(19) UA (11) 56 613 (13) A

(51)МПК 7 A 61K 35/55, 35/00

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ДЕКЛАРАЦИОННОМУ ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 2002076360, 30.07.2002

(24) Дата начала действия патента: 15.05.2003

(46) Дата публикации: 15.05.2003

(72) Изобретатель:
Никольский Игорь Сергеевич, UA,
Васильев Валерий Николаевич, UA,
Никольская Валентина Васильевна, UA,
Галицкая Светлана Николаевна, UA

(73) Патентовладелец:
ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ И МЕДИЦИНСКОЙ ЭКОЛОГИИ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК УКРАИНЫ, UA

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ТИМОСОМИНА

(57) Реферат:

Способ получения препарата тимосомина осуществляют путем гомогенизации ткани тимуса, центрифугирования, обработки ацетоном. Гомогенизацию проводят в 65-75% охлажденном растворе ацетона. После центрифугирования надосадочную жидкость упаривают, а потом проводят диализ.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2003, N 5, 15.05.2003. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.

UA 56613 A

UA 56613 A

(19) **UA** (11) **56 613** (13) **A**

(51) Int. Cl.[7] **A 61K 35/55, 35/00**

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL PROPERTY

(12) DESCRIPTION OF DECLARATIVE PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION

(21), (22) Application: 2002076360, 30.07.2002

(24) Effective date for property rights: 15.05.2003

(46) Publication date: 15.05.2003

(72) Inventor:
Nikolskyi Ihor Serhiiovych, UA,
Vasyliev Valerii Mykolaiovych, UA,
Nikolska Valentyna Vasylivna, UA,
Halytska Svitlana Mykolaivna, UA

(73) Proprietor:
INSTITUTE OF HYGIENE AND MEDICAL ECOLOGY ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, UA

(54) METHOD FOR PRODUCING THYMOSOMIN PREPARATION

(57) Abstract:

The method for producing thymosomin preparation consists in homogenizing the tissue of thymus followed by centrifugation and acetone treatment. The tissue is homogenized in 65-75% cold acetone. Upon centrifugation the supernatant is evaporated. Then the dialysis follows.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2003, N 5, 15.05.2003. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

UA 56613 A

UA 56613 A

(19) **UA** (11) **56 613** (13) **A**

(51)МПК [7] **A 61K 35/55, 35/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВИНАХОДУ ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
2002076360, 30.07.2002

(24) Дата набуття чинності: 15.05.2003

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (деклараційного патенту): 15.05.2003

(72) Винахідник(и):
Нікольський Ігор Сергійович, UA,
Васильєв Валерій Миколайович, UA,
Нікольська Валентина Василівна, UA,
Галицька Світлана Миколаївна, UA

(73) Власник(и):
ІНСТИТУТ ГІГІЄНИ ТА МЕДИЧНОЇ ЕКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ, UA

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ПРЕПАРАТУ ТИМОСОМІНУ

(57) Реферат:

Спосіб отримання препарату тимосоміну здійснюють шляхом гомогенізації тканини тимусу, центрифугування, обробки ацетоном. Гомогенізацію здійснюють в 65-75% охолодженому розчині ацетону і після центрифугування надосадову рідину упарюють, а потім здійснюють діаліз.

UA 56613 A

UA 56613 A

Опис винаходу

Винахід відноситься до технології отримання лікарських препаратів з матеріалів ссавців, зокрема з вилочкової залози, і може бути використаний в медицині та ветеринарії.

Відомий спосіб отримання препарату з тимусу [Авторское свидетельство СССР № 662103, кл. А61К 37/00 опубл. 15.05.79] шляхом гомогенізації тканини тимусу, діалізу гомогенату, осадження баластних речовин солями двовалентної ртуті, обробки надосадовоої рідини аміаком та газоподібним сірководнем, очищення та ліофілізації; при цьому звільнення від ртуті відбувається за допомогою сірководню.

Недоліком даного способу отримання препарату є використання в процесі отримання токсичних речовин.

Відомий спосіб отримання імуностимулятору [Авторское свидетельство СССР № 1112606, кл. А61К 37/02, 37/24, опубл. 1984г.], що складається з гомогенізації тканини тимусу, екстракції протягом 60 годин 3% оцтовою кислотою в присутності хлористого цинку, обробки надосадової рідини п'ятьма об'ємами ацетону і витримку 20 годин.

Недоліками виділеного імуностимулятору е невисока активність, наявність баластних речовини і потреба в значних витратах часу на його отримання.

Найбільш близьким до запропонованого способу за суттю є спосіб отримання препарату Т-активіну з тканини тимусу [Иммуыобиология гормонов тимуса под ред. Ю.А.Гриневича, Б.Э.Чеботарева - Киев: Здоров'я, 1989.- С.103-106] шляхом гомогенізації, аутолізу, багаторазового центрифугування, осадження ацетоном, ліофілізації, розділення на колонці з сефадексом.

Недоліком даного способу отримання препарату є довготривалість (в середньому процес отримання готового продукту займає 72 - 120 годин). Виконання способу потребує складного апаратурного оформлення та значних енерговитрат.

В основу створення винаходу ставиться завдання отримання препарату тимосоміну шляхом гомогенізації в 65 – 75% охолодженому розчині ацетону, центрифугування, упарювання надосадової рідини та діалізу, що дозволить отримати висооактивний ліпосомний препарат гормонів тимусу.

Покладене завдання досягається тим, що в способі отримання препарату тимосоміиу шляхом гомогенізації тканини тимусу, центрифугування, обробки ацетоном, гомогенізація здійснюється в 65-75% охолодженому розчині ацетону і після центрифугування надосадову рідину упарюють та діалізують.

В лабораторних умовах отримання препарату здійснювалось наступним чином:

Тканини тимусу подрібнювали і заливали охолодженим до -15 - -20°С 65 – 75% розчином ацетону при співвідношенні тканини до розчину ацетону 1:2,5 - 3,0 та гомогенізували. Отриману після гомогенізації суміш витримували на протязі 20хв. при 5 - 10°С і потім центрифугували при 2500 - 3000об/хв на протязі 30 - 40хв. при 5 - 10°С. Осад відкидали, а надосадову рідину упарювали при 40°С на роторному випарювані або на водяній бані при 60 - 70°С для часткового видалення ацетону. Після упарювання розчин центрифугували та звільняли від залишків ацетону діалізом проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцюючий розчин, який містив навантажені тимічними гормонами ліпосоми.

Приклад 1.

До 100г подрібненої тканини тимусу додавали 300мл охолодженого до -15 - -20°С 65% розчину ацетону та гомогенізували (14000об/хв, 1хв, 4°С). Отриману суміш витримували 20 хвилин при 5°С та центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С). Отриману надосадову рідину (280мл) упарювали на водяній бані при 60°С. Упарений розчин (82мл) центрифугували (3000об/хв г 35хв, 5°С) та діалізували проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцюючий розчин (78мл).

Концентрація білка [О.Н.Lowry et al, 1946]- 2,06мг/мл.

Активність препарату визначали за тестом [Bach J.P. et al, 1973] відновлення чутливості спонтанних розеткоутворюючих клітин селезінки тимектомованих мишей до анти-Thy-1-сироватки. Активність препарату склала 1,28мкг/мл, тобто та його мінімальна концентрація, при якій спостерігалась 50% редукція кількості розеткоутворкючих клітин.

Приклад 2.

До 100г подрібненої тканини тимусу додавали 300мл охолодженого до -15 - -20°С 70% розчину ацетону та гомогенізували (14000об/хв, 1хв, 4°С). Отриману суміш витримували 20 хвилин при 5°С та центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С) - Отриману надосадову рідину (278мл) упарювали на водяній бані при 60°С. Упарений розчин (81мл) центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С) та діалізували проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцюючий розчин (76мл).

Концентрація білка - 1,85мг/мл.

Активність препарату склала 1,33мкг/мл.

Приклад 3.

До 100г подрібненої тканини тимусу додавали 300мл охолодженого до -15 - -20°С 75% розчину ацетону та гомогенізували (14000об/хв, 1хв, 4°С). Отриману суміш витримували 20 хвилин при 5°С та центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С). Отриману надосадову рідину (286мл) упарювали на водяній бані при 60°С. Упарений розчин (89мл) центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С) та діалізували проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцюючий розчин (81мл).

Концентрація білка - 1,52мг/мл.

Активність препарату склала 1,46мкг/мл.

Приклад 4.

UA 56613 A

UA 56613 A

До 100г подрібненої тканини тимусу додавали 300мл охолодженого до -15 - -20°С 60% розчину ацетону та гомогенізували (14000об/хв, 1хв, 4°С). Отриману суміш витримували 20 хвилин при 5°С та центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С). Отриману надосадову рідину (290мл) упарювали на водяній бані при 60°С. Упарений розчин (94мл) центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С) та діалізували проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцкшчий розчин (89мл).

Концентрація білка - 7,8мг/мл.

Активність препарату склала 82мкг/мл.

Приклад 5.

До 100г подрібненої тканини тимусу додавали 300мл охолодженого до -15 - -20°С 80% розчину ацетону та гомогенізували (14000об/хв, 1хв, 4°С). Отриману суміш витримували 20 хвшшн при 5°С та центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С). Отриману надосадову рідину (274мл) упарювали на водяній бані при 60°С. Упарений розчин (78мл) центрифугували (3000об/хв, 35хв, 5°С) та діалізували проти 0,14М фосфатного буферу (рН7,6). Після діалізу отримали опалесцюючий розчин (70мл).

Концентрація білка - 0,1мг/мл.

Активність препарату склала 475мкг/мл.

Порівняльна характеристика препарату тимосоміну та препарату Т –активіну (див. табл.

Таблиця

Препарат тимосомін	Препарат Т -активін
Ліпосомний препарат. Розмір ліпосом 20 - 100мкм, кількість в 1мл препарату 2,1 - 8,5х10^8	Розчинний препарат.
Білкова частина препарату предсталена набором поліпептидів з молекулярною масою 10,6 - 25,7кД	Препарат містить суміш поліпептидів з молекулярною масою від 1200 до 6000 дальтон
Активність препарату 1,2 - 1,5мкг/мл	Активність препарату 1 - 5мкг/мл

Таким чином, запропонований спосіб отримання препарату тимосоміну дозволяє отримати високоактивний (1,2 - 1,5мкг/мл) препарат гормонів тимусу в ліпосомній формі.

Формула винаходу

Спосіб отримання препарату тимосоміну шляхом гомогенізації тканини тимусу, центрифугування, обробки ацетоном, який **відрізняється** тим, що гомогенізацію здійснюють в 65-75% охолодженому розчині ацетону і після центрифугування надосадову рідину упарюють, а потім здійснюють діаліз.

Офіційний бюлетень "Промислоава власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2003, N 5, 15.05.2003. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

UA 56613 A

UA 56613 A