



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37238 (13) C2

(51) 7 A61K35/62

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ КОМПЛЕКСУ ДЕСТАБІЛАЗА-ПРОСТАНОЇД З МЕДИЧНОЇ П'ЯВКИ

(21) 96020568

(22) 16.02.1996

(24) 15.05.2001

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Селезньов Константин Георгиевич, Ніконов Ге-
надій Іванович (RU)(73) СПІЛЬНЕ ПІДПРИЄМСТВО У ВИГЛЯДІ ТОВА-
РИСТВА З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
"МЕДИЧНА НАУКОВО-УПРОВАДЖУВАЛЬНА КО-
ЛЕКТИВНА ФІРМА "БІОКОН"(56) Ас. СССР № 1431119, кл. А61К 35/62,
13.06.1998 г.(57) Способ выделения комплекса дестабилаза
-простаноид из медицинской пиявки, включающий
очистку обработанного сырья, **отличающийся**
ткм, что обработанное сырье подвергают многок-
ратной экстракции органическим растворителем,
после чего жирорастворимую фракцию собирают
и упаривают.

Изобретение относится к медицине и мо-
жет применяться в биохимии, гематологии, ме-
дицине и медицинской промышленности.

Известен способ получения дестабилазы
из пиявки, взятый нами в качестве прототипа (1),
включающий аффинную хроматографию на L-
лизине, иммобилизованном на водонераство-
римом носителе, элюацию целевого продукта,
нейтрализацию элюата и лиофилизацию. Однако
полученный данным способом продукт не яв-
ляется гомогенным препаратом, т.к. содержит
в своем составе гирудин и ингибитор калликреина,
к тому же не вся дестабилаза связывается с L-
лизином.

В основу изобретения поставлена задача
создания способа выделения комплекса деста-
билаза-простаноид из медицинской пиявки, в ко-
тором обеспечивается увеличение выхода конеч-
ного продукта и повышение его чистоты.

Поставленная задача решается тем, что в
способе выделения комплекса дестабилаза-
простаноид из медицинской пиявки, содержащем
очистку обработанного сырья, согласно изобре-
тению обработанное сырье подвергают многок-
ратной экстракции органическим растворителем,
после чего жирорастворимую фракцию собирают
и упаривают.

Способ осуществляют следующим обра-
зом. Обработанное сырье (секрет желез ме-
дицинской пиявки, лиофилизат, бактерию-сим-
бионт) очищают, экстрагируют органическими
растворителями не менее 2-х раз, далее жи-
рорастворимую фракцию собирают и упаривают
до сухого остатка.

Приводим примеры осуществления спо-
соба.

Пример 1. 5 мл секрета слюны пиявок
дважды экстрагируют трехкратным объемом
этилацетата при pH 7,4. Собирают жирораство-
римую фракцию, упаривают в роторном испа-
рителе, растворяют в 0,05 М трис-HCl буфере
pH-8,4. Конечный продукт обладает фибриноли-
тической активностью, содержит простаноид, не
имеет активность гирудина и ингибитора каллик-
реина. При электрофорезе проявляется в виде
одной полосы с MM 12,3 кДа (таблица).

Пример 2. Все процедуры, как в примере
1, но в качестве сырья использовали экстракт
бактерии-симбионта в количестве 8 мл, а экст-
ракцию проводили 3 раза, трехкратным объемом
хлороформа. Полученный препарат соответст-
вует целевому продукту.

Пример 3. Все процедуры как в примере 1,
но в качестве сырья использовали водный экст-
ракт лиофильно высушенных пиявок и проводили
четырёхкратную экстракцию смесью хлороформ-
этилацетат (1:1). Также соответствие целевому
продукту.

Пример 4. Все, как в примере 1, но была
произведена однократная экстракция трехкрат-
ным объемом этилацетата. Активности целевого
продукта снижены на 50% из-за неполного экст-
рагирования органическим растворителем комп-
лекса дестабилаза-простаноид из секрета пиявок
(см. таблицу).

Преимущества способа заключаются в по-
вышении объема выхода целевого продукта и
его чистоты.

Характеристика дестабилазы, полученной по предлагаемому способу и способу – прототипу

| Параметр определения | Прототип | Пример | | | |
|---|-----------------------|--------|------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Активность дестабилазы (м/мг) | 24 | 73 | 60 | 65 | 14 |
| Содержание простагландинов (нанограмм/мг) | 600 | 1650 | 1540 | 1600 | 300 |
| Активность гирудина (АТНИН Уп/мг) | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Активность ингибитора калликреина (АПК Ед/мг) | 46 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Выход целевого продукта (%) | 45 | 100 | 100 | 100 | 50 |
| Наличие полос на электрофорограммах образце дестабилазы | 50 12,3 25 6 | 12,3 | 12,3 | 12,3 | 12,3 |

Тираж 50 экз.

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