



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C08L 5/08 (2024.08); C08L 33/26 (2024.08); C08J 3/02 (2024.08)

(21)(22) Заявка: 2023134857, 25.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.12.2023Дата регистрации:
09.10.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2023

(45) Опубликовано: 09.10.2024 Бюл. № 28

Адрес для переписки:

620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, УрФУ,
Центр интеллектуальной собственности,
Шульгин Дмитрий Борисович

(72) Автор(ы):

Гржегоржевский Кирилл Валентинович
(RU),

Рудакова Екатерина Андреевна (RU),

Копчук Дмитрий Сергеевич (RU),

Криночкин Алексей Петрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Уральский федеральный
университет имени первого Президента
России Б.Н. Ельцина" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: Гржегоржевский К.В. и др.
Подходы к созданию гидрогелей на основе
кеплератных полиоксометаллатов для задач
рилизинга биоактивных молекул /
Органические и гибридные наноматериалы :
VIII Всероссийская школа-конференция
молодых ученых, Иваново, 01-04 июля 2021
года / Ивановский государственный
университет. - Ивановский государственный
университет: (см. прод.)(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ПОЛИАКРИЛАМИДА, ХИТОЗАНА И ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТА { Mo₁₃₂ }

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу получения гидрогеля на основе полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}, включающему этапы, при выполнении которых: осуществляют синтез полиакриламида, реализованный рядом следующих этапов, на которых: растворяют акриламид в воде при температурном воздействии; добавляют водный раствор рибофлавина и гексан; облучают смесь ультрафиолетом в течение двух часов; после облучения сливают гексан и получают реакционную массу; реакционную массу растворяют в воде, после чего фильтруют и

разводят раствор фильтрата; осуществляют синтез гидрогеля рядом следующих этапов: готовят первый стоковый раствор, для чего смешивают водный раствор полиакриламида и водный раствор полиоксометаллата кеплератного типа {Mo₁₃₂}; после смешения первого стокового раствора его обрабатывают ультразвуком; готовят второй стоковый раствор, для чего смешивают хитозан, воду и уксусную кислоту, после чего смесь гомогенизируют; добавляют модельное биоактивное вещество; смешивают первый и второй стоковые растворы; полученную смесь стоковых растворов обрабатывают

ультразвуком; затем добавляют водный раствор глутарового диальдегида до достижения мольного соотношения глутаровый диальдегид: хитозан=7,42:1; обрабатывают полученную смесь ультразвуком. Настоящее изобретение обеспечивает разработку эффективного способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида заданной молекулярной массы

(синтезированного в условиях фотополимеризации в присутствии биосовместимого радикального инициатора), хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂} со структурой кеплерата, являющегося эффективной платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул. 3 з.п. ф-лы, 3 ил.

(56) (продолжение):

Ивановский государственный университет, 2021. - С. 119-123. CN111875645 A, 03.11.2020. Renat Mansurov et al. TiO₂-embedded biocompatible hydrogel production assisted with alginate and polyoxometalate polyelectrolytes for photocatalytic application / *Inorganics*, 21 February 2023, Vol.11, N.3, pp.1-19. Halimahtussadiyah Ritonga et al. Preparation of hydrogel chitosan co-polyacrilamide crosslinked glutaraldehyde / ICOST, 2019.

R U 2 8 2 8 3 5 8 C 1

R U 2 8 2 8 3 5 8 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C08L 5/08 (2006.01)
C08L 33/26 (2006.01)
C08J 3/02 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C08L 5/08 (2024.08); C08L 33/26 (2024.08); C08J 3/02 (2024.08)(21)(22) Application: **2023134857, 25.12.2023**(24) Effective date for property rights:
25.12.2023Registration date:
09.10.2024

Priority:

(22) Date of filing: **25.12.2023**(45) Date of publication: **09.10.2024** Bull. № 28

Mail address:

**620002, g. Ekaterinburg, ul. Mira, 19, UrFU, Tsentr
intelektualnoj sobstvennosti, Shulgin Dmitriy
Borisovich**

(72) Inventor(s):

**Grzhegorzhevskii Kirill Valentinovich (RU),
Rudakova Ekaterina Andreevna (RU),
Kopchuk Dmitrii Sergeevich (RU),
Krinochkin Aleksei Petrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal State Autonomous Educational
Institution of Higher Education Ural Federal
University named after the first President of
Russia B.N.Yeltsin (RU)**(54) **METHOD OF PRODUCING HYDROGEL BASED ON POLYACRYLAMIDE, CHITOSAN AND POLYOXOMETALLATE {Mo₁₃₂}**

(57) Abstract:

FIELD: chemical or physical processes.

SUBSTANCE: present invention relates to a method of producing a hydrogel based on polyacrylamide, chitosan and polyoxometallate {Mo₁₃₂}, comprising steps of: polyacrylamide is synthesized by a number of the following steps, at which: dissolving acrylamide in water under thermal action; adding an aqueous solution of riboflavin and hexane; the mixture is irradiated with ultraviolet light for two hours; after irradiation, hexane is drained and a reaction mass is obtained; reaction mass is dissolved in water, then filtered and diluted solution of filtrate; hydrogel is synthesized by a number of following steps: a first stock solution is prepared by mixing an aqueous solution of polyacrylamide and an aqueous solution of polyoxometallate of the keplerate type {Mo₁₃₂}; after mixing the first stock solution, it is treated with ultrasound; preparing a second stock

solution by mixing chitosan, water and acetic acid, after which the mixture is homogenised; model bioactive substance is added; mixing first and second stock solutions; obtained mixture of stock solutions is treated with ultrasound; then an aqueous solution of glutaric dialdehyde is added to achieve a molar ratio of glutaric dialdehyde:chitosan=7.42:1; obtained mixture is treated with ultrasound.

EFFECT: present invention provides development of an effective method of producing hydrogel, consisting of polyacrylamide of a given molecular weight (synthesized under photopolymerisation conditions in the presence of a biocompatible radical initiator), chitosan and polyoxometallate {Mo₁₃₂} with a keplerate structure, which is an effective platform for prolonged release of bioactive molecules.

4 cl, 3 dwg

Изобретение относится к способу получения гидрогелей и может быть использовано в качестве платформы для пролонгированного релизинга биоактивных веществ, что может быть применено в медицинской промышленности.

Известен способ получения гидрогеля на основе 2-
5 метакрилоилоксиэтилфосфорилхолина (MPC, 97%), 2-гидроксиэтилметакрилата (HEMA, 97%), 2,2'-азобис (2-метилпропионитрил) (AIBN, 98%), растворенных в воде наночастиц кремния, функционализированных APTES (ASNP, 30 нм), и N,N'-дициклогексилкарбодиимида (DCC, 99%). [Веб-ресурс: <https://web.archive.org/web/20231124061008/https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.biomac.0c00347>, дата публикации: 10 26.03.2019 г.]

Недостатком известного технического решения является невозможность релизинга из данного гидрогеля при физиологических значениях pH в организме человека, так как указанный гидрогель высвобождает инкапсулированные вещества при существенно более низком значении pH, следовательно, данный гидрогель невозможно использовать для инъекции человеку с целью пролонгированного релизинга лекарственных средств в различных тканях организма.

В качестве прототипа выбран способ получения гидрогеля на основе полиоксометаллата {Mo₁₅₄} тороидальной конфигурации, полиэтиленгликоля, функционализированного дибензальдегидом, и хитозана. [Веб-ресурс: <https://web.archive.org/web/20231124054308/https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adma.202007761>, дата публикации: 11.08.2021 г.]

Недостатками прототипа являются: ограничение природы лекарства (биоактивного соединения), которое должно контролироваться высвобождаться из гидрогеля, только катионными формами препаратов, так как в основе механизма релизинга лежит процесс декомпозиции отрицательно заряженного полиоксометаллата (ПОМ) тороидальной формы {Mo₁₅₄}, который электростатически связан с биоактивным веществом в катионной форме; при этом, деструкция ПОМ в указанном гидрогеле протекает при слабо-кислотном значении pH (6.2-5.5), что не позволяет использовать данный гидрогель для подкожного введения через инъекцию человеку с целью создания условий для пролонгированного релизинга биоактивных веществ, т.к. у большинства тканей и крови человека значение pH=7.4, а при таком pH гель на основе {Mo₁₅₄} имеет крайне низкий уровень релизинга (40 %). Кроме того, относительно небольшое время (300 мин), за которое происходит релизинг биоактивных веществ, также снижает эффективность полученной платформы на основе {Mo₁₅₄} для пролонгированного релизинга биоактивных молекул.

Техническая проблема, на решение которой направлено изобретение, заключается в расширении арсенала способов получения веществ, являющихся платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул различной природы (катионные, анионные, неионогенные).

Технический результат, на достижение которого направлено изобретение, заключается в разработке эффективного способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида заданной молекулярной массы (синтезированного в условиях фотополимеризации в присутствии биосовместимого радикального инициатора), хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂} со структурой кеплерата, являющегося эффективной платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул.

Сущность изобретения заключается в следующем.

Способ получения гидрогеля на основе полиакриламида, хитозана и

полиоксометаллата {Mo₁₃₂} включает этапы, при выполнении которых:

- осуществляют синтез полиакриламида, реализованный рядом следующих этапов, на которых:

- растворяют акриламид в воде при температурном воздействии;

- добавляют водный раствор рибофлавина и гексан;

- облучают смесь ультрафиолетом в течение двух часов;

- после облучения сливают гексан и получают реакционную массу;

- реакционную массу растворяют в воде, после чего фильтруют и разводят раствор фильтрата;

- осуществляют синтез гидрогеля рядом следующих этапов:

- готовят первый стоковый раствор, для чего смешивают водный раствор полиакриламида и водный раствор полиоксометаллата кеплератного типа {Mo₁₃₂};

- после смешения первого стокового раствора его обрабатывают ультразвуком;

- готовят второй стоковый раствор, для чего смешивают хитозан, воду и уксусную кислоту, после чего смесь гомогенизируют;

- добавляют модельное биоактивное вещество;

- смешивают первый и второй стоковые растворы;

- полученную смесь стоковых растворов обрабатывают ультразвуком;

- затем добавляют водный раствор глутарового диальдегида до достижения мольного соотношения глутаровый диальдегид:хитозан = 7.42:1;

- обрабатывают полученную смесь ультразвуком.

Облучение смеси для получения полиакриламида заданной молекулярной массы осуществляется с помощью ультрафиолета в течение двух часов за счет ультрафиолетовых излучателей, что обеспечивает ее полимеризацию. Облучение смеси могут производить ультрафиолетовыми лампами, эритемными лампами, ртутной газоразрядной лампой или иными источниками ультрафиолетового излучения.

Количество и энергетическая освещенность ультрафиолетовых излучателей может быть различным. При этом, для дополнительного повышения эффективности способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}, являющегося эффективной платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул, облучение смеси может быть произведено двумя излучателями. Также, для дополнительного повышения эффективности способа, энергетическая освещенность от каждого излучателя может составлять 3150 Вт/см².

Реакционную массу могут фильтровать при помощи целлюлозы, ацетата целлюлозы, нитроцеллюлозы и восстановленной целлюлозы, керамических или углеродных или стекловолоконных материалов, поливинилиденфторида и поливинилиденхлорида, полипропилена, полисульфона и полиэфирсульфона. При этом, для дополнительного повышения эффективности способа получения гидрогеля в качестве фильтра может быть использован пористый фильтр из спеченного стекла с размером пор от 16 до 40 мкм.

Добавление флуоресцентного модельного биоактивного вещества обеспечивает возможность осуществления мониторинга кинетики релизинга потенциального лекарственного средства из гидрогеля. В качестве биоактивного вещества могут использовать антибиотики (тетрациклин и др.), противораковые препараты (доксорубин и др.), гормональные препараты, анестетики и пр. При этом, для дополнительного повышения эффективности способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}, являющегося эффективной

платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул, в качестве модельного биоактивного вещества могут использовать комплекс европия с лигандом.

Изобретение может быть выполнено из известных материалов с помощью известных средств, что свидетельствует о его соответствии критерию патентоспособности «промышленная применимость».

Изобретение характеризуется ранее неизвестной из уровня техники совокупностью существенных признаков, позволяющих получить гидрогель на основе полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}.

Получаемый гидрогель представляет собой взаимо-полупроницаемые сетки. Одна из сеток состоит из макромолекул хитозана, сшитых ковалентно глутаровым диальдегидом, а вторая представляет собой полиакриламид высокой молекулярной массы, который запутан в хитозановой сетке за счет использования динамического линкера – полиоксометаллата (ПОМ) кеплератного типа {Mo₁₃₂}.

Благодаря тому, что полиоксометаллат (ПОМ) является многозарядным макроанионом, который электростатически связывает цепочки хитозана, а также используемому подходу введения ПОМ в среде полиакриламида (ПААм), это создает преорганизованную структуру полимерного компонента, в которой ПААм ассоциирован с ПОМ за счет слабых межмолекулярных взаимодействий. В результате, после смешения ПААм, ПОМ и хитозана, с последующей сшивкой образованной гибридной системы молекулами глутарового диальдегида, происходит формирование взаимо-полупроницаемых сеток. Набухание такой сетки опосредовано рН-зависимой деструкцией ПОМ в физиологических условиях. В результате, по мере деструкции ПОМ, повышается мобильность цепей макромолекул, что, в свою очередь, улучшает обмен между внешней средой и содержащимися в геле гостевыми молекулами. В качестве таких гостевых молекул могут выступать лекарственные водорастворимые препараты в катионной, анионной или неионогенной формах.

Благодаря этому обеспечивается достижение технического результата, заключающегося в разработке эффективного способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида заданной молекулярной массы (синтезированного в условиях фотополимеризации в присутствии биосовместимого радикального инициатора), хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂} со структурой кеплерата, являющегося эффективной платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул, тем самым расширяя арсенал веществ, являющихся платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул.

Изобретение обладает ранее неизвестной из уровня техники совокупностью существенных признаков, что свидетельствует о его соответствии критерию патентоспособности «новизна».

Из уровня техники не известны способы получения гидрогеля на основе полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}, включающие описанные выше этапы.

Ввиду этого изобретение соответствует критерию патентоспособности «изобретательский уровень».

Изобретение поясняется следующими фигурами.

Фиг. 1 - График, характеризующий зависимость изменения скорости релизинга (биоактивного вещества) БАВ в зависимости от типа используемого гидрогеля (1-8) и температуры.

Фиг. 2 - График, характеризующий зависимость изменения скорости релизинга БАВ

в зависимости от типа используемого гидрогеля (1-8) и температуры.

Фиг. 3 - График, характеризующий максимальную величину релизинга БАВ в зависимости от типа используемого гидрогеля (1-8).

Для иллюстрации возможности реализации и более полного понимания сути изобретения ниже представлен вариант его осуществления, который может быть любым образом изменен или дополнен, при этом настоящее изобретение ни в коем случае не ограничивается представленным вариантом.

Синтез гидрогеля на основе полиакриламида (ПААм), хитозана и полиоксометаллата $\{Mo_{132}\}$ осуществляют следующим образом.

Этап синтеза биосовместимого ПААм заданной молекулярной массы осуществляют в условиях фотополимеризации ультрафиолетом с длиной волны излучения 365 нм из мономера – акриламида (АА) и биосовместимого фотоинициатора – рибофлавина (РБФ).

Для этого в стеклянной пробирке растворяют 0,75 г АА в 1 мл воды при нагреве пробирки до 100 °С на плитке. Затем 1 мл свежеприготовленного насыщенного водного раствора рибофлавина (0.06 г/л) добавляют к раствору АА и гомогенизируют.

Затем сверху приливают 3 мл гексана, закрывают пробирку и облучают источником ультрафиолетового (УФ) излучения, длина волны которого составляет 365 нм, в течение 2 часов. Источник УФ излучения состоит из двух УФ-модулей, энергетическая освещенность от каждого модуля составляет 3150 Вт/см². В процессе облучения установку охлаждают потоком воздуха. После полимеризации сливают слой гексана, а оставшийся полимер промывают водой. Полученный полимер представляет собой плотную массу, которую растворяют в 50 мл кипящей воды в течение 4-5 часов.

Затем раствор очищают с помощью вакуумной фильтрации на стеклянном фильтре, после чего фильтрат доводят до 50 мл в мерной колбе при комнатной температуре. Для полученного раствора ПААм определяют концентрацию полимера (6,35 г/л) и молекулярную массу на основе измерения вязкости серии разбавленных полимерных растворов. Молекулярная масса ПААм составляет 6 МДа.

Этап синтеза гидрогеля состоит из смешения первого стокового раствора (СР-1), второго стокового раствора (СР-2) и глутарового диальдегида (ГДА). Для этого отдельно готовят СР-1, СР-2 и смешивают их с ГДА.

Для приготовления СР-1, к 5 мл водного раствора ПААм добавляют 100 мкл водного раствора, содержащего 2 мг полиоксометаллата (ПОМ) $\{Mo_{132}\}=(NH_4)_{42}$ $[Mo^{VI}_{72}Mo^V_{60}O_{372}(CH_3COO)_{30}(H_2O)_{72}] \cdot (\sim 300H_2O) \cdot (\sim 10CH_3COONH_4)$. Затем полученный раствор обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин.

Для приготовления СР-2 40 мг хитозана растворяют в 2,5 мл воды, подкисленной 57 мкл уксусной кислотой (ледяной). После раствор гомогенизируют с использованием вибрационного шейкера. Затем 2,5 мл воды (содержащей флуоресцентную метку в качестве БАВ) добавляют к раствору хитозана после чего обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин. В качестве модельного БАВ (флуоресцентной метки) выбирают комплекс европия с лигандом (2,2',2'',2'''-((((4-(2-фторфенил)-[2,2'-бипиридин]-6-ил)метил)азандиил)бис(этан-2,1-диил)бис(азан-триил)тетрауксусная кислота). Комплекс находится в анионной форме и позволяет проводить мониторинг процесса релизинга с помощью флуориметрии.

Для формирования гидрогеля СР-1 по капельно добавляют к СР-2 в процессе перемешивания, после чего полученную смесь подвергают обработке ультразвуком в течение 5 мин. Затем добавляют 50% водный раствор ГДА до достижения мольного

соотношения ГДА:хитозан(мономер) =7.42:1. Затем полученный раствор обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и убирают в темное место. За 12 часов нахождения в темном месте процесс формирования гидрогеля полностью завершается.

Для подтверждения эффективности релизинга из полученного гидрогеля, были проведены опыты. Для этого приготовленный гидрогель, содержащий в качестве флуоресцентной метки комплекс европия, помещали в приемный раствор (250 мл, фосфатный буфер, рН=7.4), изотонический коэффициент которого соответствовал биологическим средам организма человека. Кроме фосфатного буфера вышеупомянутый гидрогель также был помещен в 0.97% NaCl (рН=7.0, изотонический коэффициент как у фосфатного буфера) и дистиллированную воду (рН=5.9). Для мониторинга релизинга модельного вещества (флуоресцентной метки) из приемного раствора отбирали аликвоту 350 мкл через различные промежутки времени (30, 60, 90, 120, 180, 240, 1222, 1513, 4333, 5642 мин).

Кроме того, процесс релизинга проводился как при комнатной температуре, так и при 37 °С в случае, когда в качестве приемного раствора использовался фосфатный буфер. По результатам исследования, было обнаружено, что к 1500 мин в случае дистиллированной воды (25 °С) величина накопительного релизинга в геле с ПОМ не превышала 15%, в случае раствора NaCl 0.97% (25 °С) эта величина достигала 17% в контрольном геле без ПОМ и 23% в геле с ПОМ. Для фосфатного буфера величина накопительного релизинга составила к 1500 мин 22% и 31% для геля без ПОМ и с ПОМ, соответственно, при 25 °С. Полученные данные указывают на существенный вклад ПОМ в формирование структуры гидрогеля и проявлению у него рН-зависимого релизинга. После повышения температуры до 37 °С (физиологическое значение) величина накопительного релизинга к 1500 мин достигала 70%, а в случае геля с ПОМ к 5500 мин она увеличилась до 75%, тогда как гель без ПОМ потерял свою целостность к 4500 мин.

Полученные данные позволяют говорить о рН-зависимом высвобождении модельного соединения из гидрогеля. Накопительный релизинг достигает 70% за 24 часа, достигая 75% к концу 4 суток. Наблюдаемая кинетика релизинга значительно быстрее теоретически возможной, при условии проведения эксперимента *in vivo* – при введении под кожный покров, т.к. там нет такого интенсивного обмена с окружающими тканями. Полученный гидрогель позволяет проводить его дозирование и инъектирование через медицинский шприц, т.к. полученный гидрогель проявляет свойства самозалечивания – восстановления исходного гелеобразного состояния.

Таким образом обеспечивается достижение технического результата, заключающегося в разработке эффективного способа получения гидрогеля, состоящего из полиакриламида заданной молекулярной массы (синтезированного в условиях фотополимеризации в присутствии биосовместимого радикального инициатора), хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂} со структурой кеплерата, являющегося эффективной платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул тем самым расширяя арсенал веществ, являющихся платформой для пролонгированного релизинга биоактивных молекул.

(57) Формула изобретения

1. Способ получения гидрогеля на основе полиакриламида, хитозана и полиоксометаллата {Mo₁₃₂}, включающий этапы, при выполнении которых:

- осуществляют синтез полиакриламида, реализованный рядом следующих этапов, на которых:

- растворяют акриламид в воде при температурном воздействии;
 - добавляют водный раствор рибофлавина и гексан;
 - облучают смесь ультрафиолетом в течение двух часов;
 - после облучения сливают гексан и получают реакционную массу;
 - 5 - реакционную массу растворяют в воде, после чего фильтруют и разводят раствор фильтрата;
 - осуществляют синтез гидрогеля рядом следующих этапов:
 - готовят первый стоковый раствор, для чего смешивают водный раствор полиакриламида и водный раствор полиоксометаллата кеплератного типа {Mo₁₃₂};
 - 10 - после смешения первого стокового раствора его обрабатывают ультразвуком;
 - готовят второй стоковый раствор, для чего смешивают хитозан, воду и уксусную кислоту, после чего смесь гомогенизируют;
 - добавляют модельное биоактивное вещество;
 - смешивают первый и второй стоковые растворы;
 - 15 - полученную смесь стоковых растворов обрабатывают ультразвуком;
 - затем добавляют водный раствор глутарового диальдегида до достижения мольного соотношения глутаровый диальдегид:хитозан=7,42:1;
 - обрабатывают полученную смесь ультразвуком.
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что облучение смеси производят двумя
- 20 излучателями.
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что облучение ультрафиолетом осуществляют излучателями, энергетическая освещенность каждого из которых составляет 3150 Вт/см².
- 25 4. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве биоактивного вещества используют комплекс европия с лигандом.

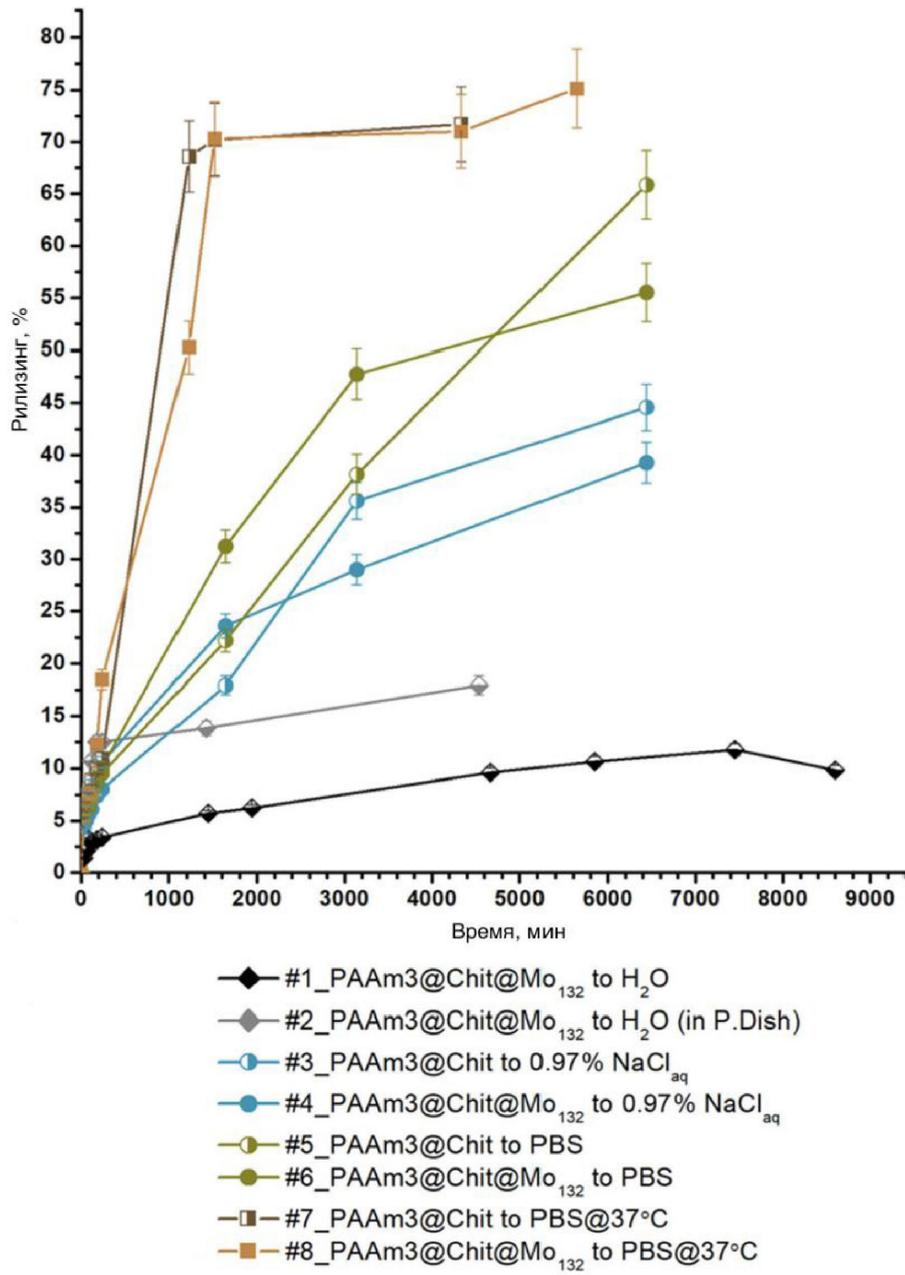
30

35

40

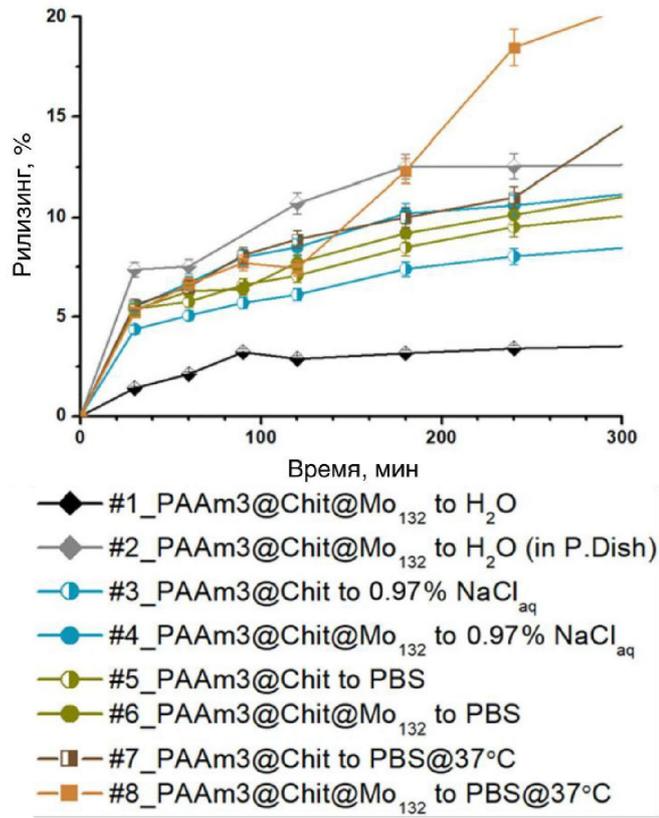
45

1

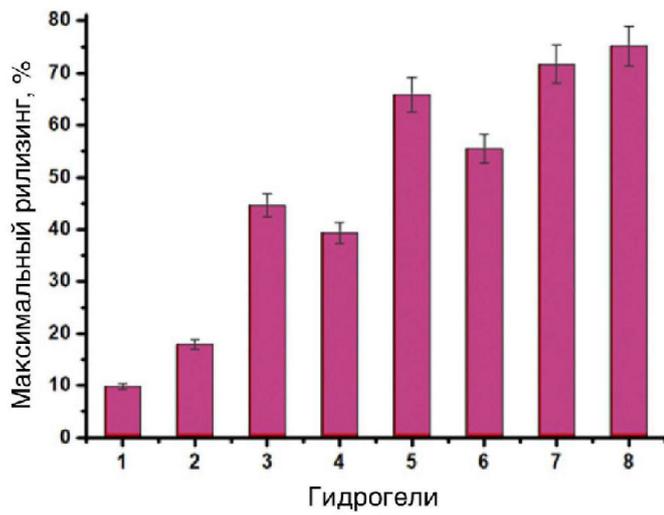


Фиг. 1

2



Фиг.2



Фиг.3