



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 56122

(13) A

(51) 7 A61K35/42

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРЕПАРАТУ ПРИРОДНОГО СУРФАКТАНТА ЛЕГЕНІВ ІЗ ЛЕГЕНІВ ТВАРИН

1

2

(21) 2003032399

(22) 20 03 2003

(24) 15 04 2003

(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р

(72) Загорулько Олександр Кімович,
Кляритська Ірина Львівна(73) Загорулько Олександр Кімович,
Кляритська Ірина Львівна

(57) 1 Спосіб одержання препаратів природного сурфактанта легенів із легенів тварин, який включає оброблення тканин легенів фізіологічним розчином із подальшим його поетапним центрифугуванням, на першому етапі - при прискоренні 1000-1200 g протягом 0,5-1 години, на другому, після суспендування осаду в 20% розчині хлористого натрію густиною 1,15 г/мл, - при прискоренні 1400-1500 g протягом 20 хв, розфасування одержаного препарату в лікарські форми та його стерилізацію в ультрафіолетовому світлі, який відрізняється тим, що вихідний матеріал перед обробленням фізрозчином подрібнюють, його оброблення фізрозчином здійснюють шляхом витримування протягом 2-4 годин із розрахунку 3-5 мл розчину на 1 г тканини подрібненого матеріалу, а після його оброблення

фізрозчином - фільтрують без тиску, після чого фільтрат, який містить фосфоліпіди, заливають сумішшю хлороформ-метанолу, у співвідношенні 1,8-2,21 із розрахунку 1,6-2,4 мл суміші на 1 г осаду, та видержують протягом доби, після чого верхню частину розчину, що містить метанол, випускають, а нижню, хлороформову частину заливають 0,62-0,66 % розчином хлористого калію на 22-26 годин, потім верхню частину розчину випускають, а нижню - висушують у парах рідкого азоту у вакуумі - 0,9-1,1 атм, і одержану таким чином речовину фосфоліпідів шляхом ультразвукової кавпації розчиняють у фізрозчині, після чого одержаний продукт розфасовують і стерилізують в ультрафіолетовому світлі

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що розчинення речовини фосфоліпідів у фізрозчині здійснюють у пропорції 20-30 мг на 1 мл розчину і одержану емульсію, після розфасування і перед стерилізацією, піддають леофілізації до утворення порошкоподібної речовини

3 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що розчинення речовини фосфоліпідів у фізрозчині здійснюють у пропорції 60-80 мг на 1 мл розчину

Винахід відноситься до медицини і може бути застосованим у фармації, акушерстві, неонатології, пульмонології

Найбільш близьким до запропонованого за сукупністю ознак є спосіб одержання препарату природного сурфактанта легенів із легенів тварин за [1]. Згідно з цим способом на початковій стадії здійснюють лаваж вихідних легень шляхом їх (3 - 4) разового промивання фізіологічним розчином. Потім лаважну рідину послідовно центрифугують, спочатку при прискоренні (1000 - 1200)g протягом (0,5 - 1) години, потім, після суспендування осаду у фізіологічному розчині, при прискоренні (1400 - 1500)g протягом 20 хвилин. Потім препарат природного сурфактанта відокремлюють і додають до нього фізіологічний розчин у співвідношенні 1 (3 - 5), після проводять його

очищення шляхом діалізу з дистильованою водою. Після цього здійснюють леофілізацію діалізату у вакуумі при температурі не менш - 50°C до одержання абсолютно сухого порошкоподібного препарату білого кольору, котрий після розфасовки піддають стерилізації в ультрафіолетовому світлі протягом не менш 6 годин

Препарат, який одержують за цим способом, має високий ступінь чистоти. Але відомий спосіб має недолік, зв'язаний з тією обставиною, що контакт лаважної рідини з необхідними тканинами легень може бути досягнутим тільки з невеликою кількістю внутрішньолегеневового сурфактанта через те, що в альвеолах легень знаходиться повітря, яке заважає цьому контакту. Крім того, лаважна техніка не дозволяє витягнути

(13) A

(11) 56122

(19) UA

сурфактант, що знаходиться усередині клітин, оскільки лаважна рідина не може проникнути усередину клітин без їх розруйнування. Наслідком цього є низький ступінь виходу препарату - від 3,6 до 3,8 мг сурфактанта на 1 кг вихідних легень.

Задачею винаходу є запропонування способу одержання препарату природного сурфактанта легень із легень тварин, при якому якість, тобто ступінь чистоти, одержаного препарату не поступається перед відомим способом, але ступінь виділення сурфактанта з масооб'ємної одиниці вихідних легень є значно більшим.

Для рішення поставленої задачі в способі одержання препарату природного сурфактанта легень із легень тварин, який включає оброблення тканин легень фізіологічним розчином із подальшим його поетапним центрифугуванням, на першому етапі - при прискоренні (1000 - 1200)g протягом (0,5 - 1) години, на другому, після суспендування осаду в 20% розчині хлористого натрію густиною 1,15 г/мл, - при прискоренні (1400 - 1500)g протягом 20 хвилин, розфасування одержаного препарату в лікарські форми та його стерилізацію в ультравіолетовому світлі, відповідно до винаходу вихідний матеріал перед обробленням фізрозчином подрібнюють, його оброблення фізрозчином здійснюють шляхом витримання протягом (2 - 4) годин із рахунку (3 - 5) мл розчину на 1 г тканини подрібненого матеріалу, а після його оброблення фізрозчином - фільтрують без тиску, після чого фільтрат, який містить фосфоліпіди, заливають сумішшю хлороформ-метанол, у співвідношенні (1,8 - 2,2) 1 із рахунку (1,6 - 2,4) мл суміші на 1 г осаду, та видержують протягом (22 - 26) годин. Після цього верхню частину розчину, що містить метанол, вилучають, а нижню, хлороформову, частину, заливають (0,62 - 0,66)% розчином хлористого калію на (22 - 26) години. Потім верхню частину розчину вилучають, а нижню - висушують у парах рідкого азоту у вакуумі при $-(0,9 - 1,1)$ атм. Одержану таким чином речовину фосфоліпідів шляхом ультразвукової кавітації розчиняють у фізрозчині, після чого одержаний продукт розфасовують і стерилізують в ультравіолетовому світлі.

При цьому, якщо необхідно одержати препарат "Сукрим" (назва створена із скорочення слів Су - сурфактант, крим - Крим як географічна назва Автономної Республіки Крим), розчинення речовини фосфоліпідів у фізрозчині здійснюють у пропорції (20 - 30) мг на 1 мл розчину, і одержану емульсію, після розфасування і перед стерилізацією, піддають леофілізації до одержання абсолютно сухої порошкоподібної речовини.

При необхідності одержання препарату "Сузакрин" (назва створена із скорочення слів Су - сурфактант, за - Загоруйко - прізвище автора, кри - Крим як географічний об'єкт, н - Новіков, прізвище одного із співробітників лабораторії) розчинення речовини фосфоліпідів у фізрозчині здійснюють у пропорції (60 - 80) мг на 1 мл розчину.

Подрібнення вихідного матеріалу та його витримання у фізрозчині сприяють набагато

повнішій екстракції корисних речовин, оскільки поверхня контакту між подрібненими частинками вихідного матеріалу та рідиною, що з ним контактує, збільшується на порядок, тому що здійснюється повною мірою як на міжклітинному, так і внутрішньоклітинному рівні. Тим самим вихід препарату збільшується з 3,6 - 3,8 мг на 1 кг вихідного матеріалу в способі - прототипі до 45 - 50 мг на 1 кг у запропонованому способі. Забруднення речовини частинками крові, плівки і т.п., яке є наслідком роздрібнення вихідного матеріалу, усувається її свободною, без тиску, фільтрацією, очищенням активного фосфоліпідного компоненту сурфактанта за рахунок оброблення одержаної після центрифугування субстанції хлороформометаноловою сумішшю, а в подальшому - розчином хлористого калію. Послідовно за видаленням залишків хлороформу у рідкому азоті ультразвукова кавітація дозволяє одержати стійку емульсію фосфоліпідів у фізрозчині з розміром частинок не більш 25 мкм. У результаті сукупність вказаних операцій дозволяє отримувати препарат із ступенем чистоти не меншим за спосіб-прототип.

Приклад конкретного виконання

Легені свині безпосередньо після забою здрібнювали в електром'ясорубці, заливали фізрозчином із рахунку 4 мл розчину на 1 г легень. Через 3 години одержану завись фільтрували без тиску через 6 шарів медичної марлі. Одержаний розчин центрифугували при прискоренні 1100g протягом однієї години для осадження фосфоліпідів сурфактанта та дрібнодисперсних білків. Рідину над осадом видалили, а осад суспендували у 20%-ному розчині NaCl густиною 1,15 г/мл і центрифугували при прискоренні 1500g протягом 20 хвилин для розділення білкових та фосфоліпідних фракцій. При цьому фракція фосфоліпідів здійснювалась на поверхню розчину у вигляді білувато-жовтої плівки. Потім фосфоліпідну фракцію відсмоктували піпеткою та заливали хлороформометаноловою (2:1) сумішшю з розрахунку 20 мл суміші на 1 мл фосфоліпідної фракції та відстоювали 24 години.

У результаті відстоювання розчин розділювався на 2 фракції: верхню (метанолову), яка містила білкові компоненти, та нижню (хлороформову) - сурфактант легень. Верхню фракцію видаляли, а нижню заливали 0,64%-ним розчином KCl на 24 години. Потім верхню частину одержаного розчину видалили, а нижню частину розчину хлороформа сурфактанта висушували в парах рідкого азоту в умовах вакууму - 1 атм для видалення розчинника.

Одержану речовину, яка містила у собі очищений сурфактант легень, диспергували в фізрозчині шляхом ультразвукової кавітації. При цьому, залежно від того, який препарат, "Сукрим" або "Сузакрин", було необхідно одержати, співвідношення речовини із сурфактантом і фізрозчину приймали різне, а саме для "Сукрима" - 25 мг речовини на 1 мл фізрозчину, для "Сузакрина" - 70 мг речовини на 1 мл фізрозчину.

Далі, при необхідності одержати "Сукрим", після кавітації речовину розфасовували по 2,15 мл в ампули ємністю 5 мл і піддавали леофілізній

сушці до одержання абсолютно сухої порошкоподібної речовини білувато-жовтого кольору. Ампули укупорювали і стерилізували в ультрафіолетовому світлі протягом 24 годин.

Для одержання "Сузакрину" речовину після кавпації розфасовували по 7,5мл у флакони ємністю 10мл, флакони укупорювали та піддавали стерилізації в ультрафіолетовому світлі протягом 24 годин.