



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39522 (13) A

(51) 7 A61K35/28, A61K39/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО ПРЕПАРАТУ ІЗ КІСТКОВОГО МОЗКУ

(21) 2000095549

(22) 28.09.2000

(24) 15.06.2001

(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Нікітенко Анатолій Мефодійович, Малина Ва-
силь Вікторович(73) НІКІТЕНКО АНАТОЛІЙ МЕФОДІЙОВИЧ, МА-
ЛИНА ВАСИЛЬ ВІКТОРОВИЧ

(57) Спосіб отримання біологічно активного пре-
парату із кісткового мозку, що включає
подрібнення та розчинення його в органічному
розчиннику, який відрізняється тим, що екст-
ракцію проводять ізотонічним розчином, а отрима-
ний продукт піддають термічній обробці при тем-
пературі 80-85°C протягом 10-20 хвилин з наступ-
ною стерилізацією його за допомогою міліпорових
фільтрів з діаметром пор 0,22-0,17 мкм.

Винахід належить до біотехнології, безпо-
середньо до фармакології і може бути використа-
ний при виробництві біологічно активних
препаратів для активації гуморального імунітету.

Відомі способи отримання біологічно актив-
них речовин із тканин та органів тварин оснований
на збагаченні препаратів низькомолекулярними
речовинами, які володіють регуляторною дією на
анаболічні процеси організму [1, 2, 3]. Біологічно
активні речовини утворюються в результаті
переживання тканини в несприятливих умовах, де
відбувається перебудова процесів метаболізму
тканини та створення біогенних речовин, в склад
яких входять органічні (пептиди, амінокислоти,
дікарбоніві кислоти, жирно-ароматичні кислоти,
оксікислоти, вуглеводи тощо) та мінеральні (залі-
зо, магній, алюміній, кремній, марганець, цинк, ні-
кель, хром, мідь, фосфор, кальцій, магній, натрій,
тощо) речовини.

За останній час встановлено, що кожна тка-
нина, крім згаданих біологічно активних речовин,
володіє специфічними речовинами, характерними
тільки для певної тканини [5, 6, 7, 8, 9].

Прототипом винаходу є спосіб отримання
біологічно активного препарату із кісткового мозку
[4]. Визначення дії гуморальних факторів кістково-
го мозку та їх вплив на функції та активність гу-
морального імунітету описано в джерелах [9, 10,
11, 12, 13, 14, 15]. Спосіб отримання біологічно ак-
тивного препарату із кісткового мозку по прототи-
пу, включає подрібнення його в гомогенізаторі та
розчинення в органічному середовищі.

До недоліків існуючих технологій виробницт-
ва біологічно активних препаратів із кісткового
мозку [4] слід віднести те, що при отриманні гу-

моральних факторів із сировини використовують
різні органічні розчинники, а кінцевий продукт має
вузький діапазон дії

В основу винаходу поставлено задачу
розробити спосіб отримання біологічно активного
препарату із кісткового мозку шляхом екстракції із
гомогенату розчинних в ізотонічному розчині спо-
лук, виділення нерегуляторних білків за допомо-
гою термічної обробки та фільтрації, що забезпе-
чить активність і специфічність модулятора гу-
морального імунітету та зниження організмом
тварин енергозатрат при імунній відповіді на білок.

Поставлена задача виконується тим, що в
спосіб отримання біологічно активного препарату
із кісткового мозку, що включає подрібнення його
та розчинення в ізотонічному розчині специфічних
та неспецифічних сполук. Новим є те, що розчин
піддають термічній обробці при температурі 80-
85°C на протязі 10-20 хвилин для видалення
нерегуляторних білків та стерилізації розчину (мо-
дулятора функцій лімфоцитів В-системи), з ви-
користанням міліпорових фільтрів діаметром 0,22-
0,17 мкм. Вище викладений спосіб сприяє знижен-
ню антигенності цільового препарату Мобес - (мо-
дулятор В-системи), активації біологічної дії на ме-
таболізм завдяки наявності низькомолекулярних
біогенних речовин та модуляції функцій лімфоци-
тів В-системи гуморальними факторами кісткового
мозку. Синергічність цих механізмів дії Мобес
сприяє розширенню діапазону впливу на гомеос-
таз організму тварин.

Технічне рішення по розробці технології
отримання препарату Мобес (модулятора В-систе-
ми) ґрунтується на наступних результатах дослід-
жень.

(19) UA (11) 39522 (13) A

Приклад 1. Відібраний після забою молоднику великої рогатої худоби кістковий мозок на протязі 4–5 діб витримують в холодильнику при температурі +2–4°C, після чого подрібнюють в гомогенізаторі, заливають двома об'ємами ізотонічного розчину і знову витримують в холодильнику на протязі 48 годин при температурі +2–4°C. Гомогенат кісткового мозку на водяній бані прогрівають при температурі +80–85°C протягом 10–30 хвилин. Після охолодження до кімнатної температури рідку фракцію гомогенату фільтрують через паперовий фільтр (груба очистка). Характеристика отриманого препарату викладена в таблиці 1.

Для стерилізації препарату використовують міліпорові пластини з діаметром пор 0,90, 0,22 та 0,17 мкм. Стерильність препарату визначають згідно ГОСТу 28085-89. Результати стерилізації препарату викладені в табл. 2.

Міліпорові пластини з діаметром пор 0,22 та 0,17 мкм забезпечують стерильність препарату.

Приклад 2. Отриманий препарат Мобес вводили білим безпородним мишам (самкам) живою масою 9–11 г підшкірно, одноразово в дозі 0,1 мл, контрольним – ізотонічний розчин, в такій же дозі. Умови утримання та годівлі мишей були ідентичні. Дослід тривав 10 діб, результати якого викладені в табл. 3.

Результати дослідів (табл. 3) свідчать про те, що препарат Мобес сприяє збільшенню живої маси дослідних мишей на 16,1%, завдяки наявності в препараті біологічно активних речовин, які активують метаболізм організму.

До складу препарату Мобес окрім біологічно активних речовин входять гуморальні фактори кісткового мозку, специфічна дія яких направлена на активацію функцій лімфоцитів В-системи і підвищення імунної відповіді організму на введення антигенів.

Для визначення впливу препарату Мобес на імунологічні показники був проведений дослід на молодняку великої рогатої худоби. Телятам вводили препарат в дозі 0,015 мл/кг живої маси. Результати гематологічних та імунологічних показників на 18 добу після введення препарату викладені в таблиці 4.

Результати дослідів (табл. 4) свідчать про те, що гуморальні фактори кісткового мозку впливають певним чином на гематологічні та імунологічні показники дослідних тварин. Так, на 18 добу після введення препарату кількість еритроцитів зростала до 20,2%, гемоглобіну – 14,5%, моноцитів – 188,2%, Т-лімфоцитів – на 32,5%, загального білку – на 6,3%, титр нормальних антитіл збільшувався на 15,0%. Ці показники не могли не відбитися

на продуктивних якостях тварин, що приведено в табл. 5.

Дані табл. 5 свідчать про те, що введення телятам препарату Мобес сприяє підвищенню їх продуктивності (23,0–33,9%) в залежності від дози препарату.

Економічна ефективність від використання запропонованого способу активації гуморальних факторів імунітету складається із підвищення активності гуморальних та клітинних факторів імунітету, продуктивності тварин, їх збереженості, зниженню собівартості тваринницької продукції тощо. Винахід має не тільки економічне, але й екологічне і соціальне значення.

Джерела інформації

1. Филатов В.П. Тканевая терапия. Ташкент, 1948.

2. Капашник И.А. Стимулирующая терапия в ветеринарии. К.: Урожай. – 126 с.

3. Никитенко А.М. Повышение иммунологической реактивности сельскохозяйственных животных с помощью тканевых препаратов. Метод. указания. – Белая Церковь, 1989. – 24 с.

4. Петров Р.В., Михайлова А.А. Костно-мозговой стимулятор антителопродуцентов САП. Актуальные проблемы молекулярной, клеточной и клинической иммунологии. Итоги науки и техники. ВИНТИ – 1983. Т. 12. – С. 61–83.

5. Мирошниченко И.В., Ярылин А.А., Рябинина Н.Д., Шарова Н.И., Акназарова Р.Х., Пирожков А.В. Факторы, секретируемые клетками костного мозга и тимуса, обогащенные предшественниками Т-лимфоцитов: сравнение с известными цитокинами и характеристика клеток – продуцентов. Иммунология, 1989, № 6 – С. 23–26.

6. Курбанов К.З., Соколова Е.В., Ковальчук Л.В., Петров Р.В. Регуляторное влияние миелопептида на эффекторную функцию макрофагов и рост меланомы В 16. Иммунология, 1989, № 6. – С. 45–47.

7. Кирилина Е.А., Шанурин С.Ю., Фомина Л.А., Гурьянов С.А., Сорокин С.В., Михайлова А.А. Изоляция индивидуального миелопептида, обладающего иммуностимулирующей активностью. Иммунология, 1992, № 4. – С. 31–33.

8. Мирошниченко И.В., Гусева О.А., Манько В.М., Ярылин А.А. Участие клеток костного мозга, несущие мембранные иммуноглобулины, в формировании кроветворных колоний в селезенке. Иммунология, 1992, № 4. – С. 18–21.

9. Сергеев Ю.О. Изучение в системе in vivo функциональной активности гуморального фактора костного мозга, стимулирующего продукцию антител: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1981, 28 с.

Таблиця 1

Характеристика препарату

Показники	Характеристика
Зовнішній вигляд	Прозора рідина
Колір	Світло-жовтий
Масова частка сухої речовини, %	2,74 ± 0,047
Масова частка білків, мг/мл	Відсутня

Таблиця 2

Характеристика препарату після стерилізації

Діаметр пор фільтра, мкм	Характеристика препарату
0,90	Не стерильно
0,22	Стерильно
0,17	Стерильно

Таблиця 3

Результати дослідів по визначенню біологічної активності препарату

Показники	Одиниці виміру	Період дослідів	Контроль Ізотонічний розчин	Дослід Мобес
Кількість мишей	голів	початок кінець	14 14	14 14
Жива маса	г	початок кінець	10,4±0,62 13,5±0,58	10,3±0,49 13,9±0,54
Приріст живої маси	г %	кінець	3,1±10 100,0	3,6±0,12 116,1

Таблиця 4

Гематологічні та імунологічні показники тварин після введення препарату Мобес

Показники	Одиниці виміру	Контроль Ізотонічний розчин	Дослід Мобес	% до контролю
Гемоглобін	г/л	93,8±3,50	107,4±4,49	114,5
Еритроцити	10 ¹² /л	8,06±0,292	9,69±0,449	120,2
Лейкоцити	10 ⁹ /л	10,02±0,900	7,24±0,682	72,3
Нейтрофіли	%	30,4±1,29	28,0±1,54	92,1
Моноцити	%	3,4±0,75	9,8±0,84	288,2
Лімфоцити	%	55,2±1,59	54,2±1,77	98,2
Абсолютна кількість лімфоцитів	10 ⁹ /л	5,740±0,373	4,090±0,407	71,3
Т-лімфоцити	%	31,4±2,87	41,6±2,71	132,5
В-лімфоцити	%	35,6±2,29	27,2±1,50	76,4
Загальний білок	г/л	70,2±1,47	74,6±1,41	106,3
Рівень нормальних антител	Титр	4,0±0,274	4,6±1,187	115,0

Таблиця 5

Результати дослідів по визначенню впливу препарату Мобес на продуктивність телят
а залежності від дози (мл/кг)

Показники	Одини- ця ви- міру	Контр. група	Дослідні групи (мл/кг)				
			0,01	0,03	0,04	0,05	0,07
Кількість тварин	гол	13	14	18	17	14	15
Збереженість	%	100	100	100	100	100	100
Жива маса однієї голови	кг						
початок дослідів		100,1	102,0	98,3	106,0	96,0	103,0
кінець дослідів		109,7	113,9	111,3	118,5	108,2	114,6
Середньодобовий приріст живої маси	г	312,0	384,0	418,0	404,0	394,0	374,0

Продовження табл. 5

Показники	Одини- ця ви- міру	Контр. група	Дослідні групи (мг/кг)				
			0,01	0,03	0,04	0,05	0,07
Збільшення середньодобо- вого приросту живої маси	г	–	72,0	106,0	92,0	82,0	82,0
	%	100,0	123,0	133,9	129,4	126,3	119,8

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03