

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201790857** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.12.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/35* (2006.01)
C07D 311/30 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2014.11.18

**(54) СОСТАВ КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ТКАНЕЙ И КЛЕТОК С НОВОЙ МОЛЕКУЛОЙ,
ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ PARAVER RHOEAS**

(31) 2014/12329

(32) 2014.10.21

(33) TR

(86) PCT/TR2014/000410

(87) WO 2016/064353 2016.04.28

(71)(72) Заявитель и изобретатель:
**БУДАК МЕХМЕТ; БУДАК ГЮРЕР
ГЮБЕН (TR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Составляют краситель для клеток и тканей из Paraver rhoeas, включающий новый биофлавоноид, специфически окрашивающий ядро, используемый для микроскопической оценки в гистопатологии, микробиологии и цитологии. По-видимому, он является альтернативой гематоксилину в рутинном применении. Биохимическое название этого соединения: тетрагидро-3,4,5-тригидрокси-6-метил-2Н-пиран-2-илокси)метил) 2Н-пиран-2,3,4,5-тетраол)-4-метоксифенил)-7-метокси-4Н-хромен-4-он. Анализ ЯМР показал, что биохимическая структура молекулы представляет собой биофлавоноид (фиг. 4, 5). Молекула из Paraver rhoeas вместе с синергическими и другими молекулами проникает в биологические и небиологические образцы. При ее комбинировании с другими синергическими меха-

низмами получают состав красителя. Количество и тип протравы и рН являются параметрами, влияющими на качество и время окрашивания. Состав Paraver rhoeas получают, в частности, для исследования тканей для диагностики в лабораториях и больницах, и он предназначен для рутинного применения. Миллионы биологических образцов по всему миру исследуют, такие как полученные в ходе хирургической операции и биологические препараты, являющиеся образцами, окрашиваемыми для диагностики. Краситель для тканей гематоксилин используют рутинно, его получают из деревьев под названием Hematoxylin campechianum (кампешевое дерево), представляющее собой часть мировых тропических лесов. Каждый год 3000 кампешевых деревьев, а также участков, вырубают для получения приблизительно 1200 т порошка и 70000 т жидкого красителя гематоксилина (\$15 млрд/год). Состав из Paraver rhoeas обеспечивает эффективное и специфическое окрашивание, позволяющее выделить ядро. Помимо очевидной экономической выгоды, Paraver rhoeas широко распространен, и его легко можно собирать и получать. Состав Paraver rhoeas также оказывает экологическое влияние на Землю, что позволяет ему быть важным и полезным промышленным продуктом.

A1

201790857

201790857

A1

1 **ИЗМЕНЕННОЕ ОПИСАНИЕ**

2 2420-542114EA/011

3 **СОСТАВ КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ТКАНЕЙ И КЛЕТОК С НОВОЙ МОЛЕКУЛОЙ,**
4 **ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ *PAPAVER RHOEAS***

5 Область техники

6 Состав красителя из *Papaver rhoeas* содержит новый
7 биофлавоноид вместе с производными и синергическими молекулами.
8 Новый ядерный краситель составляют из экстракта *Papaver rhoeas*
9 для способов диагностической микроскопии, обеспечивая
10 специфическое окрашивание ядра "клеток и тканей". Настоящее
11 изобретение относится к красителю, являющемуся альтернативным
12 составом общепринятого красителя "гематоксилина", а также
13 имеющему применимость для диагностических способов в секторе
14 здравоохранения и вносящим вклад в экономику.

15 Обзор

16 Состав *Papaver rhoeas*, в основном, используют в качестве
17 ядерного красителя, и он содержит новую молекулу, являющуюся
18 альтернативой гематоксилину. Источник будет способствовать
19 усилиям по сохранению находящихся под угрозой исчезновения
20 тропических лесов, балансирующих региональные экологические
21 системы, и будет полезен в качестве промышленного продукта
22 (Anatech LTD. "histology chemicals, 'boiling hematoxylin market"
23 "Summer 2008 INNOVATOR).

24 Состав *Papaver rhoeas* является многообещающей альтернативой
25 общепринятому красителю гематоксилину, используемому в рутинной
26 диагностике. Увеличение потребности в гематоксилине является
27 результатом увеличения численности человеческой популяции и
28 диагностических терапевтических медицинских процедур. Т
29 Продажная цена гематоксилина на грамм является очень высокой, и
30 его производство приводит к риску для мировых тропических лесов,
31 а также для экологической системы.

32 В настоящем описании *Papaver rhoeas* является новым
33 источником красителя для клеток и тканей, который исследуют и
34 составляют. Молекула из *Papaver rhoeas* является высокоактивной,
35 функциональной молекула биофлавоноида, и ее комбинируют с
36 эозином. Сама молекула или/и вместе с производными и

1 синергическими молекулами обеспечивает четкое окрашивание ядра в
2 ткани и для других образцов, таких как грибы, из
3 микробиологических образцов, делающее возможным точное
4 окрашивание деталей, и ее можно использовать в гистопатологии,
5 цитологии для диагностических целей. Широкий спектр цветов и
6 подсвечивание и детализация признаков при диагностике
7 обеспечивают получение новых диагностических параметров и
8 результатов.

9 Методология окрашивания в больницах, лабораториях и на
10 производстве, оборудование и материалы являются схожими для
11 общепринятых способов, не требуя значительных дополнительных
12 инвестиций. Молекулу также можно использовать в качестве
13 регулятора иммунной системы, Т-клеточного активатора,
14 противовирусных средств, для защиты и регенерации тканей, а
15 также в качестве индикатора и для синтеза новых витаминных
16 комплексов. Его также можно использовать в качестве красителя в
17 виноделии, инертного для окрашивания пищи, военной формы,
18 детской одежды и игрушек, экологически чистом текстиле, а также
19 для омоложения и разглаживания кожи, в качестве средства против
20 пигментных пятен и морщин и в окрашивании хирургических протезов
21 и шовного материала. Их также, в частности, можно использовать в
22 производстве плазменных телевизоров, экранов монитора,
23 нанотехнологиях, сенсорных технология для синтеза наночастиц для
24 производства картриджей для принтеров. И снова, для
25 диагностических целей будут использовать иммуногистохимию в
26 отдельности или в комбинации с другой цифровой технологией
27 визуализации.

28 ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

29 *Papaver rhoeas* в природе растет в эндемичных областях.
30 Названием вида является *Papaver rhoeas* L, названием семейства
31 является Papaveraceae. Другими названиями являются мак-
32 самосейка, дикий мак, фландрский мак, мак садовый, *Papaver*
33 *Roubini*, *Papaver tenuissima*, *Papaver tumigil*, *Papaver trilobum*,
34 *Papaver strigosum*, которые представляют собой один и тот же вид
35 (1-6). Как правило, есть черное пятно на лепестке различного
36 размера, 2 и 4 большие мохнатые чашелистики и красные листья.

1 Завязь расположена в центре и окружена черной областью.
2 Количество пыльцы варьируется в зависимости от размера плода,
3 растение содержит более 200 семян на плод.

4 *Papaver rhoeas* растет в солнечном климате и лучше всего
5 растет на песчаной почве. Лепесток *Papaver rhoeas* имеет
6 химический цвет и дает реакцию, включающую Papaveric acid. Он
7 имеет успокаивающий эффект, смягчающие кожу свойства и эффект в
8 регуляции менархе, отхаркивающие, снотворные, затормаживающие
9 наркотические и седативные свойства (7-9). Он применим в лечении
10 лихорадки, симптомов бронхита и кашля, бессонницы, нарушений
11 пищеварения и боли. (10-12). Также его можно использовать для
12 лечения неврологических симптомов, таких как гиперактивность и
13 бессонница. Также показано, что он безопасен для детей (13-15).

14 Флавоноиды являются фенольными структурами, в природе
15 присутствующими во фруктах, овощах, зерне, коре, корнях, и их
16 обнаруживают в цветах, чае и вине (16). Идентифицировано более
17 5000 видов флавоноидов, однако специфический эффект встречается
18 очень редко. Биофлавоноиды цветов отвечают за окраску плодов
19 (17-20). Их прием с пищей снижает степень сердечно-сосудистых
20 заболеваний и показатель смертности. (21, 22) Их производные
21 также обнаруживают в овощах и их характеризуют как витамины,
22 такие как, например, витамин Р (рутин). (23) Флавоноиды повышают
23 проницаемость стенок капилляров (24), что было открыто в 1950-х
24 гг. Флавоноиды разделяют на 4 основные группы (25, 26) и (27) их
25 можно разделять на подгруппы. Флавоноиды показаны для каждой
26 группы характеристик в молекулярной структуре.

27 Флаван имеет двойную связь в ароматическом кольце в центре
28 и планарную структуру. Флавоноиды включают 2-фенилбензопиреновое
29 ароматическое гетероциклические кольцо. Биофлавоноиды придают
30 окраску растению, также играют важную роль в росте и развитии
31 растений. Они создают природный барьер против УФ-излучения, при
32 этом биофлавоноиды грибов помогают бороться с ростом
33 оппортунистических грибов. Показано, что они имеют
34 противомикробные и антипаразитарные эффекты. Можно осуществлять
35 генетические изменения молекул флавоноидов микроорганизмов. Но
36 технически эти способы являются дорогостоящими (28).

1 В соответствии с IUPAC 4.5 флавоноиды разделяют на 2
2 группы, изофлавоноиды и неофлавоноиды. Они включают 3-
3 фенилхромен-4-он (3-фенил-1,4-бензопиран), полученный из
4 структуры изофлавонов, и фенилкумаран, (4-фенил-1,2-бензопиран),
5 полученный из структуры биофлавоноида.

6 Биофлавоноидам дают название соединения в зависимости от
7 того, содержат ли они кетон, флавоны и флавонолы. Термин
8 "флавоноиды" также является более широким, чем
9 "неполигидроксикетон", используемый для описания соединений
10 полифенолов. Флавоноиды содержат три кольца, или
11 гетероциклическая структура имеет конфигурацию, соответствующую
12 общей 3-кольцевой модели структуры флороглюцина. Молекулы
13 изофлавоноидов можно получать посредством генетической
14 инженерии. (28)

15 Лепестки и коробочки *Papaver rhoeas* продуцируют некоторые
16 алкалоиды. Эти алкалоиды при нагревании с кислотой преобразуются
17 в активный комплекс под названием порфирин. В результате
18 неизвестной реакции сложные алкалоиды приобретают красную
19 окраску. В Клауман это называют "принципом красного окрашивания"
20 (29-33), и окрашивание проявляется в зависимости от pH реакций
21 (33-35).

22 Биофлавоноиды контролируют кислородное повреждение,
23 предотвращая перекисное окисление липидов (36-38), ускоряя
24 реакции в качестве антиоксиданта против активных форм кислорода
25 (39,40) посредством таких восстановителей, как
26 супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза,
27 аскорбиновой кислоты и α -токоферол, снижающих внутреннее
28 окисление активных форм кислорода (41).

29 Некоторые флавоноиды преобразуют активные формы кислорода в
30 неактивный радикал пероксинитрит (42). Многие флавоноиды могут
31 взаимодействовать с эндотелиальными клетками и макрофагами, в
32 которых они снижают активность оксида азота, синтазы оксида
33 азота (43) и, таким образом, реагируют с крайне вредным
34 пероксинитритом, индуцируя продукцию бескислородных радикалов.

35 Флавоноиды действуют в качестве антиоксидантов, также

1 устраняя остаточные свободные радикалы и, таким образом, снижая
2 повреждение клеток, и также могут реагировать с оксидом азота
3 (44), и флавоноиды ингибируют молекулы оксида азота (45).

4 Флавоноиды предотвращают оксидативное повреждение (46, 47),
5 приводя к ингибированию оксидазной активности ксантина (48) и
6 делая возможным снижение лейкоцитарного воспаления (49).
7 Продукция супероксида некоторыми флавоноидами (50) ингибирует
8 дегрануляцию нейтрофилов без каких-либо последствий.
9 Дегрануляция тучных клеток направлена внутрь мембраны, т.к.
10 рецептор Ca^{2+} имеет эффект в отношении контроля канала (51, 52).

11 Флавоноиды имеют железо-связывающие и железо-
12 стабилизирующие свойства, также ингибируя перекисное окисление
13 липидов. (53-56) Некоторые флавоноиды (57-59) снижают количество
14 воспалительных клеток, т.к. адгезия нейтрофилов обеспечивает
15 оптимальную воспалительную реакцию. Однако, в основном, они
16 могут снижать активацию комплемента. Флавоноиды снижают
17 продукцию пероксидазы. Активация $A1$ -антитрипсина посредством его
18 восстановления ингибирует продукцию активных форм кислорода.
19 Протеолитические ферменты будут демонстрировать прогрессивную
20 инактивацию арахидоновой кислоты в ферментативных системах (60-
21 62) вместе с противовоспалительными и антитромбогенными
22 свойствами (63).

23 Исследования среднего суточного потребления флавоноидов
24 ограничены. Например, потребление витамина С более чем в три
25 раза превосходит потребление флавоноидов (64). Потребление
26 флавоноидов значительно варьируется в разных странах (65, 66).
27 Определение потребления флавоноидов с пищей с помощью когортных
28 исследований является затруднительным. Исследования, посвященные
29 метаболизму, абсорбции и экскреции флавоноидов у людей, также
30 ограничены. (67-72) Гликозилированная форма абсорбируется лучше,
31 чем агликоновая форма. Конъюгация происходит в кишечнике и
32 печени. (73)

33 Метаболизм флавоноидов начинается в клетках кишечника,
34 конъюгация глюкуронида происходит посредством связывания
35 альбумина после транспорта в печень и завершения присоединения

1 сульфатной группы, метильной группы или и того, и другого к
2 конъюгату флавоноида. Чем более активен конъюгированный
3 биофлавоноид, тем ниже показатели смертности и сердечно-
4 сосудистых заболеваний у жителей Средиземноморья.

5 Так называемые токсические эффекты биофлавоноидов плохо
6 изучены. (74-79) Широко обсуждаются их мутагенные свойства. (80-
7 82) Однако, другие длительные исследования на людях
8 демонстрируют низкую вероятность определенных канцерогенных
9 побочных эффектов. Флавоноиды токсичны для злокачественных
10 клеток или иммортализованных клеток, но они менее токсичны для
11 нормальных клеток. (83-85) В исследованиях флавоноидов *in vitro*
12 показана противоаллергическая, антиоксидантная,
13 противомикробная, антибактериальная, противогрибковая, а также
14 некоторая другая биологическая, фармакологическая активность, а
15 также противовирусный эффект.

16 Wang et al (87) продемонстрировали противовирусную
17 активность флавоноидов в исследовании, осуществленном с помощью
18 вируса простого герпеса, ВИЧ, а также респираторно-
19 синцитиального вируса, вируса парагриппа и аденовируса. Эффекты
20 флавоноидов могут отличаться для разных стадий репликационного
21 цикла вируса (88). Агликоновая форма флавоноида (89) имеет
22 ингибиторный эффект в отношении ротавируса. Есть исследования их
23 ингибиторной активности как средств против ВИЧ, действующих на
24 обратную транскриптазу или ДНК-зависимую РНК-полимеразу (90).
25 Значительное влияние ранее определенных флавоноидов на лечение
26 пациентов с ВИЧ не определено. (91) Исследования флавоноидов *in*
27 *vitro* в отношении генетики лейкоза (MLL) считают важными в
28 исследовании мутационных эффектов при репликации ДНК по причине
29 ингибирования ферментов топоизомераз. Влияние на циклооксигеназу
30 и липоксигеназу наблюдают по противовоспалительным эффектам.
31 Мембранная тирозинкиназа (92, 93) является ключом к
32 ингибированию флавоноидами различных иммунных ответов.

33 Эндотелиальный ангиогенез регулируется рядом
34 последовательных реакций. При этом потребление флавоноида имеет
35 обратную корреляцию со скоростью роста рака легких и меланомы.
36 Однако, механизм антиангиогенных эффектов флавоноидов не ясен.

1 Возможным механизмом может являться ингибирование протеинкиназы
2 (94-104).

3 Клинические исследования на мужчинах показали, что
4 регулярное потребление флавоноидов с пищей, по-видимому, снижает
5 риск смерти от ишемической болезни сердца. Кроме того,
6 предполагают, что потребление флавоноидов (105, 106)
7 предотвращает развитие деменции. Сообщают об обратной корреляции
8 между общими концентрациями холестерина в плазме и наличием
9 оксидативного стресса и повреждением сосудов. Потребление
10 флавоноидов снижает риск деменции. Изменяя механизмы сосудистого
11 воспаления, можно в значительной степени регулировать
12 артериальное давление и гипертензию. Кровеносные сосуды
13 Кровеносные сосуды ингибируют связанные с оксидативным стрессом
14 пути передачи сигнала в клетках, повышая функцию эндотелия
15 капилляров, снижая риск атеросклероза. Образование тромба
16 является ингибированием образования тромба посредством
17 ингибирования агрегации тромбоцитов. Флавоноиды имеют (а) прямую
18 антибактериальную активность, (b) синергическую с антибиотиками
19 активность и (с) те же супрессорные эффекты в отношении
20 вирулентности бактерий.

21 Кроме того, неподходящие процедуры и ограниченные
22 исследования оксидативного повреждения клеток являются целью для
23 измерения *in vivo* эффектов чрезмерного уровня условий.
24 Необходима разработка аналитических способов для получения
25 большего количества данных в отношении абсорбции и экскреции. В
26 свете известной на настоящий момент информации рекомендуют
27 потребление флавоноидов (107-112) с фруктами, овощами и
28 напитками (например, чаем и красным вином).

29 В гистопатологии и цитологии в диагностических, учебных и
30 исследовательских целях фиксированные и живые образцы тканей и
31 клеток окрашивают для идентификации конкретных патологических
32 признаков с использованием микроскопического исследования и
33 оценки для определения диагностических признаков в тканях и
34 клетках. Сначала образцы тканей или клеток помещают на
35 предметное стекло для микроскопической оценки. Перед
36 окрашиванием составом из *Paraver rhoeas* эти образцы являются

1 бесцветными, полупрозрачными или прозрачными. Новый состав
2 активно проникает в слои ткани и достигает мембраны клетки, а
3 затем ядра. Окрашивание, обеспечиваемое составом, представляет
4 собой способ окрашивания и соответствующей микроскопической
5 оценки, позволяющей определять и понимать признаки,
6 демонстрирующие взаимосвязь между необходимой информацией о
7 структурах, он должен обеспечивать правильное необходимое
8 окрашивание для различения структур в ткани и клетках.

9 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

10 Фигура 1: Окрашивание ядра клетки новым соединением (срез
11 ткани легкого).

12 Фигура 2: Окрашивание ядра клетки новым соединением и
13 эозином (срез ткани легкого).

14 ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

15 I. Настоящее изобретение относится к красителю для ядер
16 клеток в биологических образцах, и описывают новый краситель для
17 клеток и тканей (состав для текстурированной окраски клеток из
18 *Papaver rhoeas*). Обнаружено, что этот краситель содержит новые
19 активные биофлавоноиды.

20 II. Термины используют для лучшего описания настоящего
21 изобретения для практического осуществления и для удобного его
22 объяснения.

23 III. Если в настоящем описании встречается какая-либо новая
24 терминология, объясняют свойства нового термина и тщательно и
25 подробно описывают его.

26 IV. Термины можно выражать в единственном или множественном
27 числе. Значения не ограничены значениями, представленными в
28 качестве примера.

29 V. Термин "производное" рассматривают в терминах количества
30 молекул, включая 1, 2, возможно 3, и это количество можно
31 снижать до 4 или менее или повышать его в конкретных вариантах
32 осуществления.

33 VI. Термин "синергическая молекула" рассматривают в
34 значении количества молекул, включая 1, 2, 3, и это количество
35 можно повышать до 4 или более и в конкретных целях по
36 изобретению..

1 VII. Как правило, водопроводную воду в качестве
2 растворителя для промывки в способах окрашивания используют
3 очень экономно. Фактически, в рамках изобретения, термин "вода"
4 включает варианты, такие как дистиллированная или
5 деионизированная вода, а также, в частности, водопроводная вода.

6 VIII. "Биологический образец" получают из прокариот, kökel
7 архей или эукариот (например, насекомых, простейших, птиц, раб,
8 пресмыкающихся). Или из млекопитающих (например, крыс, мышей,
9 коров, собак, осла, морской свинки или кролика) или приматов
10 (например, пример, шимпанзе или человека). Биологические ткани
11 или жидкости можно получать *in vivo* или *in vitro*. Такие образцы,
12 физиологические жидкости (такие как кровь, плазма крови,
13 сыворотка или моча) включают клетки, органеллы клеток,
14 выделенные органы, биологические образцы, хотя ткани и фракции
15 могут содержать все или часть из них. Биологические образцы
16 также выделяют из части биологического образца. Белковые
17 биологические образцы могут содержать углеводы и нуклеиновые
18 кислоты.

19 IX. Цитологические или биологические образцы, ткани и
20 биологические жидкости, не ограниченные образцами, подлежат
21 оценке по изобретению. Смывы из полостей тела, смывы с глаз,
22 кожный барьер, щечные слюнные железы, кровь и влагалищные
23 железы, костный мозг, моча, предэякулят, выделения из сосков,
24 сперма, молоко, мокрота, слизь, плевральный выпот, выпот в малом
25 тазу, синовиальная жидкость, асцитная жидкость, мазок из шейки
26 матки, мазок из прямой кишки, аспират, пункционный биоптат,
27 жидкости, полученные при хирургической операции или аутопсии,
28 образцы ткани, плазма, сыворотка, спинномозговая жидкость, лимфа
29 жидкость, пот, слезы, мокрота, слюна, опухоли, жидкости, органы
30 и культуры линий клеток и тканей *in vitro*, подвергаемые забору
31 для цитологического анализа. Биологические образцы клеток и
32 тканей можно использовать в окрашивании после фиксации и
33 заключения в парафин. Этот препарат помещают на предметное
34 стекло для исследования. Образцы можно использовать для
35 окрашивания на грибы, паразитов и микроорганизмов. Технические
36 различия в получении биологического образца для стадии его

1 окрашивания не накладывают какое-либо ограничение на
2 изобретение.

3 X. Раствор красителя хранят при комнатной температуре с
4 использованием жидкости, такой как вода или химические
5 растворители, в растворителе. Вода (приблизительно 50% об. или
6 более) содержит жидкость или полиолы, содержащие один или
7 несколько низших алканолов и воду. Варьируется в зависимости от
8 модификаций. Растворителями, подлежащими использованию, являются
9 этанол, дистиллированная вода, метанол, проточная вода,
10 этиленгликоль, пропиленгликоль, метанол и формальдегид.

11 XI. С помощью термина описывают антиоксидантную способность
12 молекул в отношении высшего оксида, и молекула находится в
13 среде, предотвращающей окисление других молекул.

14 XII. Можно добавлять молекулу низшего алканола; OH-группу,
15 алкильную группу (метильная группа, этильная группа, n-
16 содержащая является алкильной группой из 1-5 атомов углерода),
17 пропильную группу (изопропильную группу, n-бутильную группу,
18 бутильную группу, трет-бутильную группу, n-группу, изопентильную
19 группу, неопентильную группу или пентильную группу) и низший
20 (алканолами являются метанол, этанол и изопропанол).

21 XIII. Термин относится к вторичным окислительным молекулам,
22 обладающим более высоким окислительно-восстановительным
23 потенциалом, чем у другой молекулы. Можно использовать различные
24 химические окислители для различных составов. Соли йода и йодат
25 калия, йодат натрия, оксид цинка, перманганатную соль или
26 перманганат калия, перйодат натрия, перйодат калия и пероксиды,
27 пероксид водорода, перйодат, гипохлорит кальция, kloramit,
28 хлорная известь, йодат натрия, оксид цинка, йод, гипохлорит
29 натрия, гидрохлорид и гидроксид бария.

30 XIV. Протрава может связываться с катионными
31 комплексирующимися молекулами красителя, являющимися металлами.
32 С помощью новых молекул можно определять ДНК внутри клеток,
33 миелин, эластин и волокна коллагена полосок мышц и митохондрии,
34 что также связано с синергическим действием молекулы. Можно
35 упомянуть следующие примеры протрав: сульфат алюминия, сульфат
36 алюминия-калия, сульфат алюминия-аммония, хлорид алюминия,

1 железо, вольфрам, цирконий, висмут, молибден, фосфомолибденовую
2 кислоту или молибденовую кислоту, ванадий (ванадат) алюминия или
3 алюмоаммониевые квасцы, сульфат алюминия, алюмокалиевые квасцы,
4 ацетат алюминия, хлорид кальция, нитрат алюминия, железо,
5 сульфат аммония, сульфат железа (II), ферроцианид калия,
6 феррицианид калия, хлорид железа (III), ацетат меди,
7 железоаммиачные квасцы, алюминий, нитрат висмута, молибденовую
8 кислоту и фосфомолибденовую кислоту. Протрава с различными
9 металлами будет приводить к различному окрашиванию. Например;
10 алюминий, фиолетово-синий, железо; сине-черный, хром; сине-
11 черный, медь; сине-зеленый, никель; фиолетовый, олово; красный,
12 свинец; темно-коричневый; осмий, зелено-коричневый.

13 XV. Смесь состава красителя получают, добавляя кислоту к
14 клеткам из биологического образца, что повышает специфичность
15 окрашивания ядра. С этой целью можно использовать уксусную
16 кислоту, салициловую кислоту, лимонную кислоту, соляную кислоту,
17 серную кислоту, насыщенную этаноловую муравьиную кислоту,
18 аскорбиновую кислоту.

19 XVI. Термин "антиоксиданты" используют в смысле
20 стабилизации, способствующей поддержанию оптимальной
21 длительности окисления и повышающей срок годности.
22 Стабилизатором является глицерин, хлоралгидрат, диэтиленгликоль,
23 йодид калия, этиленгликоль.

24 XVII. "Молекула" является органической молекулой, которая
25 может соединяться в различных точках присоединения с другими
26 молекулами и образовывать сложные структуры. Можно конкретно
27 получать новую композицию и молекулярную структуру с
28 разнообразными комбинированными композициями молекул красителя.
29 Различные молекулярные структуры и синтезированные структуры,
30 присоединенные к этим молекулам, с различными свойствами могут
31 образовывать указанные производные. Некоторыми примерами этих
32 полисахаридов являются. Рассматривают амилозу или циклодекстрин
33 и многие альдозные кольца, моносахариды, глюкозу, фруктозу и
34 галактозу, дисахариды (сахарозу), другие связывающие молекулы,
35 содержащие простые эфиры, такие как мальтоза и лактоза,
36 дендримеры, нанотрубочки, каликсарены, валиномицин и нигерицин.

1 XVIII. На всем протяжении описания и формулы изобретения
2 термин используют в конкретных выражениях. Термин
3 "приблизительно" означает, что конкретное значение не ограничено
4 точным значением, а модифицировано термином. Если не указано
5 иначе, это применимо в настоящем описании к молекулярной массе,
6 условиям реакции и ингредиентам, например, в формуле
7 изобретения, всем числам, выражающим количества признаков,
8 следует понимать, что в каждом случае оно модифицировано
9 термином. Таким образом, если не указано иначе, можно подробно
10 описывать в следующем описании, где, по меньшей мере, количество
11 значимых цифр для каждого числового параметра, заданного
12 желаемыми свойствами и их указанными числовыми параметрами.

13 XIX. Термин "алкил" означает разветвленные, неразветвленные
14 алкильные группы (например, метил, этил, пропил, бутил, пентил,
15 гексил, гептил, октил, нонил, децил и т.д.), относится к
16 насыщенным алифатическим группам, включая. Алкильные группы
17 (изопропил, трет-бутил, изобутил и т.д.). Неразветвленные или
18 разветвленный алкиловый остов с 6 или менее атомами углерода
19 (например, C₁₋₆, в случае C₃₋₆-разветвленной цепи, неразветвленной
20 цепи), остов (например, C₁₋₄-неразветвленная цепь или 4 или менее
21 атомов углерода в случае C₃₋₄-разветвленной цепи). Термин "C₁₋₆"
22 алкил относится к алкильным группам, содержащим 1-6 атомов
23 углерода. В рамках изобретения, термин "C₁₋₄"-алкил означает
24 алкильные группы, содержащие 1-4 атома углерода. Кроме того,
25 термин "алкил", включая "незамещенные алкилы" и "замещенные
26 алкилы" последней половины замещенного углеводородного остова
27 означает алкил, содержащий заместители, которыми замещают
28 водород на одном или нескольких атомах углерода. Такие
29 заместители включают, например, C₁₋₄-алкил, C₁₋₄-алкоксигруппу,
30 аминогруппу (C₁₋₄, включая алкиламиногруппу и C₁₋₄-
31 диалкиламиногруппу), циклоалкил и (фенил, включая нафтил) арилы,
32 гидроксил, цианогруппу, галоген или нитрогруппу. Также показаны
33 арильные, алкильные и циклоалкильные заместители, как описано
34 выше.

35 XX. Термин "алкоксигруппа" относится к атому кислорода,
36 ковалентно связанному с замещенной и незамещенной алкильной,

1 алкенильной и алкинильной группами. Неограничивающие примеры
2 алкоксигрупп включают метоксигруппу, этоксигруппу,
3 изопропоксигруппу, пропоксигруппу, бутоксигруппу,
4 пентоксигруппу. В некоторых вариантах осуществления они включают
5 неразветвленные или разветвленные алкоксигруппы из четырех или
6 менее атомов углерода, разветвленный остов (например, C₁₋₄-
7 неразветвленную, C₃₋₄-разветвленную цепь). В рамках изобретения,
8 "C₁₋₄"-алкил относится к алкильным группам, содержащим 1-4 атома
9 углерода.

10 XXI. В рамках изобретения, термин "амин" или "аминогруппа"
11 означает структуру, в которой по меньшей мере один атом углерода
12 или измененный или атом азота ковалентно связан с гетероатомом.
13 Алкильные группы могут находиться в остове из 4 или менее атомов
14 углерода (например, C₁₋₄-неразветвленная, C₃₋₄-разветвленная
15 цепь), C₁₋₄-алкиламиногруппа, азот является по меньшей мере одним
16 дополнительным C₁₋₄-соединенным с алкильной группой означает, что
17 группы и соединения. C₁₋₄-алкиламиногруппа, азот связан с по
18 меньшей мере двумя дополнительными C₁₋₄ алкильная группа
19 относится к группам и соединениям.

20 XXII. Термин "арил" включает, например, бензол, фенил,
21 пиррол, фуран, тиофен, группы, содержащие тиазол с 0-4
22 гетероатомами, например, относится к 5- и 6-членным
23 однокольцевым ароматическим группам, изотиазолу, имидазолу,
24 триазолу, тетразолу, пиразолу, оксазолу, изоксазолу, пиридину,
25 пиразину, пиридазину, пиримидину и т.п.. Кроме того, термин
26 "арил" относится к полициклическим арильным группам, например,
27 трициклическим, бициклическим, например, нафталину,
28 бензоксазолу, бензобисоксазолу, бензотиазолу, бензимидазолу,
29 бензотиофену, метилendioксифенилу, хиолину, изохиолину, такие
30 группы также включают индол, бензофуран, пурин, бензофуран,
31 включает деазапуриновую структуру или с гетероатомами в
32 индолизине. эти арильные группы, "арильные гетероциклические",
33 "гетероарильные" или "гетероароматические также можно выражать
34 следующим образом. Ароматическое кольцо, как описано выше, такое
35 как обнаруживают в одном или нескольких положений кольца с
36 такими заместителями, C₁₋₄-алкил, C₁₋₄-алкоксигруппа, (C₁₋₄-

1 алкиламиногруппа и C₁₋₄, включая диалкиламиногруппу) аминогруппа,
2 гидроксигруппа, цианогруппа, галоген или нитрогруппа. Арильные
3 группы также могут являться конденсированными, полициклические
4 (например, тетралин) создает достаточно неароматический
5 алициклический или гетероарил включает, например,
6 гетероциклические кольца Lazarus включают оксиран, dithiet to,
7 пирролин, пиррол, фуран, дигидрофуран, дигидротиофен, тиофен,
8 пиразол, имидазол, оксазол, тиазол, изотиазол, 1,2,3-триазол,
9 1,2,4 включает ненасыщенные циклические соединения, триазол,
10 дитиазол, тетразол, пиридин, пиран, пиримидин, пиран, thiapyr
11 клапан, diazin, thiazin, dioksin, triazin и тетрацен.

12 XXIII. Термин "антитело" специфически связывается с
13 конкретным пространственным и полярным, таким образом, что он
14 дополнительно относится к молекуле иммуноглобулина, определяемой
15 как комплементарная организации. Антитело может являться
16 моноклональным или поликлональным, и его получают посредством
17 сбора секретируемого белка из гибридных клеток (моноклональное)
18 или сбора сыворотки хозяина (поликлональное). Антитело является
19 полным иммуноглобулином или может содержать его фрагмент,
20 например, IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b и IgG3, IgM, классы
21 и изотипы, функциональные фрагменты антител, включая, может
22 содержать часть, способную сохранять связывание с аффинностью,
23 схожей с полноразмерным антителом (например, Fab, Fv и F(ab').
24 Sub.2 или Fab').

25 XXIV. Термин "связывающее средство" относится к молекуле,
26 способной связываться с одной или несколькими мишенями в
27 биологическом образце. Связывающие средства можно соединять
28 уникальным способом. Подходящие связывающие средства включают
29 природные или модифицированные пептиды, белки (например,
30 антитела, аффитела или аптамеры), нуклеиновые кислоты (например,
31 полинуклеотиды, ДНК, РНК или аптамеры); полисахариды (например,
32 лектины, сахара), липиды, ферменты, субстраты ферментов или
33 ингибиторы, лиганды, рецепторы, антигены или гаптены. Подходящее
34 связывающее средство для образца, подлежащего анализу, которое
35 можно выбирать и определять в зависимости от текущей цели.

36 XXV. Подходящее связывающее средство для образца,

1 подлежащего анализу, можно выбирать и определять в зависимости
2 от текущей мишени. Например, мишень может включать лиганд в
3 образце, и связывающее средство может включать рецептор, или
4 мишень может включать рецептор, и связывающее средство может
5 включать лиганд. Аналогично, мишень может включать антиген и
6 антитело или его связывающий фрагмент, или наоборот, или может
7 содержать антитела. В некоторых вариантах осуществления мишень
8 может включать нуклеиновую кислоту, и связывающее средство может
9 включать комплементарную нуклеиновую кислоту. В некоторых
10 вариантах осуществления и мишень, и связывающее средство могут
11 включать белки, способные связываться друг с другом.

12 XXVI. Любое изменение новой функциональности не будет
13 ограничивать настоящее изобретение, и его считают возможными по
14 настоящему изобретению в случае состава тканевого красителя.

15 ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

16 I - Экстракция *Papaver rhoeas*

17 В настоящем описании представлен новый краситель для ядер
18 клеток, полученный из *Papaver rhoeas*. Этот новый гистологический
19 краситель содержит очень активный и функциональный биофлавоноид.
20 Состав *Papaver rhoeas* позволяет демонстрировать характеристики
21 образцов клеток и тканей как новый ядерный краситель,
22 демонстрирующий биологические характеристики различных профилей,
23 применимых в гистопатологии, цитологии и микробиологии. (фигура
24 1)

25 Свойства ядра клетки патолога оценивают в целях диагностики
26 и, в частности, для определения злокачественных или
27 метастазирующих клеток. В случае диагностики, позволяющей
28 определять патологические признаки помимо нормальный признаков,
29 в частности, в послеоперационных образцах и биоптатах,
30 тонкоигольном биоптате, мазках, смывах, а также образцах,
31 полученных инвазивными или неинвазивными способами и для
32 исследования препаратов, полученных посредством аутопсии.

33 *Papaver rhoeas* растет в природе самопроизвольно, и его
34 легко получать для получения красителя для получения состава для
35 окрашивания ядер тканей и клеток. Состав красителя состоит из
36 молекулы для выделения ядра клетки. Молекулы анализируют и

1 обрабатывают в других представленных и проиллюстрированных
2 лабораторных исследованиях.

3 Протраву (металл) и кислоту включают для обеспечения
4 достаточного и стабильного окрашивания. Состав Состав из *Paraver*
5 *rhoeas* демонстрировал устойчивые свойства окрашивания с четкой
6 морфологией клеток и в сжатой форме. В частности, при
7 комбинировании с эозиновым красителем состав из *Paraver rhoeas*
8 окрашивает ткани и клетки, слои тканей, мембраны, мышечную
9 ткань, внутриядерные или внутрицитоплазматические структуры и
10 позволяет окрашивать мелкие детали. (фигура 2)

11 При увеличенном сроке хранения раствор красителя окисляется
12 естественным путем или химически. (113, 114) Оптимальная
13 эффективность и степень использования окислителя будут
14 предотвращать образование продукта избыточного окисления (115,
15 116).

16 Колебания концентрации красителя мешают стабильности
17 окрашивания (117). Это время необходимо изменять, при этом
18 необходимо корректировать нанесение красителя. Интенсивность
19 окрашивания оценивают визуально. Специалист в этой области
20 оценивает окрашивание и корректирует интенсивность окрашивания
21 до достижения желаемого качества окрашивания.

22 Флавоноиды, в основном, содержат два ароматических кольца.
23 Каждое из этих колец образует по меньшей мере одну гидроксильную
24 группу и 6-гетероциклическое кольцо с мостиком из трех атомов
25 углерода. Подгруппы флавоноидов сформированы по
26 гетероциклическому кольцу, соединенному с ароматическим кольцом
27 в зависимости от характеристик степени окисления или
28 функциональных групп и гетероциклической структуры и связанной
29 фракции.

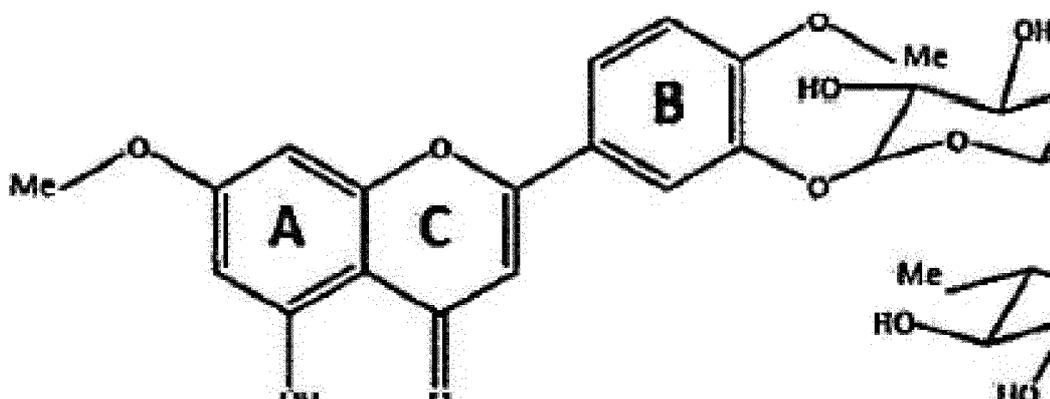
30 В этой молекуле используют связывающие средства для
31 соединения с различными группами и атомами, являющимися
32 природными или модифицированными пептидами, белками (например,
33 антителами или аптамерами), нуклеиновыми кислотами (например,
34 полинуклеотидами, ДНК, РНК или аптамерами), полисахаридами
35 (например, лектинами, сахарами), липидами, ферментами,
36 субстратами или ингибиторами ферментов, лигандами, рецепторами,

1 антигенами или гаптенами. Аналогично, присоединенная целевая
 2 группа может являться антигеном и антителом или фрагментом
 3 антитела. *Paraver rhoeas* в этом составе направленно воздействует
 4 на нуклеиновую кислоту.

5 II - Очистка экстракта

6 *Paraver rhoeas* исследуют с помощью микроскопии,
 7 молекулярной и атомно-силовой микроскопии. (фигура 1) Для
 8 молекулярного анализа профильтрованный раствор экстракта сушат
 9 посредством инкубации при половине скорости в горячем этаноле.
 10 Сухой образец измельчают в порошок, а затем три раза подвергают
 11 воздействию метаноловой бани в течение одного часа. И снова,
 12 жидкую фракцию выпаривают в течение ночи в инкубаторе при 30-60°C
 13 и сушат. 1 г полученного порошка растворяют в 100 см³ этанола и
 14 адсорбируют на планшете из волокна. Конкретно наблюдают, что
 15 розовый планшет с 1% раствора аммония синеет. Этот синий
 16 краситель растворяют в уксусной кислоте. Жидкую фракцию удаляют.
 17 И оставшийся сухой порошок подготавливают для анализа.

18 При молекулярном анализе выявляли характеристики
 19 флавоноида-гликозида (флавоноида-дисахарида), и (фигура 18) его
 20 структурным химическим названием является 5-гидрокси-7-метокси-
 21 2-(4-метокси-3-(((2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-тригидрокси-6-
 22 (((2R, 3R, 4R, 5R, 6S)-3, 4, 5-тригидрокси-6-метилтетрагидро-2H-
 23 пиран-2-ил)окси)метил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)фенил)-4H-
 24 хром-4-он. (CAS №: 1834534-73-4)



25
 26 5-гидрокси-7-метокси-2-(4-метокси-3-(((2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-
 27 3, 4, 5-тригидрокси-6-(((2R, 3R, 4R, 5R, 6S)-3, 4, 5-тригидрокси-6-

1 метилтетрагидро-2Н-пиран-2-ил) окси) метил) тетрагидро-2Н-пиран-2-
 2 ил) окси) фенил) -4Н-хrome-4-он

3 Химическая формула: $C_{29}H_{34}O_{15}$

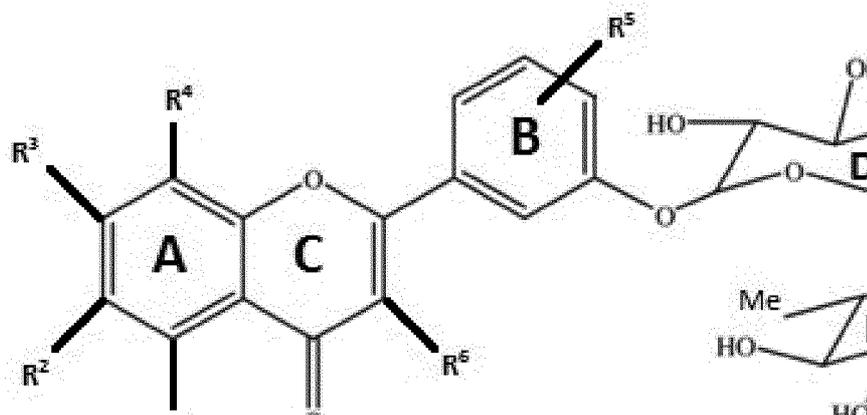
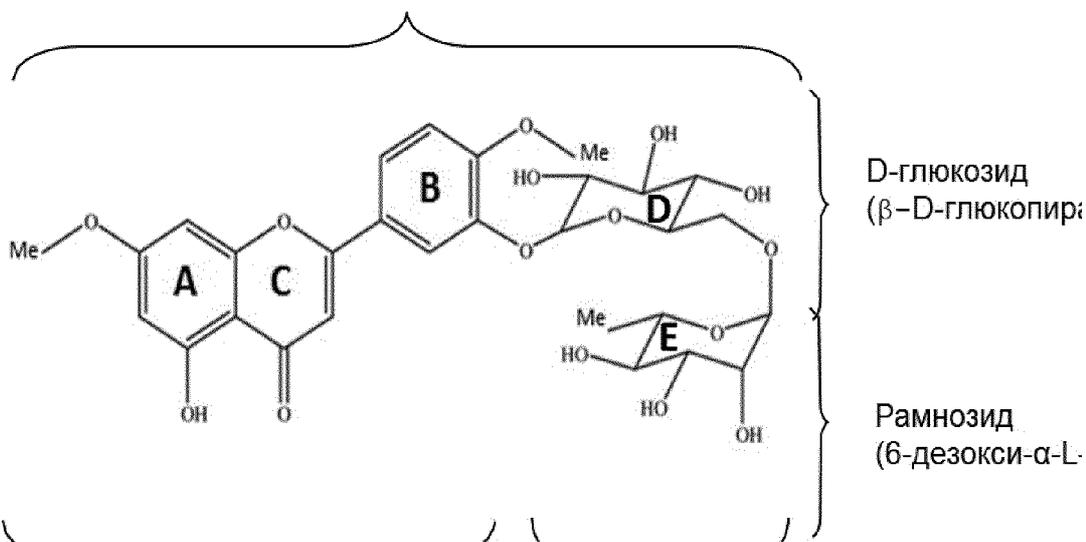
4 Точная масса: 622,18977

5 Молекулярная масса: 622,57126

6 m/z: 622,18977 (100,0%), 623,19313 (31,4%), 624,19648
 7 (4,7%). 624,19402 (3,1%)

8 Анализ элементов: С, 55,95; Н, 5,50; О, 38,55

Флавоноидгликозид = агликон + гликон



10
 11 отличающееся кольцом А; Бензол
 12 кольцом В; Бензол
 13 кольцом С; Гетероциклический пиран
 14 кольцом D; D-глюкозид (β -D-глюкопираноза)
 15 кольцом E; Рамнозид (6-дезоксид- α -L-маннопиранозид)
 16 R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 и R^6 независимо выбраны из H, OH, R, NO₂,
 17 галогена, NH₂, NHR, NR₂, COOR, COOH, CH₃, CN или группы сахара;

1 R является C₁₋₆-алкильной, алкенильной, фторалкильной или
2 фенильной группой.

3 Кольца D (D-глюкозид) и E (рамнозид) могут быть разделены
4 на каждом кольце как кольцо сахара D-E и кольцо B.

5 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ можно независимо выбирать из NH₂,
6 OCH₃, Cl, Br, I, F, и O-NC, связанных с различными биологическими
7 структурами, демонстрирующими различные фармакологические
8 свойства.

9 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ можно независимо выбирать из
10 связывающих структуру C_xH_y, где x и y связаны с одно- или
11 двухзначными числами, которые могут отличаться или быть
12 одинаковыми.

13 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ можно независимо выбирать из
14 связывающих белков, сопутствующих комплексированным формам
15 металлов.

16 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ могут являться независимо выбранной
17 молекулой, алкильными группами (например, метилом, этилом,
18 пропилом, бутилом, пентилом, гексилом, гептилом, октилом,
19 нонилом, децилом и т.д.), насыщенными алифатическими группами,
20 алкильными группами, включая изопропил, трет-бутил, изобутил, и
21 т.д., с неразветвленным или разветвленным алкильным остовом с 6
22 или менее атомами углерода, молекулами и C₁₋₄-алкильными
23 группами, C₁₋₄-алкоксигруппами, аминогруппами, C₁₋₄-группами,
24 включая алкиламиногруппы и C₁₋₄-диалкиламиногруппы,
25 циклоалкильные (фенильные, нафтильные), арильные группы,
26 гидроксильные группы, цианогруппы, галогены, нитрогруппы,
27 арилалкилы и циклоарилалкилы. R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ могут
28 являться независимо присоединенными пептидами, антителами против
29 белков, полинуклеотидами, нуклеиновыми кислотами, ДНК, РНК или
30 аптамерами, полисахаридами (например, лектинами, сахарами),
31 липидами, ферментами, ингибиторами подгрупп ферментов,
32 лигандами, рецепторами, антигенами, гаптенами, лигандами,
33 антигенами, антителами, фрагментом антитела и лигированными,
34 неорганическими флуоресцентными материалами и наночастицами для
35 мишени и мостика, и их соединяют, получая различные свойства.

36 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ можно независимо присоединять к

1 флуоресцентным красителям для диагностики, таким как 5-
2 карбоксифлуоресцеин, 6-карбоксифлуоресцеин, 5,6-
3 карбоксифлуоресцеин, 6-карбокси-2',4,4',5',7,7'-
4 гексахлорфлуоресцеин, 6-карбокси-2',4,7,7'-тетрахлорфлуоресцеин,
5 6-карбокси-4',5'-дихлор-2',7'-диметоксифлуоресцеин, флуоресцеин-
6 5-изоцианат (FITC), нафтофлуоресцеин, 5-карбоксиродамин, 6-
7 kaboks Radon's, 5,6-дикарбоксиродамин, родамин 6G,
8 тетраметилродамин, X-родамин, Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 405,
9 Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 500, Alexa Fluor
10 514, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa
11 Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, Alexa Fluor 633,
12 Alexa Fluor 635, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor
13 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, BODIPY FL, BODIPY TMR,
14 BODIPY 493/503, BODIPY 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570,
15 BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650, BODIPY 650/665,
16 метоксикумарин, NPV.

17 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^6 можно независимо присоединять,
18 например, производные криптанов, criptive производные,
19 производные кавитандов, эфирные производные, производные
20 дендримеров, производные нанотрубок, наночастицы, производные
21 каликсаренов, производные валиномицина и х тонкодисперсные
22 производные, содержащие модификации, и один или несколько
23 компонентов из нигерицина и производных молекул и/или коровая
24 группа или другая группа, соединенная с гидроксильной группой
25 других молекул, и сами молекулы упорядочивали по атому водорода
26 альдозного кольца. - F, - Cl, - Br, - I, нитрогруппы, такие как
27 ацетильные группы, алкильные группы, арильные группы, тозильные
28 группы, мезильные группы, аминогруппы, такие как первичные,
29 вторичные, третичные и четвертичные, соединяют с ацильной
30 группой, такой как галогеновые группы, фосфор-содержащие,
31 например, две или более гидроксильные группы подряд или другие
32 молекулы, фосфатная и алкилфосфатная группа, серосодержащие
33 группы, например, сульфат, сульфат, и сложноэфирные группы и
34 мостиковая группа, соединяющая альдегидные группы, такие как,
35 кетонные группы, оксимные группы, карбоксильные группы и их
36 производные, карбонатные и карбаматные группы являются

1 кремнийсодержащими группами, группой, состоящей из бора, группы
2 олова, железо, молекулы, группы, содержащие калийсодержащие
3 молекулы и группы. По изобретению, алюмоаммониевые квасцы,
4 сульфат алюминия, алюмокалиевые квасцы, ацетат алюминия, хлорид
5 кальция, алюминия нитрат, железо, аммоний сульфат, сульфат
6 железа (II), ферроцианид калия, феррицианид калия, хлорид железа
7 (III), медь ацетат, железоаммиачные квасцы, хлорид алюминия,
8 нитрат висмута, фосфомолибденовая кислота или молибденовая
9 кислота.

10 Соединение можно использовать в составе для применения в
11 качестве (1) Т-клеточного активатора, (2) антиоксиданта, (3)
12 противодиабетического средства, (4) снижающего холестерин
13 средства, (5) противонекротического фактора, (6)
14 противовоспалительного средства, (7) антидепрессанта, (8)
15 циторедуктивного средства, (9) средства для профилактики
16 деменции, (10) средства для регенерации ткани, (11) средства для
17 профилактики или терапии злокачественных новообразований, (12)
18 гипотензивного средства, (13) противовирусного средства, (14)
19 средства для лечения ВИЧ, (15) средства для лечения нарушений
20 функций тромбоцитов, (16) средства для лечения атеросклероза,
21 (17) средства для лечения сердечно-сосудистого заболевания, (18)
22 хелатирующей молекулы для заболевания, сопровождающегося
23 накоплением металлов.

24 Указанное выше соединение, производные и синергические
25 молекулы можно использовать в качестве (1) пищевого красителя,
26 (2) красителя для протезов и шовного материала, (3) в качестве
27 красителя для виноделия, (4) в качестве экологически чистого
28 защитного продукта для текстиля, (5) красителя для военной формы
29 по причине их малого веса, (6), в производстве сенсоров, (7) в
30 нанотехнологии для синтеза наночастиц, (8) в качестве
31 индикатора, (9) в технологии мониторов для плазменных
32 телевизоров, (10) для получения картриджей для принтеров, (11) в
33 косметической промышленности в качестве активного вещества или
34 красителя, (12) в фармацевтической промышленности, (13) в
35 растительных, пищевых, пероральных добавках и получении капсул и
36 напитков.

1 Использование красителя для окрашивания ядер клеток из
2 указанного выше соединения для медико-хирургической
3 диагностики/лечения/скрининга заболевания способами
4 гистоцитопатологии, биохимии, иммуногистохимии и
5 радиологическими и флуоресцентными способами. Кроме того,
6 краситель для окрашивания ядер клеток можно использовать в
7 гистологии, патологии, биохимии, физиологии, микробиологии,
8 молекулярной биологии, биотехнологии, гематологии, онкологии,
9 хирургии и других родственных областях медицины и науки.
10 Биологические образцы для упомянутого использования можно
11 получать из человека, животного, растений, окружающей среды и
12 микробиологических источников. Например, краситель для
13 окрашивания ядер клеток можно использовать для оценки и
14 диагностики в биоптатах опухолей, тонкоигольных биоптатах,
15 мазке, смыве, образцах, полученных хирургическим путем,
16 образцах, полученных до, во время и после хирургической
17 операции, и образцах, полученных другими инвазивными и
18 неинвазивными способами, и образцах биологических материалов.
19 Краситель для окрашивания ядер клеток подходит для использования
20 *in vivo* или *in vitro*, и его можно использовать для
21 автоматизированных или ручных способов диагностики и
22 аналитических способов.

23 Указанные выше соединения, используемые для окрашивания
24 ядер клеток, можно комбинировать с другими красителями для
25 тканей и клеток, такими как акридиновые красители,
26 антрахиноновый краситель, арилметановые красители, азокрасители,
27 диазониевые красители, красители, такие как нитрокрасители, (в
28 конкретных автоматизированных способах применения)
29 фталоцианиновые красители, хинониминные красители,
30 тетразолиевые красители, тиазоловые красители и ксантеновые
31 красители. Образцы краски для гистологического окрашивания,
32 уксусная кислота, кислотный желтый, 1 сульфонат кислого гудрона,
33 22 синий 93, кислый фуксин, кислотный зеленый, кислотный,
34 кислотный, 1 зеленый 5, кислотный красный, кислотный оранжевый
35 10, кислотный красный 4, кислотный красный 26, кислотный,
36 кислотный, кислотный красный 29, кислотный красный 44, кислотный

1 красный 51, кислотный красный 66, кислотный красный 73,
2 кислотный красный 87, кислотный красный 91, кислотный красный
3 92, кислотный красный 94, 101 красный 103, acid rosea the acid
4 Rubin, кислотный фиолетовый 19, кислотный, кислотный, 1
5 кислотный желтый, 9 кислотный желтый, 23 кислотный желтый, 24
6 кислотный желтый, 36 желтый, желтый 73, кислотный желтый S,
7 кислотный желтый T, акридин, акрифлавин, альциановый синий,
8 альциановый желтый, растворимый в спирте эозин, ализарин,
9 ализариновый синий, ализариновый синий 2RC, ализарин-кармин,
10 ализарин-цианин BBS ализарин-цианин R, ализариновый красный S,
11 ализарин-пурпурин, оксид алюминия, амидочерный 10B, красный
12 аминафтаол, амидочерный, анилиновый синий WS, мов, антраценовый
13 Let G azoeo blue SWR, антраценовый синий SWX, аурамин 0, азо-
14 эозин, азокармин B, азокармин G, азоевый диазокраситель 5,
15 азоевый диазокраситель 48, азофлоксин, синий азокраситель,
16 темно-синий, азур B, азур C, основной синий 8, the basic
17 foundation, 9 основной синий, 12 blue foundation, 15 blue
18 foundation, 17 blue foundation, 20 blue foundation, 26 blue
19 brown one, basically you Fusch, basic, 4 basic 5 основной
20 красный, 2 основной зеленый, оранжевый 14, основной, 5 зеленый,
21 basic essentials, 9 красно-фиолетовый 2, основной фиолетовый 4,
22 основной фиолетовый 10, основной фиолетовый 14, basic
23 essentials, 1 желтый желтый 2, Бибрих R, коричневый Бисмарк Y,
24 Brazil, Brazil, shiny Cros, бриллиантовый кристаллический алый
25 6R, Бибрих Скарлет, кальций, кальциевый красный, кармин,
26 карминовую кислоту, кармуазин 6, целестиновый синий B, китайский
27 синий, хлорановый прочный красный 5B, красный, целестиновый
28 синий, голубой Чикаго 4B, хромовый фиолетовый CG, 2 хромотроп,
29 chromox until cyanine R, конго-коринф, конго красный, синий для
30 хлопка, красный для хлопка, кроциновый красный 3D, Crocker's red
31 Moon, sketch, кристаллический Понсо 6R, кристаллический красный,
32 кристаллический фиолетовый, красновато-фиолетовый, бриллиантовый
33 зеленый B, прямой синий 14, прямой синий 58, конго красный
34 Крокера 28, конго красный, 10 конго красный, 7 прямой желтый, 81
35 конго красный, 80 красный, синий 4 дюралол, синий 8G, эозин
36 желтоватый, эозин Y, эозин B, синеватый эозин, эозин, дюралол,

1 эри гранатовый В, эриохром к цианину R, эритрозин В, этиловый
2 зеленый, этиловый фиолетовый, синий Эванса, прочный синий В,
3 прочный зеленый FCF, 0-6, EA25, EA36, EA50, EA65, прочный
4 красный В, прочный желтый, прочный желтый экстра, прочный желтый
5 G, масляный черный НВ, флуоресцеин, пищевой зеленый 3, galleon,
6 галламиновый синий, генциан-виолет, желтый, лиссаминовый прочный
7 желтый 1, INT, кермес, кермесовая кислота, ядерный прочный
8 красный, Лас, лаккаевая кислота, фиолетовый LAUTH, светло-
9 зеленый, ингарин, 1 blue to root, quickly rub the BVL,
10 швейцарский синий, фиолетовый Хоффмана, гидразиновый желтый,
11 имперский красный, лиссаминовый зеленый SF, прочный синий
12 люксол, маджента, 0, маджента II, маджента II, маджента III,
13 малахитовый зеленый, манчестерский коричневый, желтый Марциуса,
14 лиловый, мов, мербромин, меркурохром, метаниловый желтый,
15 метиленовый синий метилен азур В, метиленовый синий С,
16 метиленовый синий, метиленовый зеленый, метиловый синий,
17 метиловый зеленый, метил-фиолетовый, метил-фиолетовый 2В, метил-
18 фиолетовый 10В, валочный желтый 3G, синяя протрава 3, синяя
19 протрава 10, синяя протрава 14, синяя протрава 23, синяя
20 протрава 32, 4 натуральная красная протрава, синяя протрава 45,
21 11 красная протрава, 3 25 красно-фиолетовый, пурпурно-фиолетовый
22 39, нафталиновый синий, черный, нафтоловый синий, черный,
23 нафтоловый зеленый В, нафтоловый желтый S, 1 натуральный черный,
24 натуральный красный, натуральный красный 3, natural scenic 28
25 натуральный красный, 25 натуральный красный, 24 натуральный
26 красный, 16 натуральный красный, 8 красный, желтый 6, NBT,
27 нейтральный красный, get new фуксин, ниагарский синий 3В, темно-
28 синий, нильский голубой, нильский голубой а, нильский голубой
29 сульфат, нильский красный, нитро ВТ, тетразолиевый голубой,
30 ядерный прочный красный, масляный красный О, оранжевый G,
31 orcein, парарозанилин, фиолетовый Перкина, флоксин В, пикриновая
32 кислота, Понсо 2R, Понсо 6R, Понсо В, Ponceau de you xylem,
33 Понсо S, Ponta небесно-голубой 5В, бледно-желтый, primula to,
34 пурпурин, пиронин В, G пиронин Y, родамин В, розанилин, пиронин,
35 OR, красный R в красном, шарлах R, шеллак, сириус красный F3В,
36 сириус красный 4В, сафранин, Bengal, шафрановый розовый, сириус

1 синий выше F3, олохром к цианиновому R-растворимому синему,
 2 растворитель;, 3 растворитель черный 38 растворитель, 23
 3 растворитель красный, 24 растворитель красный, 27 растворитель
 4 красный, 45 красный, желтый 94, спирторастворимый эозин,
 5 судановый III, судановый IV, судановый черный В, судановый
 6 красный ВК, сернистый желтый S, швейцарский синий, тартразин, S
 7 тиофлавин Т, tion, синий, толуидиновый красный толуол,
 8 tropaeolum G, трипафлавин, тиофлавин, синий, уранин, трипановый
 9 синий, виктория голубой 4, виктория голубой В, виктория голубой
 10 R, виктория зеленый В, вода или водорастворимый эозин светло-
 11 синий, red woodsta, ксилидин Понсо, эозин желтоватый и их
 12 комбинации.

13 Состав *Papaver rhoeas* и эозиновые красители (118)
 14 используют в комбинации. Молекула, ее производные синергические
 15 биофлавоноиды и новая молекула окрашивают слои тканей, мембраны,
 16 мышечные клетки, детализируя внутрицитоплазматические и
 17 внутриядерные структуры, а также муцин и нейроглиальные волокна.

18 III - Способ выделения и составления соединения

19 Состав красителя можно модифицировать для использования
 20 состава, включающего протраву, растворитель, кислоту, окислитель
 21 и консерванты (119).

22 Как правило, кислоты используют для коррекции pH раствора,
 23 и они могут поддерживать более долговечный состав красителя, и
 24 обеспечивать более селективное в отношении ядер окрашивание
 25 клеток и предотвращать избыточное окисление. Таким образом,
 26 кислота предотвращает образование осадка. Можно выбирать
 27 автоматизированные или ручные способы окрашивания.

28 Стабилизирующая добавка предотвращает сверхбыстрое
 29 окисление и обеспечивает больший срок годности, в основном,
 30 посредством оптимизации. С этой целью используют амилозу,
 31 циклодекстрин, криптанты, криптофицин, кавитанд, краун-эфир,
 32 каликсарен, валиномицин, циклодекстрин или нигерицин.

33 Жидкий растворитель растворим в других антиоксидантах.
 34 Например, n-алкилгаллаты (n-пропил, n-октил и n-додecil);
 35 восстанавливаемые сахара, такие как сорбит и маннит; бензоаты и
 36 гидроксibenзоаты; сульфиты и пиросульфиты; лимонная кислота,

1 винная кислота, молочная кислота, эриторбиновая кислота,
2 аскорбиновая кислота, мочева кислота, дубильная кислота, и
3 основные соли (соли Mg^{2+} , NH_4^+ , Na^+ , K^+ и Ca^{2+}); добавляют ЭДТА и
4 хлоралгидрат.

5 Для состава из *Paraver rhoeas* можно использовать один или
6 несколько растворителей. Может содержать воду, низший алканол,
7 такой как этанол, полиол. Примеры полиолов включают глицерин,
8 этиленгликоль, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и
9 полипропиленгликоль.

10 Формалин является подходящим фиксатором для образцов тканей
11 и клеток. Парафиновую тканевую кассету используют для получения
12 заполненных и заключенных образцов, а затем их замораживают.
13 Фиксированную ткань с парафином нарезают на срезы с помощью
14 микротомы и помещают на предметные стекла. Затем препараты
15 помещают в печь для расплавления избытка парафина и выплавляют
16 оставшийся воск. Необходимо в полной мере осуществлять
17 депарафинизацию ксилолом и толуолом.

18 Замороженные образцы ткани можно использовать в виде срезов
19 при окрашивании. Замороженный тканевой срез в течение короткого
20 периода времени держат в 10% формалине. Способ окрашивания,
21 время и последовательность могут варьироваться в зависимости от
22 способа составления и других условий. Также используют
23 дополнительное окрашивание цитоплазмы эозином Y, оранжевым G,
24 светло-зеленым SF желтовато-коричневым Бисмарк, прочным зеленым
25 FCF, O-6, EA25, EA36, EA50 и EA65. (122)

26 Состав красителя можно модифицировать в виде следующих
27 составов красителя, таких как гематоксилин по Гиллу,
28 гематоксилин Андерсона, способом де Грута, по Бейкеру, Bennett,
29 гематоксилин Вемера, Vosma, гематоксилин Балларда, по Карацци от
30 Cоsa Cola, по Debi, гематоксилин Делафильда, по Дювалю,
31 гематоксилин Эрлиха, по Фридлендеру, Gadsdo Gage, Galigh is, по
32 Гарви, по Грэму, по Митчелу, гематоксилин Майера, по Массону, по
33 Мартиноцци, по Манну, по Мэллори, McLachlan, йод Lillie, по Ли,
34 по Лонуа, по Ланжерону, Krutsay, по Кляйненбергу, Horneyold, по
35 Хаугену, по Гамильтону, гематоксилин Гарриса, Гарриса-Пауэра, по
36 Хаугену, по Мольнару, Paramiltiades', Pusey, по Равитцу, по

1 Reddy и Sasser, по Шморлю, Sliders', по Унна, по Уотсону, по
 2 Вейгерту, по Райту и Андерсону и протравленный железом
 3 гематоксилин Андерсона, Cretin, по Форе, по Гольдману, по
 4 Ганзену, по Гейденгайну, Janssen, по Кефаласу, включая Krajina,
 5 the krutsay, по Манну, Lillie, Lillie и Earle, по Массону, More
 6 & Bassal, по Мюррею, Paquin и Goddard, по Рего, по Позас, Seidel
 7 Thomas', по Вейгерту, по Ясвоину или протравленный висмутом
 8 гематоксилин Roach & Smith is. протравленный медью гематоксилин
 9 Бенсли, названный по Куку и Форе. Протравленный молибденом
 10 гематоксилин. Можно рассматривать протравленный ванадием
 11 гематоксилин Hedenham Smith, протравленный цирконием
 12 гематоксилин и McNulty & Smith (123).

13 С составам по изобретению можно комбинировать другие
 14 красители, такие как акридиновые красители, антрахиноновый
 15 краситель, арилметановые красители, азокрасители, diazonиевые
 16 красители, красители, такие как нитрокрасители, (в конкретных
 17 автоматизированных способах применения) фталоцианиновые
 18 красители, хинониминные красители, тетразолиевые красители,
 19 тиазоловые красители и ксантен. Образцы краски для
 20 гистологического окрашивания, уксусная кислота, кислотный
 21 желтый, 1 сульфонат кислого гудрона, 22 синий 93, кислый фуксин,
 22 кислотный зеленый, кислотный, кислотный, 1 зеленый 5, кислотный
 23 красный, кислотный оранжевый 10, кислотный красный 4, кислотный
 24 красный 26, кислотный, кислотный, кислотный красный 29,
 25 кислотный красный 44, кислотный красный 51, кислотный красный
 26 66, кислотный красный 73, кислотный красный 87, кислотный
 27 красный 91, кислотный красный 92, кислотный красный 94, 101
 28 красный 103, acid rosea the acid Rubin, кислотный фиолетовый 19,
 29 кислотный, кислотный, 1 кислотный желтый, 9 кислотный желтый, 23
 30 кислотный желтый, 24 кислотный желтый, 36 желтый, желтый 73,
 31 кислотный желтый S, кислотный желтый T, акридин, акрифлавин,
 32 альциановый синий, альциановый желтый, растворимый в спирте
 33 эозин, ализарин, ализариновый синий, ализариновый синий 2RC,
 34 ализарин-кармин, ализарин-цианин BBS ализарин-цианин R,
 35 ализариновый красный S, ализарин-пурпурин, оксид алюминия,
 36 амидочерный 10B, красный аминафтол, амидочерный, анилиновый

1 синий WS, мов, антраценовый Let G azoeo blue SWR, антраценовый
2 синий SWX, аурамин 0, азо-эозин, азокармин В, азокармин G,
3 азоевый диазокраситель 5, азоевый диазокраситель 48, азофлорсин,
4 синий азокраситель, темно-синий, азур В, азур С, основной синий
5 8, the basic foundation, 9 основной синий, 12 blue foundation,
6 15 blue foundation, 17 blue foundation, 20 blue foundation, 26
7 blue brown one, basically you Fusch, basic, 4 basic 5 основной
8 красный, 2 основной зеленый, оранжевый 14, основной, 5 зеленый,
9 basic essentials, 9 красно-фиолетовый 2, основной фиолетовый 4,
10 основной фиолетовый 10, основной фиолетовый 14, basic
11 essentials, 1 желтый желтый 2, Бибрих R, коричневый Бисмарк Y,
12 Brazil, Brazil, shiny Croc, бриллиантовый кристаллический алый
13 6R, Бибрих Скарлет, кальций, кальциевый красный, кармин,
14 карминовую кислоту, кармуазин 6, целестиновый синий В, китайский
15 синий, хлорановый прочный красный 5В, красный, целестиновый
16 синий, голубой Чикаго 4В, хромовый фиолетовый CG, 2 хромотроп,
17 chromox until cyanine R, конго-коринф, конго красный, синий для
18 хлопка, красный для хлопка, кроциновый красный 3D, Crocker's red
19 Moon, sketch, кристаллический Понсо 6R, кристаллический красный,
20 кристаллический фиолетовый, красновато-фиолетовый, бриллиантовый
21 зеленый В, прямой синий 14, прямой синий 58, конго красный
22 Крокера 28, конго красный, 10 конго красный, 7 прямой желтый, 81
23 конго красный, 80 красный, синий 4 дюрзол, синий 8G, эозин
24 желтоватый, эозин Y, эозин В, синеватый эозин, эозин, дюрзол,
25 эри гранатовый В, эриохром к цианину R, эритрозин В, этиловый
26 зеленый, этиловый фиолетовый, синий Эванса, прочный синий В,
27 прочный зеленый FCF, 0-6, EA25, EA36, EA50, EA65, прочный
28 красный В, прочный желтый, прочный желтый экстра, прочный желтый
29 G, масляный черный НВ, флуоресцеин, пищевой зеленый 3, galleon,
30 галламиновый синий, генциан-фиолет, желтый, лиссаминовый прочный
31 желтый 1, INT, кермес, кермесовая кислота, ядерный прочный
32 красный, Лас, лаккаевая кислота, фиолетовый LAUTH, светло-
33 зеленый, ингарин, 1 blue to root, quickly rub the BBL,
34 швейцарский синий, фиолетовый Хоффмана, гидразиновый желтый,
35 имперский красный, лиссаминовый зеленый SF, прочный синий
36 люксол, маджента, 0, маджента II, маджента II, маджента III,

1 малахитовый зеленый, манчестерский коричневый, желтый Марциуса,
2 лиловый, мов, мербромин, меркурохром, метаниловый желтый,
3 метиленовый синий метилен азур В, метиленовый синий С,
4 метиленовый синий, метиленовый зеленый, метиловый синий,
5 метиловый зеленый, метил-фиолетовый, метил-фиолетовый 2В, метил-
6 фиолетовый 10В, валочный желтый 3G, синяя протрава 3, синяя
7 протрава 10, синяя протрава 14, синяя протрава 23, синяя
8 протрава 32, 4 натуральная красная протрава, синяя протрава 45,
9 11 красная протрава, 3 25 красно-фиолетовый, пурпурно-фиолетовый
10 39, нафталиновый синий, черный, нафтоловый синий, черный,
11 нафтоловый зеленый В, нафтоловый желтый S, 1 натуральный черный,
12 натуральный красный, натуральный красный 3, natural scenic 28
13 натуральный красный, 25 натуральный красный, 24 натуральный
14 красный, 16 натуральный красный, 8 красный, желтый 6, NBT,
15 нейтральный красный, get new фуксин, ниагарский синий 3В, темно-
16 синий, нильский голубой, нильский голубой а, нильский голубой
17 сульфат, нильский красный, нитро ВТ, тетразолиевый голубой,
18 ядерный прочный красный, масляный красный О, оранжевый G,
19 orcein, парарозанилин, фиолетовый Перкина, флоксин В, пикриновая
20 кислота, Понсо 2R, Понсо 6R, Понсо В, Ponceau de you xylem,
21 Понсо S, Ponta небесно-голубой 5В, бледно-желтый, primula to,
22 пурпурин, пиронин В, G пиронин Y, родамин В, розанилин, пиронин,
23 OR, красный R в красном, шарлах R, шеллак, сириус красный F3В,
24 сириус красный 4В, сафранин, Bengal, шафрановый розовый, сириус
25 синий выше F3, олохром к цианиновому R-растворимому синему,
26 растворитель;, 3 растворитель черный 38 растворитель, 23
27 растворитель красный, 24 растворитель красный, 27 растворитель
28 красный, 45 красный, желтый 94, спирторастворимый эозин,
29 судановый III, судановый IV, судановый черный В, судановый
30 красный ВК, сернистый желтый S, швейцарский синий, тартразин, S
31 тиофлавин Т, tion, синий, толуидиновый красный толуол,
32 tropaeolum G, трипафлавин, тиофлавин, синий, уранин, трипановый
33 синий, виктория голубой 4, виктория голубой В, виктория голубой
34 R, виктория зеленый В, вода или водорастворимый эозин светло-
35 синий, red woodsta, ксилидин Понсо, эозин желтоватый и их
36 комбинации (123-128).

1 В гистологии двумя наиболее распространенными металлами для
2 протравы в качестве синергической молекулы являются алюминий и
3 железо (III). Протравные красители образуют хелаты с ковалентным
4 или координационным комплексом. Поливалентный ион металла
5 протравы и молекула красителя образуют координационные
6 комплексы. Образование хелатов приводит к образованию "лака",
7 определяемого как поливалентные комплексы краситель-протрава.
8 Эта молекула имеет несколько точек присоединения, и это приводит
9 к тому, что образующиеся комплексы отличаются по своему
10 разнообразию и функциональности.

11 Изменение уровня pH состава приводит к очень резкому и
12 значительному изменению цвета. Внезапное изменение цвета
13 объясняют изменением положений делокализованных электронов и
14 более низкими энергетическими уровнями с электронами металлов.
15 Металлы имеют относительно низкие энергетические уровни по
16 сравнению с комплексной молекулярной структурой, т.е. в растворе
17 энергетический уровень внезапно снижается при добавлении
18 металла.

19 В структуре ДНК основания локализуются позади фосфата
20 дезоксирибозы, представляют собой, тимин, цитозин, гуанин и
21 аденин, образуют спиральную структуру комплементарным образом,
22 структурируя ДНК с картированием. Фосфатные группы очень важны
23 для гистологического окрашивания. При смешивании протравы с
24 красителем фосфат в ДНК будет образовывать хелаты.

25 Электроны необходимы для образования координационной связи
26 с протравой в красителе, связанной с кислородом фосфата. ДНК и
27 белки содержат гидроксил и карбоксильные группы, как и ядерный
28 хроматин, включая белковые компоненты и комплексы ДНК. Таким
29 образом, даже после удаления красителя из ДНК ядерные компоненты
30 все равно будут видимы.

31 При прогрессивном способе окрашивания можно не осуществлять
32 дифференциацию в отличие от регрессивного способа. Фоновое
33 окрашивание помимо окрашивания ядер клеток также может быть в
34 разной степени желательным. В случае раствора для прогрессивного
35 окрашивания наблюдают незначительное фоновое окрашивание без
36 муцина или его отсутствие.

1 Однако, более высокая концентрация красителя (1,5-2,0 г/л)
2 с добавлением кислоты также обеспечивает четкое окрашивание
3 фона. Регрессивное окрашивание (в частности, при концентрации
4 красителя 5 г/л в указанном выше составе), по-видимому, приводит
5 к более выраженному окрашиванию. После регрессивного окрашивания
6 дифференциация обеспечивает четкий внешний вид ядерной
7 морфологии. Состав для регрессивного окрашивания может являться
8 предпочтительным в крупных лабораториях и больницах.

9 Алюминий аммония и калия, в отдельности или алюминий с
10 растворителем имеет низкие уровни рН, однако, если буферная
11 емкость очень ограничена, и рН, в конечном итоге, будет
12 повышаться. Однако, доведение до рН кислого красителя состава,
13 раствор щелочи в контакте с жидкостью в течение короткого
14 периода времени не будет влиять на рН жидкости. Срок годности
15 раствора красителя относится к протраве или красителю обратно на
16 перенос количества щелочной жидкости. Таким образом, краситель
17 начинает снижать активность. Первым признаком деградации
18 является изменение цвета раствора красителя с яркого красно-
19 фиолетового на непрозрачный красно-вишневый. Активация
20 посредством добавления кислого красителя в раствор красителя
21 меньшее включенное количество. С этой целью 2-5% уксусной
22 кислоты, 0,1% лимонной или 0,5% соляной кислоты, а также винной
23 кислоты, молочной кислоты, эриторбиновой кислоты, аскорбиновой
24 кислоты, мочевой кислоты, дубильной кислоты, необходимо
25 определять с использованием 1 литра раствора является
26 необходимым количеством контроля рН. Для контроля рН также можно
27 выбирать другие кислоты. рН раствора должен составлять
28 приблизительно 2,5. Однако можно осуществлять модификации рН 1-4
29 в зависимости от состава.

30 В химическом созревании используют химические окислители,
31 что обеспечивает более быстрое и эффективное созревание.
32 Кипячение ускоряет процесс, после кипячения йодат натрия,
33 гипохлорит кальция, пероксид водорода, USP, перманганат калия,
34 феррицианид калия, йодид натрия, оксид цинка можно использовать
35 в качестве химического окислителя помимо перйодата калия и
36 гипохлорита натрия.

1 При комбинировании с солью алюминия, такой как сульфат
2 алюминия-калия, раствор является бледным (незрелым) непрозрачным
3 прозрачным фиолетовым и при окислении он становится ярко-
4 фиолетовым (зрелым). Их также можно комбинировать с солями
5 железа. Они, как правило, имеют очень темный фиолетовый цвет. В
6 зависимости от используемого соединения, в качестве окислителя
7 можно использовать щавелевую кислоту, буру, феррицианид,
8 перманганат калия.

9 Основной протравой для окрашивания может являться раствор
10 сульфата алюминия или сульфат алюминия-калия, сульфат алюминия-
11 аммония, сульфат алюминия-натрия, ацетат алюминия и нитрат
12 алюминия (например). 5 граммов на литр порошка красителя
13 подлежат использованию в качестве водного растворителя, следует
14 использовать дистиллированную воду. Соотношение протравы и
15 красителя является приблизительно 10-кратным или меньшим. При
16 избыточном и непрерывном окислении образуется осадок. Этот
17 осадок также содержит протраву, как правило, неактивные
18 производные полученного посредством окисления. Состав красителя
19 периодически фильтруют.

20 Жидкий состав из *Papaver rhoeas*, получаемый из экстракта,
21 является темно-красным, и его обрабатывают различными способами.
22 Измельченный в порошок продукт подходит для коммерческой продажи
23 (особенно в терминах простоты транспортировки), и его готовят
24 техник-лаборант в больницах и лабораториях. Тестируемые растворы
25 легко транспортировать, т.к. их легко упаковывать, или можно
26 доставлять в соответствующую больницу в темных контейнерах.

27 При смешивании с уксусной кислотой кор ядерного хроматина
28 демонстрирует более устойчивое и четкое изображение ядра. Состав
29 красителя с алюминиевой протравой имеет кислый pH (pH т -3,3 до
30 -2,5). Эффективность окрашивания структур может снижаться, если
31 контейнеры с красителем перемещали при многочисленных промывках
32 при окрашивании. Добавление нового раствора будет усиливать
33 покрытие. Есть менее эффективные производные, образующиеся в
34 растворе после окисления, приводящие к образованию некоторого
35 осадка. Жидкий состав можно хранить в бочке или контейнере,
36 покрытым тонким слоем масла для предотвращения аэробного

1 окисления.

2 IV – Способ окрашивания ядер клеток составом *Paraver*

3 Сильная кислота будет растворять кальций, хранящегося в
4 тканях, и в окрашиваемой ткани накопление кальция является
5 важным для диагностики (например, рака молочной железы), т.к.
6 может вводить в заблуждение при диагностике. Таким образом,
7 следует избегать очень низких значений pH, к которым приводят
8 сильные кислоты. Следует ожидать, что при добавлении таких
9 кислот, как уксусная и лимонная кислота, будут получать состав,
10 содержащий кислоту, приводящий к более четкому и значительному
11 окрашиванию ядра. Другими словами, можно достигать окрашивания
12 ядер с использованием прогрессивного идеального состава,
13 содержащего слабую кислоту. И наоборот, кислота, не содержащая
14 состав, демонстрирует лучшее окрашивание фона и менее четкий вид
15 ядра. Регрессивное добавление кислоты в состав будет вносить
16 вклад в окрашивание, но обеспечивает четкость в достижении
17 кислого pH раствора красителя повышенный уровень снова и будет
18 повышать срок годности красителя.

19 Стадии способов окрашивания включают 1. Депарафинизацию 2.
20 Регидратацию (с использованием спирта) 3. Промывку водой 4.
21 Нанесение состава из *Paraver rhoeas* 5. Промывку водой 6.
22 Дифференциацию 7. Промывку водой 8. Синее окрашивание 9.
23 Промывку водой 10. Промывку спиртом 11. Обработку эозином 12.
24 Дегидратацию (с использованием спирта) 13. Промывку водой (или
25 ксилолом).

26 Используют то же время окрашивания, что и в случае других
27 красителей, и его можно корректировать в зависимости от
28 соотношений в составе в диапазоне от одной или двух минут до 30
29 минут (131-133). Очень короткое время инкубации приводит к
30 неполному и неустойчивому окрашиванию. Неудачи в получении
31 подходящих препаратов можно скорректировать посредством
32 перемешивания. С помощью кислоты можно удалять артефакты на
33 препаратах. Однако это может снижать эффективность комплекса
34 протравного красителя. 15 секунд перемешивания (встряхивания) с
35 красителем снижают общее время окрашивания. Без перемешивания
36 длительность окрашивания должна быть большей.

1 Для окрашивания достаточно 5 минут, и для лучшего качества
2 прогрессивного окрашивания длительность корректируют. В идеале
3 время окрашивания составляет 5-10 минут. Прогрессивное
4 окрашивание сначала быстро начинают, и оно более независимое в
5 плане времени и позже ограничивает само себя до точки
6 равновесия. В случае регрессивного способа достаточно 5-10
7 минут, и избыток красителя удаляют кислым спиртом.

8 С этой целью используют дифференциацию этанолом, варьируя
9 концентрации кислого этанола. Образец; смесь 70% этанола
10 (стандартный кислый спирт) и 5% соляной кислоты используют в
11 течение 30-45 секунд. Разведение сильного кислого красителя
12 необходимо для полного удаления папки-планшета. В настоящем
13 описании можно использовать дистиллированную воду вместо 70%
14 этанола. С помощью воды можно разводить кислоту, и
15 дифференциация может приводить к оптимальному окрашиванию.
16 Однако при использовании воды вместо спирта, *n*-изопропанола,
17 могут иметь место нарушения окрашивания.

18 Исходным цветом кислой среды на препаратах ткани является
19 яркий красно-фиолетовый цвет. Он не является постоянным цветом и
20 должен перейти в устойчивый синий цвет. Красная фаза окрашивания
21 вымывается под покровным стеклом. Синяя фаза устойчива к
22 растворителям, нерастворима и обеспечивается водой и слабыми
23 растворителями, и устойчивое превращение обеспечивают
24 посредством коррекции pH. Водопроводная вода или другие щелочные
25 растворы обеспечивают синее окрашивание. Воды, а также других
26 щелочных растворов, таких как 0,1-1% раствор карбоната лития,
27 0,5% ацетат натрия, 2% бикарбонат натрия и раствор Скотта вместо
28 водопроводной воды, может быть достаточно для синего окрашивания
29 ядер.

30 Хлор в воде может вызывать выцветание красителя на
31 препаратах и может полностью устранять окрашивание и
32 отбеливание. В случае использования хлорированной воды следует
33 устранять промывку водопроводной водой или следует использовать
34 нехлорированную воду. Высокий pH может ингибировать последующее
35 окрашивание эозином, если для синего окрашивания используют
36 сильную щелочь. Дифференциацию можно поддерживать с

1 использованием растворителей, обеспечивая контроль pH, с помощью
2 фиксаторов, окислителей и других красителей.

3 Избыток красителя можно снижать с использованием протравы.
4 Конкурирует за связывание с тканью, проникает больше протравных
5 красителей, содержащихся в растворе, и медленно отделяет
6 краситель от ткани. Возможно полное удаление при использовании
7 этого способа в отношении окрашиваемых препаратов. Созревание
8 будет повышать эффективность раствора красителя. Созревания
9 можно достигать посредством естественного процесса окисления,
10 который является более надежным и долговечным. Будет полезной
11 колба большого размера, свободно закрытая ватой, что делает
12 возможным проникновение воздуха сверху. Колбу необходимо
13 помещать в теплое, темное и проветриваемое место для медленного
14 окисления.

15 Эозин Y или другие красители можно использовать в качестве
16 контркрасителя для цитоплазмы. В этом случае применимы общие
17 принципы, но результатом является субъективная оценка.
18 Контрастный краситель идеален не только потому, что он хорошо
19 выделяет синие компоненты, но также должен позволять четко
20 отличать ядро от других планов (фигура 2), и должен позволять
21 отличать от образца коллагена новую мышечную ткань, эозин Y, как
22 правило, растворим в 95% этаноле, таким образом, если препарат
23 пластинки закрыт, или если спирт оставляют на слишком большой
24 период времени, краситель может становиться бесцветным. Если
25 оставляют в 95% этаноле на слишком большой период времени, таким
26 образом, можно получать окрашенную ЕО бесцветную ткань, менее
27 100% этанола при повторном окрашивании эозином. Во избежание
28 этой проблемы, после быстрого погружения эозинофильных
29 препаратов 7-10 раз их необходимо промывать 95% этанолом.
30 Красное окрашивание эозином создает подходящий контраст для
31 синего ядра. Эозин Y как правило, имеет немного желтовато-
32 оранжевый цвет, но уксусная кислота делает его более красным.

33 Что касается интенсивности красного окрашивания, важно
34 различать структуры вне ядра. Неправильное окрашивание вызывает
35 слабое окрашивание, с другой стороны, слишком много красителя
36 вне ядра затрудняет различение структур ткани. При докрасивании

1 эозином при комбинировании определяют коллаген; бледно-розовый
2 цвет, мышечная ткань; темно-розовый, ацидофильная цитоплазма;
3 красный, базофильная цитоплазма; фиолетовый, ядра; темный
4 фиолетово-синий, эритроциты окрашиваются красным. Эозин
5 необходимо наносить на препараты приблизительно через 1 мин.
6 после окрашивания составом *Papaver rhoeas*.

7 Затем необходимо вымывать большую часть эозинового
8 красителя (129, 130). Предпочтительно, с этой целью выбирают
9 концентрацию 50%, 75% и 95% серии растворов этилового спирта.

10 Прекращение окрашивания является важным критерием, но то,
11 когда его лучше осуществлять, оценивают визуально по
12 интенсивности цвета и контрасту. Опыт в получении стандартов и
13 контроле качества окрашивания приводит к улучшению эффективности
14 окрашивания (134-138).

15 Состав из *Papaver rhoeas* используют для окрашивания
16 биологических образцов не принадлежащих человеку тканей.
17 Например, детально окрашивают дрожжи в образце из yeast ball.

18 ПРИМЕРЫ

19 ПРИМЕР - 1 (Экстракция из *Papaver rhoeas*)

20 Настоящее изобретение относится к получению молекулы и
21 способу для *Papaver rhoeas*. Молекула является глюкозидом
22 флавонола, встречающимся в *Papaver rhoeas*, и ее выделяют
23 упрощенным способом экстракции, удаляя объем, и сложными
24 способами очистки при более низкой температуре (60°C) без
25 кипячения. Спиртовые растворители способны растворять осадки,
26 такие как этанол, метанол и кетоны.

27 При получении молекулы из лепестков *Papaver rhoeas*, исходно
28 экстрагируемой водой и кристаллизуемой спиртом, включающем
29 удаление смешанных соединений в случае примесей красителей и
30 экстракцию молекулы посредством перколяции в контакте с другим
31 несмешивающимся с водой, жидким растворителем при комнатной
32 температуре, инертным для молекулы, и в котором молекула, по
33 существу, растворима, и полученным из метилового спирта, и
34 экстракцию осуществляют посредством перколяции. Сырая или
35 кристаллизованная смесь молекул, полученная таким образом,

1 зачастую содержит конкретные чужеродные вещества неустановленной
2 природы, которые, даже когда присутствуют в минорных
3 количествах, мешают очистке молекулярных препаратов или
4 последующему хранению очищенного продукта с желаемой длительной
5 способностью к окрашиванию. Общепринятые способы очистки не
6 используют для сохранения молекулы, содержащей фракцию красителя
7 и полученный продукт. С помощью очистки устраняют примеси в
8 сыром и кристаллизованном материале, он подходит для
9 диагностического и терапевтического использования.

10 Ограниченное количество мешающих окрашиванию примесей можно
11 удалять из экстракта *Papaver*, приводя его в контакт с
12 несмешивающимися с водой жидкостями, не растворяющими молекулы,
13 такими как диэтиловый простой эфир и метиловый спирт. Мешающие
14 окрашиванию примеси не снижаются до какой-либо приемлемой
15 степени при подвергании смешанного экстракта воздействию
16 растворителя указанного выше типа в течение относительно
17 короткого периода времени, например, посредством элютриации
18 растворителем. Однако, влияющие на окрашивание примеси в смеси
19 полностью удаляют посредством поддержания обрабатываемого
20 материала в контакте с растворителями, такими как метиловый
21 спирт, в течение периода времени, достаточного (от 30 минут до
22 24 часов) для получения экстракта, содержащего, по существу, все
23 из этих влияющих на окрашивание примесей, диспергированных в
24 растворителе.

25 С помощью следующих примеров иллюстрируют способ
26 экстракции.

27 В способе экстракции при 60°C *Papaver rhoeas* подвергают трем
28 20-минутным экстракциям для перколяции лепестков и отсасывают с
29 помощью вакуумного аспиратора. Таким образом выделяют
30 приблизительно 90 процентов массы всех лепестков. После
31 фильтрации экстракта, его концентрируют посредством *vacuum*
32 *exaporation*. Белки и коллоидные материалы осаждают посредством
33 добавления равного объема 10% этилового спирта к концентратам.
34 Сырой материал, полученный таким образом, удаляют посредством
35 фильтрации; фильтрат выпаривают с добавлением воды до удаления

1 практически всего спирта. Этому водному раствору позволяют
2 кристаллизоваться и отфильтровывают сырой экстракт. Затем
3 осуществляют рекристаллизацию. В случае наличия следов спирта,
4 нерастворимые вещества удаляют посредством растворения молекулы
5 в небольшом количестве спирта и фильтрации; затем на стадии
6 вакуумного испарения спирт заменяют водой, которая затем
7 обеспечивает желаемую чистоту, после чего кристаллы высушивают и
8 соскребают.

9 ПРИМЕР - II (Очистка экстракта)

10 При получении молекулы из лепестков *Papaver rhoeas* при
11 экстрагировании с помощью воды, примеси осаждают спиртом,
12 коагулянт удаляют и молекулу кристаллизуют из раствора;
13 улучшение, включающее удаление смешанной с соединением примеси
14 красителя и экстракцию молекулы посредством перколяции в
15 контакте с несмешиваемым с водой органическим жидким
16 растворителем при комнатной температуре, инертным для молекулы,
17 в котором молекула, по существу, нерастворима и выбранным из
18 группы, состоящей из бензол, хлороформа и диэтилового простого
19 эфира, метилового спирта, и экстракцию осуществляют посредством
20 перколяции.

21 *Papaver rhoeas* экстрагируют этиловым спиртом, а затем
22 полученный водный спиртовой экстракт выпаривают для удаления и
23 выделения спирта. Полученный продукт, в принципе, является
24 водной суспензией частично кристаллизованной смеси молекулы и
25 примесей, в основном, состоящих из растительных жиров и смол.
26 Этой суспензии позволяют отстояться для более полной
27 кристаллизации экстракта, а затем фильтруют и сушат. Затем
28 примеси удаляют из высушенной массы посредством повторных
29 экстракций метанолом, в которых сырой материал нерастворим, и
30 оставшуюся смесь далее очищают посредством повторных
31 кристаллизаций из смеси дистиллированной воды и этанола. Свежий
32 или высушенный *Papaver rhoeas* экстрагируют водным раствором
33 этилового спирта, далее используют способ, описанный выше для
34 экстракции их свежих растений, являющийся сушкой с последующими
35 экстракциями растворителями. Это включает минимальный риск для
36 здоровья и риск пожара. Кроме того, необходимы относительно

1 разумные количества растворителей, т.к. растворимые в
2 растворителе материалы во много раз превосходят массу самого
3 экстракта *Papaver rhoeas*.

4 а. Свежий *Papaver rhoeas* или быстро высушенные лепестки
5 вымачивают в этаноле, который можно подвергать денатурации
6 метанолом.

7 б. Экстракт отбирают и повторяют экстракцию с
8 использованием свежей партии этанола.

9 с. Экстракт отбирают и растворитель подвергают дистилляции
10 из объединенных экстрактов при атмосферном давлении.

11 d. Осадок экстрагируют метанолом и разделяют экстракт.

12 e. Осадок экстрагируют горячей водой при 60°C и экстракту
13 позволяют охладиться. Сырой материал кристаллизуют и
14 отфильтровывают.

15 f. Молекулу рекристаллизуют из воды.

16 Т.к. экстракт легко окисляется, быстрая экстракция является
17 предпочтительной относительно медленной перколяции. Коэффициент
18 температура-растворимость молекулы в воде является высоким,
19 таким образом, вода является предпочтительной средой для
20 кристаллизации.

21 Вместо этанола альтернативно используют пропанол, ацетон,
22 или метилэтилкетон; вместо фракции уайт-спирита и вместо
23 использования водной рекристаллизации молекулу можно получать с
24 использованием спирта или ацетона с добавлением воды или без
25 нее. При желании можно осуществлять дистилляцию при сниженном
26 давлении.

27 С помощью следующих примеров иллюстрируют способ очистки.

28 После очистки концентрированный чистый гомогенный
29 кристаллический материал необходимо промывать 100% метанолом,
30 пока осадок остается синим и не выделяет какой-либо окрашенный
31 красным комплекс в промывочный метанол. Синий осадок осаждают из
32 метанола и смешивают с этанолом в соотношении 1:1. Фракцию в
33 этаноле помещают в другой стеклянный контейнер и фракцию в
34 этаноле добавляют к окрашенному красным метанолу, пока цвет не
35 поменяется на синий (что происходит при pH приблизительно 4,2).

1 И концентрированную уксусную кислоту добавляют к этому синему
2 комплексу этанол-метанол-краситель, пока цвет снова не станет
3 красным (что происходит при pH приблизительно 3,0). Красный
4 раствор высушивают и выпаривают. Порошок имеет чистое
5 молекулярное содержимое с длительным и устойчивым эффектом
6 окрашивания с аффинностью к ядру клетки при его растворении в
7 растворителях, таких как дистиллированная вода или этанол для
8 нанесения на препараты образцов, полученных хирургически.

9 ПРИМЕР - III (Способ выделения и составления соединения)

10 1. Получение предшественника: замороженные, свежие или
11 высушенные лепестки *Papaver rhoeas* (лепестки) используют в
12 получении экстрагируемого красителя.

13 - Листья фрагментируют.

14 - Дистиллированная вода, а затем позволяли отстаиваться в
15 течение ночи с добавлением этого способа, затем прессуют для
16 экстракции жидкого красителя, получают предшественник.

17 - Сначала красители являются фиолетовыми, красными,
18 фиолетово-красными, красно-фиолетовыми и красновато-синими.

19 - После фильтрации раствор является таким, что соотношение
20 формалина, этанола, метанола составляет 1/10, включают
21 растворитель, такой как другой простой эфир и

22 - Сушат при высокой температуре в инкубаторе при 30-60°C.

23 - Высушенный сырой материал снова обрабатывали метанолом и

24 - Отделяют осадок. Осадок используют для получения
25 порошкообразного сырья.

26 - Этот осадок добавляют в холодный или кипящий этиловый
27 спирт (1 г красителя/100 этилового спирта) и растворяют.

28 - Эту жидкую смесь (холодную или при температуре кипения)
29 добавляют к 1000 мл деионизированной воды.

30 2. Для молекулярного анализа раствор экстракта фильтровали,
31 обрабатывали этанолом и высушивали в инкубаторе. Сухой образец
32 распыляли, а затем три раза пропускали через метаноловую баню,
33 помещали в инкубатор на ночь при 30-60°C и выпаривали жидкую
34 фракцию. 1 г полученного порошка растворяют в 100 см³ этанола и
35 абсорбируют на волокнах на планшете. Наблюдают синее окрашивание

1 розовых планшетов при использовании 1% раствора аммония. Этот
2 синий краситель растворяют в уксусной кислоте. Удаляли жидкую
3 фракцию. Остальное использовали для анализа сухого порошка.

4 3. Химический окислитель, используемый в композиции этой
5 новой молекулы, окисляет ее частично или полностью. Производные
6 молекулы будут образовываться в результате окисления. Однако,
7 также могут образовываться менее активные комплексы. Молярное
8 соотношение окислителя и молекулы составляет от 4:1 до 1:1.
9 Краситель в растворителе содержит множество протрав (протраву на
10 основе алюминия, железа, висмута, меди, молибдена, хрома,
11 ванадия и циркония) (120, 121). Молярное соотношение молекулы и
12 протравы составляет 2:1 и 1: 100, это соотношение отличается в
13 зависимости от составов, например, оно изменяется с 1:20 до 1:5.
14 Состав также может содержать кислоту, такую как уксусная
15 кислота. Конечный раствор протравы, красителя и растворителя
16 (например, AlCl_3 80%. 10-50 г/л) имеет кислый pH. Добавление
17 кислоты к составу позволяет регулировать специфичность
18 окрашивания ядер и повышает срок годности. Синее окрашивание
19 позволяет выделять форму ядра клетки. Добавление уксусной
20 кислоты в состав красителя делает цвет ярким коричневато-
21 фиолетовым.

22 4. Хотя идеальный pH состава составляет 2,5, он варьируется
23 от 1 до 4. В некоторых конкретных вариантах осуществления
24 окислителем является йодат натрия в композиции, сульфат алюминия
25 в качестве протравы, хлорид алюминия антиоксиданты в виде β -
26 циклодекстрина, от 60 до 90% воды в качестве растворителя и
27 можно использовать от 10 до 40% этиленгликоля в смеси. Можно
28 использовать n-пропилгаллат, гидрохинон и один или несколько
29 водорастворимых антиоксидантов. Очень низкий уровень pH раствора
30 важен для диагностики, т.к. кальцификаты ткани также могут
31 растворяться. Таким образом, диагностика может приводить к
32 ошибкам при использовании раствора с сильными кислотами.
33 Увеличивающиеся концентрации 0,2 мл ледяной уксусной кислоты,
34 или можно тестировать посредством добавления 0,1 мл HCl .
35 Используя 5 г красителя и 50 г протравы (сульфат алюминия),

1 получают состав для регрессивного окрашивания (соотношение
2 1/10), используя 1 г красителя и 50 г протравы (сульфат
3 алюминия) получают состав для прогрессивного окрашивания
4 (соотношение 1/50).

5 5. Добавление кислоты к 100 г бескислотного состава для
6 регрессивного окрашивания, где 5 г протравного красителя с
7 соотношением 1/20 (5 г красителя+100 г сульфата алюминия). 1-2
8 граммов для состава для прогрессивного окрашивания на литр, и 5-
9 6 г состава для регрессивного, и состав для промежуточного
10 окрашивания содержит 3-4 граммов красителя. Получение красителя
11 и нанесение должны быть понятны специалисту в этой области.
12 Изменяя содержание красителя, можно корректировать качество
13 получаемого красителя.

14 6. 1000 мл деионизированной воды в точке кипения помещают в
15 большую колбу. Добавляют 50 г сульфата аммония, и смеси
16 позволяют охладиться. 4 г сухого порошка помещают в колбу,
17 перемешивают с 0,4 г йодида натрия, растворяют в 50 мл холодной
18 воды. Добавляли 100 см³ этиленгликоля, смешивали с ним и
19 добавляли 10 см³ уксусной кислоты (рН составляет от 2,7 до 3,1).
20 Стоковые растворы смешивают друг с другом. Краситель готов к
21 использованию. Время нанесения красителя необходимо
22 оптимизировать в ходе исследования.

23 7. Полученный порошок является кирпично-красновато-
24 фиолетово-коричневым и растворим в этаноле и менее растворим в
25 воде (100 см³ воды, но 1 г красителя, растворяющий 100 г
26 этилового спирта 35-50 г растворяет удаляемый краситель).
27 Глицерин можно включать в качестве антиоксиданта, и он
28 предотвращает избыточное окисление состава, а также
29 предотвращает развитие грибов. Любое противомикробное средство,
30 такой как Proclin 300®, азид натрия, Proclin 150®,
31 противомикробное средство, такое как Proclin 200® и 950®
32 добавляют для ингибирования роста микроорганизмов в диапазоне рН
33 2,0-5. (Например) К раствору в количестве приблизительно 0,04%
34 Proclin 300® (Sigma Aldrich, St Louis, MO)

35 ПРИМЕР - IV (Способ окрашивания ядер клеток с

1 использованием нового соединения)

2 Используют то же время окрашивания, что и в случае других
3 красителей, и его можно корректировать в зависимости от
4 соотношений в составе в диапазоне от одной или двух минут до 30
5 минут. Очень короткое время инкубации приводит к неполному и
6 неустойчивому окрашиванию. Неудачи в получении подходящих
7 препаратов можно скорректировать посредством перемешивания. С
8 помощью кислоты можно удалять артефакты на препаратах. Однако
9 это может снижать эффективность комплекса протравного красителя.
10 15 секунд перемешивания (встряхивания) с красителем снижают
11 общее время окрашивания. Без перемешивания длительность
12 окрашивания должна быть большей.

13 Окрашивание осуществляют прогрессивным или регрессивным
14 образом. Биологические образцы помещают на микроскопические
15 стекла. Способ также можно использовать для цитологических
16 образцов, помещенных на микроскопические стекла. Для
17 докраски выбирают эозин.

18 Стабилизаторы предотвращают избыточное окисление, испарение
19 и, в конечном итоге, осаждение. Состав красителя получают с
20 использованием количества растворителя и устанавливают
21 соотношение краситель/растворитель 1-20 граммов на 1 литр. Для
22 растворов для прогрессивного окрашивания используют минимум 1
23 грамм красителя на литр, и краситель для регрессивного
24 окрашивания содержит по меньшей мере 5 граммов на литр
25 растворителя. Если количество протравы остается постоянным,
26 менее концентрированный краситель в растворе позволяет
27 осуществлять более селективное окрашивание ядра клетки.
28 Например, для достижения оптимальной селективности добавляют 5
29 мл 10% раствора красителя и повышенное количество более 10%
30 спиртового раствора красителя.

31 Если концентрация является более низкой, и соотношение
32 протравных красителей/красителя в растворе является высоким,
33 остается в растворе и небольшое количество красителя
34 прикрепляется к ткани. Добавление кислоты, такой как 0,1% или 2%
35 уксусная кислота, лимонная кислота, повышает срок годности.
36 Соединение красителя для тканей и клеток можно использовать в

1 качестве (1) Т-клеточного активатора, (2) антиоксиданта, (3)
2 противодиабетического средства, (4) снижающего холестерин
3 средства, (5) противонекротического фактора, (6)
4 противовоспалительного средства, (7) антидепрессанта, (8)
5 циторедуктивного средства, (9) средства для профилактики
6 деменции, (10) средства для регенерации ткани, (11) средства для
7 профилактики или терапии злокачественных новообразований, (12)
8 гипотензивного средства, (13) противовирусного средства, (14)
9 средства для лечения ВИЧ, (15) средства для лечения нарушений
10 функций тромбоцитов, (16) средства для лечения атеросклероза,
11 (17) средства для лечения сердечно-сосудистого заболевания, (18)
12 хелатирующей молекулы для заболевания, сопровождающегося
13 накоплением металлов.

14 Соединение, его производные и синергические молекулы можно
15 использовать в качестве 1) пищевого красителя, (2) красителя для
16 протезов и шовного материала, (3) в качестве красителя для
17 виноделия, (4) в качестве экологически чистого защитного
18 продукта для текстиля, (5) красителя для военной формы по
19 причине их малого веса, (6), в производстве сенсоров, (7) в
20 нанотехнологии для синтеза наночастиц, (8) в качестве
21 индикатора, (9) в технологии мониторов для плазменных
22 телевизоров, (10) для получения картриджей для принтеров, (11) в
23 косметической промышленности в качестве активного вещества или
24 красителя, (12) в фармацевтической промышленности, (13) в
25 растительных, пищевых, пероральных добавках и получении капсул и
26 напитков.

27 Соединение/молекула применимо в окрашивании ядер клеток для
28 медико-хирургической диагностики/лечения/скрининга заболеваний
29 заболевания способами гистопатологии, биохимии,
30 иммуногистохимии и радиологическими и флуоресцентными способами.

31 Соединение/молекула применимо в окрашивании ядер клеток в
32 гистологии, патологии, биохимии, физиологии, микробиологии,
33 молекулярной биологии, биотехнологии, гематологии, онкологии,
34 хирургии и других связанных медицинских и научных дисциплинах.

35 Соединение предназначено для применения в окрашивании *in*
36 *vivo* или *in vitro* ядер клеток.

1 ССЫЛКИ

- 2 1. Quebe Trim, Canada plant diseases Name City, Canada. 288
3 pp. 197
- 4 2. Alex, JF, in cayouette, R., Mulligan, D, Ottawa, Ont.,
5 Canada. 132 pp. Canada's Common and botanical names of weeds.
6 Agric.1980.
- 7 3. L. H. Bailey, Bailey, E. z.hortus, 3. revision.
8 MacMillan, New York, NY, USA. 1290, p. 1976
- 9 4. Scoggwho, H. J., Canada flora. Nat. Muse. Nat. Sci.
10 (Ottawa) Yay. Bot. 7 (1) -7 (4). 1711, p. 1979
- 11 5. Van Wijk, HL plant names dictionary. Martinus Nijhoff,
12 The Hague, The Netherlands. 1444, p. 1911
- 13 6. Victor M. Flore Laurentienn to 1. 2nd edition. Univ.,
14 Montreal, Que., Canada. 952 pp., 1964
- 15 7. InodcTaxonomic Code database (version 8) Notes: Papaver
16 rhoeas: 1996
- 17 8. Plants Database, database Earned (version 4.0.4):
18 National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-
19 4490 ABD.1996
- 20 9. Plants Database, database Earned (version 5.1.1):
21 National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-
22 4490 USA. 2000
- 23 10. John Kartesz Notes: North America Project (BONAP),
24 University of North Carolina Reference Biota: Papaver rhoeas
- 25 11. Chevallier, A. The Encyclopedia of Medicinal Plants
26 Dorling Kindersley. London 1996 ISBN 9-780751- 303148
- 27 12. Bown. D. Encyclopedia of Herbs and use. Dorling
28 Kindersley, London. 1995 ISBN 0-7513-020-31
- 29 13. Papaver rhoeas L. behavioral and pharmaco-toxicological
30 studies in rats. Soulim NEW R Younos, Jarmo the C-ldriss S, D
31 Khaoluk F Bouse, Laila C. Journal of Ethnopharmacology, 74 (3):
32 265-74 2001
- 33 14. Papaver rhoeas Effects mouse Hedayat Sahraei year in
34 the acquisition and morphine examining welded on conditioned
35 place preference expression, Ethnopharmacology Volume 103
36 Sayedeh Maedeh Fatimid B, Shahrokh Pasha of-RADC, Zehra Faghih-

- 1 Monzav of Seyyed Hossein Salimi and Muhammad Kamalinejad
2 Magazine, Issue 3, Pages 420-424 February 20, 2006,
- 3 15. Ali Pourmotabbed, Baharak Rostami, the Gille Manouchehr
4 of Gille Pirzadeh-Jahromi B, Hedayat Sahara, Hasan Ghoshoonib,
5 Homeir to Zardooz and Ethnopharmacology Volume 95 Muhammad
6 Kamalinejad Magazine, Issues 2-3, Pages 431-435
- 7 16. Facciola. S. Cornucopia - A Source Book of Edible
8 Plants. Kampong Publications 1990 ISBN 0-9628087-0-9 2004
- 9 17. Chiej. R. ifal Plants R. Encyclopedia. MacDonald ISBN
10 0-356-10541.1984 1984.
- 11 18. F. Chittenden. ST Dictionary of Plants plus Supplement.
12 1956 Oxford University Press 1951
- 13 19. Hedrick. UP Sturtevant the world of edible plants.
14 Dover Publications ISBN 0-486-20459-621.1972
- 15 20. de Groot, H Rauan, Fundam reactive oxygen species and
16 the protective effects of flavonoids Clin Pharmacol 1998;
17 12:249-55.
- 18 21. E. Hamlyn Edible plants. ISBN 0-600-37216-2,1981
- 19 22. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids
20 Regelson W. Review of the biology. Food Chem Toxicol 33:1061-
21 1080.1995
- 22 23. Computational and Theoretical Chemistry, a quantum
23 mechanical approach to Mina Ghiasi, Afsaneh Azadnia to, Masoud
24 Arabiehb, Mansour Zahedib Volume 996, routine and resist
25 oxidation (vitamin P) Pages 28-36 The protective effect of:
- 26 24. Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular
27 basis for the Intagliet Daflo K. 500 mg activity. Int J Clin Exp
28 Microcirc 15 (Suppl): 17-21. 2012 1995
- 29 25. Clinical Nutrition flavonoids American Society: action
30 and potential applications^{1,2,3} possible mechanisms Robert J
31 Nijveldt, Els van Nood, Danny AK van Hoorn, Petra G Boelens,
32 classy van Norra and Paul AM van Leeuwen in a review in 2001
- 33 26. Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. Pol J
34 Pharmacol; 48: 555-64.1996
- 35 27. DOI: 10.1007 in the book/978-3-642-22144-6_53: Natural
36 Products: Phytochemistry, Botany and alkaloids, phenolics and

- 1 terpenes Metabolism Section: 54, Publisher: Springer Berlin
2 Heidelberg, Editors: Kishan Gopal Ramawat, Jean-Michel MERILLON,
3 pp.1647-1682 Need-to-know news and monitoring for UB faculty and
4 staff
- 5 28. UB Reporter This article is from the archives. Ellen
6 Goldbou contributing Editor By: ARCHIVE genetically engineered
7 microorganisms into tiny factories Published in 2007
- 8 29. UNODC Szendre K. Pages: 51-54 Creation Date: K. opium
9 Szendre Faculty of Pharmacy, Laboratory Pharmacognostical,
10 Szeged, Hungary porphyroxa method to isolate 1968
- 11 30. Merck, E., Ann. Pharmacy, 21201, Physical Sciences, 18,
12 379,1839 Annual Progress Report. 1847
- 13 31. Hesse, O., Liebig Ann. Chem. 153,47,1870.
- 14 32. akshit, N. J. Chem. Soc. (London) 115 (1), 455, 1919.
- 15 33. Rajagopol, S., Current Science. 12, 24, J. Org. Chem.
16 10,175,1945.
- 17 34. Fulton, C., E/CN.7/117, 1948; Narcotics IV, No. 1,15,
18 Bulletin on 1952.1948
- 19 35. Klayman, DLThesis, Rutgers University, 1956
- 20 36. van Acker SA, Tromp MN, Haenen GR, van der Vijgh WJ,
21 Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. Biochem
22 Biophys Res Commun 214:755-9 1995
- 23 37. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JR, flavonoids
24 and phenolic dietary supplements mammalian 5-lipoxygenase and
25 Sikoloksijenaz Halliwell B. Prevention. With antioxidant
26 activity and to iron ion- reducing ability relationship. Biochem
27 Pharmacol 1991; 42:1673-1681 1991
- 28 38. Epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase obtained with
29 flavonoids and bioflavonoids naturally occurring effects of the
30 guinea pig. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998;
31 58:17-24). 1998
- 32 39. An update: alliwell B how to characterize an
33 antioxidant. Biochem Soc Symp 61: 73-1011995
- 34 40. KorokinAfnas'ev IB LG. Flavonoids, antioxidants and
35 chelating properties. Adv Pharmacol 38:151-63.1997
- 36 41. Sanhueza Garrido J Valdes J Campos R, Valenzuela in

- 1 ischemia-reperfusion rat kidney been stressed xanthine
2 dehydrogenase/xanthine oxidase Changes: some inhibitory effect
3 of flavonoid. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 78: 211-8.1992
- 4 42. Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. *Pol J*
5 *Pharmacol* 48: 555-64. Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh VA. 1996
- 6 43. Huk I Nanobash Brovkovich V VJ, et al. Bioflavonoid
7 quercetin scavenges superoxide and nitric oxide in ischemia-
8 reperfusion increases the concentration of damage: an
9 experimental study. *Br J Surg*; 85: 1080- 5.1998
- 10 44. Shutenko Z, Henry Y Pinard M, et al. Global ischemia
11 and reperfusion in rat brain during electron paramagnetic
12 resonance determined by the level of nitric oxide in vivo
13 antioxidant effect of quercetin. *Biochem Pharmacol* 57:199-
14 208.1999
- 15 45. van Acker SA, Tromp MN, Haenen GR, van der Vijgh WJ,
16 Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. *Biochem*
17 *Biophys Res Commun*; 214: 755-9. 1995
- 18 46. Chang WS, Lee YJ, Lu FJ, Chiang HC. Xanthine oxidase
19 inhibitory effects of flavonoid. *Anticancer Res*, 13: 2165-
20 70.1993
- 21 47. Lion M, Ono Y, Kai S, as well as milk xanthine
22 oxidation of flavonoids on cytochrome c reduction by xanthine
23 oxidase Fukumoto M. Effects. *J NutrSci Vitaminol (Tokyo)* 32:
24 635-42.1986
- 25 48. Calo on Ying Li M, et al. Xanthine oxidase and
26 structure-activity relationship and classification of flavonoids
27 as inhibitors of superoxide scavenging. *J Nat Prod* 61:71-6 1998
- 28 49. Frieseneck B, Tsai AG, Allegra C Intagliet micronized
29 purified flavonoid fraction of the implementation of K. orally,
30 ischemia-reperfusion injury, leukocyte adhesion suppresses
31 hamster in vivo observations in the folds. *Int J Clin Exp*
32 *Microcirc* 14: 50-5.1994
- 33 50. Frieseneck B, Tsai A6, Allegra C Intagliet micronized
34 purified flavonoid fraction of the implementation of K. orally,
35 ischemia-reperfusion injury, leukocyte adhesion suppresses

- 1 hamster in vivo observations in the folds. Int J Clin Exp
2 Microcirc 14: 50-5. 1994
- 3 51. Ferrandiz ML Gil B, Sanz MJ, et al. Bakuchiol Effect on
4 leukocyte functions and some inflammatory responses in mice. J.
5 Pharm Pharmacol 48: 975-80.1996
- 6 52. Bennett JP Gomperts BD, Wollenweber of natural
7 flavonoids is without mast cells and neutrophils secreted E.
8 preventive effects. Arzneimittelforschung 31:433-7.1981
- 9 53. Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular
10 basis for the Intagliet Daflo K. 500 mg activity. Int J Clin Exp
11 Microcirc; 15 (Suppl): 17-21.1995
- 12 54. Middleton EJ, immune and inflammatory Kandaswa my C.
13 Effect of flavonoids on cell functions. Biochem Pharmacol
14 43:1167-1179.1992
- 15 55. Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids
16 activity and arachidonic acid metabolism inhibition. Agents
17 Actions, 32:283-8.1991
- 18 56. Kerry NL Abbey phenolic compounds derived from
19 fragmented red wine and red wine, in vitro, inhibit oxidation of
20 low density lipoprotein. Atherosclerosis, 135: 93-102 1997
- 21 57. Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on
22 ischemic renal damage Effect: a new class of renoprotective
23 agents. 1 Transplantation 66:147-52.1998
- 24 58. Dehmloew C Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer
25 cell functions as an explanation for the hepatoprotective
26 properties of silibinin. Hepatology, 23: 749-54. 1999
- 27 59. Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on
28 ischemic renal damage Effect: a new class of renoprotective
29 agents. Transplantation 66:147-52.1998
- 30 60. Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids
31 activity and arachidonic acid metabolism inhibition. Agents
32 Actions, 32: 283-8.1991
- 33 61. Ferrandiz ML, Nair AG, Alcaraz MJ. Spanish and Indian
34 medicinal herbs Inhibition of sheep platelet arachidonate
35 metabolism by flavonoids. Pharmazie, 45:206-8.1990
- 36 62. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids

- 1 Regelson W. Review of the biology. Food Chem Toxicol 33:1061-
2 1080 1995
- 3 63. Remacle-Volo Damas J Bourdon V G, which are inhibitors
4 of prostaglandin biosynthesis Lecomte, J. Pro- inflammatory
5 flavonoids. Prostaglandins Med Leukot; 19:11-24 1985
- 6 64. Hollman PC, Katan MB. Absorption of dietary flavonoids
7 man, metabolism and health effects. Biomed Pharmacother51: 305-
8 10 1997
- 9 65. Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake,
10 health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937-42.
11 1999
- 12 66. Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone
13 mineral density in older women. Am J Clin Nutr 71: 1003-7 2000
- 14 67. Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al.
15 Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans
16 relative bioavailability. FEBS Lett 418:152-6.1997
- 17 68. Hollman PC, Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de
18 Vries JH, Katan MB. Absorption and distribution kinetics of the
19 dietary antioxidant quercetin man. Free Radic Biol Med 21: 703-
20 7.1996
- 21 69. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH,
22 Katan MB. Adam dietary antioxidant flavonoids quercetin
23 bioavailability., Cancer Lett, 114:139-40.1997
- 24 70. Manach C Morand C Demign C from Texier O Regeat K,
25 rutin and Quercetin Remesy C bioavailability in rats. FEBS Lett
26 409:12-6.1997
- 27 71. Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al.
28 Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans
29 relative bioavailability. FEBS Lett 418:152-6,1997
- 30 72. Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary
31 excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of
32 fruit juice intake on biomarkers. Am J Clin Nutr 69: 87-94.1999
- 33 73. Moroney MA, Alcaraz MJ, Forder RA, Carey F Hoult JR. An
34 anti-inflammatory and related flavonoid aglycone glycoside
35 flavonoids neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase
36 inhibitory selectivity, j. Pharm Pharmacol 40: 787-92..1988

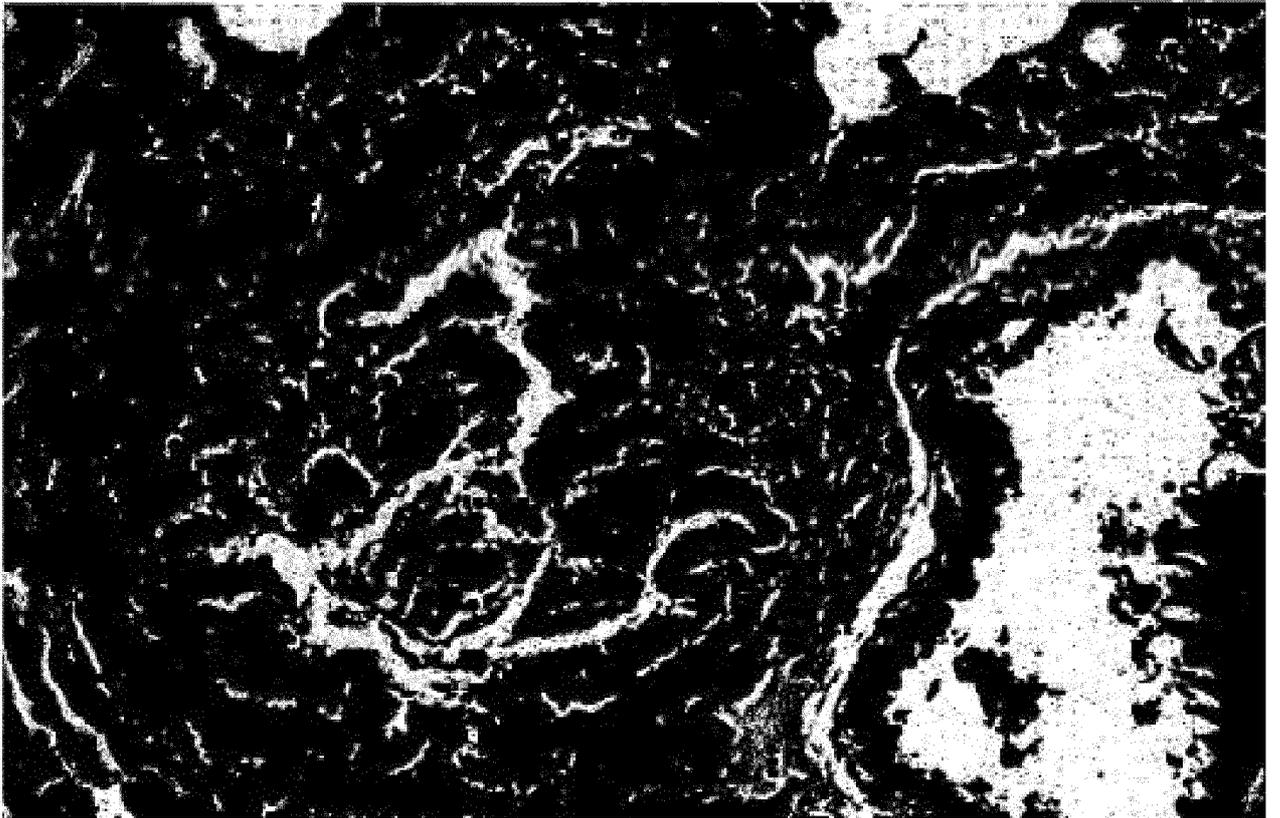
- 1 74. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids
2 Regelson W. Review of the biology. Food Chem Toxicol, 33:1061-
3 1080 1995
- 4 75. Skiboi CF, Smith MT. Potential health impacts of
5 excessive flavonoid intake. Free Radic Biol Med; 29: 375- 83.
6 2000
- 7 76. A Modern Herbal. Pengu. Penguin ISBN 0-14-046-440-9 1984
- 8 77. Mabey. R. Free Food. Collins 1974 ISBN 0-00-219060-5
- 9 78. Okushi K, Matsumoto N, Nanjo K Kohrin T Suzuki M, Hara
10 Y. Absorption of tea catechins into rat portal vein. Biol Pharm
11 Bull; 19: 326-9 1996
- 12 79. Plakas SM, Lee TC, Wolke RE. Rainbow trout (*Salmo*
13 *gairdneri*), the flavonol, quercetin fed absence of overt
14 toxicity. Food Chem Toxicol, 23:1077-1080 1985
- 15 80. Ertruk E Hatcher JF weevil AM. Carcinogenesis and
16 bracken fern Proc quercetin.fed; 43: 2344 (Abstr). 1984
- 17 81. B. Starvic food mutagenic flavonoids. Fed Proc; 43:
18 2344 (Abstr). 1984
- 19 82. Hertog MG, Hollman PC, Katan MB, potentially
20 anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in
21 the Netherlands Kromhout D. Intake. Nutr Cancer 20: 21-9 1993
- 22 83. MG Hertog Aravanis Kromhout D C, et al. Flavonoid
23 intake and coronary heart disease in seven countries study and
24 long-term risk of cancer. Arch Intern Med 155:381-6 1995
- 25 84. Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA
26 damage in man. J Mol Med 1996; 74: 297-312. (Published erratum
27 appears in J Mol Med; 75: 67-8). 1997
- 28 85. Pryor, WA. Cigarette smoke radicals and chemical
29 carcinogens role of free radicals. Environmental Health Perspect
30 1997; 105 (Suppl): 875-82. 1997
- 31 86. P Deneo Boffet Stefani ED-Pellegrini, H., et al.
32 Dietary antioxidants and lung cancer risk: a case-control study
33 in Uruguay. Nutr Cancer 1999; 34:100-10 1999
- 34 87. Wang HK, Xia Yin Yang ZY, Natschi SL, Lee KH.
35 Flavonoids and antitumor, the discovery of analogues as anti-HIV
36 agents and recent advances for improvement. Adv Exp Med Biol;

- 1 439:191-225.1998
- 2 88. Kaul TN, Middleton E Jr, Ogre PL. The antiviral effect
3 of flavonoids on human viruses. *J Med Virol*, 15: 71-9. 1985
- 4 89. Bae EA, Han MJ, Lee M, Kim DH. Rotavirus infectivity in
5 vitro inhibitory effect of some flavonoids. *Biol Pharm Bull*;
6 23:1122-4. 2000
- 7 90. Ng TB, Huang B, Fong WP, Yeung HW. HIV reverse
8 transcriptase inhibitors with special emphasis on the immune
9 anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products.
10 *Life Sci*, 61: 933-49 1997
- 11 91. Vlietinck AJ, De Bruyne T, Apers S, Pieters LA. Plant-
12 derived human immunodeficiency virus (HIV) infection of the lead
13 compound for chemotherapy. *Planta Med* 64:97-109.
- 14 92. Hoult JR, Moroney MA, lipoxygenase and cyclooxygenase
15 Paya M. Actions of flavonoids and coumarins. *Methods Enzymol*,
16 234:443-54.
- 17 93. Tordera Ferrandiz ML Alcaraz MJ ME. Rat neutrophils
18 degranulation and anti-inflammatory effects of flavonoids on the
19 release of arachidonic acid. *Z. Naturforsch [C]*; 49: 235-40.1994
- 20 94. Knektar P Jarvinen R Seppanen R, et al. Dietary
21 flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant. *Am J*
22 *Epidemiol* 146: 223-30 1997
- 23 95. Oikawa T Shimamura M, Ashino, H, et al. Staurosporine,
24 angiogenesis inhibition is a powerful inhibitor of protein
25 kinase. *J Antibiot (Tokyo)* 45:1155-1160.1992
- 26 96. Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell
27 proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived
28 from the diet. *Cancer Res* 57:2916-21.1997
- 29 97. Fan TP, Jaggar R check Bicknell R vasculature:
30 angiogenesis, anti-angiogenesis and vascular targeting of gene
31 therapy. *Trends Pharmacol Sci* 16: 57-66.1995
- 32 98. Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell
33 proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived
34 from the diet. *Cancer Res*; 57: 2916-21 1997
35 Kagit DH. Natural products as angiogenesis inhibitors. *Planta Med* 64:686-95.1998
- 36 99. Paper DH. Natural products as angiogenesis inhibitors.

- 1 Planta Med 64: 686-95. 1998
- 2 100. in the RJ.Gryglews Korbut R Robak J antithrombotic
3 mechanism of flavonoids on Swies, J.. Biochem Pharmacol; 36:
4 317-22.1987
- 5 100. Alcaraz MJ, Ferrandiz ML. Replacement of arachidonic
6 metabolism by flavonoids. J Ethnopharmacol, 21: 209-291987
- 7 101. Tzeng SH, Ko WC, Ko FN, Teng CM. Inhibition of
8 platelet aggregation by some flavonoids. Thromb Res; 64: 91-
9 100.1991
- 10 103. Landolfi R, Mower RL, platelet function, and
11 eicosanoids are by Steiner M. Modification of bioflavonoids.
12 Structure-activity relationships. Biochem Pharmacol; 33:1525-
13 1530 1984
- 14 104. Van Wauwe cyclooxygenase and lipoxygenase activity in
15 human platelets J pristine antioxidants Goossens, J. Effects:
16 comparison with indomethacin and EDY to. Prostaglandins,, 26:
17 725-30.1983
- 18 105. JM ORGOGOZO Dartigues JF Lafont S, et al.yafl wine
19 consumption and dementia: a prospective community study in the
20 Bordeaux region., 153:185 1983.
- 21 106. Commenges D Scotet V Renaud S, Jacq of-Gadda H,
22 Barberg is Dartigues JF-Gateau PE. Flavonoid intake and risk of
23 dementia. EurJ Epidemiol, 16: 357-63. 2000
- 24 107. Arai Y, Watanabe S, kimire M, Shimoda K, Mochizuki R,
25 Japanese women and quercetin intake and plasma flavones by the
26 inverse correlation between the concentration of LDL
27 cholesterol, flavones and isoflavones Kinan N. Dietary intakes.
28 J Nutr 130: 2243 to 50.109, 2000
- 29 108. Lek. 46 (12): 856-60 [Experimental study of possible
30 hypolipemic effect of resveratrol found in red wine and
31 flavonoids in terms of]. Koliar PI, Kotolova H, J Necas, P.
32 Karpisek M Bartosikova L Karesova, 2000
- 33 109. Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary
34 excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of
35 fruit juice intake on biomarkers. Am J Clin Nutr 69:87-94.1999
- 36 110. Lou FQ, Zhang MF, XG Liu Zhang JM, Yuan WL. A study on

- 1 the prevention of atherosclerosis tea pigments. Chin Med J
2 (Engl); 102: 579-83 1989
- 3 111. Mr. Osman, Maalej N, Shanmuganayaga D Folts JD. Grape
4 juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet
5 activity in dogs and monkeys. J Nutr, 128:2307-12,1998
- 6 112. Clinical Nutrition flavonoids 2001 by American Society
7 of action and potential applications^{1,2,3} possible mechanisms
8 Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny AK van Hoorn, Petra G
9 Boelens, classy van Norra and Paul AM van Leeuwen a comment
- 10 113. Baker, John R., biological Microtechnology, Methuen,
11 London, England Policy. 1958
- 12 114. Bosma, without toxic chemicals useful Robin
13 hematoxylin. Histologically, 18 V, No. 1, January 1988
- 14 115. from Flow, D. „ Harris hematoxylin histological, V.21,
15 No.2 oxidant new 1991
- 16 116. Horob RW and Kiernan JA, Connor Biological Dyes, 10th
17 ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK, 2002
- 18 117. Bohm, A. & Opel, A., Manuel de technical microscopiqu
19 Ed. 4 1907
- 20 118. Molnar, LN, Mayer's hematoxylin-eosin method
21 modification. Histologically, there are 6, Number 4, October,
22 1976
- 23 119. Lange, NA, Handbook of Chemistry, Lange, Revised 10th
24 ed., McGraw-Hill.
- 25 120. Clarke, G. and Dodds, HM, Lugol's hematoxylin.Sta
26 Technology, v 58, No. 4, p. 232 1983
- 27 121. McNulty, JM, Kambo is, MJ and Smith, AA, Barrett's
28 esophagus diagnosis of an improved zirconyl hematoxylin use of
29 paint. J. Cell. Mol. Med., A. 8, No. 3, p. 382. 2004
- 30 122. Lillie, RD Histopathologic techniques and practical
31 histochemistry Ed.2 Blakiston, New York, USA, (1954)
- 32 123. (Bryan is done by Llewellyn source for
33 histotechnologists) online (<http://stainsfile.info>)
- 34 124. Pusey modified Mayer's hematoxylin, Journal
35 Histologically, v.2 A, No.2, p.54, Cute Garvey, Mayer
36 hematoxylin stain Modification, histological Journal, v.14,

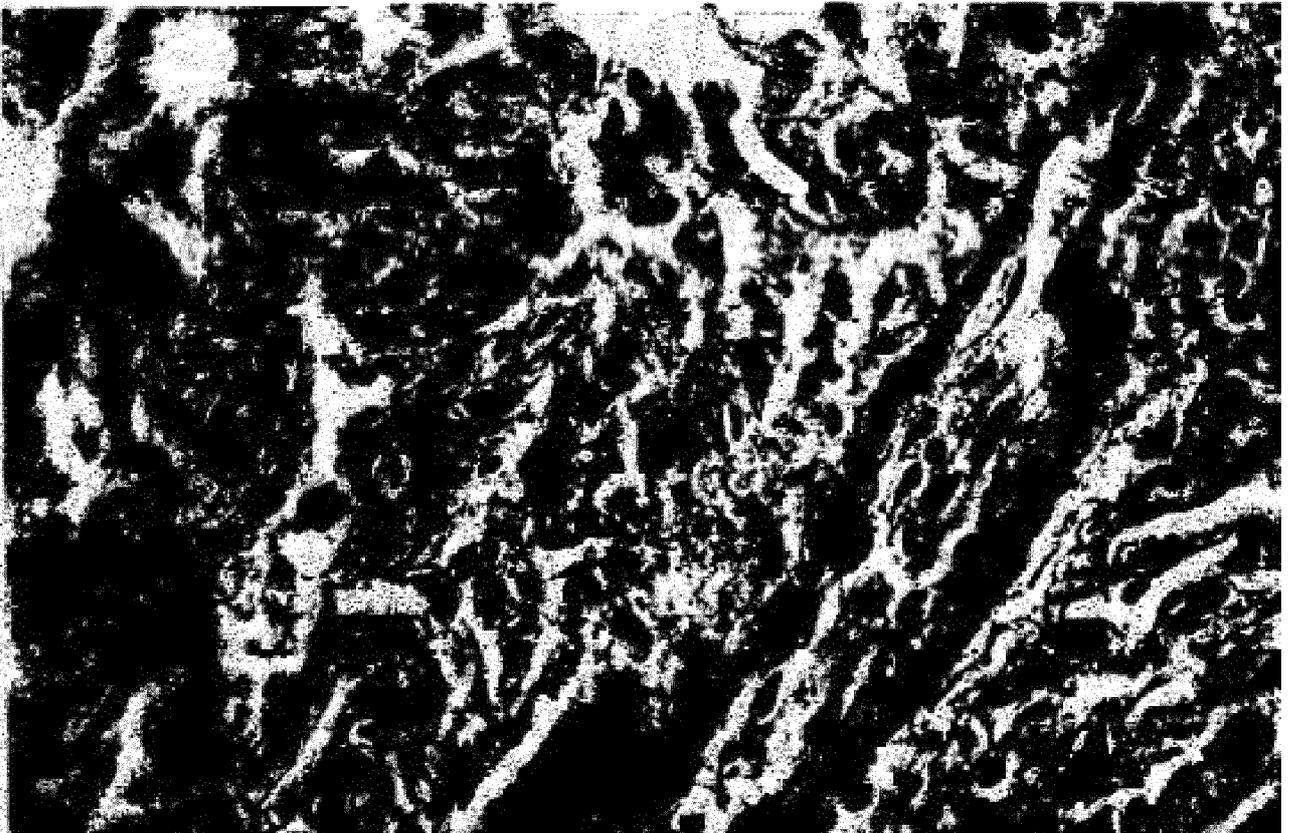
- 1 No.3, p.163,1979
- 2 125. Roach, JB and Allen, A. Bismuth hematoxylin arginine
3 residues. *Biotechnical & Histochemistry*, V.72, N^o 1, p. 49,1997
- 4 126. Smith, AE, a vanadate hematoxylin for basic proteins.
5 *Biotechnical and Histochemistry*, c. 70, n^a 5, p. 5. 1995
- 6 127. Smith, A. acidic mucin, zirconyl hematoxylin staining.
7 *Histochemistry and cytochemistry*, v, 47, pp Magazine. 1645,1999
- 8 128. Cotter, Journal of Pathology and Bacteriology
9 histological purposes, v. 16, p increased SG about double
10 staining 390-398.1912
- 11 129. Bancroft, JD and Stevens A. Theory and practice of
12 histological techniques, Ed. 2 Churchill Livingstone, Edinburgh
13 and London, England. 1982
- 14 130. Hine, Ian F Block with hematoxylin and eosin staining
15 of mammalian tissues. *Stain Technology*, v 56, p 119 1981
- 16 131. Bolles Lee, a.. Gatenby, JB and Beams, HW *Microtomist*
17 Edited by the maturity-Mecum. 11th ed., Churchill, London, UK,
18 1950
- 19 132. Horob RW and Kiernan JA, *Connor Biological Dyes*, 10th
20 ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK 2002
- 21 133. F. A. Putt *Histopathological Staining Methods* John
22 Wiley & Sons, New York, NY FA Manual, USA. Tissue sections 134
23 Harris hematoxylin modification with a double nitrocellulose and
24 paraffin embedded. *Histologically*, there are 5, No. 1, January,
25 1975
- 26 135. Culling CFA, *histopathological techniques*, 2nd ed CFA
27 Handbook. Butterworths, London, 1963
- 28 136. Demonstration techniques.*Histolojik*Cook, H C.
29 Butterworths, London, England, 1974
- 30 137. Drury, R.A.B. and Wallington, EA *Carleton's*
31 *histological technique*, Ed. 5 Oxford University Press, Oxford,
32 1980
- 33



1

2

Фигура 1



3

4

Фигура 2

5

Переводчик Барсова Роза

1 E-mail: emeraldrose85@gmail.com

2 Тел. 8 916 1141825

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Настоящее изобретение относится к составу красителя для тканей и клеток и молекуле, специфической для ядер клеток.

2. Способ по п.1, где состав получают из *Papaver rhoeas* (мака).

3. Способ по п.2, где содержит высокое количество нового активного и функционального биофлавоноида.

4. Способ по п.1, где красители клеточного ядра в биологических тканях, в частности, применяют для диагностики.

5. Соединение по п.3, где молекулярный анализ представлен на фигуре 1.

6. Соединение по п.5, где названием молекулы является 5-гидрокси-2-(3-(тетрагидро-6-(тетрагидро-3,4,5-тригидрокси-6-метил-2Н-пиран-2-илокси)метил)-2Н-пиран-2,3,4,5-тетраол)-4-метоксифенил)-7-метокси-4Н-хромен-4-он.

7. Соединение по п.6, являющееся флаваном с ароматической гетероциклической биохимической структурой.

8. Соединение по п.7, являющееся биофлавоноидом с биохимической конфигурацией, представленной на фигурах 4 и 5.

9. Соединение по п.8, образующее новые комплексы с другими ароматическими гетероциклическими молекулярными структурами и группами.

10. Соединение по п.9, где к нему присоединяют гидроксильную, метильную, водородную R-группу и другие их варианты, молекулы, содержащие 1-12 атомов углерода, алкильную, фторалкильную или фенильную группу.

11. Соединение по п.10, содержащее: NH_2 , OCH_3 , Cl, Br, I и O-НС, присоединенные к другой биологической структуре, демонстрирующей различные фармакологические свойства.

12. Соединение по п.11, где NH_2 , OCH_3 , Cl, Br, I и O-НС могут изменять другие биологические и фармакологические характеристики.

13. Соединение по п.12, где молекула отличается связыванием структуры SxHy , где x и y связаны с одно- или двухзначными числами, которые могут отличаться или быть одинаковыми.

14. Соединение по п.6, где молекула имеет цис- или транс-

конфигурацию.

15. Соединение по п.14, где молекула, содержащая функционально связанные N, O, S, включает C, присоединенный к группам расширения, и присоединенный первично к другим атомам.

16. Соединение по п.15, где молекула, функционально связанная с N, O, S и C, содержит другие группы, третично связанные с другими атомами.

17. Соединение по п.6, где молекула содержит присоединенные алкильные группы (например, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил и т.д.), насыщенные алифатические группы, алкильные группы, включая (изопропил, трет-бутил, изобутил и т.д.) с неразветвленной или разветвленной цепью, алкильными группами с 6 или менее атомами углерода, молекулами и C₁₋₄-алкильными группами, C₁₋₄-алкоксигруппами, аминогруппами, C₁₋₄-группами, включая алкиламиногруппы и C₁₋₄-диалкиламиногруппы, циклоалкильные (фенильные, нафтильные), арильные группы, гидроксильные группы, цианогруппы, галогены, нитрогруппы, арилалкилы и циклоарилалкилы.

18. Соединение по п.6, где молекулу соединяют с флуоресцентными красителями для диагностики, такими как 5-карбоксихлорофлуоресцеин, 6-карбоксихлорофлуоресцеин, 5,6-карбоксихлорофлуоресцеин, 6-карбоксихлоро-2',4,4',5',7,7'-гексахлорофлуоресцеин, 6-карбоксихлоро-2',4,7,7'-тетрахлорофлуоресцеин, 6-карбоксихлоро-4',5'-дихлоро-2',7'-диметоксихлорофлуоресцеин, флуоресцеин-5-изоцианат (FITC), нафтофлуоресцеин, 5-карбоксихлородамин, 6-карбоксихлоро Radon's, 5,6-дихлорофлуородамин, родамин 6G, тетраметилродамин, X-родамин, Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 405, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 500, Alexa Fluor 514, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 635, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, BODIPY FL, BODIPY TMR, BODIPY 493/503, BODIPY 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650, BODIPY 650/665, метоксикумарин, NPV.

19. Способ по п.6, где молекулу, ее производные и

сопутствующие синергические молекулы применяют для окрашивания ядра клетки в гистопатологии.

20. Способ по п.19, где состав предназначен для детекции наличия злокачественных и метастатических клеток.

21. Способ по п.20, где состав применяют для оценки и диагностики в биоптатах опухоли, тонкоигольных биоптатах, мазках, смывах, образцах, полученных хирургическим путем, образцах, полученных после хирургической операции, и образцах, полученных другими инвазивными и неинвазивными способами, и образцах биологических материалов.

22. Способ по п.21, где биологические образцы получают из человека, животных, растений и микроорганизмов.

23. Способ по п.22, где биологический образец получают из прокариот, архей или эукариот (например, насекомых, простейших, птиц, рыб, пресмыкающихся), млекопитающих (например, крысы, мыши, коровы, собаки, осла, свиньи, кролика) или примата (шимпанзе или человека).

24. Способ по п.23, где белки, углеводы или нуклеиновые кислоты в физиологической жидкости (например, крови, плазме крови, сыворотке или моче) и выделенных органах, тканях, фракциях, клетках, срезах органов или тканей используют в качестве биологических образцов *in vivo* или *in vitro*.

25. Способ по п.24, где предшественник красителя получают посредством прессования и фильтрации жидкой фракции, полученной из лепестков.

26. Способ по п.25, где свежие, сухие или замороженные лепестки используют для получения предшественника жидкой фракции красителя

27. Способ по п.25, где 0,1-10% об. жидкого предшественника преобразовывают в сухой порошок краситель.

28. Способ по п.25, где мочевины, серная кислота, HCl, уксусная кислота, муравьиная кислота являются синергическими молекулами и связывают молекулу с другим атомом и органическими и неорганическими молекулами.

29. Способ по п.21, где состав комбинируют с эозином в качестве контркрасителя, четко окрашивающего слои ткани,

мембраны, полоски мышц, внутрицитоплазматические, внутриядерные структуры.

30. Способ по п.29, где состав окрашивает структуры нейроглии.

31. Способ по п.28, где состав содержит антиоксиданты в качестве фиксатора.

32. Способ по п.31, где количество и типы растворителей или окислителей, протравок и кислот отличается от другого состава.

33. Способ по п.32, где состав применяют в автоматизированном или ручном способе.

34. Способ по п.28, где состав предназначен для применения для биологических образцов, таких как микроорганизмы, грибы, бактерии, для исследования эффектов вирусных заболеваний в тканях и клетках.

35. Способ по п.6, где порошковую или жидкую фракцию в виде эмульсии, суспензии или покрытых сахаром пилюль, таблеток, капсул или мягких желатиновых капсул, используют в соответствии с целью и упаковывают в масло.

36. Соединение по п.35, где путями введения являются пероральный, назальный, ректальный, вагинальный, трансуретральный, интраперитонеальный, внутривенный, местный путь или введение в кровоток и полости тела, и трансдермальный путь.

37. Способ по п.33, где способы, оборудование и методология являются теми же, что и в общепринятых способах, и они не требуют каких-либо дополнительных инвестиций для использования в больницах.

38. Соединение по п.6, где фосфаты ДНК в ядрах и другие связывающие белки вместе с комплексами металлов образуют более сложные структуры.

39. Способ по п.6, где Price в связывании ДНК в ядре, сопровождающемся фосфатами металлов, и белковый комплекс DG, состоит из структур.

40. Способ по п.33, где составы модифицируют, как другой краситель и состав.

41. Способ по п.33, где изменяют растворитель, тип

протравных производных, количество окислителя и антиоксиданта и получают различные составы.

42. Способ по п.33, где биологические образцы фиксируют формалином и спиртом.

43. Способ по п.40, где для окрашивания используют замороженные образцы клеток и тканей.

44. Соединение по п.6, где синтезируют новые молекулы витамином.

45. Соединение по п.6, функционирующее как (1) Т-клеточный активатор, (2) антиоксидант, (3) противодиабетическое средство, (4) снижающее холестерин средство, (5) противонекротический фактор, (6) противовоспалительно средство, (7) антидепрессант, (8) циторедуктивное средство, (9) средство для профилактики деменции, (10) средство для регенерации ткани, (10) средство для профилактики или терапии злокачественных новообразований, (11) гипотензивное средство, (12) противовирусное средство, (13) средство для лечения ВИЧ, (14) средство для лечения нарушений функций тромбоцитов, (15) для лечения атеросклероза, (16) для лечения сердечно-сосудистого заболевания.

46. Способ по п.40, где (1) 5 г красителя и 50 г протравы (сульфата алюминия) используют для регрессивного окрашивания (соотношение 1/10) и (2) 1 г красителя и 50 г протравы (сульфата алюминия) используют для прогрессивного окрашивания (соотношение 1/50).

47. Способ по п.40, где добавление 5 г кислоты к 100 г протравного красителя обеспечивает регрессивное окрашивание (соотношение составляет 1/20, рН должен составлять 2,3-4).

48. Способ по п.40, где состав для прогрессивного, промежуточного, регрессивного окрашивания, граммы на литр состава и (3) содержит 1-2 г, 2-4 г, 5-6 г на литр, соответственно.

49. Способ по п.46, где протравами являются один или несколько металлов, таких как железо, висмут, медь, молибден, ванадий и цирконий.

50. Способ по п.49, где для протравы можно выбирать сульфат алюминия, сульфат аммония-алюминия, ацетат алюминия, нитрат

алюминия и сульфат калия-алюминия.

51. Способ по п.48, где при более низкой концентрации красителя при постоянной концентрации протравы наблюдают более высокую селективность в отношении ядер.

52. Способ по п.49, где реакцию протравы и красителя, являющихся "лакообразующими", ускоряют посредством нагревания.

53. Способ по п.50, где 50 г протравы, 1 г красителя на один литр растворителя имеют рН приблизительно 2,9.

54. Способ по п.52, где раствор красителя также применяют для детекции металлов в ткани по причине его аффинности к металлам.

55. Способ по п.32, где используют окисление посредством йодата натрия, гипохлорита кальция (отбеливателя), пероксида водорода, USP, перманганата калия, феррицианида калия, йодида натрия, оксида цинка, периодата калия и гипохлорита натрия.

56. Способ по п.55, где неактивные производные накапливаются и осаждаются по причине избыточного окисления.

57. Способ по п.40, где кислоту добавляют к раствору красителя (1) для повышения срока годности, и (2) для корректировки рН, и (2) также на использованном красителе для повышения селективности в отношении ядра.

58. Способ по п.57, где кислота и антиоксидант предотвращают испарение или осаждение.

59. Способ по п.40, где, в дополнение к растворителю и протраве, может содержать два или более антиоксиданта, гидрохинон и п-пропилгаллат.

60. Способ по п.59, где добавляют водорастворимую антиоксидантную добавку в качестве растворителя или воду, низший спирт, такой как этанол, и полиол, где полиолы включают глицерин, этиленгликоль, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, если на один из или несколько больше.

61. Способ по п.60, где используют растворители, такие как этанол, циклодекстрин, криптанды, кавитанд, краун-эфир, нигерицин, валиномицин, гидрохинон, п-пропил, такой как п-октил и п-додецил), N-алкилгаллаты; восстанавливаемые сахара, такие как сорбит и маннит; бензоаты и гидроксibenзоаты; сульфиды и

метабисульфит; лимонную кислоту, яблочную кислоту, малеиновую кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, эриторбиновую кислоту, аскорбиновую кислоту, мочевую кислоту, дубильную кислоту, и Mg^{2+} , $nh_4.sup.$, соли кислот, таких как +, кислоты, $Na.sup.+K.sup.$

62. Способ по п.61, где добавляют противомикробное средство азид натрия Proclin 300®, Proclin 150®, Proclin 200® и Proclin 950®, ингибирующие рост микроорганизмов.

63. Способ по п.54, где раствор красителя хранят в контейнере, имеющем масляный слой сверху, и отбирают со дна пипеткой.

64. Способ по п.55, где для естественного созревания бутылки неплотно закрывают ватой, чтобы сделать возможным кислородный обмен.

65. Способ по п.48, где образец помещают на стекло, нанося краситель на 5-30 минут.

66. Способ по п.65, где стадии являются следующими 1. обработка ксилолом, 2. регидратация (с использованием спирта), 3. осуществление, 4. промывка водой, 5. дифференциация, 6. 7. 8. промывка водой с синим окрашиванием, 9. промывка спиртом, 10, 11, 12. дегидратация эозином (с использованием спирта), 13. очистка водой и ксилолом.

67. Способ по п.65, где для синего окрашивания используют 0,1% раствор аммония в течение 5 минут.

68. Способ по п.66, где синего окрашивания достигают с помощью (1) нашатырного спирта (pH 9-10), (2) 0,1-1% раствора карбоната лития, (3) 0,5% ацетата натрия, (4)% бикарбоната натрия и (5) раствора Скотта.

69. Способ по п.68, где избыточный краситель удаляют с помощью 70% этанола, содержащего слабую кислоту, такую как (1) 1% соляная кислота, (2) 0,1% лимонная кислота, (3) 2-5% уксусная кислота, и (4) для этой цели добавляют протраву.

70. Способ по п.69, где состав для прогрессивного окрашивания демонстрирует более селективное окрашивание ядер, в то время как фон кажется более чистым.

71. Способ по п.69, где способ отличается высокой концентрацией красителя (например, 5 г/л), обеспечивающей регрессивное окрашивание фона и муцина.

72. Способ по п.66, где комбинирование эозина в течение 45 секунд или 1 минуты в случае Price позволяет выделить цитоплазматические структуры.

73. Способ по п.66, где избыток эозина очищают (1) водой, (2) толуолом, (3) и ксилолом (4) трет-бутанолом.

74. Способ по п.6, где присоединяют другие молекулы, такие как производные криптанов, производные kriptif, производные кавитантов, эфирные производные, производные дендримеров, производные нанотрубок, наночастицы, производные каликсаренов, производные валиномицина и их тонкодисперсные производные, содержащие модификации, и один или несколько компонентов из нигерицина и производных молекул и/или коровая группа или другая группа, соединенная с гидроксильной группой других молекул, и сами молекулы упорядочивали по атому водорода альдозного кольца. - F, - Cl, - Br, - I, нитрогруппы, такие как ацетильные группы, алкильные группы, арильные группы, тозилные группы, мезильные группы, аминогруппы, такие как первичные, вторичные, третичные и четвертичные, соединяют с ацильной группой, такой как галогеновые группы, фосфор-содержащие, например, две или более гидроксильные группы подряд или другие молекулы, фосфатная и алкилфосфатная группа, серосодержащие группы, например, сульфат, сульфат, и сложноэфирные группы и мостиковая группа, соединяющая альдегидные группы, такие как, кетоновые группы, оксимные группы, карбоксильные группы и их производные, карбонатные и карбаматные группы являются кремнийсодержащими группами, группой, состоящей из бора, группы олова, железо, молекулы, группы, содержащие калийсодержащие молекулы и группы. По изобретению, алюмоаммониевые квасцы, сульфат алюминия, алюмокалиевые квасцы, ацетат алюминия, хлорид кальция, алюминия нитрат, железо, аммоний сульфат, сульфат железа (II), ферроцианид калия, феррицианид калия, хлорид железа (III), медь ацетат, железоаммиачные квасцы, хлорид алюминия, нитрат висмута, фосфомолибденовая кислота или молибденовая кислота.

75. Способ по п.66, где для гистохимического окрашивания образцов, окрашенных гематоксилином, используют модификации, такие как гематоксилин по Гиллу, гематоксилин Андерсона, способом де Грута, по Бейкеру, Bennett, гематоксилин Бемера, Vosma, гематоксилин Балларда, по Карацци от Coca Cola, по Debi, гематоксилин Делафильда, по Дювалю, гематоксилин Эрлиха, по Фридлиндеру, Gadsden's, Gage, Galigh is, по Гарви, по Грэму, по Мартиноцци, по Митчелу, гематоксилин Майера, по Массону, по Манну, по Мэллори, McLachlan, раствором Люголя, Lillian, по Ли, по Лонуа, по Ланжерону, Krutsay, по Кляйненбергу, Horneyold, Naug, по Гамильтону, гематоксилин Гарриса, Гарриса-Пауэра, по Хаугену, по Мольнару, Paramiltiades', Pusey most, по Равитцу, по Reddy и Sasser, по Шморлю, Sliders', по Унна, по Уотсону, по Вейгерту, по Райту и Андерсону, Cretin, по Форе, по Гольдману, по Ганзену, по Гейденгайну, janss the, по Кефаласу, Krajan, Krutsay, по Ла Манну и Эрлу, More & Bassal, по Мюррею, Raquin и Goddard, по Рего, по Розас, Seidel Thomas', по Вейгерту, по Ясвоину, Roach & Smith. протравленный медью гематоксилин Бенсли, по Куку и Форе, протравленный ванадием гематоксилин Hedenham McNulty и по Смит и Смит.

76. Способ по п.66, где комбинируют следующие другие красители для тканей и клеток: акридиновые красители, антрахиноновый краситель, арилметановые красители, азокрасители, диазониевые красители, можно комбинировать такие красители, как нитрокрасители (в конкретных автоматизированных способах применения), фталоцианиновые красители, хинониминные красители, тетразолиевые красители, тиазоловые красители и ксантеновые красители. Образцы краски для гистологического окрашивания, уксусная кислота, кислотный желтый, 1 сульфонат кислого гудрона, 22 blue 93, кислый фуксин, кислотный зеленый, кислотный, кислотный, 1 зеленый 5, кислотный красный, кислотный оранжевый 10, кислотный красный 4, кислотный красный 26, кислотный, кислотный, кислотный красный 29, кислотный красный 44, кислотный красный 51, кислотный красный 66, кислотный красный 73, кислотный красный 87, кислотный красный 91, кислотный красный 92, кислотный красный 94, 101 красный 103, acid rosea the acid

Rubin, кислотный фиолетовый 19, кислотный, кислотный, 1 кислотный желтый, 9 кислотный желтый, 23 кислотный желтый, 24 кислотный желтый, 36 желтый, желтый 73, кислотный желтый S, кислотный желтый T, акридин, акрифлавин, альциановый синий, альциановый желтый, растворимый в спирте эозин, ализарин, ализариновый синий, ализариновый синий 2RC, ализарин-кармин, ализарин-цианин BBS ализарин-цианин R, ализариновый красный S, ализарин-пурпурин, оксид алюминия, амидочерный 10B, красный аминафтаол, амидочерный, анилиновый синий WS, мов, антраценовый Let G azoeo blue SWR, антраценовый синий SWX, аурамин 0, азо-эозин, азокармин B, азокармин G, азоевый диазокраситель 5, азоевый диазокраситель 48, азофлоксин, синий азокраситель, темно-синий, азур B, азур C, основной синий 8, the basic foundation, 9 основной синий, 12 blue foundation, 15 blue foundation, 17 blue foundation, 20 blue foundation, 26 blue brown one, basically you Fusch, basic, 4 основной красный, 5 основной красный, 2 основной зеленый, orange 14, основной зеленый 5, basic essentials, 9 красно-фиолетовый 2, основной фиолетовый 4, основной фиолетовый 10, основной фиолетовый 14, basic essentials, 1 желтый желтый 2, Biebrich R, коричневый Бисмарк Y, Brazil, Brazil, shiny Cros, криллиантовый кристаллический алый 6R, Бибрих Скарлет, кальциевый красный, кармин, карминовую кислоту, кармуазин 6, целестиновый синий B, китайский синий, хлорановый прочный красный 5B, красный, blue coelest, голубой Чикаго 4B, хромовый фиолетовый CG, 2 хромотроп, chromox until cyanine R, конго-коринф, конго красный, синий для хлопка, красный для хлопка, кроциновый красный 3D, Crocker's red Moon, sketch, кристаллический Понсо 6R, кристаллический красный, кристаллический фиолетовый, красновато-фиолетовый, бриллиантовый зеленый B, прямой синий 14, прямой синий 58, конго красный Крокера 28, конго красный, 10 конго красный, 7 прямой желтый, 81 конго красный, 80 красный, синий 4 дюралол, синий 8G, эозин желтоватый, эозин Y, эозин B, синеватый эозин, эозин, дюралол, эри гранатовый B, эриохром к цианину R, эритрозин B, этилэозин, этиловый зеленый, этиловый фиолетовый, синий Эванса, прочный синий B, прочный зеленый FCF, прочный красный B, прочный желтый,

прочный желтый экстра, прочный желтый G, масляный черный NB, флуоресцеин, пищевой зеленый 3, galleon, галламиновый синий, генциан-фиолет, желтый, лиссаминовый прочный желтый 1, INT, кермес, кермесовая кислота, ядерный прочный красный, Lac, лаккаевая кислота, фиолетовый LAUTH, светло-зеленый, ингарин, 1 blue to root, quickly rub the BBL, швейцарский синий, фиолетовый Хоффмана, гидразиновый желтый, имперский красный, лиссаминовый зеленый SF, прочный синий люксол, маджента, 0, маджента II, маджента II, маджента III, малахитовый зеленый, манчестерский коричневый, желтый Марциуса, лиловый, мов, мербромин, меркурохром, метаниловый желтый, метиленовый синий метилен азур В, метиленовый синий С, метиленовый синий, метиленовый зеленый, метиловый синий, метиловый зеленый, метил-фиолетовый, метил-фиолетовый 2В, метил-фиолетовый 10В, валочный желтый 3G, синяя протрава 3, синяя протрава 10, синяя протрава 14, синяя протрава 23, синяя протрава 32, 4 натуральная красная протрава, синяя протрава 45, 11 красная протрава, 3 25 красно-фиолетовый, пурпурно-фиолетовый 39, нафталиновый синий, черный, нафтоловый синий, черный, нафтоловый зеленый В, нафтоловый желтый S, 1 натуральный черный, натуральный красный, натуральный красный 3, natural scenic 28 натуральный красный, 25 натуральный красный, 24 натуральный красный, 16 натуральный красный, 8 красный, желтый 6, NBT, нейтральный красный, get new фуксин, ниагарский синий 3В, темно-синий, нильский голубой, нильский голубой а, нильский голубой сульфат, нильский красный, нитро ВТ, тетразолиевый голубой, ядерный прочный красный, масляный красный О, оранжевый G, orcein, парарозанилин, фиолетовый Перкина, флоксин В, пикриновая кислота, Понсо 2R, Понсо 6R, Понсо В, Понсо de you xylem, Понсо S, Ponta небесно-голубой 5В, бледно-желтый, primula to, пурпурин, пиронин В, G пиронин Y, родамин В, розанилин, пиронин, OR, красный R в красном, шарлах R, шеллак, сириус красный F3В, сириус красный 4В, сафранин, Bengal, шафрановый розовый, сириус синий выше F3, солохром к цианиновому R-растворимому синему, растворитель; 3 растворитель черный, 38 растворитель синий, 23 растворитель красный, 24 растворитель красный, 27 растворитель красный, 45 красный, желтый 94,

спирторастворимый эозин, судановый III, судановый IV, судановый черный В, судановый красный ВК, сернистый желтый S, швейцарский синий, тартразин, S тиюфлавин Т, tion, blue, толуидиновый красный толуол, tropaeolum G, трипафлавин, тиюфлавин, уранин, трипановый синий, виктория голубой 4, виктория голубой В, виктория голубой R, виктория зеленый В, вода или водорастворимый эозин синий, red woodsta, ксилидин Понсо, эозин желтоватый и их комбинации.

77. Способ по п.66, где для комбинации используют другой контркраситель, такой как эозин Y, оранжевый G, светло-зеленый SF, желтовато-коричневый Бисмарк, прочный зеленый FCF, O-6, EA25, EA36, EA50 и EA65.

78. Способ по п.77, где ткани при комбинировании с контрастным красителем эозином окрашиваются следующим образом. (1) коллаген; бледно-розовый цвет, (2) мышечная ткань; темно-розовый, (3) ацидофильная цитоплазма; красный, (4) базофильная цитоплазма; фиолетовый, (5) ядра; темный фиолетово-синий, (6) эритроциты, красный.

79. Соединение по п.6, где соединяют пептиды, антитела против белков, полинуклеотиды нуклеиновой кислоты, ДНК, РНК или аптамеры, полисахариды (например, лектины, сахара), липиды, ферменты, ингибиторы подгрупп ферментов, лиганды, рецепторы, антигены, гаптены, лиганды, антитела против антигенов, фрагменты антитела, лигированные с мишенью и мостиком, получая различные признаки.

80. способ по п.79, где органические и неорганические флуоресцентные материалы и полупроницаемые наночастицы можно соединять для способов иммуногистохимического окрашивания.

81. Соединение по п.8, где производные и синергические молекулы используют в качестве (1) пищевого красителя, (2) красителя для протезов и шовного материала, (3) в качестве красителя для виноделия, (4) в качестве экологически чистого защитного продукта для текстиля, (5) красителя для военной формы по причине их малого веса, (6), в производстве сенсоров, (7) в нанотехнологии для синтеза наночастиц, (8) в качестве индикатора, (9) в технологии мониторов для плазменных

телевизоров, (10) для получения чернил для принтеров, (11) в косметической промышленности в качестве активного вещества или красителя, (12) в фармацевтической промышленности, (13) в растительных, пищевых, пероральных добавках и получении капсул и напитков.

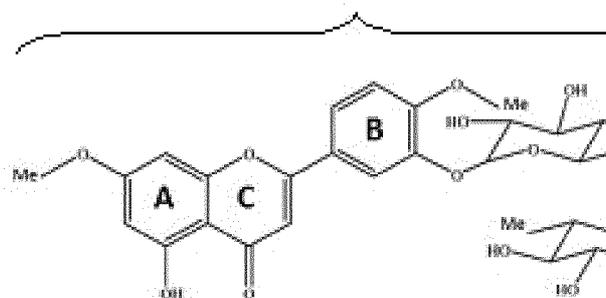
82. Соединение по п.8, где различные типы устройства для введения, применение и состав, относящиеся к этой молекуле, считают результатом настоящего изобретения.

По доверенности

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ,

ПРЕДЛОЖЕННАЯ ЗАЯВИТЕЛЕМ ДЛЯ РАССМОТРЕНИЯ (по 34 ст. РСТ)

1. Молекула для окрашивания ядер в тканях и клетках (CAS № 1834534-73-4), отличающаяся тем, что ее синтезируют из биофлавоноид-дисахаридного комплекса, получаемого из экстракта *Paraver rhoeas* с оптимизацией



Флавоноидгликозид=агликон+гликон

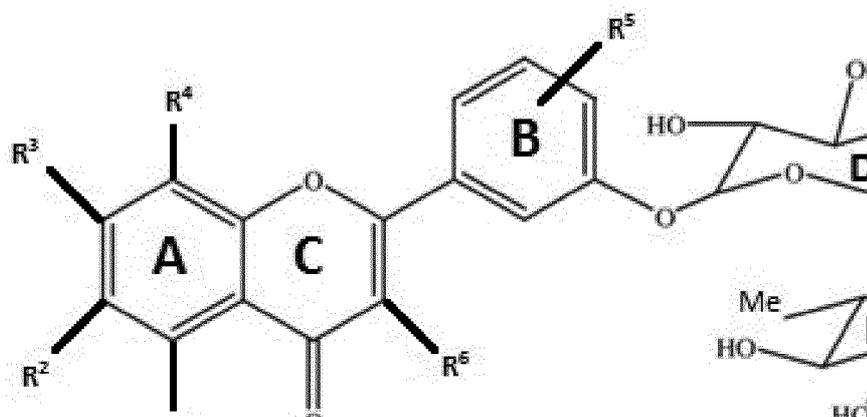
D-глюкозид

(β -D-глюкопираноза)

Рамнозид

(6-дезоксид- α -L-маннопиранозид)

Флавоноид (агликон) Дисахарид (гликон)



где

Кольцо А; Бензол

Кольцо В; Бензол

Кольцо С; Гетероциклический пиран

Кольцо D; D-глюкозид (β -D-глюкопираноза)

Кольцо E; Рамнозид (6-дезоксид- α -L-маннопиранозид)

R1, R2, R3, R4, R5, R6: положения для химического связывания с клетками и тканями и химическим составом красителя

2. Молекула по п.1, где основу Биофлавоноид-А, кольца В, С (флаван), кольцо D (D-глюкозид) и кольцо Е (рамнозид) выделяют из экстракта *Papaver rhoeas* и повторно присоединяют к основе комплекса биофлавоноида В.

3. Молекула по п.1, где используют упрощенный полусинтез и способ биохимической модификации, приводящие к возможности оптимизации надежных свойств окрашивания ткани и клеток при микроскопической диагностике.

4. Молекула по п.1, где R1, R2, R3, R4, R5, R6, кольцо D и кольцо Е определяют как "положения связывания" молекулы, к которым присоединяют целевые компоненты и структуры биологических тканей и клеток, а также химические вещества в жидком химическом составе красителя, необходимые для (1) нанесения молекулы на ткань и клетку, (2) поддержания эффективности, силы и долговечности состава красителя без изменения самой химической структуры молекулы.

5. Молекула по п.4, где R1, R2, R3, R4, R5, R6, кольцо D и кольцо Е присоединяют к компонентам и структурам клетки и ткани, содержащим углеводы, белки, липиды, пептиды, антигены, антитела, ДНК, РНК и ферменты, подлежащие диагностике.

6. Соединение по п.5, где R1, R2, R3, R4, R5, R6, кольцо D и кольцо Е присоединяют к химическим веществам в жидком химическом составе красителя, являющимся группой сахара, алкильными группами, насыщенными алифатическими группами, спиртами, кислотами, алкалоидами, флуоресцентными материалами, радиоактивными контрастными средствами, наноматериалами, дисперсантами и комплексными соединениями с металлами, как в сопутствующих протравных композициях, для поддержания эффективности, силы и долговечности состава красителя без изменения самой химической структуры молекулы.

7. Соединение по п.6, где молекулу состава красителя для клеток и тканей комбинируют с другими молекулами красителей для клеток и тканей и составом для усовершенствования характеристики окрашивания для микроскопической диагностики.

8. Соединение по п.7, где при комбинировании контрастными красителями для тканей и клеток, такими как эозин, ткани

окрашиваются следующим образом: (1) коллаген; бледно-розовый цвет, (2) мышечная ткань; темно-розовый, (3) ацидофильная цитоплазма; красный, (4) базофильная цитоплазма; фиолетовый, (5) ядра; темный фиолетово-синий, (6) эритроциты, красный.

9. Соединение по любому из пп.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8, где микроскопическая оценка является способом с использованием окрашивания тканей и клеток, используемым для диагностики заболевания и исключения патологий.

10. Соединение по пп.9, где используют автоматизированные или ручные диагностические и/или аналитические способы гистопатологического окрашивания, и оценку осуществляют визуально или посредством компьютерных программ для распознавания образцов.

11. Соединение по п.10, где молекулярный состав красителя включают в иммуногистохимию (IHC), гибридизацию *in situ* (ISH), флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), колориметрическую гибридизацию *in situ* (CISH), цитологические, патологические, флуоресцеиновые технологии и технологии красителей квантовых точек, микробиологические, вирусологические и паразитологические технологии диагностики с помощью красителей.

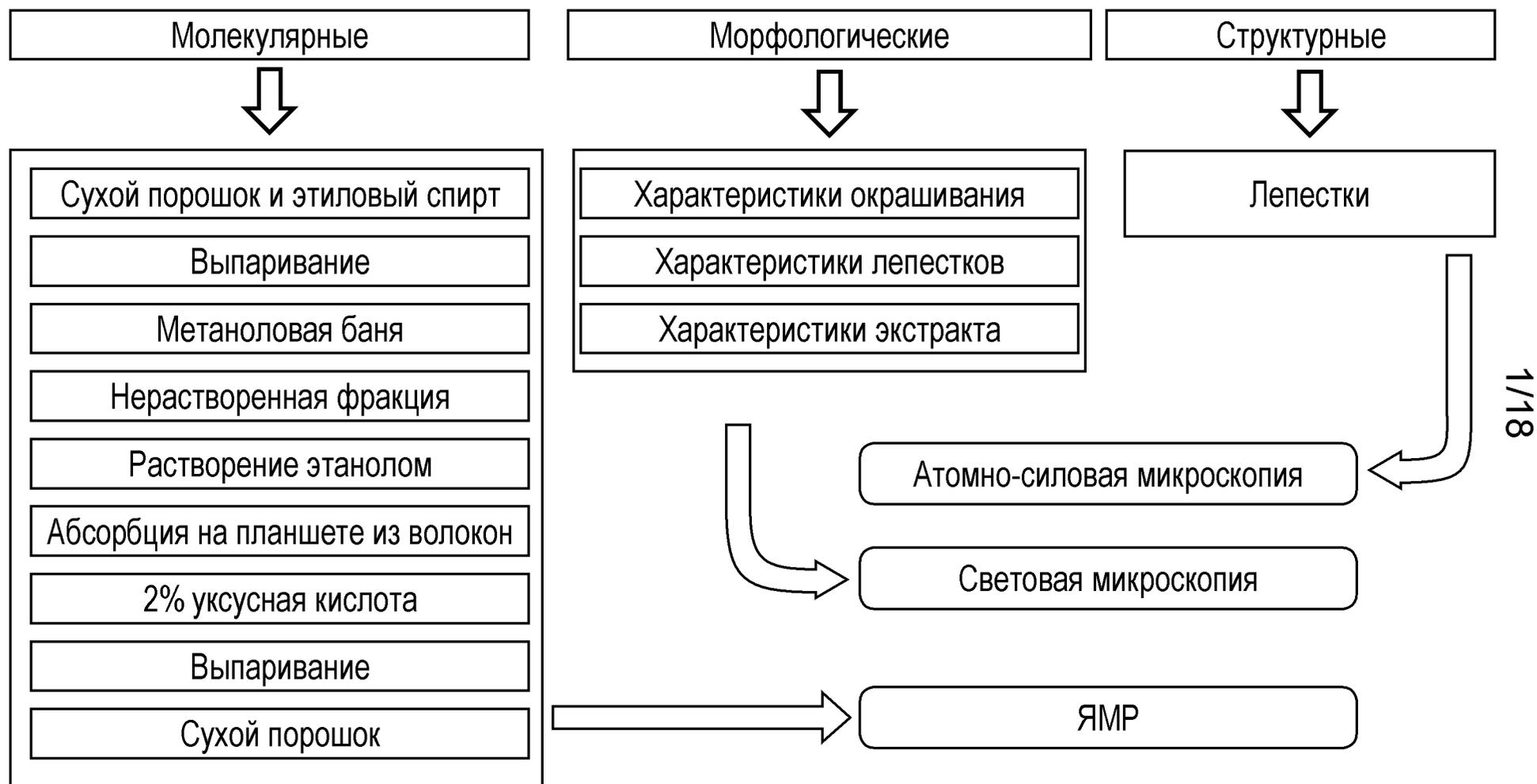
12. Соединение по п.11, где цветовые характеристики молекулы используют в качестве диагностического колориметрического индикатора в ферментативных колориметрических способах и спектроскопии в УФ- и видимой области для дифференциальной диагностики заболеваний и исключения патологий в тераностике.

13. Соединение по любому из пп.9, 10, 11 и 12, где окрашивание ядра клетки используют для оценки и диагностики с помощью биоптатов опухолей, тонкоигольных биоптатов, мазков, смывов, образцов, полученных хирургическим путем, образцов, полученных до, во время и после хирургической операции и других образцов, полученных другими инвазивными и неинвазивными способами, и выделенных и/или замороженных образцов и витальных и невитальных биологических материалов.

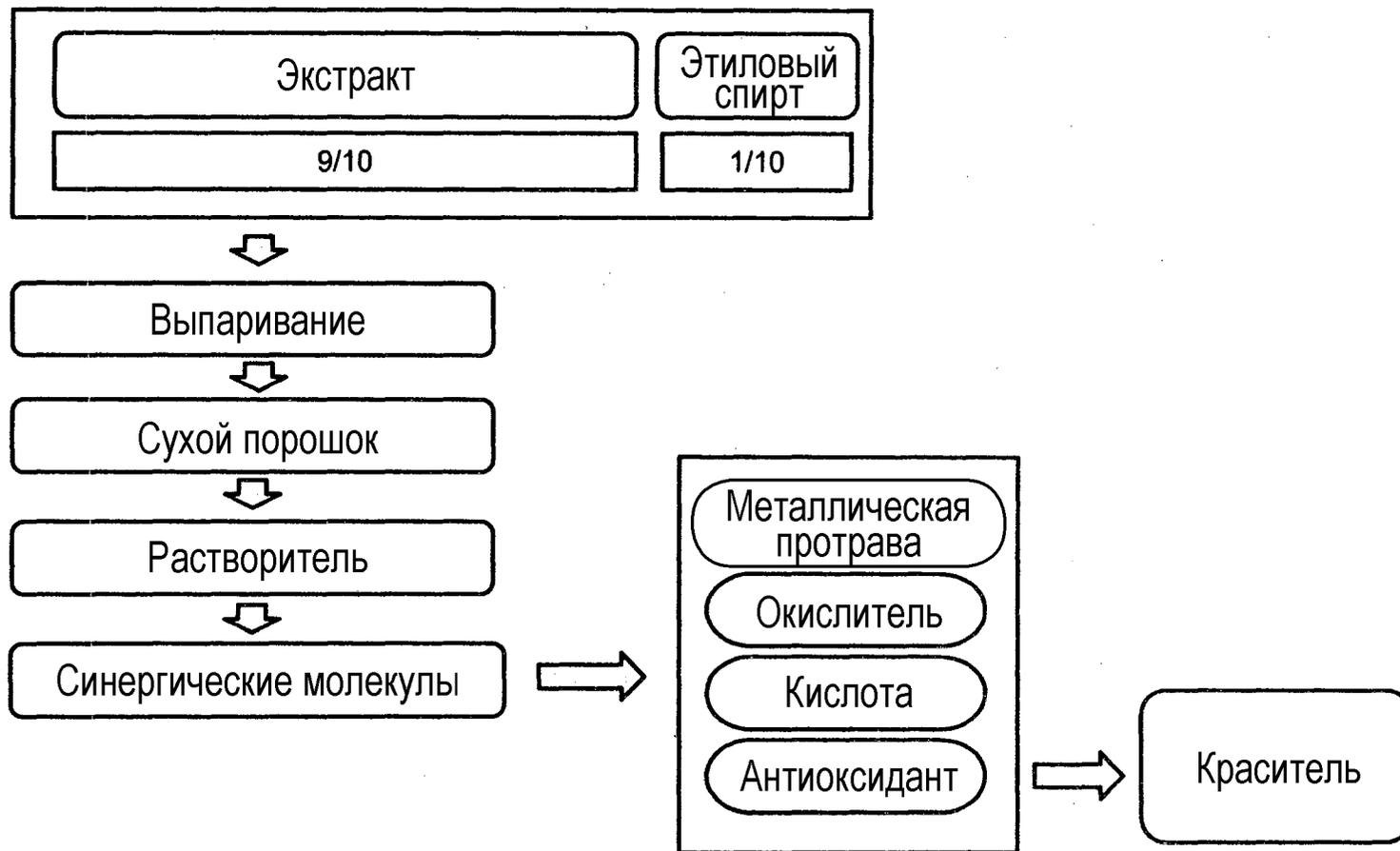
14. Соединение по п.13, где для диагностического окрашивания биологические образцы получают из человека,

животных, растений, окружающей среды и микробиологических источников.

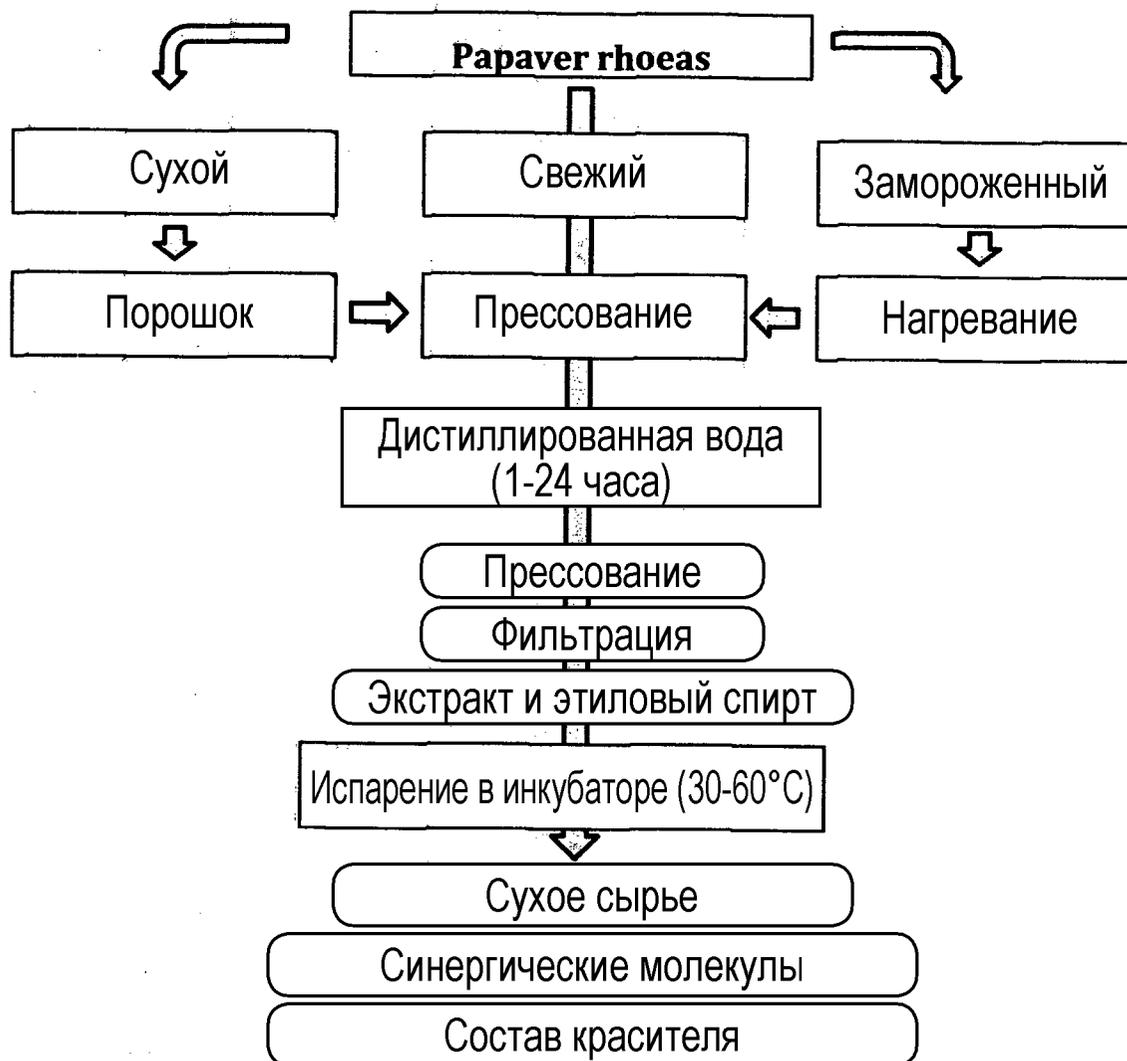
ФИГ. 1 Способы, используемые в разработке состава из *Paraver rhoeas*



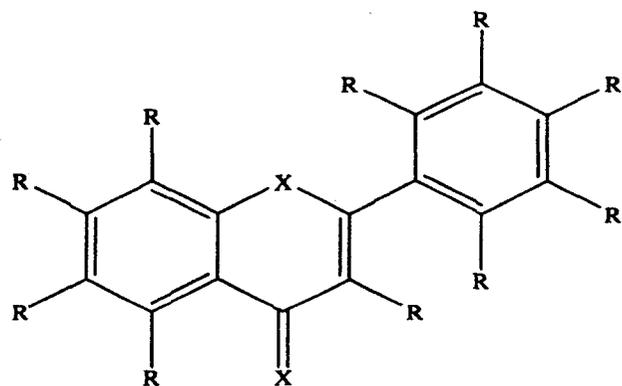
ФИГ. 2 получение предшественника состава из *Paraver rhoeas*



ФИГ. 3 предшественник состава красителя из *Papaver rhoeas*

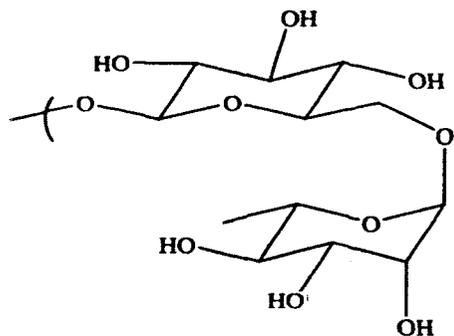


ФИГ. 4 цис-транс-конфигурация молекулы из *Paraver rhoeas*

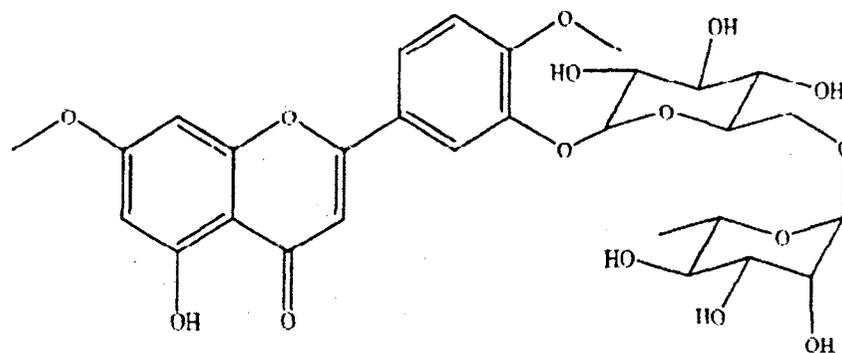


X=N,O,S,C

R=H,OH, NH₂, Cl, Br, I, F, O-CH₃, (любой алифатический комплекс)

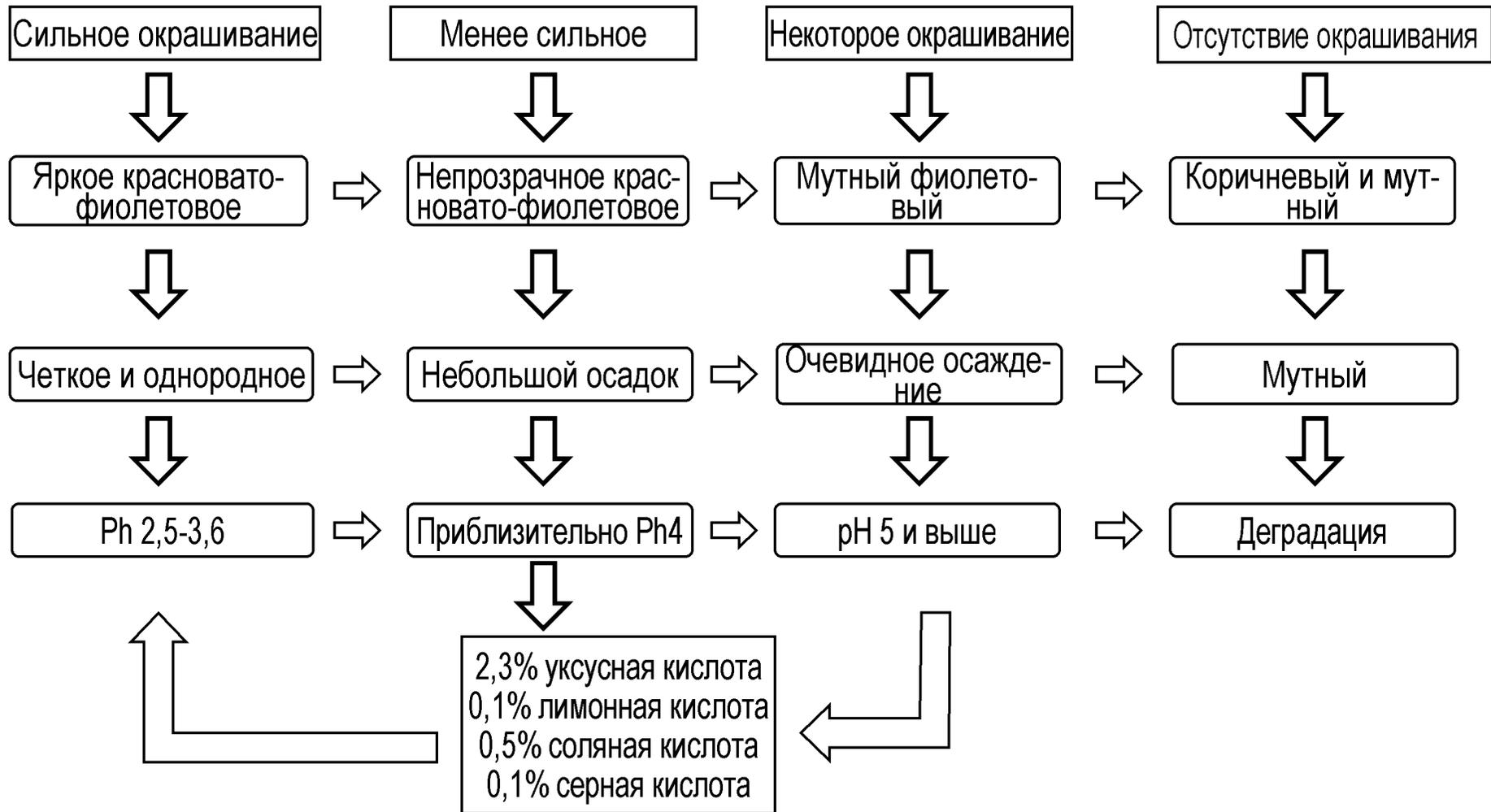


ФИГ. 5 Название и конфигурация молекулы из *Paraver rhoeas*

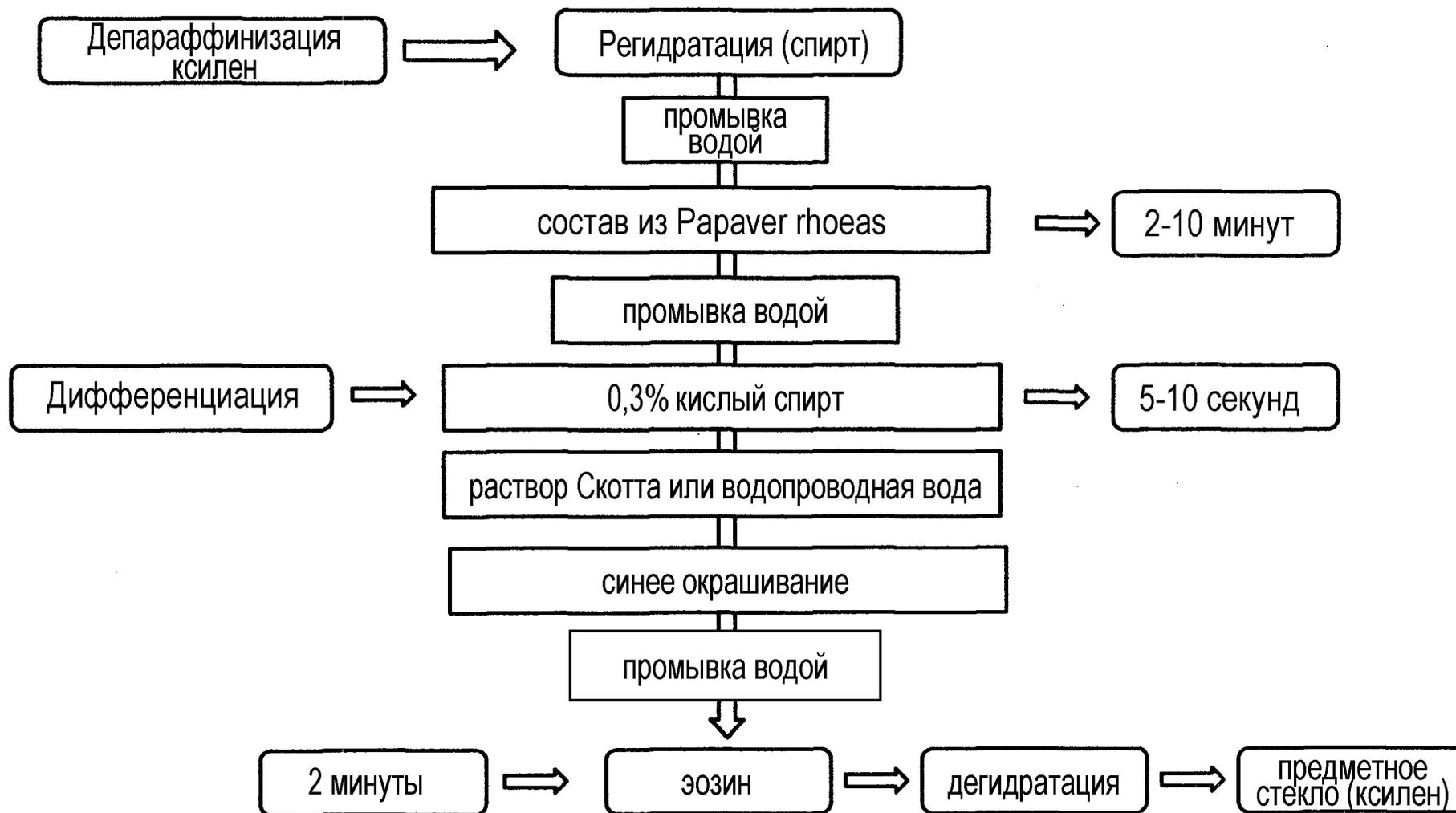


5 - гидрокси-2-(3 - (тетрагидро-6 - ((тетрагидро-3,4,5-тригидрокси-6-метил-2H-пиран-2-илокси) метил) - 2H-пиран-2,3,4,5-тетраол)-4-метокси-фенил)-7-метокси-4H-хромен-4-он

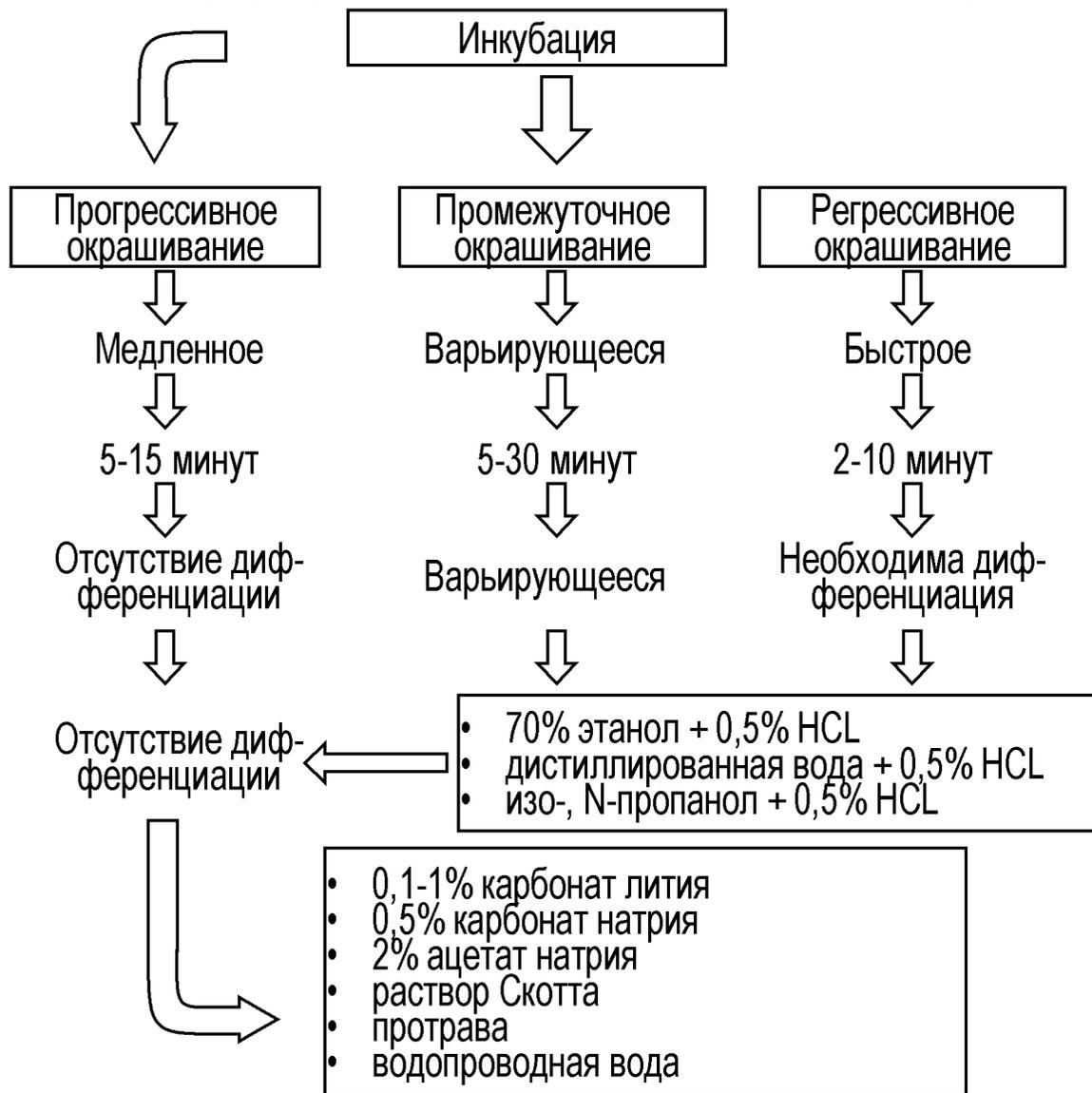
ФИГ. 6 степени окрашивания составом из *Paraver rhoeas*



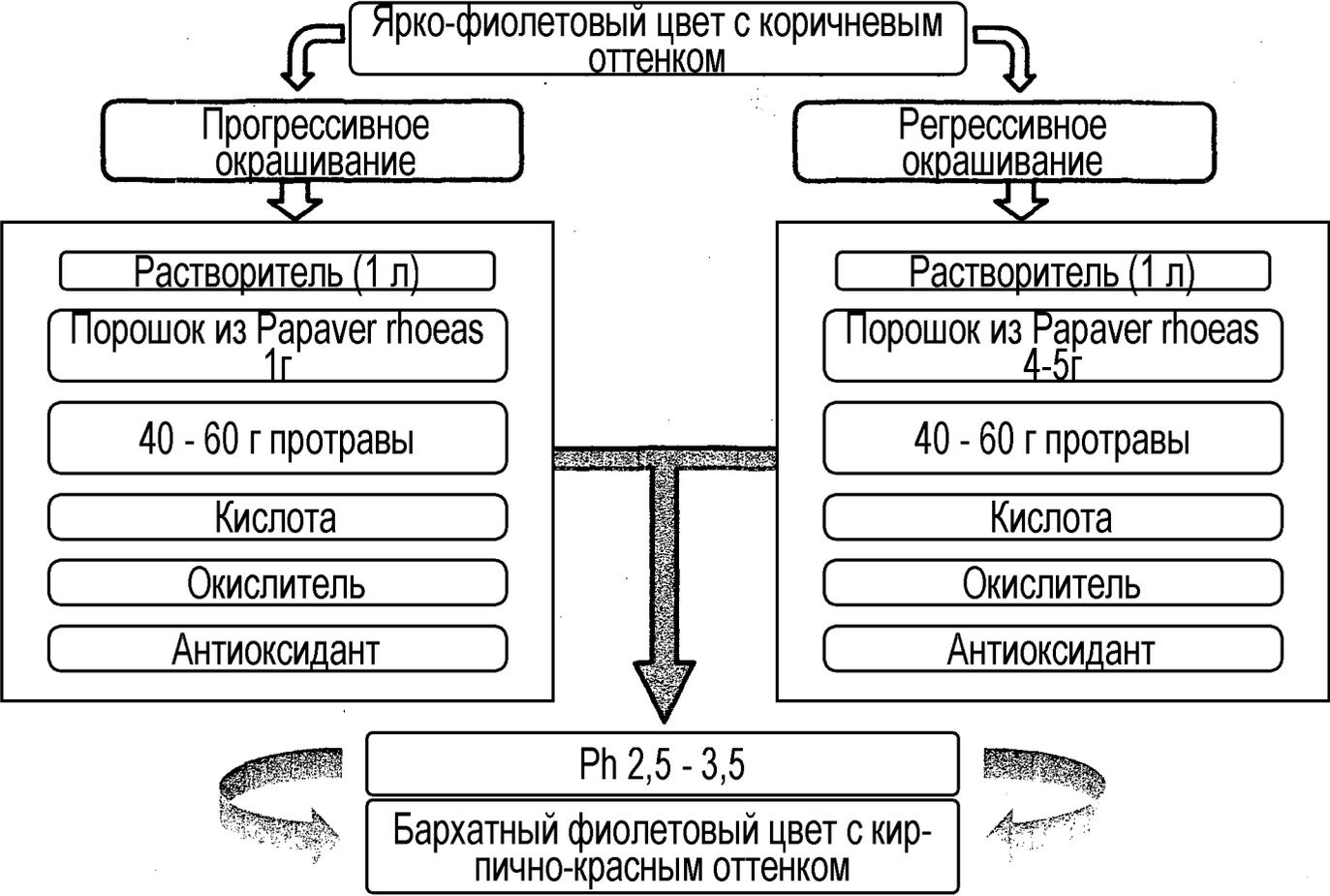
ФИГ. 7 методология окрашивания составом из *Paraver rhoeas*



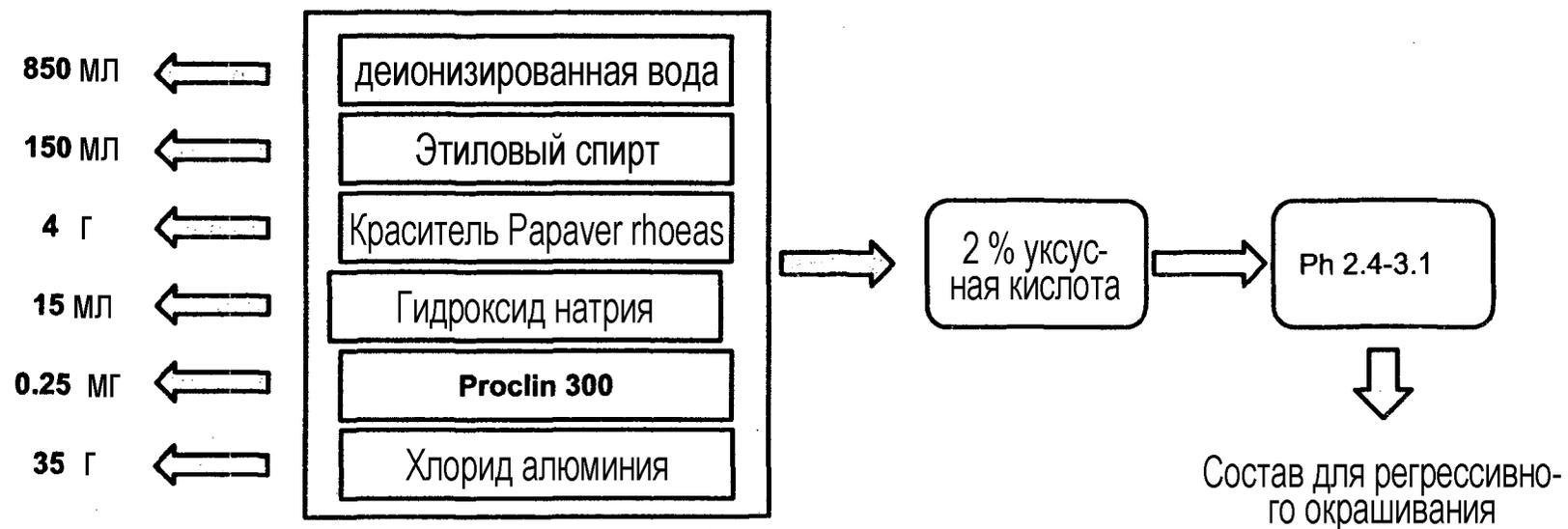
ФИГ. 8 Дифференциация состава из Paraver rhoeas

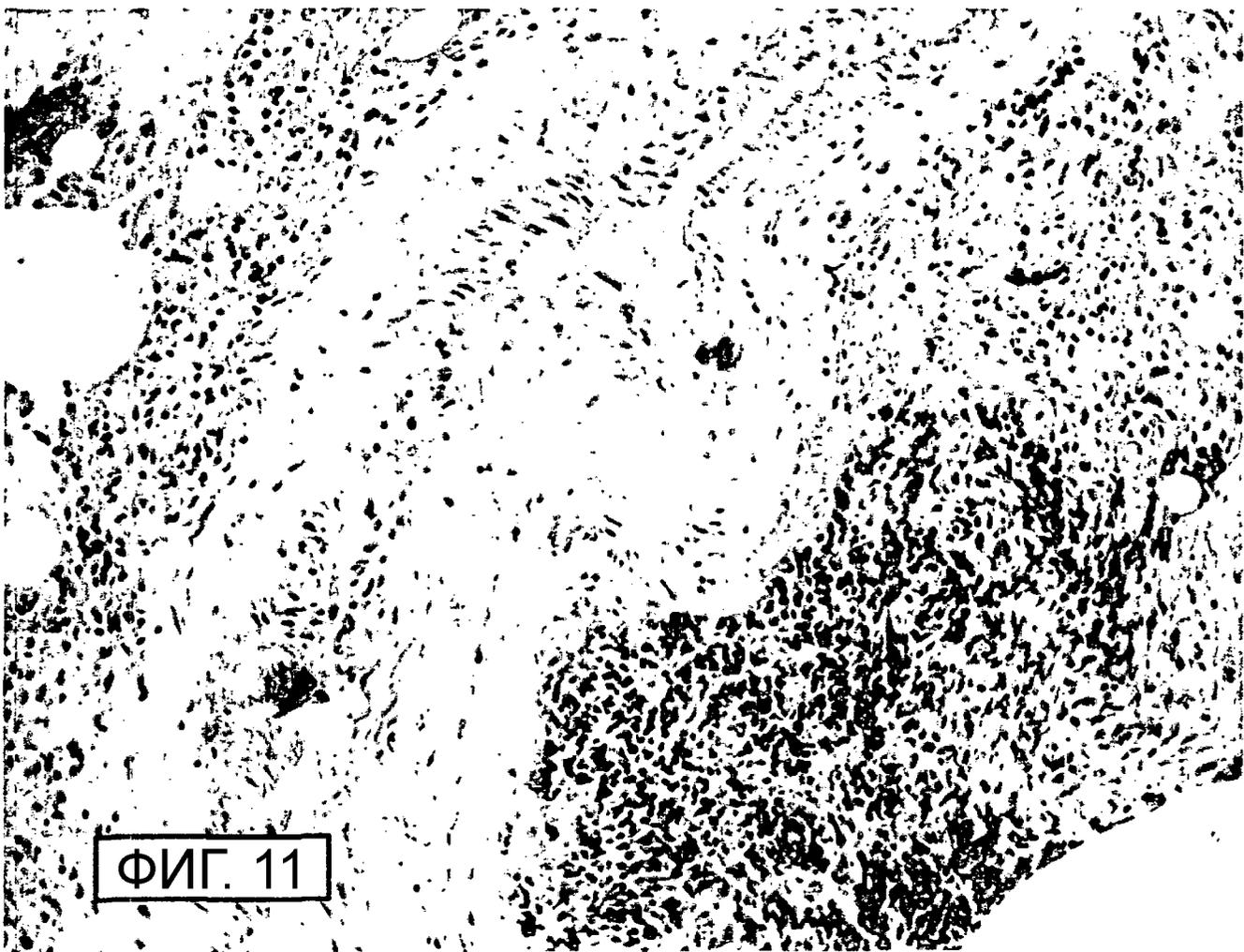


ФИГ. 9 Профиль окрашивания составом из *Paraver rhoeas*

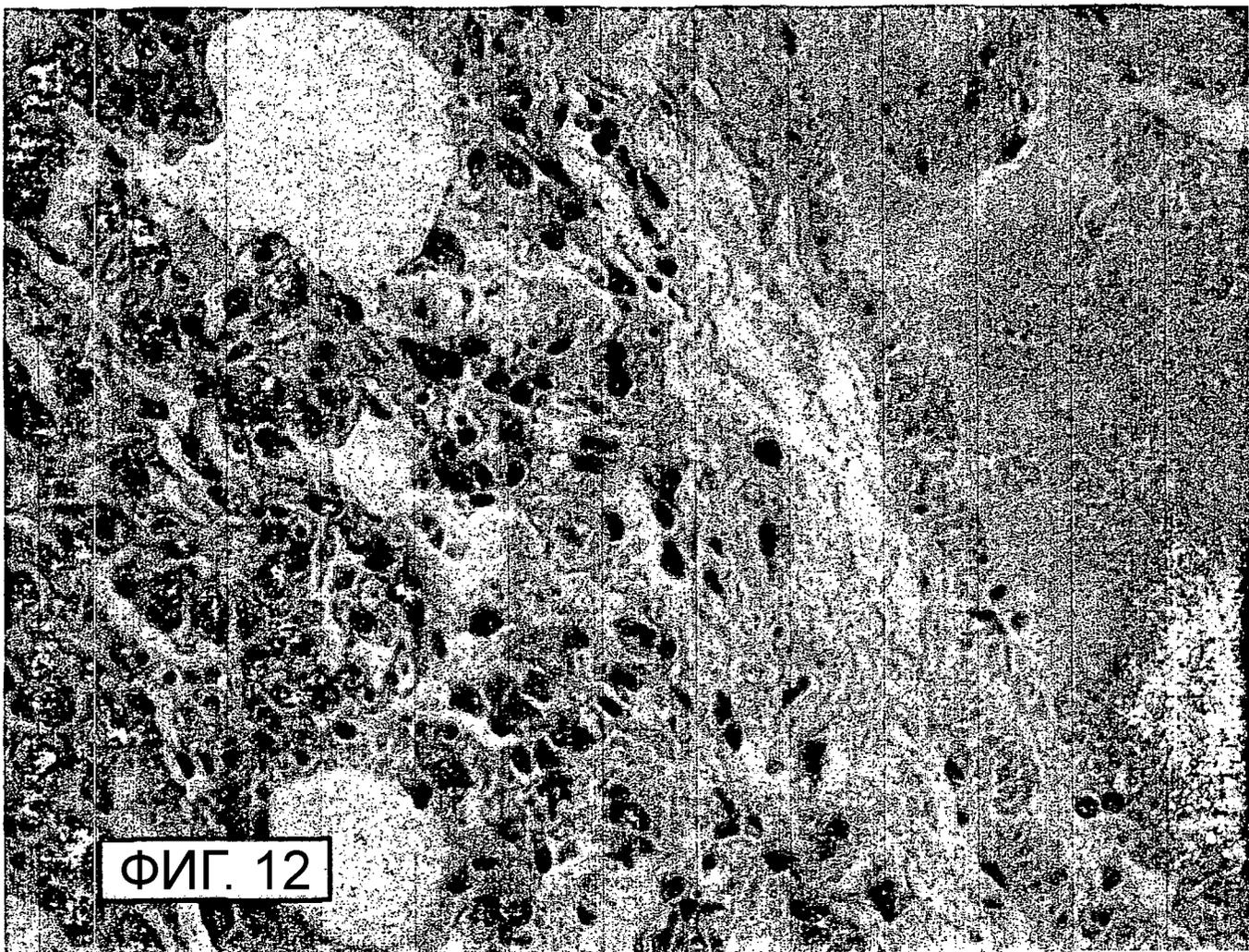


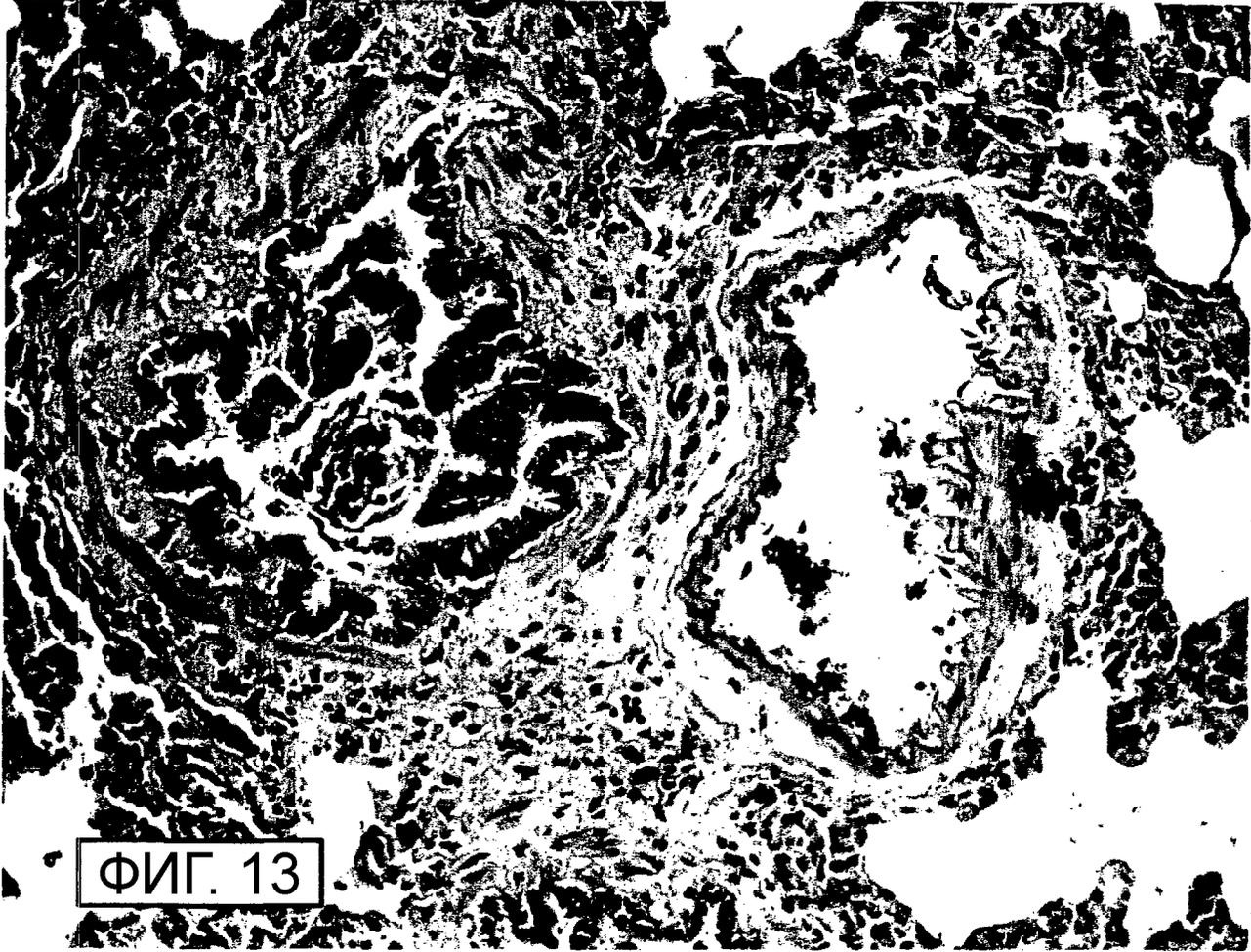
ФИГ. 10 Состав красителя из клеточной ткани из *Paraver rhoeas*

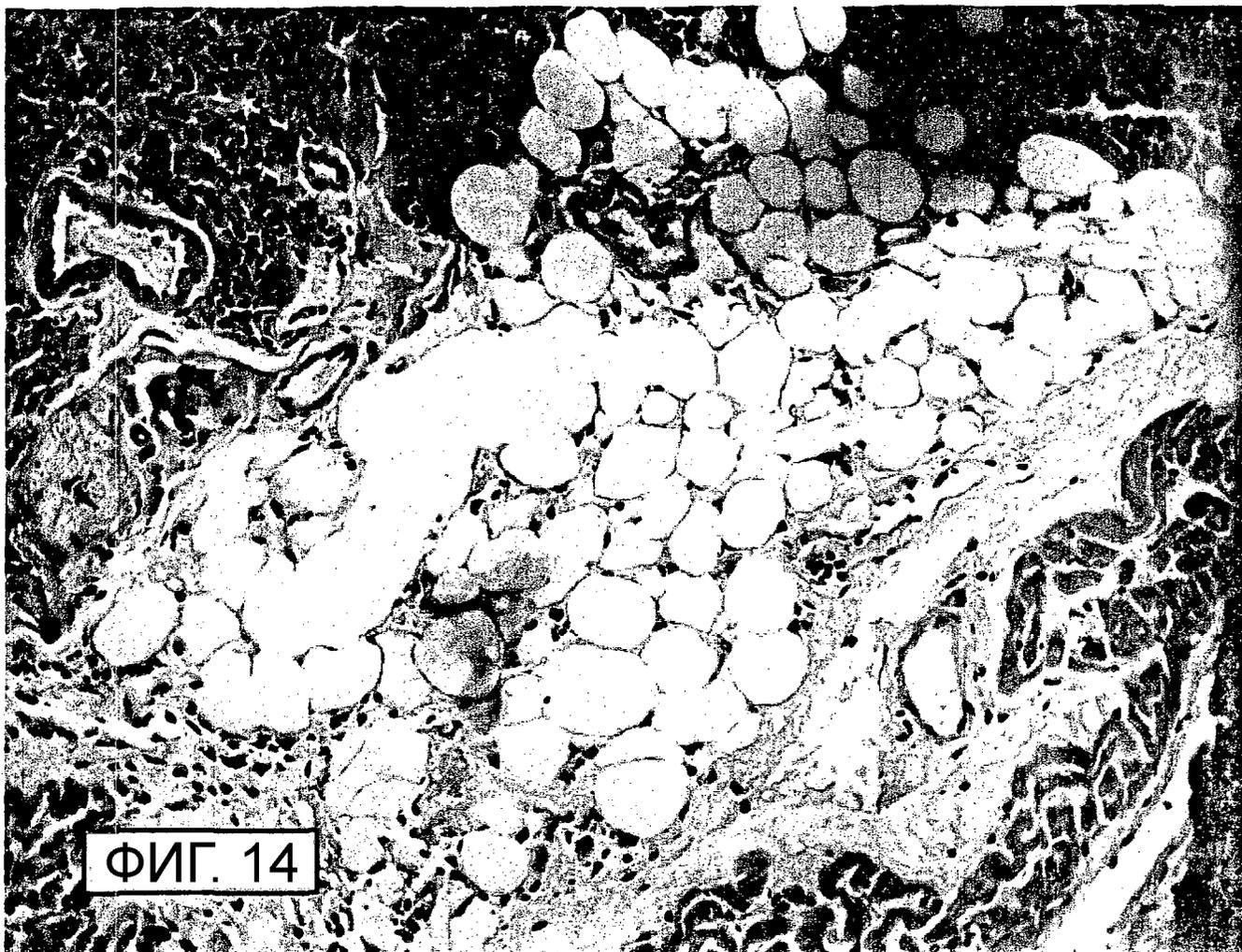




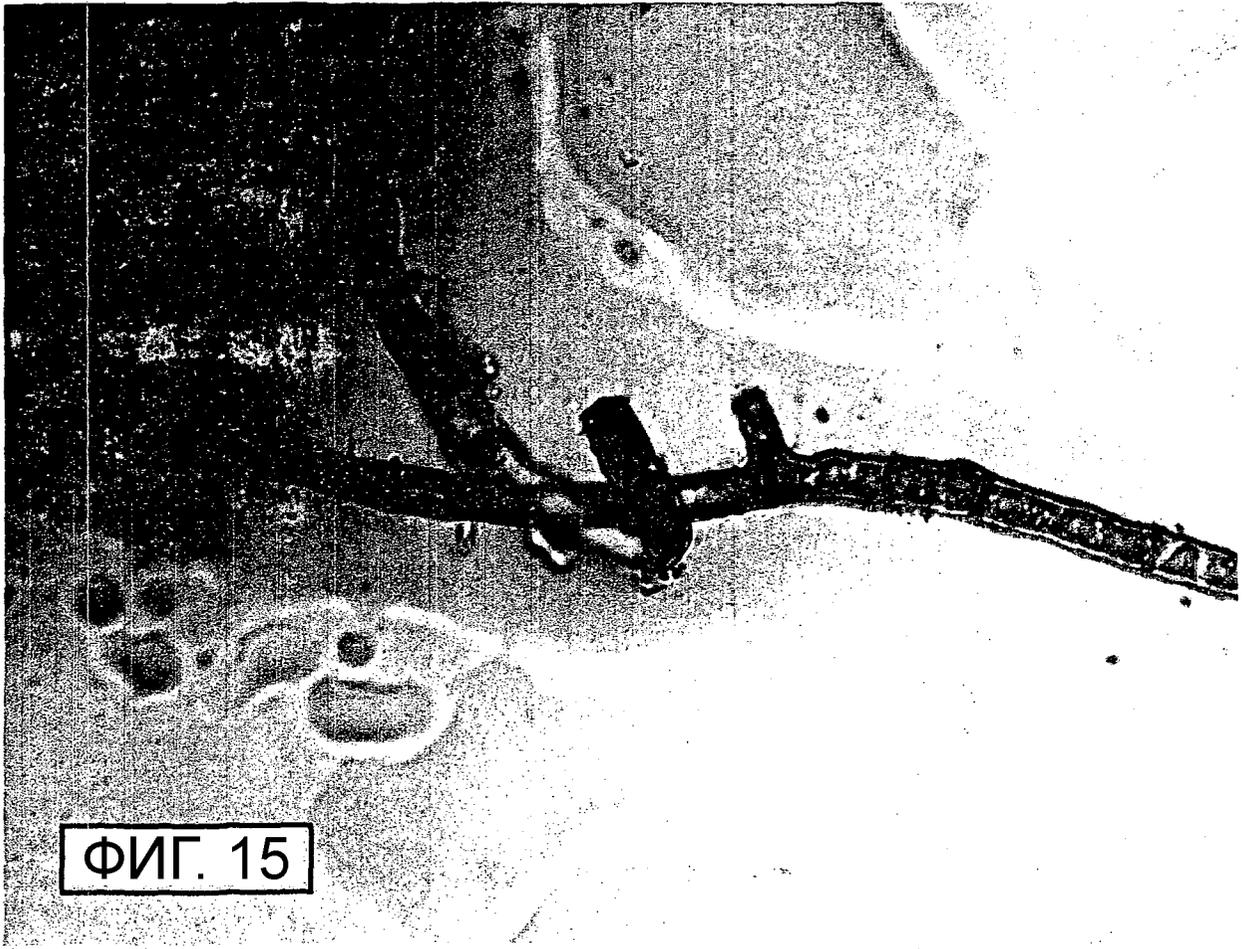
ФИГ. 11



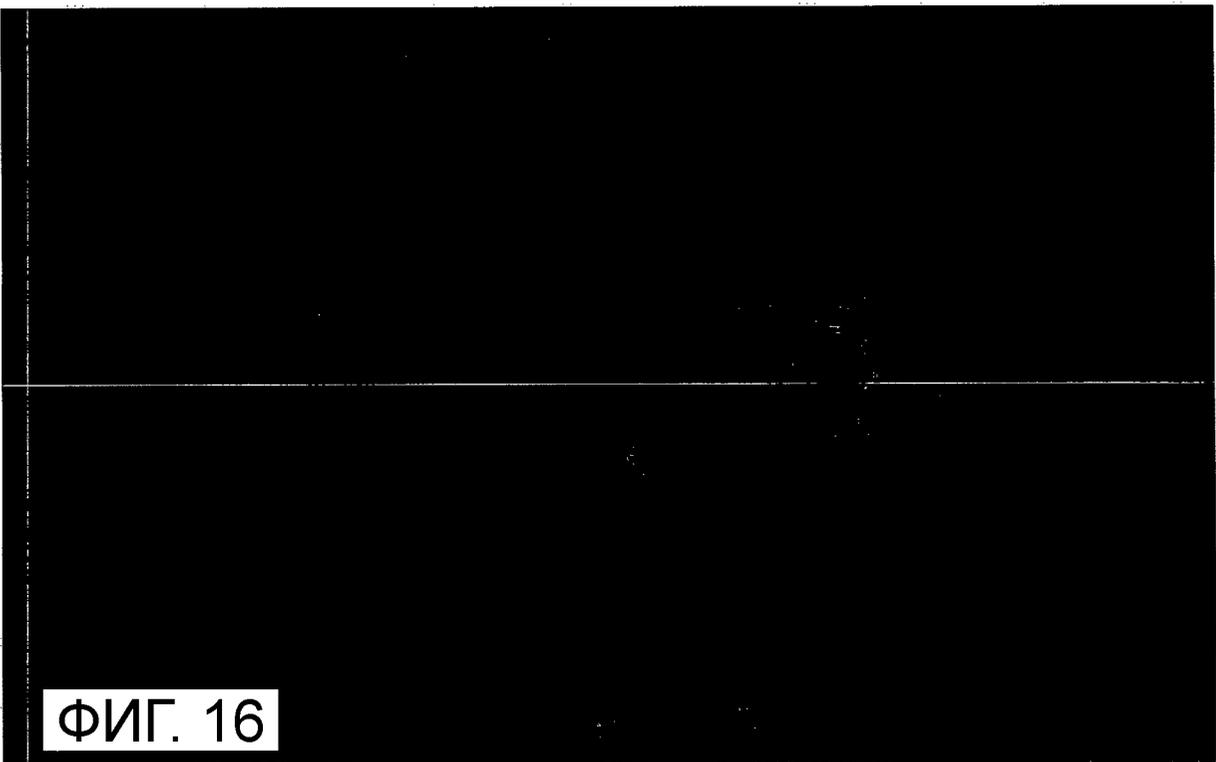




ФИГ. 14



ФИГ. 15



ФИГ. 16

ФИГ. 17 Атомно-силовая микроскопия
цистернальные структуры в лепестках с водным со-
держимым



ФИГ. 18 результаты ЯМР

