



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/15 (2021.05); G01N 2500/00 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2021102033, 28.01.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.01.2021Дата регистрации:
02.06.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.01.2021

(45) Опубликовано: 02.06.2021 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

426054, г. Ижевск, ул. Металлистов, 33, кв. 9,
(а/я 1751), Уракову А.Л.

(72) Автор(ы):

Ураков Александр Ливиевич (RU),
Ягудин Ильнур Ильдарович (RU),
Сунцова Дарья Олеговна (RU),
Светова Милена Дмитриевна (RU),
Самородов Александр Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Ураков Александр Ливиевич (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: SRIRAMULU D. D. Artificial Sputum
Medium // Protocol Exchange, 2010, pp.1-5. RU
2598627 C2, 27.09.2016. US 20170112935 A1,
27.04.2017. KIRCHNER S. et al. Use of Artificial
Sputum Medium to Test Antibiotic Efficacy
Against Pseudomonas aeruginosa in Conditions
More Relevant to the Cystic Fibrosis Lung //
Journal of Visualized Experiments, 2012, (см.
прод.)

(54) Искусственная мокрота для моделирования респираторной обструкции при COVID-19

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, пульмонологии, фармакологии, фармации, биотехнологии, биохимии, физико-коллоидной химии. Раскрыта искусственная мокрота, предназначенная для заполнения дыхательных путей изолированного легкого и лишения его воздушности с целью срочного использования в качестве биологической модели для скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств при следующем соотношении (мас.%): крахмал картофельный - 4,4-22,0; желатин - 2,2-11,0; натрия хлорид - 0,9; кровь сельскохозяйственного животного, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:1 - 5,0; вода дистиллированная

- остальное, при pH 7,0-7,4, осмотической активности 280-300 мосмоль/л воды и температуре +37°C. Изобретение обеспечивает срочное заполнение дыхательных путей вплоть до устранения воздушности и утопления изолированного легкого в воде, возможности использования легкого в качестве биологической модели для скрининга отхаркивающих и кислородных пенообразующих лекарственных средств при их ингаляционном введении без ожогового и обмораживающего повреждения тканей легкого, без развития холодового спазма бронхов и без инфекционного заражения исполнителей. 7 пр.

(56) (продолжение):

V.64, pp.1-7.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/15 (2021.05); G01N 2500/00 (2021.05)(21)(22) Application: **2021102033, 28.01.2021**(24) Effective date for property rights:
28.01.2021Registration date:
02.06.2021

Priority:

(22) Date of filing: **28.01.2021**(45) Date of publication: **02.06.2021** Bull. № 16

Mail address:

**426054, g. Izhevsk, ul. Metallistov, 33, kv. 9, (a/ya
1751), Urakovu A.L.**

(72) Inventor(s):

**Urakov Aleksandr Livievich (RU),
Yagudin Ilmur Ildarovich (RU),
Suntsova Darya Olegovna (RU),
Svetova Milena Dmitrievna (RU),
Samorodov Aleksandr Vladimirovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

Urakov Aleksandr Livievich (RU)(54) **ARTIFICIAL SPUTUM FOR MODELING RESPIRATORY OBSTRUCTION IN COVID-19**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pulmonology; pharmacology; pharmacy; biotechnology; biochemistry; physical and colloidal chemistry

SUBSTANCE: artificial sputum is disclosed intended for filling the respiratory tract of an isolated lung and depriving it of airiness for urgent use as a biological model for screening expectorants and foaming agents at the following ratio (wt.%): potato starch is 4.4-22.0; gelatin is 2.2-11.0; sodium chloride is 0.9; blood of an agricultural animal diluted with distilled water in a ratio of 1:1-5.0; distilled water is

the rest, at a pH of 7.0-7.4, osmotic activity of 280-300 mOsm/l of water and a temperature of +37°C.

EFFECT: invention provides urgent filling of the respiratory tract up to the elimination of airiness and drowning of the isolated lung in water, the possibility of using the lung as a biological model for screening expectorant and oxygen foaming drugs when they are inhaled without burn and frostbite damage to the lung tissues, without the development of cold spasm of the bronchi and without infection of the performers.

1 cl, 7 ex

RU 2 748 999 C1

RU 2 748 999 C1

Изобретение относится к медицине, пульмонологии, фармакологии, фармации, биотехнологии, биохимии, физико-коллоидной химии, а также к области ферментов, конкретно к жидким коллоидным водным фармацевтическим композициям (например, гель, мазь, крем, клей, сироп, раствор или эликсир) и предназначено для введения в дыхательные пути экспериментальных животных с целью лишения воздушности легких и создания биологической модели респираторной обструкции, позволяющей оценивать активность отхаркивающих, пенообразующих и пиолитических средств, а также выявлять средства, повышающие воздушность легких, удаляющие мокроту из дыхательных путей, освобождающие их для движения воздуха, повышающие в них содержание кислорода с последующей перспективой применения разработанных средств для лечения пациентов с тяжелой степенью атипичной пневмонии, вызванной COVID-19. Помимо этого, изобретение предназначено для скрининга средств, перспективных для улучшения реологических свойств мокроты и ее эвакуации из дыхательных путей при гнойном обструктивном бронхите, муковисцидозе, бронхоэктатической болезни и синдроме Зиверта-Картагенера.

На дату подачи заявки в мире не решена проблема создания безопасной искусственной мокроты, имитирующей реологические, биохимические и физико-химические свойства естественной густой и липкой мокроты (вязкого гнойного секрета), которая накапливается в дыхательных путях больных атипичной пневмонией, вызванной COVID-19. Отсутствие такой искусственной мокроты тормозит создание адекватной биологической модели респираторной обструкции легких, без которой невозможно осуществить эффективный скрининг, интенсивный поиск, разработку и оценку лекарственных средств, устраняющих респираторную обструкцию, повышающих эффективность искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и легочной оксигенации крови у пациентов, страдающих тяжелой степенью атипичной пневмонии при COVID-19. В связи с этим при потере воздушности легких и развитии респираторной обструкции у пациентов при COVID-19 нет другой возможности устранения гипоксии и сохранения их жизни, как применять внелегочную оксигенацию, в частности экстракорпоральную мембранную оксигенацию (ЭКМО).

Поскольку мокрота представляет собой гель, заявленное техническое решение за счет создания геля с физико-химическими, ферментными и реологическими свойствами, характерными для естественной вязкой мокроты, позволяет использовать этот гель для заполнения им дыхательных путей легких экспериментальных животных и для моделирования респираторной обструкции легких, характерной для тяжелой степени атипичной пневмонии при COVID-19. Создание с помощью искусственной мокроты биологической модели респираторной обструкции легких направлено на решение проблемы поиска новых кислородных пенообразующих и отхаркивающих средств, предназначенных для сохранения жизни пациентов при глубокой гипоксии, возникающей вслед за заполнением дыхательных путей пациента густой и вязкой мокротой, развитием респираторной обструкции, осложняющих тяжелую степень атипичной пневмонии при COVID-19, снижающих эффективность ИВЛ и являющихся причиной смерти заболевших.

На день подачи заявки из уровня техники не выявлены аналоги и прототип искусственной мокроты, пригодной для создания биологической модели респираторной обструкции легких с целью последующего экспресс-скрининга отхаркивающих и кислород-образующих пенообразователей.

Известна искусственная мокрота, представляющая собой искусственную среду для имитации мокроты пациентов с муковисцидозом, которую готовят из фиксированного набора ингредиентов, и заселяют *P. Aeruginosa*, которая образует микро- и макроколонии

и проявляет различные фенотипы, специфичные для изолятов муковисцидоза [1].

Недостатком известного средства является низкая скорость, эффективность, безопасность, точность и узкая сфера применения, так как средство не предназначено для заполнения дыхательных путей экспериментальных животных с целью моделирования респираторной обструкции, возникающей при тяжелой степени атипичной пневмонии, вызванной COVID-19, не обеспечивает физико-химические и биохимические свойства, необходимые для оценки биологической активности и скрининга отхаркивающих средств и кислородных пенообразователей, и не исключает заражение исследователей возбудителем *Pseudomonas aeruginosa*. Дело в том, что этот возбудитель часто вызывает внутрибольничные инфекции, особенно у пациентов на искусственной вентиляции легких.

В частности, средство имеет температуру 0 - +37°C, высокую вязкость, затрудняющую заполнение дыхательных путей в легких, не содержит фермент каталазу, который в норме присутствует в гное и мокроте с прожилками крови, и не обеспечивает осмоотическую активность в диапазоне 280 - 300 мосмоль/л воды. Дело в том, что реологические свойства коллоидных жидкостей во многом зависят от локальной температуры [2]. С другой стороны, даже изотонический растворы 0.9% натрия хлорида для инъекции, считающиеся в настоящее время качественными, имеют разную осмоотическую активность у разных производителей и в разных номерах серий у одного производителя, поскольку осмоотическая активность не включена в перечень контролируемых показателей качества и поэтому не контролируется [3].

Помимо этого, известное средство не содержит каталазу в количествах, аналогичных количествам, содержащимся в гное и кровавой мокроте. Поэтому известное средство не обеспечивает при локальном взаимодействии с растворами пероксида водорода интенсивное расщепление пероксида водорода на воду и газ кислород. В связи с этим известное средство не пригодно для введения в дыхательные пути изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции и скрининга лекарственных средств, претендующих на кислородные пенообразующие и отхаркивающие средства.

Помимо этого, известное средство не пригодно для моделирования респираторной обструкции, поскольку оно допускает охлаждение до 0°C, поэтому переохлаждает легкие, вызывает холодовой спазм его бронхов и бронхиол и приобретает очень высокую вязкость. Все это исключает эффективное заполнение бронхов и бронхиол и моделирование респираторной обструкции. Помимо этого, холодное средство угнетает активность местного действия лекарственных средств по закону Аррениуса [4-6].

Известна коллоидная жидкость, предназначенная для заполнения дыхательных путей изолированного козьего или бараньего легкого вплоть до полной обструкции и утопления легкого в воде, представляющая собой чуть тепкое молоко, смешанное с мукой, сметаной или топленым маслом в соотношении: 3 л молока, 250-300 г сметаны или топленого масла; 250 г муки. Известная коллоидная жидкость предназначена для изготовления сыра (Сутли упка (Легкое с молоком). <https://eda.wikireading.ru/54030>. Найдено в Интернете 20.01.2021).

Недостатком известного средства является низкая скорость, эффективность, безопасность, точность и узкая сфера применения, так как средство не обеспечивает необходимую щелочность, допускает кислотность и не обеспечивает необходимое содержание каталазы. Кроме этого, средство не предназначено для сохранения жизнеспособности легкого и физико-химических свойств самого средства в дыхательных путях изолированного легкого. Помимо этого, известное средство не имеет точной

рецептуры. В частности, средство не обеспечивает наличие молока определенного вида животного и вполне определенные физико-химические свойства молока. Средство допускает наличие сметаны и топленого молока любой свежести и качества, и допускает использование муки, полученной из зерен любого растения любого состава и качества.

5 К тому же, средство допускает скисание и уплотнение своей массы внутри дыхательных путей, что отличает его от естественной мокроты, слизи, гнойных масс и крови. Отсутствие точной рецептуры исключает стандартизацию качества известного средства. Поэтому использование известного средства не обеспечивает повторяемость получаемых результатов.

10 Недостатком известного средства является то, что оно не имеет определенную температуру, щелочность и не содержит фермент каталазу. В связи с этим средство не исключает температуру выше +45°C, что может вызвать температурный ожог легкого, не исключает высокую кислотность, что может оказывать уплотняющее действие на белки и способствовать превращению средства в сырную массу, а также не обеспечивает
15 образование газа кислорода при локальном взаимодействии с растворами пероксида водорода. Поэтому известное средство не пригодно для заполнения дыхательных путей с целью создания биологической модели, предназначенной для оценки биологической активности лекарственных средств.

Известен гель противоспайковый, стерильный Медикетн 2 мл или 5 мл,
20 представляющий собой комбинацию коллоидного плазмозамениителя гидроксиэтилкрахмала (ГЭК) с антикоагулянтными свойствами и натриевой соли гиалуроновой кислоты (<https://www.apteka24.ua/mediketn-protivospaechnyy-2ml/>). Найдено в Интернет 20.01.2021).

Недостатком известного средства является низкая скорость, эффективность,
25 безопасность, точность и узкая сфера применения, так как средство не предназначено для введения в дыхательные пути легких с целью моделирования респираторной обструкции, возникающей при тяжелой степени атипичной пневмонии, вызванной COVID-19, и последующего использования модели легкого при респираторной обструкции для скрининга лекарственных средств. Дело в том, что известное средство
30 не имеет определенную текучесть, температуру, щелочность, а также не содержит фермент каталазу, которые необходимы для адекватного моделирования легких пациентов, страдающих тяжелой степенью атипичной пневмонии, вызванной COVID-19, с целью скрининга лекарственных средств с отхаркивающей и пенообразующей активностью. В частности, средство не исключает температуру выше +45°C и ниже 0°C,
35 что может вызвать в первом случае ожог, а во втором случае обморожение тканей легкого. Такое чрезмерно выраженное охлаждение и нагревание ведет к денатурирующему действию на белковые ингредиенты геля и на ткани легкого. Поэтому известное средство не пригодно для моделирования респираторной обструкции с целью последующего скрининга лекарственных средств с отхаркивающей и пенообразующей
40 активностью и экстраполирования полученных данных на пациентов, страдающих респираторной обструкцией при атипичной пневмонии, вызванной COVID-19.

Задача изобретения - повышение скорости, эффективности, безопасности, точности и расширение сферы применения за счет инфекционной безопасности, коллоидной, температурной, осмотической, щелочной и каталазной активности в диапазонах
45 физиологических значений.

Технический результат - срочное заполнение дыхательных путей вплоть до устранения воздушности и утопления изолированного легкого в воде, возможности использования легкого в качестве биологической модели для скрининга отхаркивающих и кислородных

пенообразующих лекарственных средств при их ингаляционном введении без ожогового и обмораживающего повреждения тканей легкого, без развития холодового спазма бронхов и без инфекционного заражения исполнителей.

Поставленная цель достигается за счет водного коллоидного раствора крахмала, желатина и гемолизированной крови, не содержащего возбудителей патогенных инфекций, который при вливании в дыхательные пути изолированного легкого при температуре +37°C быстро заполняет их без бронхоспазма, лишает легкое воздушности и после этого способен растворяться при местном применении растворов с защелачивающим действием и вспениваться, превращаясь в кислородную пену, при местном применении растворов пероксида водорода.

Сущность предложенной искусственной мокроты, предназначенной для заполнения дыхательных путей изолированного легкого и лишения его воздушности с целью срочного использования в качестве биологической модели для скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств, являющейся водным раствором ферментного средства животного происхождения, коллоидных средств растительного и животного происхождения и соли натрия, заключается в том, что в качестве коллоидных средств используется крахмал картофельный и желатин, в качестве ферментного средства используется кровь животного, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:1, в качестве соли натрия используется натрия хлорид, при этом компоненты содержатся при следующем соотношении (мас. %):

Крахмал картофельный - 4,4 - 22,0;

Желатин - 2,2 - 11,0;

Натрия хлорид - 0,9;

Кровь животного, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:1 - 5,0;

Вода дистиллированная - остальное, при pH 7,0 - 7,4, осмотической активности 280 - 300 мосмоль/л воды и локальной температуре +37°C.

Использование в заявленном средстве 4,4 - 22,0% крахмала картофельного обеспечивает оптимальную текучесть, клейкость и прозрачность при +37°C. При этом наличие крахмала картофельного в концентрации менее 4,4% лишает средство реологических свойств, присущих густой, вязкой и липкой мокроты, слизи и гноя, что не обеспечивает качественное моделирование респираторной обструкции. С другой стороны, наличие в заявленном средстве крахмала картофельного в концентрации, превышающей 22,0%, придает средству чрезмерно высокую вязкость, которая делает невозможным заполнение дыхательных путей изолированного легкого и моделирование респираторной обструкции.

Использование в заявленном средстве 2,2 - 11,0% желатина обеспечивает оптимальное моделирование состава естественной мокроты и слизи за счет наличия соединительнотканых белков, в частности, коллагена, гликопротеинов и глюкуроновой кислоты. Кроме этого, желатин повышает плотность и вязкость крахмального коллоидного раствора при температуре +37°C и поэтому придает заявленному средству реологические свойства, присущие естественной густой мокроте, слизи и гноя, скапливающимся в дыхательных путях при атипичной пневмонии, вызванной COVID-19. При этом содержание желатина в концентрации менее 2,2% не потенцирует реологические свойства крахмального клейстера, а содержание желатина в концентрации, превышающей 11,0%, придает крахмальному коллоидному раствору чрезмерно высокую плотность и вязкость, которые затрудняют введение средства в дыхательные пути изолированного легкого и не обеспечивают создание качественной биологической модели респираторной обструкции.

Использование в заявленном средстве 5% гемолизированной крови животного, полученной путем разведения крови дистиллированной водой в соотношении 1:1, обеспечивает высокую инфекционную безопасность и оптимальное содержание фермента каталазы в искусственной мокроте. Дело в том, что кровь здоровых животных (коз, овец, кроликов, кур и других сельскохозяйственных животных) незаразна, поэтому безопасна для пользователей искусственной мокроты. С другой стороны, разведение крови дистиллированной водой в 2 раза уменьшает осмотическую активность плазмы также в 2 раза, что обеспечивает гемолиз эритроцитов. Поэтому такая кровь становится гемолизированной (лаковой). Поскольку эритроциты содержат не только гемоглобин, но и каталазу, гемолизированная кровь является по своей сути не только лаковой, но и каталазной. Дело в том, что в гемолизированной крови эритроциты набухают и лопаются, после чего гемоглобин и каталаза выходят из эритроцитов наружу. В итоге такая разведенная кровь превращается в красный раствор ферментного средства - каталазы. Поэтому искусственная мокрота приобретает красный цвет, что делает ее видимой на глаз. Красный цвет искусственной мокроты обеспечивает визуальный контроль качества ее введения в дыхательные пути изолированного легкого. И наконец, использование в заявленном средстве 5% разведенной крови животного, полученной путем разведения крови дистиллированной водой в соотношении 1:1, повышает точность и качество искусственной мокроты. Это стабилизирует содержание каталазы и обеспечивает повторяемость результатов, получаемых при ее использовании.

Наличие в заявленном средстве 5% крови, разведенной в 2 раза водой, обеспечивает средству щелочность в диапазоне pH 7,0 - 7,4, поскольку кровь имеет pH 7,4. Такой диапазон значений pH в заявленном средстве является оптимальным, так как обоснован тем, что естественная мокрота имеет щелочность в диапазоне значений pH 7,0 - 7,4. Кроме этого, наличие в заявленном средстве 5% крови, разведенной в 2 раза водой дистиллированной, уменьшает величину осмотического давления заявленного средства, так как гемолизированная кровь имеет осмотическое давление в пределах 140 - 150 мосмоль/л воды. Но гипоосмотическая активность 5% гемолизированной крови инактивируется осмотической и онкотической активностью крахмала и желатина. Поэтому заявленное средство имеет суммарную осмотическую активность в пределах 280-300 мосмоль/л воды. Причем, независимо от расчетных значений, истинная величина осмотической активности средства контролируется (например, с помощью осмометра).

Использование в заявленном средстве 0,9% натрия хлорида обеспечивает осмотическую активность в диапазоне 280 - 300 мосмоль/л воды, что аналогично осмотической активности натуральной мокроты.

Использование заявленного средства при температуре +37°C имитирует локальную температуру естественной мокроты и обеспечивает стабильность реологических, физико-химических свойств и биологической активности искусственной мокроты. В частности, за счет нормальной температуры средство не вызывает холодовой спазм бронхов и не фальсифицирует результаты скрининга, полученные при использовании модели респираторной обструкции, достигнутой с использованием заявленного средства.

Заявленное средство за счет своих коллоидных свойств обладает обволакивающим и скользящим действием, лишено фрикционного и местного раздражающего действия.

Кроме этого, нагревание средства до температуры +37°C исключает, с одной стороны, холодовое нарушение метаболизма в тканях легкого, с другой стороны - исключает развитие ожога тканей. Кроме этого, нормальная температура обеспечивает наличие естественных физико-химических факторов при локальном взаимодействии лекарственных средств по закону Аррениуса о термозависимости скорости

(интенсивности) физико-химических процессов.

Заявленное средство готовится следующим образом.

Предварительно заготавливается кровь животного и его изолированное легкое. Выбранная порция крови тут же разводится дистиллированной водой в соотношении 1:1 при температуре +37°C, перемешивается и после превращения в лаковую кровь используется для приготовления заявленного средства.

Расчетные массы картофельного крахмала, желатина и натрия хлорида помещаются в мерный бесцветный прозрачный стеклянный стакан с расчетным объемом дистиллированной водой при температуре +60°C и перемешиваются стеклянной палочкой вплоть до их полного растворения и образования коллоидного раствора. После этого в бесцветный коллоидный раствор вливается расчетное количество лаковой крови и раствор вновь перемешивается до того момента, когда коллоидный раствор станет равномерно окрашенным в красный цвет.

Пример. Проведены опыты с использованием изолированных легких 5 беспородных кроликов обоего пола массой 1,5 - 2,0 кг. Для этого у которых первоначально отсекалась голова сразу после забоя на мясо, затем туша обескровливалась путем сливания самотеком крови из сонных артерий, а затем посредством срединного разреза грудной клетки открывалась грудная полость, из которой извлекался органный комплекс сердца и легкого. Сразу после этого сердце с магистральными сосудами отсекалось сначала от туши, потом от легкого, после чего трахея в области проксимального конца отсекалась поперечным разрезом сразу ниже гортани, а освободившееся изолированное легкое с трахеей помещалось в аэрируемый изотонический 0,9% раствор натрия хлорида при температуре 0°C для консервирования с целью безопасного хранения и транспортирования. Изолированное легкое доставлялось в лабораторию в срок до 2-х часов после забоя животного, после чего использовалось в условиях *in vitro*. Для этого легкое извлекалось из холодного раствора 0,9% натрия хлорида и помещалось в открытый лоток с раствором 0,9% натрия хлорида при температуре +37°C.

Предварительно определяли плавучесть легкого в растворе и объем легкого по величине объема вытесненного раствора. После этого изолированное легкое помещалось на дно сухого открытого лотка, а дыхательные пути заполнялись через трахею с помощью вставленного в трахею шприца, предварительно заполненного одной из исследуемых жидкостей. При этом в каждое изолированное легкое кролика вводилось по 30 мл исследуемой коллоидной жидкости при температуре +37°C. После этого легкое вновь опускалось в раствор 0,9% натрия хлорида при температуре +37°C и исследовалась плавучесть легкого и определялся его объем по величине вытесненного раствора.

При этом были получены следующие результаты.

Опыт №1. Для изучения возможности заполнения дыхательных путей изолированного легкого кролика коллоидной жидкостью, имитирующей естественную мокроту, была использована искусственная мокрота, представляющая собой искусственную среду, которую первоначально приготовили из фиксированного набора ингредиентов в стерильных условиях. Полученная питательная среда была залита в теплом виде и в стерильных условиях в стерильную чашку Петри, в которой эта среда остыла и загустела. Затем полученная питательная среда была засеяна традиционным способом *P. Aeruginosa*, после чего чашка Петри была закрыта крышкой и перенесена в термостат для инкубирования в условиях нормальной температуры в течение суток. Через сутки на поверхности среды в чашке Петри появились макро- и макро-колонии возбудителя инфекции, но среда сохранила высокую вязкость, которая при комнатной температуре исключала введение этой среды вместе с колониями возбудителя в дыхательные пути

изолированного легкого.

В связи с большой длительностью подготовки, высокой инфекционной опасностью и высокой вязкостью питательной среды, исключающей ее введение в дыхательные пути, было сделано заключение о непригодности известной искусственной мокроты для заполнения дыхательных путей изолированного легкого и понижения его воздушности. Поэтому опыт на изолированном легком был отменен и легкое было использовано в другом опыте.

Опыт №2. Для изучения особенности заполнения дыхательных путей изолированного легкого кролика коллоидной жидкостью, имитирующей естественную мокроту, была использована коллоидная жидкость, состоящая из коровьего молока с жирностью 2,5% с истекающим сроком годности, пшеничной муки высшего сорта и самодельного топленого масла, полученного в домашних условиях из кислых сливок, в следующих соотношениях: 3 л молока, 250 г муки и 250 г масла при температуре +37°C. Через 3 минуты после тщательного перемешивания ингредиентов была получена однородная непрозрачная коллоидная жидкость белого цвета. Из полученного объема было взято на исследование 30 мл жидкости с помощью шприца и затем с помощью шприца взятый объем жидкости был введен в дыхательные пути изолированного легкого через его трахею. Легкое увеличилось в объеме в 2,5 раза. При умеренном сдавлении легкого пальцами рук исследователя коллоидная жидкость не выливалась из трахеи наружу. Затем в дыхательные пути через трахею, поднятую над легким и открытую кверху, влили 0,5 мл раствора 4% гидрокарбоната натрия при температуре +37°C. Через 5 минут трахею опустили вниз и сдавили пальцами руки исследователя изолированное легкое. При этом из трахеи вылилось 0,7 мл полупрозрачной пенистой жидкости белого цвета. Объем легкого практически не изменился. Было сделано предположение, что пена появилась из-за химической реакции между гидрокарбонатом натрия и молочной кислотой, которая могла содержаться в молоке и в сливках из-за их микробного разложения (брожения). В связи с этим была исследована величина pH неиспользованной коллоидной жидкости. Результат показал, что коллоидная жидкость имела pH 6,0. После этого была измерена pH свежего коровьего молока. Оказалось, что и свежее коровье молоко кислое: оно имело pH 6,5.

Было сделано заключение о том, что данная коллоидная жидкость не пригодна для качественного имитирования естественной мокроты и заполнения этой мокротой дыхательных путей изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции для последующего скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств.

Опыт №3. Для исследования был приготовлен коллоидный раствор, состоящий из 4,3% крахмала картофельного, 2,1% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при pH 7,0, осмотической активности 280 мосмоль/л воды и температуре +37°C. Исследование реологических свойств показало, что раствор имеет вязкость ниже вязкости естественной густой мокроты, слизи и гноя. Поэтому приготовленный коллоидный раствор легко вытекает из шприца, легко самотеком стекает по стенке трахеи вниз и заполняет бронхи, легко заполняет дыхательные пути легкого при выдавливании раствора из шприца, а затем при сдавливании легкого пальцами рук частично вытекает из трахеи и бронхов изолированного легкого кролика.

В связи с этим было сделано заключение о низком качестве данного коллоидного раствора из-за несоответствия ее вязкости и текучести соответствующим свойствам густой, вязкой и липкой мокроты, слизи, гноя с прожилками крови. Следовательно, коллоидный раствор указанного состава не качественно имитирует реологические

свойства естественных коллоидных жидкостей, скапливающихся в дыхательных путях и снижающих воздушность легких при тяжелой степени атипичной пневмонии, вызванной COVID-19. Поэтому коллоидный раствор указанного состава не отвечает базовым требованиям, предъявляемым к биологическим моделям, предназначенным для скрининга лекарственных средств с отхаркивающим и пенообразующим действием в экспериментальной фармакологии.

Опыт №4. Для исследования был приготовлен коллоидный раствор, состоящий из 4,4% крахмала картофельного, 2,2% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,1, осмотической активности 280 мосмоль/л воды и температуре +37°C. Исследование реологических свойств показало, что приготовленный коллоидный раствор не вытекает из шприца самостоятельно, не затекает самотеком в трахею и требует для заполнения бронхов создания избыточного давления. При этом для введения 40 мл раствора с помощью шприца через трахею в дыхательные пути изолированного легкого кролика понадобилось 2 секунды. Это привело к увеличению объема легкого в 2,5 раза. После этого была сделана попытка искусственной вентиляции легкого воздухом комнатной температуры, но это не привело к увеличению воздушности легкого. Затем при умеренном сдавливании легкого пальцами рук было показано, что жидкость не вытекала из трахеи и бронхов изолированного легкого кролика. После этого была вновь проведена попытка ИВЛ в сочетании с применением аэрозоля, приготовленного с помощью небулайзера из раствора 1,2% натрия гидрокарбоната, 1% перекиси водорода при температуре +37°C. Через 5 минут повысилась воздушность легкого и его плавучесть в воде.

Было сделано заключение о том, что коллоидная жидкость использованного состава пригодна для имитирования естественной мокроты, слизи и гноя при заполнении дыхательных путей изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции для скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств.

Опыт №5. Для исследования был приготовлен коллоидный раствор 9% крахмала картофельного, 4,5% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,2, осмотической активности 280 мосмоль/л воды и температуре +37°C. Исследование текучести и вязкости показало, что приготовленный коллоидный раствор не вытекает из шприца самостоятельно, не затекает самостоятельно в трахею, но может быть быстро введен в дыхательные пути через трахею под избыточным давлением, создаваемым с помощью шприца. При этом 30 мл коллоидного раствора было введено через трахею с помощью шприца в дыхательные пути изолированного легкого кролика за 3 секунды. Это привело к увеличению объема легкого в 2,5 раза. После этого была сделана попытка искусственной вентиляции легкого воздухом комнатной температуры, но это не привело к увеличению воздушности легкого. Затем при умеренном сдавливании легкого пальцами рук было показано, что раствор не вытекал из трахеи изолированного легкого кролика. После этого была вновь проведена попытка ИВЛ в сочетании с применением аэрозоля, приготовленного с помощью небулайзера из раствора 2% натрия гидрокарбоната, 2% перекиси водорода при температуре +37°C. Через 5 минут ИВЛ повысилась воздушность легкого и его плавучесть в воде.

Было сделано заключение о том, что коллоидный раствор использованного состава пригоден для имитирования естественной мокроты, слизи и гноя при заполнении дыхательных путей изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции для скрининга отхаркивающих средств.

Опыт №6. Для исследования был приготовлен коллоидный раствор 22% крахмала

картофельного, 11% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,4, осмотической активности 300 мосмоль/л воды и температуре +37°C.

Исследование текучести и вязкости этого раствора показало, что раствор не вытекает из шприца самостоятельно, не затекает самостоятельно в трахею, но может быть быстро введен в дыхательные пути через трахею под большим избыточным давлением, создаваемым с помощью шприца. При этом 30 мл раствора было введено через трахею с помощью шприца в дыхательные пути изолированного легкого кролика за 5 секунд. Это привело к увеличению объема легкого в 2,5 раза. После этого была сделана попытка искусственной вентиляции легкого воздухом комнатной температуры, но это не привело к увеличению воздушности легкого. Затем при умеренном сдавливании легкого пальцами рук было показано, что раствор не вытекал из трахеи изолированного легкого кролика. После этого была вновь проведена попытка ИВЛ в сочетании с применением аэрозоля, приготовленного с помощью небулайзера из раствора 2% натрия гидрокарбоната, 3% перекиси водорода при температуре +37°C. Через 5 минут ИВЛ повысилась воздушность легкого и его плавучесть в воде, а в трахее появилась пена белого цвета.

Было сделано заключение о том, что коллоидный раствор использованного состава пригоден для имитирования естественной густой мокроты, слизи и гноя при заполнении дыхательных путей изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции для скрининга кислородных пенообразующих средств.

Опыт №7. Для исследования был приготовлен коллоидный раствор 22,1% крахмала картофельного, 11,1% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,4, осмотической активности 300 мосмоль/л воды и температуре +37°C. Была изучена вязкость, текучесть раствора и исследована возможность его введения в дыхательные пути изолированного легкого кролика. Результаты исследований показали, что раствор имеет чрезмерно высокую вязкость и чрезмерно низкую текучесть, что делает невозможным его введение в дыхательные пути изолированного легкого при температуре +37°C.

В связи с этим было сделано заключение о непригодности данного коллоидного раствора в роли искусственной мокроты для заполнения дыхательных путей изолированного легкого и понижения его воздушности с целью создания биологической модели респираторной обструкции и скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств.

Опыт был отменен из-за невозможности заполнения дыхательных путей.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что коллоидный раствор 4,4 - 22,0% крахмала картофельного, 2,2 - 11,0% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,0 - 7,4, осмотической активности 280 - 300 мосмоль/л воды и температуре +37°C является самым эффективным, безопасным и точным заменителем мокроты и обеспечивает быстрое заполнение дыхательных путей изолированного легкого, моделирование респираторной обструкции в эксперименте и осуществление скрининга отхаркивающих и пенообразующих лекарственных средств.

Следовательно, предложенное средство, представляющее собой коллоидный раствор 4,4 - 22,0% крахмала картофельного, 2,2 - 11,0% желатина, 0,9% натрия хлорида, 5% гемолизированной крови животного при рН 7,0 - 7,4, осмотической активности 280 - 300 мосмоль/л воды и температуре +37°C может быть использовано в роли заменителя естественной мокроты для заполнения дыхательных путей изолированного легкого с целью создания биологической модели респираторной обструкции.

Изобретение повышает эффективность и безопасность за счет метаболической безопасности и температурной и щелочной активности в диапазонах физиологических значений.

Источники информации

1. Sriramulu D.D. Artificial Sputum Medium. Journal of Medical Microbiology. 17 December, 2010. Preprint, doi: 10.1038/protex.2010.212.

2. Urakov A., Gurevich K., Alies M., Reshetnikov A., Kasatkin A., Urakova N. The tissue temperature during injection of drug solution into it as an integral indicator of rheology. Journal of Physics: Conference Series, 4th International Conference on Rheology and Modeling of Materials (ic-rmm 4) 7-11 October 2019, Miskolc-Lillafured, Hungary. 2020. Volume 1527: 012003. doi: 10.1088/1742-6596/1527/1/012003.

3. Kasatkin A., Urakov A., Nigmatullina A., Kopytov M. Balanced crystalloid versus 0.9% sodium chloride: what we overlook in our research. Anesthesiology. 2021; 134 (2):353-354. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000003614>.

4. Urakov A., Urakova N. Rheology and physical-chemical characteristics of the solutions of the medicines. Journal of Physics: Conference Series. 2015;602(1): 012043.

5. Ураков А.Л. Рецепт на температуру. Ижевск. 1988. 80 с.

6. Ураков А.Л. Холод в защиту сердца. Успехи современного естествознания. 2013. №11. С. 32-36.

(57) Формула изобретения

Искусственная мокрота, предназначенная для заполнения дыхательных путей изолированного легкого и лишения его воздушности с целью срочного использования в качестве биологической модели для скрининга отхаркивающих и пенообразующих средств, являющаяся водным раствором ферментного средства животного происхождения и соли натрия, отличающаяся тем, что в качестве коллоидных средств используется крахмал картофельный и желатин, в качестве ферментного средства используется кровь сельскохозяйственного животного, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:1, в качестве соли натрия используется натрия хлорид, при этом компоненты содержатся при следующем соотношении (мас.%):

Крахмал картофельный - 4,4-22,0;

Желатин - 2,2-11,0;

Натрия хлорид - 0,9;

Кровь сельскохозяйственного животного, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:1 - 5,0;

Вода дистиллированная - остальное, при pH 7,0-7,4, осмотической активности 280-300 мосмоль/л воды и температуре +37°C.