltermékek a biológiai hatástukat illetően egyenértékűek, de különböznek a különleges aktivitásukat illetően. Ezért a konkrét BAA felhasználásának célszerűségét az objektum, amely részére rendelve van az anyag, által támasztott követelmések határozzák meg, vagyis az állatorvostan és/vagy orvostan által támasztott követelmések. Ezzel kapcsolatban a céltermék felhasználásának ~~konkrét~~ ^{minden egyes} esetén a BAA változatának kiválasztását az anyag immunmoduláló aktivitásához és hatásosságához támasztott követelmények és az anyag előállításának aránya határozza meg. Így, az $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű kismolekulájú komponenseket tartalmazó találmány szerinti LM-BAA nagy hatásossága a makrofágok, neutrofilok, limfociták, természetes killerek aktivitásának növekedésében mutatkozik meg, ami biztosítja a regenerálási folyamatokat /a 6. sz. táblázat/. A mezőgazdasági állatoknál az ilyen hatások együtt járnak az állatok intenzív hizlalásánál jelentkező kiegészítő súlygyarapodás növekedésével /8. sz. táblázat/. A respirátoros és fertőzős betegségeknél /parainfluenza/ az ilyen előny nem olyan nagy, és itt gazdaságilag célszerű a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix vízben oldódó WS-BAA komponenseit használni. A gyulladásos folyamatok gyógyításánál /emlőgyulladás/ előnyösebb a termostabil ST-BAA komponenseket tartalmazó anyag felhasználása.

Külsőleg kenőcs, kup, gél, borogatás formájában, intranazálisan vagy az állatok feltáplálására használandó készítmények elő-

8. sz. táblázat

A gyógyszerészeti, belgyógyászati és általános biológiai hatás /tulajdonság/ a biológiailag aktív anyag /BAA/ használatánál			Az ismert BAA-gok hatásának mennyiségi jellemzése		
			I.sz.	2.sz.	3.sz.
1. Gyulladásos folyamatok	A tehenek tüdőgyulladás, gyulladások, %-ban	Kísérlet	56 [±] 8	66 [±] 6	70 [±] 5
		Kontroll	59 [±] 7	57 [±] 6	61 [±] 5
	Tüdőgyulladás, gyulladások, %-ban	Kísérlet	55 [±] 8	64 [±] 7	69 [±] 6
		Kontroll	58 [±] 7	60 [±] 7	55 [±] 7
2. Fertőzőes betegségek	Parainfluenza és heves légúti betegségek, gyulladások, %-ban	Kísérlet	55 [±] 5	65 [±] 7	70 [±] 6
		Kontroll	60 [±] 5	62 [±] 6	64 [±] 7
3. A borjúk kiegészítő súlygyarapodásának növekedése, %-ban a kontrollhoz képest			-12 [±] 10*	15 [±] 6	24 [±] 7
4. Heves mérgező hatás, halálos kimenetelű adag ₅₀ , ml/I kg testsúlyra /mg/I kg testsúlyra/			25-nél több /260/		

a 8. sz. táblázat folytatása

			A találmány szerinti BAA-gok hatásának mennyiségi jellemzése		
			WS	ST	LM
1. Gyulladásos folyamatok	A tehenek tüdőgyulladás, gyulladások, %-ban	Kísérlet	76 [±] 3	83 [±] 4	88 [±] 5
		Kontroll	58 [±] 8	63 [±] 7	53 [±] 8
	Tüdőgyulladás, gyulladások, %-ban	Kísérlet	78 [±] 5	89 [±] 6	91 [±] 5
		Kontroll	51 [±] 8	61 [±] 6	48 [±] 6
2. Fertőzőes betegségek	Parainfluenza és heves légúti betegségek, gyulladások, %-ban	Kísérlet	82 [±] 6	90 [±] 7	95 [±] 5
		Kontroll	58 [±] 6	61 [±] 7	67 [±] 5
3. A borjúk kiegészítő súlygyarapodásának növekedése, %-ban a kontrollhoz képest			37 [±] 7	58 [±] 8	102 [±] 15
4. Heves mérgező hatás, halálos kimenetelű adag ₅₀ , /ml/I kg testsúlyra /mg/I kg/			25-nél több /260/		
A kontrolltól való eltérések valódisága P < 0,05			* P > 0,05		

állításánál az LM-BAA helyett gazdaságosabb a termostabil ST-BAA komponensek használata.

Emellett a maximális hatás elnyerésének érdekében a találmány szerinti anyagot célszerű a szervezet immunrendszere védő-funkciójának serkentéséhez használni, amely a belső patológia eliminálására /a természetes killerek aktivitásának serkentésére/ irányul, valamint a szervezet által a fertőzőes betegségek iránt mutatott általános ellenállóképességének növelésére, amely jelentősen felülmúlja a fent említett ismert BAAGok hasonló mutatóit.

A találmány szerinti BAA felhasználása a szarvasmarha-növendék állatok fertőzőes megbetegedésénél /parainfluenza, a borjuk heves léguti betegsége, stb./ az állatok 82-93 %-s gyógyulását biztosította. Ugyanakkor az ismert anyagok ugyanolyan körülmények közötti felhasználása esetén a gyógyulás legfeljebb csak 70 %-t tett ki, a kontroll csoportnál való spontán gyógyításnál pedig csak 58-67 %-t.

A találmány szerinti készítmény használata pozitív eredményt adott az állatok szervezetébe gyulladásos betegségeknél való beadása esetén is.

A találmány szerinti BAA felhasználása kórmegelőző célokban a borjuk parainfluenza megbetegedése szintjét 10 %ra vitte le, míg az ismert anyagok felhasználása esetén ez a szint 12-17 % volt, a kontrollcsoportnál pedig 22-28 %.

A találmány szerinti készítmény felhasználása növelte az állatok a fertőzőes betegségek iránti ellenállóképességét, és ezáltal csökken az állatállomány elhullási szintje.

A készítmény által az állatok általános biológiai állapotának rendezése hozzájárult a termelési mutatók javulásához, és különösen az élősúly kiegészítő súlygyarapodásának helyreállításához, a hus minőségének romlása nélkül úgy, hogy ezek a mutatók megközelítik az intenzív hizlalásnál a genetikailag beprogramozott szintet. Ez a sajátosság előnyösen megkülönbözteti a találmány szerinti BAA-ot 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 ál-

lat szervezetébe az intenzív hizlalásnál biztosította a kiegészítő súlytöbblet a kontrollhoz képest 37-100 %-s növelését. Ugyanakkor az ismert, hasonló BAA-g /az 1., 2., 3. sz./ ugyanolyan feltételek mellett a kontrollhoz képest csak 12-24 % súlytöbbletet biztosított .

A homeosztázis paraméterek rendezése azonkívül elősegíti:

- a szarvasmarhák és anrómarhák tejhozamának növelését;
- a szárnyasok tojóképeségét;
- a prêmes állatok prême minőségének javulását;
- az állatnövéndékek életben maradását;
- a méhek mézhordását, stb.

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

A találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmények az állatoknál való felhasználása esetén kifejtett farmakológiai, belgyógyászati és általános biológiai hatását a 8. sz. táblázat összehasonlító adatai tartalmazzák. A táblázat adatainak elemzése arra utal, hogy a találmány szerinti BAA biológiai aktivitása jelentősen felülmúlja a hasonló anyagok biológiai aktivitásának értékét.

Igy, a találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmény széles spektrumu felhasználást biztosít az állatorvostan és az orvostan területén, és azokat fel lehet használni a szervezet élettani állapotának rendezéséhez olyan betegségeknél, amelyeket a szervezet immunrendszere ^ahtáskörének keretében lehet ellenőrizni.

A találmánynak megfelelően, a találmány szerinti anyagot és az anyag alapján előállított készítményt következőképpen használják fel. Meghatározzák a homeosztázis paraméterit és utána, ha azok eltérnek a normától, a BAA bevitelével az immunrendszert serkentik a homeosztázis-paraméterek rendezéséig.

Az immunrendszer említett serkentését a retikulendoteliális rendszer, a T- és B-rendszer, a neutrofilok és/vagy a szervezetbeli természetes killerek népessége aktiválása révén valósítják meg, ami biztosítja a hashártyaváladék makrofágjai és a vérneutrofilok aktivitásának növelését in vitro, a limphociták blasztranszformációs reakciója serkentésének növelését in vivo, a tymusz funkcióhá-

lis aktivitása serkentésének növelését, a szplenocitok természetes killeraktivitása serkentésének növelését in vivo, valamint a májhepatocitok reparálóképességének fokozását a mérgező anyag beadása vagy a részleges hepatektomia után, stb,

Erre a célra a találmány szerinti BAA és az anyag alapján előállított készítmény a szervezetbe való bevitelének eljárását a következő sorból válasszák ki:

- 0,005-0,5 ml/I kg testsulyra adagu intramusculáris injekciók I-7 nap injekciók közötti időszakkal;

- 0,012 -0,12 ml/I kg testsulyra adagu inhalációk, 4-48 óra inhalációk közötti időszakkal;

- 0,012-0,12 ml/I kg testsulyra adagban, szublingválisan, 4-48 óra beviteli időszakkal;

- 0,02-I,0 ml/I kg testsulyra adagu feltáplálással, I-IO nap feltáplálások közötti időszakkal;

- 0,02-I,0 ml/I kg testsulyra adagu tableták, I-IO nap időszakkal;

- 0,001-0,05 ml/I kg testsulyra napi adagban intranazálisan, a lecsepegtetés közötti 2-24 óra időszakkal;

- a nyálkahártyás- vagy sebfelületre való rátétellel borogtatás, kup, hintőpor, kenőcs, valamint gél formájában;

- kombinált formában, a homeosztázis^a-paraméterek rendezéséig.

A találmány szerinti BAA termostabil ST-BAA komponensek formájában, és az anyag alapján előállított készítmény, amelyben töltőanyagként a nátrium-klorid fiziológiai oldatot használják, felhasználása eljárásának hatásosságát igazoló ismereteket a 9-I2. sz. táblázatok tartalmazzák. A táblázatokban ki van mutatva a homeosztázis-paraméterek rendezésének függése a fent említett adaghatároktól és a találmány szerinti készítmény felhasználásánál alkalmazott eljárástól, amit a kezdettől fogva eltérő homeosztázis-paraméterekkel rendelkező borjuk súlygyarapodása alapján ellenőrizték. A 9.-I2. sz táblázatokban a találmány szerinti készítmény hatásosságának eredményei vannak kimutatva:

- intr^amusculáris, 5-nap időszakkal beadott injekciók esetén /a 9. sz. táblázat/;

- 24-óránkénti inhalációk esetén /a IO. sz. táblázat/;

- I2-óránkénti intranazális alkalmazásnál /a I2. sz. táblázat/;

- 7-napos időszakkal történt feltáplálás esetén /a II. sz. táblázat/.

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

- a fertőzőes betegségek gyógyításának /prainfluenza, heves respirátoros betegségek/,
- a gyulladásos betegségek gyógyításának /emlőgyulladás, tüdőgyulladás, endometritek/,
- az állatok a fertőzőes és gyulladásos folyamatok iránti ellenállóképességének,
- a szervezet általános biológiai állapotának,
- az állatok szulgyarapodása növelésének,
- hepatitnál a májszövet funkcionális aktivitásának,
- részleges hepatektomia esetén a máj regenerálásának,
- fekélyeknél, sebeknél, sebesüléseknél és sérüléseknél az epidermisz gyógyításának,
- vérvesztéségnél a vérképlet visszaállításának serkentését.

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 jóváhagyásának lehetőségét.

Egy pácienscsoport megvizsgálásánál meg lett határozva a szervezet élettani állapotára gyakorolt pozitív hatás, valamint az állatokon végzet klinika előtti vizsgálatokhoz viszonyított, gyakorlatilag teljes hasólóság.

A találmány szerinti biológiaiilag aktiv anyag elnyerésének eljárását mint ipari, mint laboratóriumi körülmények között is meg lehet valósítani.

9. sz. táblázat

Az intramusculáris injekcióknál elért hatásosság					
Adag ml/I kg test- sulyra	0,005-nél /0,001/ kevesebb	0,005	0,05	0,5	0,5-nél több /1,0/
A súlygyarapodás, %- -ban, a kontrollcso- porthoz képest	32 ± 2	47 ± 2	55 ± 5	61 ± 5	42 ± 3
A kontrolltól való eltérések valódisága P < 0,05					

10. sz. táblázat

Az inhalációk hatásossága					
Adag, ml/Ikg test- sulyra	0,001	0,012	0,05	0,12	0,6
A súlygyarapodás, %- -ban, a kontrollcso- porthoz képest	10 ± 2	22 ± 2	25 ± 3	30 ± 4	20 ± 2
A kontrolltól való eltérések valódisága P < 0,05					

11. sz. táblázat

A feltáplálás hatásossága					
Adag, ml/I kg test- sulyra	0,001	0,01	0,05	0,5	2,0
A súlygyarapodás, %- -ban, a kontrollcso- porthoz képest	10 ± 4	32 ± 3	35 ± 3	42 ± 3	30 ± 4
A kontrolltól való eltérések valódisága P < 0,05					

12. sz. táblázat

Az intranazális alkalmazás hatásossága					
Adag, ml/I kg test- sulyra	0,0005	0,001	0,005	0,05	5,0
A súlygyarapodás, %- -ban, a kontrollcso- porthoz képest	3 ± 1	12 ± 2	17 ± 3	20 ± 4	8 ± 2
A kontrolltól való eltérések valódisága P < 0,05					

A figyelembe vett információforrások

- I. 24I39I2 sz., A6IK 35/44, 1978.OI.IO-n kelt francia igénylés-Bountemps R.-Embrió alapján nyert gyógyszerek és azok előállításának eljárása.
2. Az Európai Patentügynökség 0249563 sz., A6IK 35/54, 1984.06.I2-n kelt igénylése- Laumand Gerard.- Az állatok szervezetei embriószövetének az embernek adott injekciókhoz alkalmas kivonatai.
3. I442064 sz., A6IK 37/24 SzSzkSz találmányi bizonyítvány, 1984.IO.4. Robert Certly /Solco Basel AG/.- Immunmoduláló hatással rendelkező állati alapanyagból nyert kivonat előállításának eljárása.
4. I39404 sz. A6IK 35/I2 SzSzkSz találmányi bizonyítvány, 1960.I2.IO.- Belenykij N.G. és társai.- Húsalapanyagból, például levágott darabból, lépből, placentából, embrióból, stb. nyert, a mezőgazdasági állatok serkentésére és hizlalására való készítmények előállításának eljárása.
5. 4455302 sz. USA-szabadalom, 1982.03.I8.- H.J. Robertson. - A fehérje orvostani hidrolizátuma előállításának eljárása, és a sérült testrészek gyógyításához való alkalmazása.
6. 904707 sz., A6IK 35/26, 35/28 SzSzkSz találmányi bizonyítvány, 1982.- Szmirnov A.M. és társai /Leningrádi Állatorvostani Intézet/.- A növendékállatok szervezete ellenállóképességének növelésére szolgáló anyag, és az anyag előállításának eljárása.
7. Jasuo Kagava. Biomembránok.-M.-Viszsájá skola.-1985-I3,I5 o
8. Alberts B., Brei D. A sejt molekuláris biológiája.-"Mir"-1986.-97 old.
9. U.K. Laemmli.-Nature.-1970-v.227,-5259,-p.680-685.
10. S. Seifter, S. Dayton, C. Hovic.-Arch. Biochemistry and Biophysical,-1950,-25,-I,-p. 191-200.
- II. J.M. Knight, S. Anderson, J.M. Rawle.-Clinical Chemistry -1972,-I8,-p. 199.
12. S. Reitman, S. Frankel.-American Journal of Clinical Pathology,- 1957-28-56.
13. V.N. Briker. A Na,K-tartalom meghatározása lángfotometri-kus módszerrel.- Laboratornoje gyelo,- 1961-7-3-6 old.

Szabadalmi igénypontok

1. Immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező, a felapritott állati szövetingrediensek hidrolizátumának vízben oldódó szerves vegyületei által képviselt biológiailag aktív anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a hidrolizátum összetételében termostabil, kismolekulájú, az embriógenézis és/vagy proliferáció, és/vagy sejtszétválasztás, és/vagy patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy kísérő folyamat alatt módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz.

2. Az 1. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az anyag a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek összetételében $T_H \leq 120^\circ \text{C}$ hőmérsékleten termostabil komponenseket tartalmaz.

3. A 2. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a termostabil komponenseket 30-100 tömegszázalék-mennyiségben tartalmazza.

4. Az 1. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek összetételében kismolekulájú, $M \leq 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű komponenseket tartalmaz.

5. A 2. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponensek összetételében kismolekulájú, $M \leq 10,0 \text{ kDa}$ molekuláris tömegű komponenseket tartalmaz.

6. A 4. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a kismolekulájú komponenseket 30-100 tömegszázalék mennyiségben tartalmazza.

7. Az 5. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a kismolekulájú komponenseket 30-100 tömegszázalék mennyiségben tartalmazza.

8. Az 1. vagy 2., vagy 3., vagy 4., vagy 5., vagy 6., vagy 7. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó hidrolizátum összetételében szerves vegyületeket tartalmaz a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban:

Polipeptidek	26,0-ig
Peptidek	10,0-22,5
Aminosavak	32,0-60,1
Szénhidrátok	22,0 -28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	2,0-11,0

9. A 8. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a szerves vegyületek összetételében szénhidrátokat tartalmaz a következő, tömegszázalékban kifejezett arányban:

- nagymolekulájú, $M_{yB} > 10,0$ kDa molekuláris tömegű vegyületekben 2,0-ig
- kismolekulájú, $M_{yH} = 0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű vegyületekben 2,5-II,5
- a szabad, $M_{yM} < 0,8$ kDa értékű monomerekben 6,0-I7,0

10. Az I. vagy 2., vagy 3., vagy 4., vagy 5., vagy 6., vagy 7., sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy az $M_{yH} = 0,8-10,0$ kDa molekuláris tömegű hidrolizátumban lévő szénhidrátok és peptidok tömegtartalmának aránya $G = 0,25-0,6$ érték között van.

II. Az I. vagy 2., vagy 3., vagy 4., vagy 6. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó hidrolizátum összetételében szerves vegyületeket tartalmaz a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban:

Polipeptidek	I6,3-24,7
Peptidek	II,9-I7,I
Aminosavak	32,0- 48,2
Szénhidrátok	I4,6-20,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,I- 9,3

12. A 2. vagy 3., vagy 5., vagy 7. sz. pontok szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó hidrolizátum összetételében szerves vegyületeket tartalmaz a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban:

Polipeptidek	5,5-I2,7
Peptidek	I3,6-2I,0
Aminosavak	37,I-52,9
Szénhidrátok	I6,I-25,I
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,3-II,0

13. A 4. vagy 5., vagy 6., vagy 7. sz. pont szerinti anyag, azzal JELLEMEZVE, hogy a módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó hidrolizátum összetételében szerves vegyületeket tartalmaz a következő, tömegszázalékban kifejezett,

arányban:

Polipeptidek	0,3-nál kevesebb
Peptidek	14,9-22,5
Aminosavak	43,5-60,1
Szénhidrátok	15,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,0- 9,2

I4. Az immunmoduláló tulajdⁿossággal rendelkező biológiailag aktív anyag előállításának eljárása, amelynek felapritják a kimosott állati szövetből nyert alapanyagot, végrehajtják a nyert ingrediensek hidrolizisét a hidrolizátum utána következő elkülönítésével és megszürésével, valamint a szupernatants céltermék minőségében való elválasztásával, azzal JELLEMEZVE, hogy alapanyagként az embriógenézis 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, és a hidrolizis előtt az anyagot homogenizálják és megtisztítják a szövet le nem roncsolt elemeitől a sejtmorfol plazma és sejtglikokalix komponensekkel rendelkező ingredieneket tartalmazó szupernatants elkülönítésével.

I5. A I4. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy alapanyagként az embrionális szövetet, a tymusz-timocitok differenciálódó szövetét, a herespermatogóniákat és herespermatocitokat, a placentáris szövetet, epiteális bélszövetet, a csontvelő-sejteket, a regeneráló bőrszövetet, a regeneráló májszövetet, a kételtűek végtagjainak regeneráló szövetét, a patológiailag elváltozott, a regeneráció szakaszán vett szövetet használják.

I6. A I4. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a le nem roncsolt szövetelemektől való megtisztítást a homogenizálás után fiziológiai és/vagy puffer oldatban hajtják végre szűrés és/vagy 150-250 g gyorsulással 10-15 perc alatt végzett centrifugálás révén.

I7. A I4. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy az állati szövet aprítását a homogenizálás előtt hajtják végre, és az a sejtek épsége megsérüléséig tart, a tartalmuk utána következő eltávolításával, kiegészítő szűrés vagy 300-15000 g gyorsulással 10-20 perc alatt végrehajtott centrifugálás által történő kimosás révén, az extrahált felapritott szövet elkülönítésével.

18. A 14. vagy 15., vagy 16., vagy 17. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a hidrolízis hatása alá/vetett ingre-diensek összetételében a sejtmorfoplazma és sejtglikokalix kompo-nensek tartalma a szerves vegyületek összes tömegének 30-60 %-val egyenlő.

19. A 14. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a hidrolízist $T_p=4-45^{\circ}$ C hőmérsékleten hajtják végre.

20. A 14. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy a hidrolízist tartósítószer jelenlétében hajtják végre.

21. A 14. vagy 15., vagy 16., vagy 17., vagy 19., vagy 20. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy az ingre-diensek hidralizátumát $T_H=60-120^{\circ}$ C hőmérsékleten hőkezelés hatása alá vetik a termolabilis vegyületek teljes denaturálásáig és megszűrik, vagy 1500 g feletti gyorsulással 20-40 percig centrifugálják, a termostabil komponenseket tartalmazó szupernatants céltermékként való elkülönítésével.

22. A 14. vagy 15., vagy 16., vagy 17., vagy 19., vagy 20. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy az ingre-diensek hidrolizátumát dialízis útján féláteresztő filmen keresztül és/vagy ultraszűréssel, és/vagy gélszűréssel frakcionálják a kismolekulájú $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű frakciók céltermékként való elkülönítésével.

23. A 21. sz. pont szerinti eljárás, azzal JELLEMEZVE, hogy az ingre-diensek hidrolizátumát dialízis útján féláteresztő filmen keresztül és/vagy ultraszűréssel, és/vagy gélszűréssel frakcionálják a kismolekulájú, $M \leq 10,0$ kDa molekuláris tömegű frakciók céltermékként való elkülönítésével.

24. Az emberi és állati szervezet rendezéséhez való, az állati szövet ingrendiensei hidrolizátuma alapján nyert biológiailag aktiv anyagot és töltőanyagot tartalmazó készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktiv anyag minőségében a készítmény a hidrolizátum összetételében termostabil, kismolekulájú az embriogene-zis és/vagy proliferáció, és/vagy a sejtszétválasztás, és/vagy a patológia, a szövet regenerációját és/vagy reparációját megelőző és/vagy követő folyamat alatt módosított sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmaz, és a biológiailag aktiv anyag tartalmának mennyisége a készítményben 0,001-85,0 tömegszázalék, a többi töltőanyag.

25. A 24. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmaz:

Poliipeptidek	26-ig
Peptidek	10,0-22,5
Aminosavak	32,0- 60,1
Szénhidrátok	10,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	2,0-II,0

26. A 25. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmaz:

Poliipeptidek	16,3-24,7
Peptidek	11,9-17,1
Aminosavak	32,0-48,2
Szénhidrátok	14,6-26,8
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,3- 9,3

27. A 25. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmaz:

Poliipeptidek	5,5-12,7
Peptidek	13,6-21,0
Aminosavak	37,1-52,9
Szénhidrátok	16,1-25,1
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,3-II,0

28. A 25. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy a biológiailag aktív anyag szerves vegyületeket a következő, tömegszázalékban kifejezett, arányban tartalmaz:

Poliipeptidek	0,3-nál kevesebb
Peptidek	14,9-22,5
Aminosavak	43,5-60,1
Szénhidrátok	15,5-28,7
Lipidek, nukleotidok és más szerves vegyületek	5,0- 9,2

29. A 25. vagy 26., vagy 27., vagy 28. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMEZVE, hogy töltőanyagként a készítmény nátri-

um-klorid oldatot és/vagy sósavas pufferoldatot, és/vagy szénhidrát vegyületeket, és/vagy ásványi, állati, növényi vagy szintetikus származású olajat, vagy azok keverékét tartalmaz.

30. A 25. vagy 26., vagy 27., vagy 28. sz. pont szerinti készítmény, azzal JELLEMZVE, hogy a készítmény kiegészítően tartósítószeret tartalmaz.

31. Az ember és az állatok élettani állapota rendezésének eljárása, amely előírja az állati szövet ingrediensei hidrolizátumának a szervezetbe való bevitelét, azzal JELLEMZVE, hogy készítmény minőségében 0,001-85,0 tömegszázaléku, a hidrolizátum összetételében 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 sejtmorfoplazma és sejtglikokalix komponenseket tartalmazó biológiaiilag aktív anyagból és 15,0-99,99 tömegszázalék töltőanyagból álló kompozíciót használnak, a készítmény szervezetbe való bevitelét pedig intramusculáris injekciók által, 0,005-0,5 mg/I kg testsúlyra adagban, az injekciók közötti 1-7 nap időszakkal, és/vagy inhalációk által 0,012-0,12 mg/I kg testsúlyra adagban, az inhalációk közötti 4-48 óra időszakkal, és/vagy szublingvális beadagolással 0,012-0,2 mg/I kg testsúlyra adagban, a beadások közötti 4-48 óra időszakkal, és/vagy feltáplálás által 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagban, a feltáplálások közötti 1-10 nap időszakkal, és/vagy tabletták által, interális beadással, 0,02-1,0 mg/I kg testsúlyra adagban a beadások közötti 1-10 nap időszakkal, és/vagy intranazális beadagolás által 0,001-0,05 mg/I kg testsúlyra napi adagban a beadagolás közötti 2-24 óra időszakkal, és/vagy a nyálkahártyára vagy a sérült felületre való rátétel által borogatások, kupok, hintőporok, kenőcsök és gélek formájában, az alkalmazás közötti 1-10 nap időszakkal hajtják végre, az élettani állapot paramétereinek rendezéséig.

A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
12.