



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **64406** (13) **U**
(51) МПК
A61K 31/455 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ФЕРМЕНТНИЙ ПРЕПАРАТ

1

2

(21) u201103677

(22) 28.03.2011

(24) 10.11.2011

(46) 10.11.2011, Бюл.№ 21, 2011 р.

(72) ЧЕРНО НАТАЛІЯ КИРИЛІВНА, ОЗОЛІНА СО-
ФІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА, ТІРОН-ВОРОБІЙОВА НА-
ТАЛІЯ БОРИСІВНА(73) ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАР-
ЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ(57) Ферментний препарат, що містить лізоцим і
панкреатин, який **відрізняється** тим, що вказані
ферменти препарат містить при наступному спів-
відношенні, мас. %:

лізоцим	30-70,
панкреатин	70-30.

Корисна модель належить до біотехнології, зо-
крема до медицини, конкретно, до ферментного
препарату, який має антибактеріальну дію.

Відомі сферичні протизапальні і протиракові
ферментні гранульовані препарати [Заявка Японії
№ 20070012040. A61K9/16. Spherical anti-
inflammatory and anti-cancer enzyme granules and
method for preparing the same / H. J. Hwan, K. J.
Cheon, K. H. Soo, K. W. Sik - заявл. 22. 07. 2005;
опубл. 25. 01. 2007], які містять такі ферменти, як
трипсин, хімотрипсिन, дезоксирибонуклеазу,
лізоцим, стрептокіназу.

Відомі також способи приготування таблето-
ваних сумішей активних компонентів, які мають
стійкість до збереження своєї форми [Заявка Япо-
нії 61-143316. A61K31/455. Preparation of stable
tablet / Terazono Takashi.- заявл. 01. 07. 1986;
опубл. 25. 04. 1995]. Активні компоненти: лактоба-
цили (*Streptococcus faecalis*), панкреатин, лізоцим
гідрохлорид.

Відомі також поліферментні препарати, що
окрім лізоциму білка курячих яєць, містять також
великий набір інших ферментів: панкреатин, папа-
їн, бромелайн, трипсин, супероксиддисмутаза, α -
хімотрипсин (препарат «Somazyme» -Life plus™,
США)

[<http://www.lifeplusvitamins.com/somazyme.htm>].

Призначення - підвищення імунного статусу орга-
нізму в цілому, забезпечення правильної роботи
підшлункової залози.

Найближчим, з відомих заявнику, є поліфер-
ментний препарат «Lysozyme Plus» виробництва
Life Extension Institute, Scottsdale, США
[<http://www.lifeextensionvitamins.com>]. Препарат
містить панкреатин, папаїн, бромелайн, рутин,
трипсин, тимус, амілазу, ліпазу, лізоцим, целюла-
зу, α -хімотрипсин. Його дія - міцний протизапаль-

ний засіб, який застосовують, наприклад, при арт-
ритах, спортивних травмах.

Даний препарат вибрано прототипом.

Прототип і корисна модель, що заявляються,
мають спільні компоненти:

- лізоцим;
- панкреатин.

Але як відомі вищенаведені ферментні препа-
рати, так і ферментний препарат за прототипом не
виявляють антибактеріальну активність.

В основу корисної моделі поставлено задачу
створити новий ферментний препарат, в якому
шляхом підбору двох конкретних ферментів та їх
співвідношення, забезпечити отримання двоком-
понентного ферментного препарату з антибактері-
альною дією.

Поставлена задача вирішена ферментним
препаратом, що містить гідролітичний фермент
лізоцим з білка курячих яєць і фермент панкреатин
при наступному співвідношенні вказаних compone-
нтів, мас. %:

- лізоцим	30-70 %;
- панкреатин	70-30 %.

Заявлений препарат виявляє бактерицидну
дію до таких мікроорганізмів, як *Micrococcus luteus*,
Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*,
Pseudomonas aeruginosa, *Planococcus citreus*.

В науково-технічній і патентній літературі не
описані ферментні препарати, які містять лізоцим і
панкреатин, з антибактеріальною дією, а також сут-
тєве підвищення лізоцимної активності самого
лізоциму при суміщенні його з панкреатином.

Відомо, що панкреатин не є активним відносно
лізоциму як білка, тобто панкреатин не гідролізує
лізоцим і останній не втрачає своєї активності.
Проведено попередні дослідження (табл. 1), за допомо-
гою яких доведено, що додавання трипсину до

(19) **UA** (11) **64406** (13) **U**

лізоциму, а також часткове заміщення лізоциму трипсином дозволяє створити бінарні ферментні композиції, які за лізоцимною активністю перевищують власно лізоцим. Також показано, що можливе підвищення лізоцимної активності у випадку часткового заміщення лізоциму сумішшю трипсину і панкреатичної ліпази. В той же час кожен з розглянутих ферментів - трипсин і ліпаза не виявляють окремо антибактеріальної дії, тобто у випадку використання таких композицій імовірно спостерігається синергічний ефект. Це явище можна пояснити, виходячи з будови клітинної стінки бактерій, яка побудована переважно з мукополісахариду, до складу якого входять залишки N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, які перехресно зв'язані короткими пептидами. Бактерицидний ефект лізоциму зумовлений його здатністю гідролізувати β -D-(1 \rightarrow 4), а також, можливо, β -D-(1 \rightarrow 2) глікозидні зв'язки мукополісахариду. Сумісна дія лізоциму, що розщеплює глікозидні зв'язки мукополісахариду, а також трипсину, що додатково розщеплює пептидні зв'язки, ліпази, що гідролізує відповідно складноестерні зв'язки ліпідів, які присутні у складі клітинної стінки деяких бактерій, приводить до підвищення сумарної активності ферментних композицій. Враховуючи, що у складі панкреатину присутні як трипсин, так і ліпаза, а додаткове їх вилучення і очистка супроводжується підвищенням ціни на відповідні ферменти, було досліджено можливість створення двокомпонентних ферментних композицій, що містять лізоцим і панкреатин.

Суміщення лізоциму з панкреатином підвищує активність двокомпонентної суміші, хоча самотійно панкреатин не виявляє лізоцимної активності (табл. 2).

Ферментний препарат отримували наступним чином.

Ферменти: лізоцим (5 мг у 50 см³ дистильованої води) і панкреатин (5 мг у 50 см³ дистильованої води) швидко змішували у різному співвідношенні при кімнатній температурі 20 \pm 2 °С. Одразу після перемішування додавали у реакційну суміш

останні компоненти (K-Na-фосфатний буферний розчин, трилон Б, субстрат (10 мг/см)) і вимірювали лізоцимну активність (у даному випадку, змінення оптичної густини системи) окремо панкреатину, лізоциму і у суміші лізоцим-панкреатин, використовуючи як субстрат *Micrococcus luteus* загально прийнятим методом згідно з патентом Російської Федерації № 2294373.

Приклад 1.

Отримували ферментний препарат, як наведено вище. Компоненти брали у наступному співвідношенні, мас. % : лізоцим - 30, панкреатин - 70.

Приклад 2.

Отримували ферментний препарат, як наведено вище компоненти брали у наступному співвідношенні, мас. % : лізоцим - 50, панкреатин 50.

Приклад 3.

Отримували ферментний препарат, як наведено вище компоненти брали у наступному співвідношенні, мас. % : лізоцим 70, панкреатин - 30.

Лізоцимна активність отриманих ферментних сумішей за прикладами 1-3 наведена в табл. 1.

Дані, наведені в табл. 1, вказують на те, що найбільш суттєве збільшення лізоцимної активності відносно контролю спостерігається при співвідношенні лізоциму і панкреатину у мас. %: 50 \div 50, 70 \div 30, відповідно.

Бактерицидний ефект сумішей лізоцим-панкреатин наведено у табл. 3.

Дані, наведені в табл. 3, вказують на те, що при співвідношенні лізоциму і панкреатину у мас. %: 70 \div 30, розширився спектр дії суміші на Гр⁻ бактерії (*Pseudomonas aeruginosa*, *Planococcus citreus*).

Отриманий ферментний препарат застосовували для одержання антибактеріального засобу у формі таблеток, до складу яких увійшли наступні компоненти, мас. %:

- лізоцим білка курячих яєць - 30-70 %;

- панкреатин - 70-30 %.

- фармацевтично допустимий носій - лактози моногідрат.

Таблиця 1

Зміна оптичної густини лізоцим-трипсин-ліпаза 5 сумішей за *Micrococcus luteus*

№ зразка	Ферменти	Зміна оптичної густини суміші за <i>Micrococcus luteus</i>	Збільшення лізоцимної активності відносно контролю, %
1	Лізоцим (л) (контроль)	0,455	
2	Трипсин (т)	0	неактивний
3	Ліпаза (лп)	0	неактивна
4	70 % л + 30 % лп	0,516	13,4
5	100%л + 40%т	0,541	18,9
6	60 % л + 40 % т + 40 % лп	0,583	28,1
7	40 % л + 30 % т + 30 % лп	0,522	14,8

Таблиця 2

Зміна оптичної густини лізоцим-панкреатин сумішей за *Micrococcus luteus*

№ зразка	Ферменти	Зміна оптичної густини суміші за <i>Micrococcus luteus</i>	Збільшення лізоцимної активності відносно контролю, %
1	Лізоцим (л) (контроль)	0,455	
2	Панкреатин (п) (контроль)	0	неактивний
3	50 % л + 50 % п	0,680	49,6
4	70%л + 30% п	0,635	39,7
5	70 %п 4-30% л	0,674	48,3

Таблиця 3

Бактерицидний ефект сумішей лізоцим-панкреатин

№ п/п	Мікроорганізми	Зони лізису, мм	
		Лізоцим білка курячих яєць	Панкреатин + лізоцим(70 %+30 %)
1	<i>Micrococcus luteus</i>	35	35
3	<i>Escherichia coli</i>	бактеріостатична дія	
		25	25
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	бактеріостатична дія	
		25	25
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	30
6	<i>Planococcus citreus</i>	35	42