Винахід стосується галузі біології та медицини та може бути використаним в біотехнології добування біологічно активних речовин (БАР) високої активності для лікування захворювань підшлункової залози.

Існуючі на сьогоднішній день препарати не спроможні проявляти регенераторний ефект у відношенні тканин підшлункової залози.

Відомо, що поліпептидні речовини мають біорегуляторні функції, наприклад фактори росту, вони не видоспецифічні та мають низьку алергогенність.

Найбільш близьким є спосіб отримання біологічно активної речовини (БАР), що володіє регенераторною та модулюючою дією, а саме тімаліну, що включає зневоднення подрібненого до розмірів 2х2х2 мм тимусу, попередньо очищенного від жиру, судин і т.ін., в ацетоні у співвідношенні 1:8 при 4°С на протязі 12 годин, сушіння одержаного матеріалу, його екстракцію 3% розчином оцтової кислоти (рН 3–4,5) в присутності 0,1% хлориду цинку при 4°С на протязі 3 годин, фільтрування реакційної суміші, осадження із фільтрату ацетоном, взятому у співвідношенні 1:10 при 4°С на протязі 12 годин, обробку отриманого осаду сумішшю ацетона з ефіром, сушку та ліофілізацію препарату.

Однак даний препарат не володіє органоспецифічністю при лікуванні патологій конкретних органів, а саме захворювань підшлункової залози, а лише корегує неспецифічні порушення в системах імунітету, гемостазу та неспецифічної резистентності організму.

В основу винаходу поставлено задачу одержання препарату, що володіє регенераторною дією на тканини підшлункової залози, викликаючи проліферацію клітин островків.

Поставлена задача вирішується в способі одержання БАР для лікування захворювань підшлункової залози тим, що включає обезводнення подрібненого тканевого матеріалу в органічному розчиннику, кислотну екстракцію в присутності 0,1% розчину хлоридів цинку та магнію, фільтрацію реакційної суміші, осадження із фільтрату органічним розчинником, обробку одержаного осаду ефіром з наступним розчиненням його в дистильованій воді та ліофілізацію одержаного препарату, в котрім згідно винаходу в якості тканевого матеріалу використовують свинячу підшлункову залозу, зневоднений гомогенат сушать, в якості кислоти для екстракції використовують 0,5% розчин трихлороцтової кислоти, обробку фільтрату проводять ацетоном, взятим в співвідношенні 1:10, а осадження ведуть сумішшю ацетона з ефіром у співвідношенні 1:10.

Спосіб здійснюється таким чином. Свинячу підшлункову залозу подрібнюють до розмірів 2х2х2 мм, після цього заливають одержану масу холодним (+4°С) ацетоном (особливо чистим) у співвідношенні 1:8. Після 48 годин витримки при +4°С ацетон зливають, масу що залишилась висушують. Після цього її змішують у співвідношенні 1:10 з 0,5% розчином трихлороцтової кислоти (з 0,1% хлоридом цинку та 0,1% хлоридом магнія) та на протязі 72 годин постійно перемішують при +4°С. Рідку частину суміші після фільтрації через полотно та фільтри (0,2 мм) змішують з ацетоном у співвідношенні 1:10, витримують 36–48 годин при +4°С. Дисперсну частину відмивають ацетоном та ефіром у співвідношенні 1:10 та висушують. Одержану речовину розчиняють в дистильованій воді (рН 4,5) у співвідношенні 1:10 та ліофілізують.

Проведено хроматографію одержаної речовини з використанням колонок 280 мм, заповнених сорбентом "Силасорб С–18". Елюент: 1,8 мл H_2O + 3 мл CH_3CN + 0,05 М NH_4CH_3COOH. Детекція проводилась при довжині хвилі 210 нм. Хроматограма речовини показана на фіг. 1.

Питома вага фракції I – 10,91%, фракції II – 89,09%. Час утримання фракції I – 3 хв., фракції II – 10,75 хв. Таким чином препарат являє собою комплекс двох пептидів.

Вивчено дію отриманої біологічно активної речовини. Експеримент був проведений на 40 щурах лінії Wistar обох статей, середньої маси 200 г. Експериментальні тварини були поділені на чотори групи:

I група (10 щурів) – контрольна

II група (10 щурів) – тваринам кожен день на протязі 14 діб внутрім'язово вводили отриману речовину на фізіологічному розчині (0,5 мл) у дозі 0,1 мг сухої речовини на щура, після чого тварин забивали.

III група (10 щурів) – тваринам виконували резекцію 1/2 підшлункової залози. Тварин забивали через 14 діб.

IV група (10 щурів) – тваринам виконували резекцію 1/2 підшлункової залози та на протязі 14 діб кожен день вводили внутрішньомязово отриману речовину на фізіологічному розчині (0,5 мл) у дозі 0,1 мг сухої речовини на щура. Забивали тварин через 14 діб.

Ні в одній групі летальності не було.

Для об'єктивного контролю дії отриманої біологічно активної речовини у всіх тварин брали підшлункові залози для гістологічного дослідження, а також кров для визначення вмісту глюкози (таблиця).

Як видно з таблиці, середній вміст глюкози крові щурів контрольної групи був 5,58 ммоль/л (100%); у щурів, яким вводили одержану речовину (група II) вміст глюкози крові був 5,06 ммоль/л (90,68% від контрольної групи); в групі оперованих тварин (III група), яким не вводили одержану речовину, вміст глюкози крові був 7,72 ммоль/л (138,35% від контрольної групи); у тварин, яким виконали резекцію підшлункової залози і вводили одержану речовину (IV група) вміст глюкози крові становив 5,53 ммоль/л (99,1% від контрольної групи).

Таким чином можна стверджувати, що отримана речовина має цукрознижуючі властивості при введені її інтактним тваринам (друга група), та нормалізує вміст глюкози в крові при недостатній кількості вироблення інсуліну після резекції частини підшлункової залози в експерименті.

При вивченні гістологічних препаратів першої групи тварин (контрольна) спостерігаються островки Лангерганса звичайних розмірів та залозисті клітини (фіг. 2).

В другій групі тварин, яким вводили отриману речовину на протязі 14 діб звертає на себе увагу помірно виражена гіпертрофія залозистих клітин та гіпертрофія островків Лангерганса за рахунок гіперплазії клітин (фіг. 3).

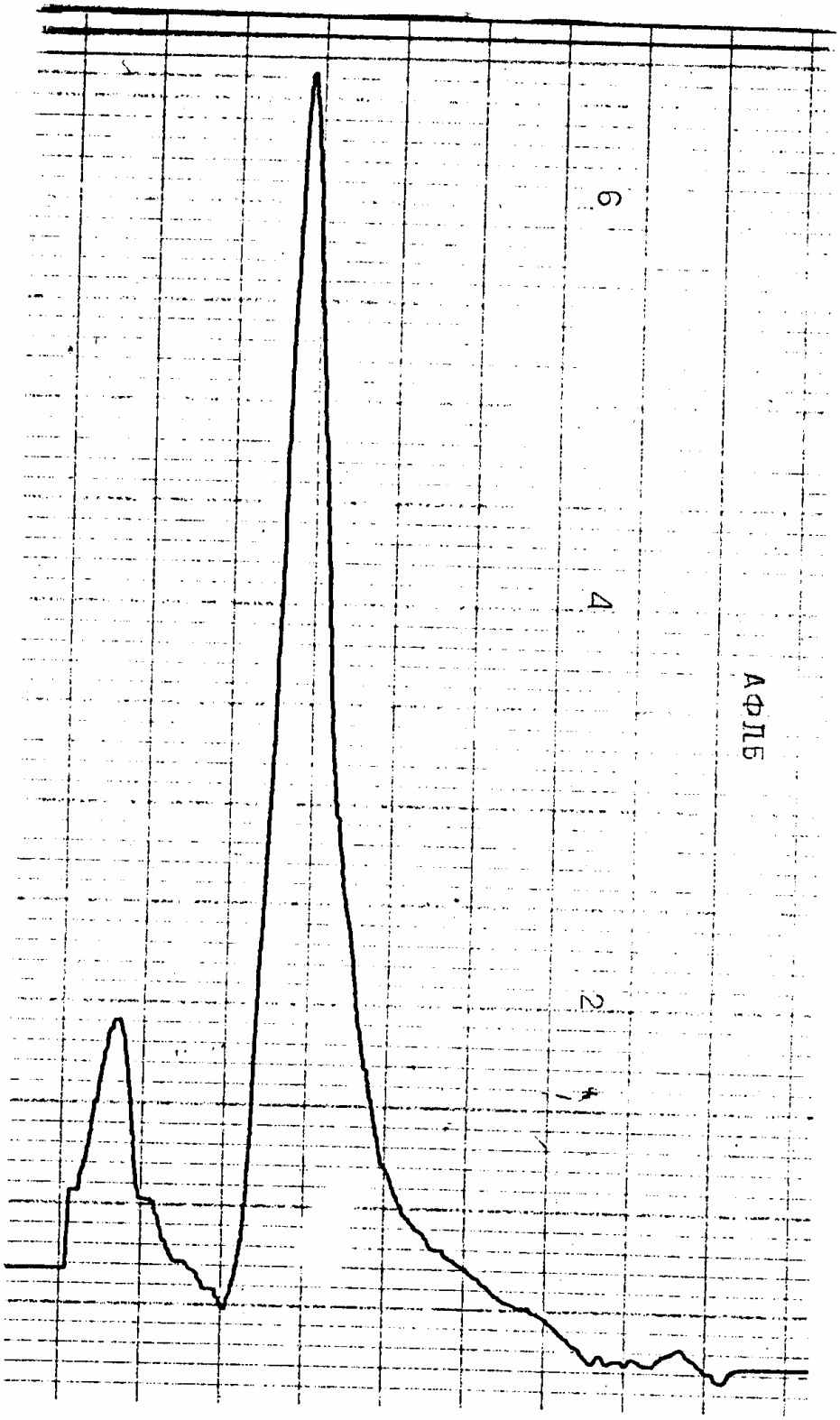
В третій групі тварин, яким виконана резекція 1/2 підшлункової залози, знайдено звичайну компенсаторну гіпертрофію залозистих клітин та клітинну гіперплазію островкового апарату (фіг. 4).

В четвертій групі тварин, яким виконано резекцію 1/2 підшлункової залози та вводили отриману речовину на протязі 14 діб звертає на себе увагу гіпертрофія залозистих клітин та різко виражена клітинна гіперплазія тканини острівків Лангерганса з їх фрагментацією (фіг. 5, 6).

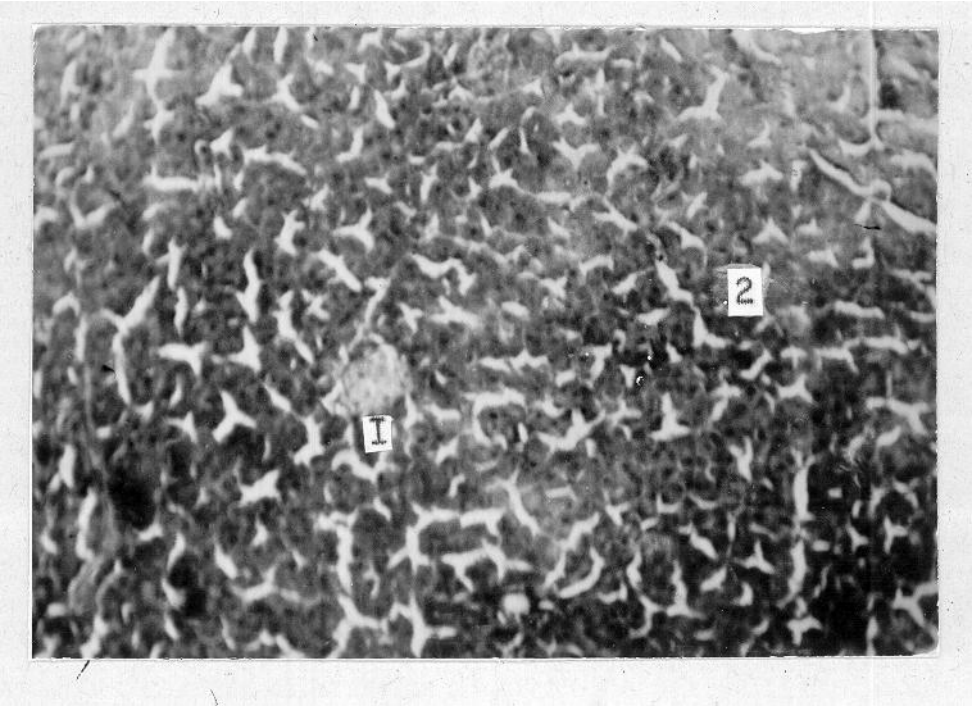
Таким чином можна стверджувати, що одержана біологічно активна речовина має регенераторний вплив на залозисту тканину підшлункової залози та виражений вплив на тканину острівків Лангерганса, що виражається у цукрознижуючому ефекті.

Вміст глюкози крові у тварин чотирьох групп (по методу Хагедорна-Йенсена; ммоль/л)

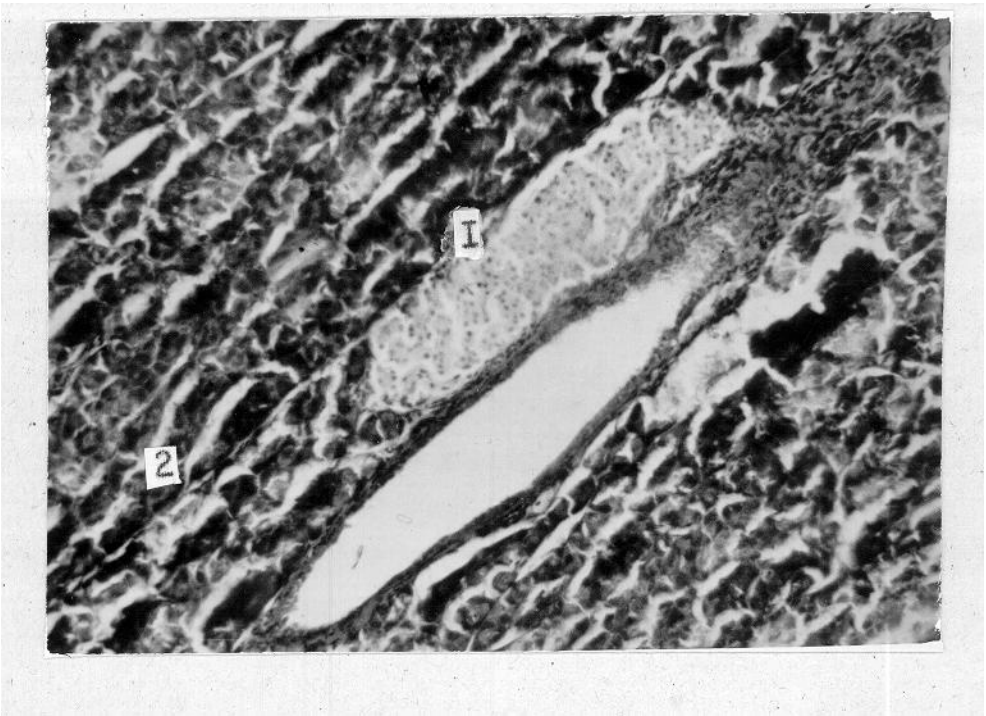
№ п/п тварини	**I група**	**II група**	**III група**	**IV група**
1	5,56	4,76	6,93	5,76
2	5,78	4,99	7,16	5,21
3	5,24	5,13	7,38	5,88
4	5,81	4,53	6,95	5,19
5	5,35	5,63	8,14	5,16
6	5,48	5,05	7,59	6,13
7	5,92	4,89	8,24	4,83
8	5,28	5,93	9,13	5,99
9	5,74	4,78	7,19	6,18
10	5,63	4,92	8,53	5,05
В середньому	5,58	5,06	7,72	5,53
	100%	90,68%	138,35%	99,1%



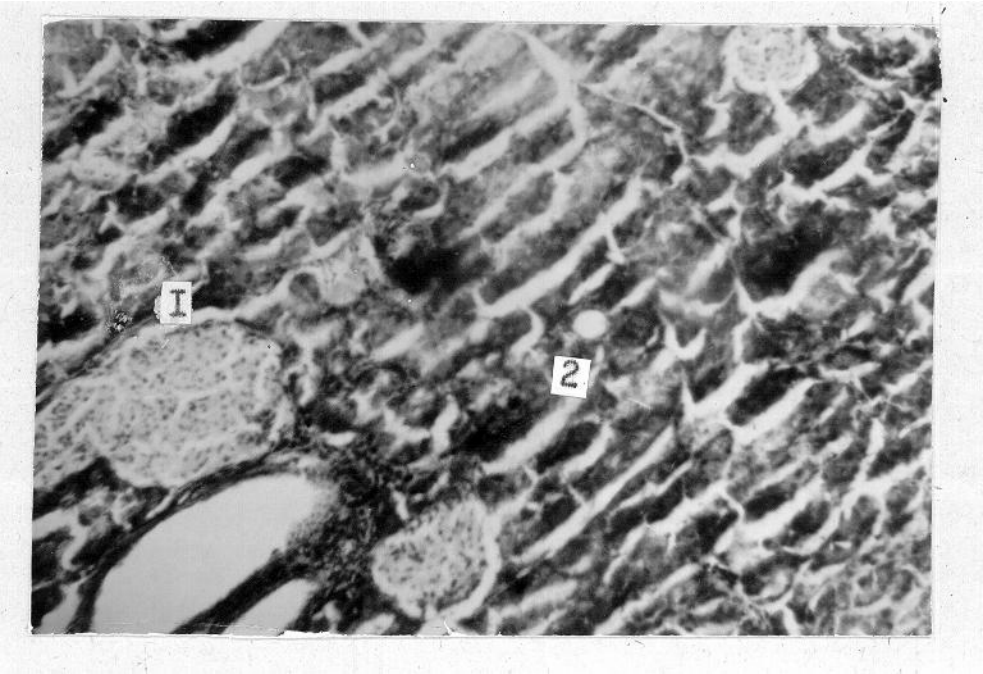
Фіг. 1



Фіг 2. Підшлункова залоза щура І групи. 1. Острівок Лангерганса
2. Звичайна залозиста тканина
Фарбування – гематоксилин-еозин, збільшення – 80х



Фіг 3. Підшлункова залоза щура ІІ групи. 1. Острівок Лангерганса
2. Залозисті клітини
Фарбування – гематоксилин-еозин, збільшення – 80х



Фіг 4. Підшлункова залоза щура III групи. 1. Острівок Лангерганса
2. Залозисті клітини
Фарбування – гематоксилин-еозин, збільшення – 80х

Фіг 5. Підшлункова залоза щура IV групи. 1. Острівок Лангерганса
2. Залозисті клітини
Фарбування – гематоксилин-еозин, збільшення – 80х

Фіг 6. Підшлункова залоза щура IV групи. 1. Острівок Лангерганса
2. Залозисті клітини
Фарбування – гематоксилин-еозин, збільшення – 80х

Тираж 50 екз.
Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03