(19) **RU** (11) **2 049 472** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 35/28**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 92012911/14, 21.12.1992

(46) Дата публикации: 10.12.1995

(56) Ссылки: **Машковский М.Д. Лекарственные средства. 1986.**

(71) Заявитель:
Научно-производственное объединение "Иммунопрепарат"

(72) Изобретатель: **Карякин А.В., Васильев Г.С., Юсупов В.Г., Мельников В.Н., Кулагин В.Ф.**

(73) Патентообладатель:
Научно-производственное объединение "Иммунопрепарат"

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГИДРОЛИЗАТА МОЗГОВОЙ ТКАНИ "ЦЕРЕБРОЛИЗАТ"

(57) Реферат:

Изобретение относится к производству лекарственных препаратов, применяемых в медицинской практике, и касается способа получения отечественного препарата, аналогичного по механизму биологического действия препарату "Церебролизин" фирма Эбеве, Австрия. Цель изобретения упрощение технологии получения и разработка лекарственной формы отечественного препарата "Церебролизат". Для достижения этой цели гомогенизированное сырье кору головного мозга подвергают ферментативному гидролизу при pH 6,8 8,4 в течение 4 5 ч, затем отделяют балки осаждением спиртом, полученный гидролизат последовательно фильтруют через мембранные фильтры с размером пор 0,22 0,5 мкм и с порогом задержания веществ 5 15 кД. Спирт и воду отгоняют, добавляют консервант 0,3% фенола и проводят стерильную фильтрацию на мембранах 0,2 0,32 мкм. Процесс технологичен, полученный препарат обладает высокой клинической эффективностью. 1 табл.

RU 2049472 C1

RU 2049472 C1

(19) **RU** (11) **2 049 472** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 35/28**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 92012911/14, 21.12.1992

(46) Date of publication: 10.12.1995

(71) Applicant:
Nauchno-proizvodstvennoe ob"edinenie "Immunopreparat"

(72) Inventor: **Karjakin A.V., Vasil'ev G.S., Jusupov V.G., Mel'nikov V.N., Kulagin V.F.**

(73) Proprietor:
Nauchno-proizvodstvennoe ob"edinenie "Immunopreparat"

(54) METHOD OF PREPARING BRAIN TISSUE HYDROLYZATE "CEREBROLYZATE"

(57) Abstract:

FIELD: drug production. SUBSTANCE: homogenate of brain cortex is subjected for enzymatic hydrolysis at pH 6.8-8.4 for 4-5 hr. Then proteins were separated by alcohol precipitation, prepared hydrolyzate is filtered successively through membrane filters at pore size 0.22-0.5 mcm at threshold retention of substances 5-15 kDa. Alcohol and water were distilled off, preserving agent is added 0.3% phenol followed by sterile filtration through membrane at pore size 0.2-0.32 mcm. EFFECT: simplified technology, high clinic effectiveness of preparation. 1 tbl

RU 2049472 C1

RU 2049472 C1

Изобретение относится к способу получения отечественного препарата "Церебролизат", аналогичного по механизму биологического действия препарату "Церебролизин" фирмы Эбеве, получаемого путем ферментативного гидролиза головного мозга сельскохозяйственных животных. Описания технологии получения церебролизина в доступных источниках информации не обнаружено.

Способ является трудоемким за счет использования центрифугирования и проведения доочистки гидролизата активированным углем. Кроме того, получаемый продукт (гидролизат) не является лекарственной формой и не может быть применен в клинической практике, а его получение сопровождается накоплением большого количества неутилизируемых отходов в виде отработанного активированного угля.

Цель изобретения упрощение технологии получения за счет снижения трудоемкости способа и разработка лекарственной формы отечественного препарата "Церебролизат".

С этой целью получение препарата "Церебролизат" проводят путем ферментативного гидролиза гомогената коры мозга крупного рогатого скота при pH 6,8-8,4 и отделения белков путем осаждения этиловым спиртом, полученный гидролизат подвергают микрофильтрации на мембранах с диаметром пор 0,22-0,5 мкм и ультрафильтрации на мембранах с порогом задержания веществ 5-15 кД, а затем продукт концентрируют, фильтрацию проводят на мембранах 0,2-0,32 мкм. Выбранный размер пор (5-15 кД) обусловлен необходимостью удаления из препарата низкомолекулярных пептидов.

Сравнение предлагаемого способа с известным показывает, что общими существенными признаками для них являются: ферментативный гидролиз гемогената мозга животных, спиртовое осаждение белков с последующим отделением жмыха и удалением полипептидов, а также концентрирование. Однако, в отличие от прототипа, заявляемый способ предусматривает использование в качестве сырья коры головного мозга крупного рогатого скота, проведение ферментативного гидролиза в более щелочных условиях, отделение жмыха микрофильтрацией вместо центрифугирования, использование ультрафильтрации вместо обработки активированным углем для доочистки и осветления гидролизата, получение лекарственной формы путем добавления консерванта и проведения стерилизующей фильтрации.

Использование в качестве сырья коры головного мозга позволяет получить препарат, обладающий более направленным действием, поскольку не используются такие части мозга, как гипофиз, мозжечок и стволовая часть мозга. Проведение ферментативного гидролиза в нейтральной или слабо-щелочной среде обеспечивает оптимальные условия для работы сериновых эндопротеаз. Кроме того, при использовании в способе-прототипе более кислых значений pH увеличивается сухой остаток препарата за счет образования солей при подведении pH до нейтральных значений, что отрицательно сказывается на качестве препарата при доведении его до лекарственной формы. Использование микро- и ультрафильтрации позволяет повысить технологичность способа за счет замены трудоемких операций, а проведение заключительной стерилизующей фильтрации также направлено на получение лекарственной формы препарата "Церебролизат". Дополнительный эффект от применения предлагаемого способа проявляется и в повышении экологической чистоты производства за счет исключения их технологии активированного угля.

Приведенная совокупность отличительных признаков заявляемого способа в литературе не описана и создает новый положительный эффект, следовательно, разработанный способ удовлетворяет критериям "Новизна" и "Изобретательский уровень".

Предлагаемый способ осуществляется следующим образом. Дефростированный или свежий головной мозг без стволовой части и мозжечок измельчают и гомогенизируют в воде с нейтральным или слабо щелочным значением pH (6,8-8,4) и подвергают гидролизу сериновой эндопептидазой грибкового происхождения при температуре от 40 до 50°С в течение 4-5 ч. По окончании гидролиза реакционную массу при перемешивании нагревают до 90-95°С и выдерживают при этой температуре в течение 50 мин. После охлаждения до комнатной температуры в раствор добавляют 2,5 объема спирта и через 2 ч инкубации смесь последовательно фильтруют через мембранные фильтры с размерами пор 0,22-0,5 мкм и с молекулярным весом отсечения 5-15 кД. Спирт и воду отгоняют. Для приготовления лекарственной формы препарата, после добавления консерванта, проводят стерильную фильтрацию на мембранных фильтрах с диаметром пор 0,22-0,32 мкм.

П р и м е р 1. 1 кг мозга без основания мозга и мозжечка пропускают через мясорубку. Гомогенат готовят в воде в соотношении 1:1 (мас./об) в размельчителе ткани с вращающимся ножом. pH гомогената доводят щелочью до 7,4. Гомогенат нагревают до 40°С и при перемешивании добавляют 50 г сериновой эндопротеазы. Инкубацию проводят в течение 5 ч при постоянном перемешивании и температуре 40 ± 1°С. По окончании протеолиза температуру реакционной смеси доводят до 95°С и выдерживают при этой температуре в течение 40 мин. После охлаждения до 20°С к раствору добавляют 5 л спирта, инкубируют 2 ч, затем проводят микрофильтрацию через мембранные фильтры с размерами пор 0,32 мкм. Осветленный, стерильный продукт подвергают ультрафильтрации через мембранные фильтры с молекулярным весом отсечения веществ 10 кД. Спирт и воду отгоняют. Конечный объем смеси составлял 200 мл. К продукту добавляют консервант 0,3% фенола. Лекарственную форму Церебролизата получают путем повторной стерильной фильтрации смеси и последующим разливом препарата в ампулы объемом 1-20 мл. Аминокислотный состав препарата указан в таблице.

П р и м е р 2. Получение препарата

RU 2049472 C1

RU 2049472 C1

проводят согласно примеру 1, но с использованием микрофильтрационных мембран с размером пор 0,22 мкм, а ультрафильтрацию проводят на мембранах с порогом задержания веществ 15 кД. Аминокислотный состав полученного препарата идентичен полученному по примеру 1.

Препарат прошел клиническое изучение в ведущих неврологических центрах РСФСР и показал свою высокую эффективность для лечения травм и заболеваний центральной нервной системы: инсультов, нарушений мозгового кровообращения, энцефалопатий, детского церебрального паралича. Рекомендован для использования в медицинской практике.

Формула изобретения:

Способ получения гидролизата мозговой ткани, включающий ферментативный гидролиз гомогената мозга крупного рогатого скота с последующим выделением целевого продукта путем отделения белковых фрагментов и концентрирования, отличающийся тем, что в качестве сырья используют кору мозга, ферментативный гидролиз проводят в интервале pH 6,8 8,4, полученный после спиртового осаждения гидролизат подвергают микрофильтрации на мембранах с размером пор 0,22 0,5 мкм и ультрафильтрации на мембранах с порогом задержания веществ 5 15 кД, а стерилизующую фильтрацию проводят на мембранах с размером пор 0,2 - 0,32 мкм после концентрирования продукта.

RU 2049472 C1

RU 2049472 C1

Аминокислотный состав церебролизата

Аминокислота	Содержание, мг/мл, по примеру	
	1	2
Треонин	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2
Глутаминовая кислота	5,0 ± 0,4	5,0 ± 0,3
Глицин	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2
Аланин	3,5 ± 0,3	3,6 ± 0,3
Валин	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,2
Метионин	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2
Лейцин	4,0 ± 0,4	4,0 ± 0,3
Фенилаланин	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,15
Лизин	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2
Пролин	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1

RU 2049472 C1

RU 2049472 C1