



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83596** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61K 31/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2012 14033</b>	(72) Винахідник(и): <b>Черно Наталія Кирилівна (UA), Гураль Лариса Сергіївна (UA), Ломака Олена Володимирівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>10.12.2012</b>	(73) Власник(и): <b>ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.09.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.09.2013, Бюл.№ 18</b>	

## (54) КОМПЛЕКС БРОМЕЛАЙНУ З АРАБІНОГАЛАКТАНОМ, ЯКИЙ МАЄ АНТИТРОМБНУ АКТИВНІСТЬ

### (57) Реферат:

Комплекс бромелайну з арабіногалактаном сосни *Pinus silvestris* при їх масовому співвідношенні рівному 1:1, який має антитромбну активність.

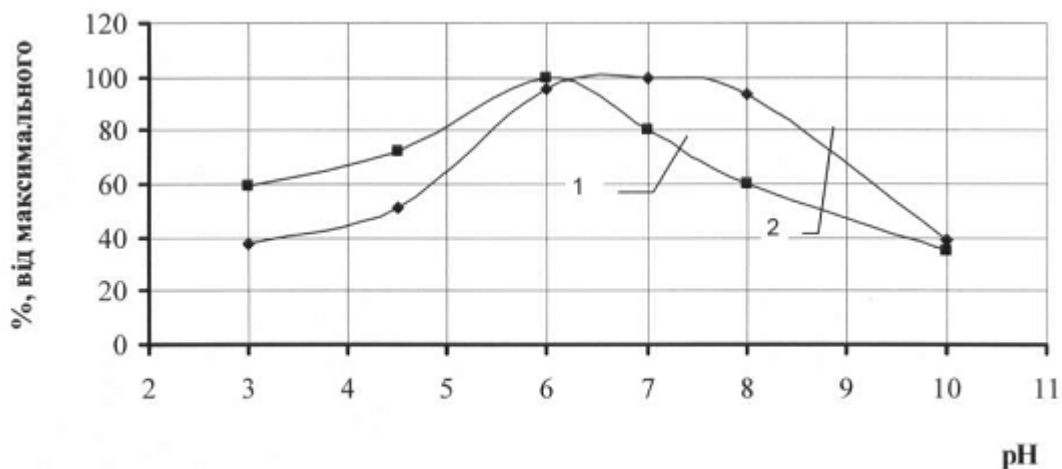


Рисунок 1 - pH оптимум бромелайну: 1 - вільний фермент;  
2 - фермент у складі комплексу

UA 83596 U



Корисна модель належить до харчової промисловості, зокрема до комплексу бромелайну з арабіногалактаном, який має антитромбну активність. Даний комплекс може бути використано як дієтична добавка.

Відома дієтична добавка, що містить у складі арабіногалактан із дигідрокверцетином та аскорбіною кислотою - препарат Діквертокс. За рахунок такого компонентного складу препарат має комплексний механізм захисної дії при грипі та ГРВІ, у тому числі імуностимулюючу, і ангіопротекторну дію. Останнє особливо важливо у випадку грипозної інфекції, оскільки головною ланкою в патогенезі грипу є ураження судинної системи, що приводить до геморагічних проявів та набряку легень. (Заявка РФ на изобретение № 2008135221/15).

Відомий також наноструктурований напівсинтетичний гепариноід - "Агсулар", що представляє собою сульфатований арабіногалактан у вигляді калієвої солі. Препарат є антикоагулянтом прямої дії і гіполіпідемічним засобом. "Агсулар", має не тільки гіполіпідемічну дію, а й антиатеросклеротичний ефект, що полягає в профілактиці утворення атеросклеротичних бляшок в аорті. (Заявка РФ на изобретение № 2008738075).

Окрім того, відомий комплекс ніфедепіну з арабіногалактаном (див. патент РФ № 2391980).

Але відомий комплекс не має антитромбної активності.

З науково-технічної і патентної літератури заявнику невідомо комплекс бромелайну з арабіногалактаном.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити новий, раніше не відомий комплекс бромелайну з арабіногалактаном, який має антитромбну активність.

Поставлена задача вирішена створенням комплексу бромелайну з арабіногалактаном сосни *Pinus silvestris* при їх масовому співвідношенні рівному 1:1, який має антитромбну активність.

Як на Україні так і за її межами такий комплекс з антитромбною активністю відсутній.

Комплекс арабіногалактану з протеолітичним ферментом бромелайном отримували, варіюючи масову частку бромелайну в розчині від 0,1 до 1,0 %, арабіногалактану - від 0,1 до 2,5 % при співвідношенні об'ємів водних розчинів ферменту та полісахариду (1-2):(2:1), при  $t=22^{\circ}\text{C}$ . Отримані зразки висушували. Для визначення тривалості процесу комплексоутворення контролювали активність ферменту в складі комплексу через кожні 15 хвилин протягом години.

Арабіногалактан одержували біотехнологічним способом із тирси сосни *Pinus silvestris*.

Приклад.

Готували 0,5 %-ні розчини арабіногалактану й бромелайну шляхом розчинення наважок у дистильованій воді при  $22^{\circ}\text{C}$  і перемішуванні. До розчину арабіногалактану  $100\text{ см}^3$  додавали при перемішуванні  $100\text{ см}^3$  розчину бромелайну. Суміш витримували при температурі  $22^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвилин. Комплекс висушували при температурі  $40^{\circ}\text{C}$ , використовуючи конвекційну сушку. Отримано 0,975 г. В отриманому комплексі співвідношення арабіногалактану:бромелайн 1:1 (на суху речовину). Активність ферментної складової комплексу сягає 80 % від активності нативного ферменту.

pH оптимум вільного бромелайну знаходиться біля 6 од. Оптимальне значення pH для бромелайну в складі комплексу знаходиться в межах 6-8 (рис. 1). Термооптимум складає  $50^{\circ}\text{C}$  (рис. 2).

Термостабільність ферменту в отриманому продукті визначали при фізіологічних значеннях температури ( $37^{\circ}\text{C}$ ) та температурі  $50^{\circ}\text{C}$ . Бромелайн при зазначених температурах має сталу активність. У комплексі з арабіногалактаном за цих умов його активність поступово зростає до максимальної (рис. 3, 4). При  $37^{\circ}\text{C}$  максимальної активності фермент у комплексі досягає при 4,5 год. (рис. 3), у той час як при  $50^{\circ}\text{C}$  - за 3 год. (рис. 4). Це свідчить, що комплекс проявляє пролонговану дію.

Додатковим підтвердженням утворення комплексу арабіногалактан - бромелайн є результати дослідження отриманого продукту методами гель-хроматографії, ІЧ-спектроскопії, ЯМР-спектроскопії.

Вихідні криві елюції арабіногалактану та ферменту на сефадексі G-75 представлено на рис. 5, 6, а продукту їх взаємодії - на рис. 7.

Піки полісахаридної та білкової складових сумісні, і об'єм їх виходу відповідає значенню молекулярної маси блакитного декстрану 90 kDa і є адитивною величиною молекулярних мас арабіногалактану (65 kDa) та бромелайну (33 kDa).

У порівнянні з ІЧ-спектрами вихідних сполук, у спектрі продукту взаємодії арабіногалактан - бромелайн має місце зміщення смуги поглинання карбонільних груп у низькочастотну область; смуги поглинання гідроксильних груп - у високочастотну; смуга поглинання груп  $\text{NH}_2$  у спектрі комплексу знаходиться при  $3305\text{-}3345\text{ см}^{-1}$ , тоді як відповідна смуга поглинання в ІЧ-спектрі бромелайну складає  $3290\text{-}3417\text{ см}^{-1}$  (рис. 8).

Отже, інтерпретація спектрів поглинання комплексу та його складових в інфрачервоній області показала, що взаємодія арабіногалактану з бромелайном супроводжується значними змінами в ІЧ-спектрі.

Комплексоутворення білка з полісахаридом підтверджено спектрами ЯМР  $C^{13}$  (рис. 9).

Дієтичну добавку для покращення реологічних властивостей крові вживають перорально.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Комплекс бромелайну з арабіногалактаном сосни *Pinus silvestris* при їх масовому співвідношенні рівному 1:1, який має антитромбну активність.

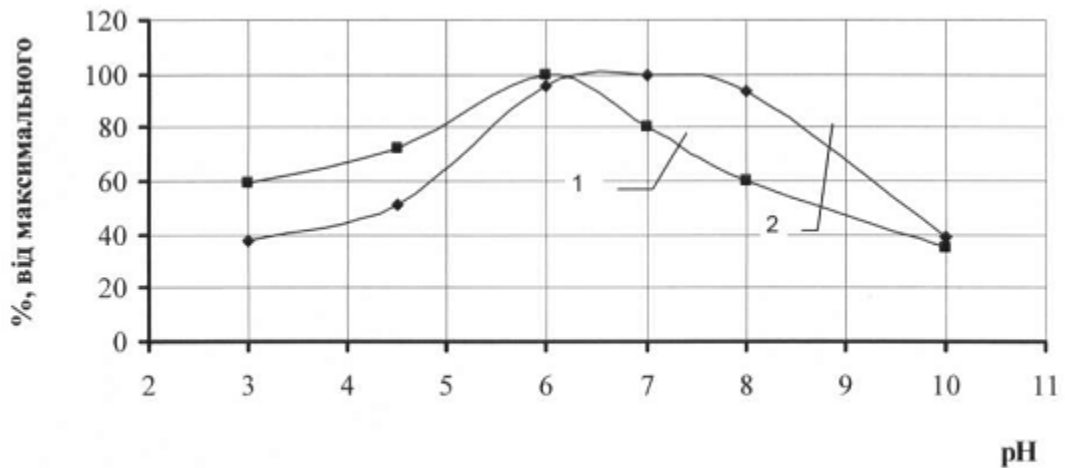


Рисунок 1 - pH оптимум бромелайну: 1 - вільний фермент;  
2 - фермент у складі комплексу

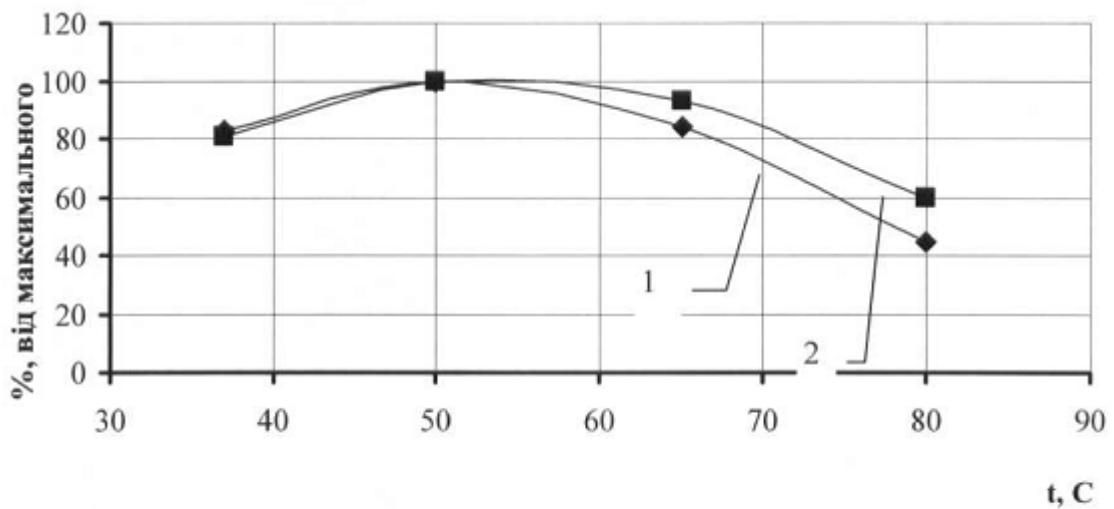


Рисунок 2 - Термооптимум бромелайну: 1 - вільний фермент;  
2 - фермент у складі комплексу

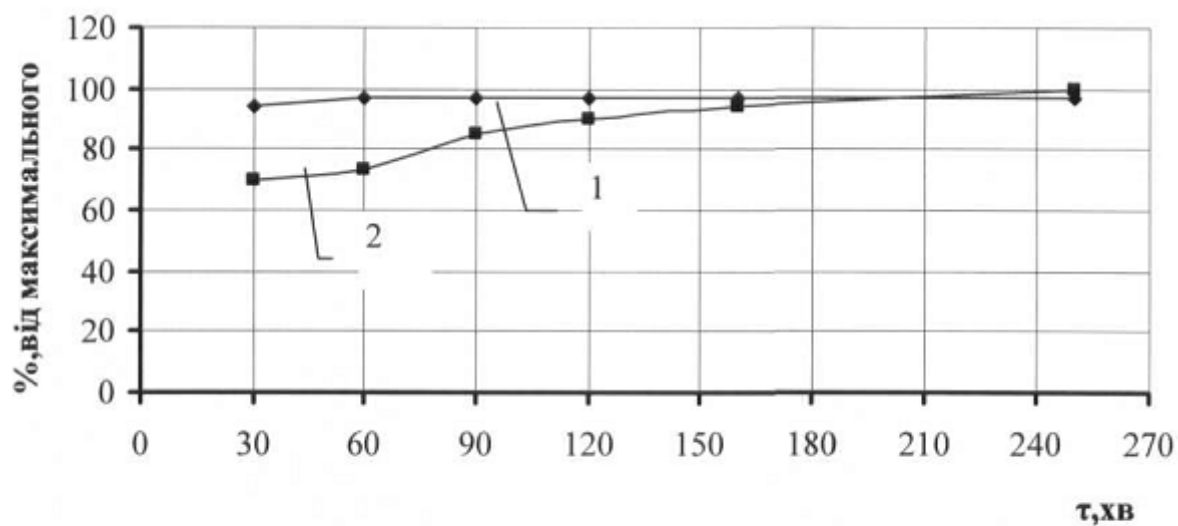


Рисунок 3 - Термостабільність бромелайну при 37 °С: 1 - вільного;  
2 - у складі комплексу.

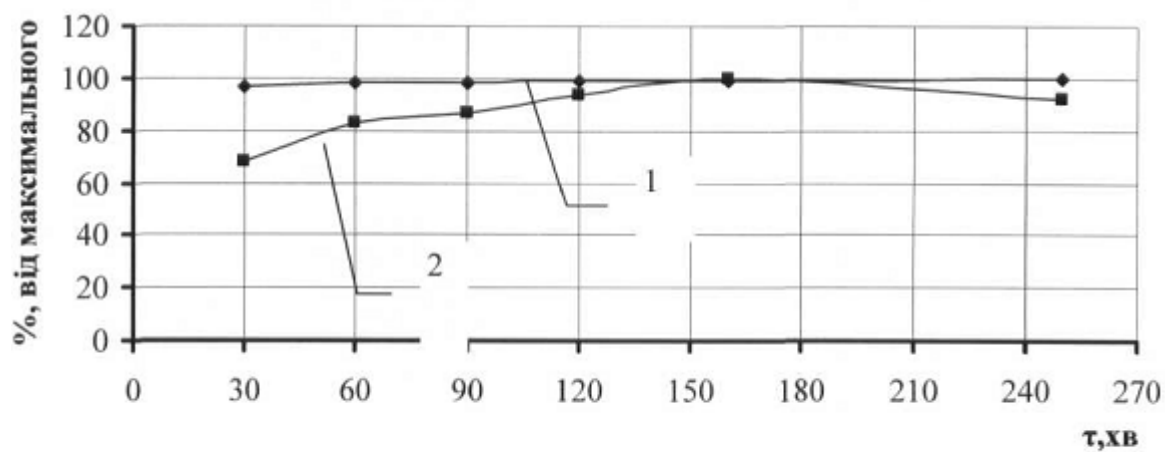


Рисунок 4 - Термостабільність бромелайну при 50 °С: 1 - вільного;  
2 - у складі комплексу.

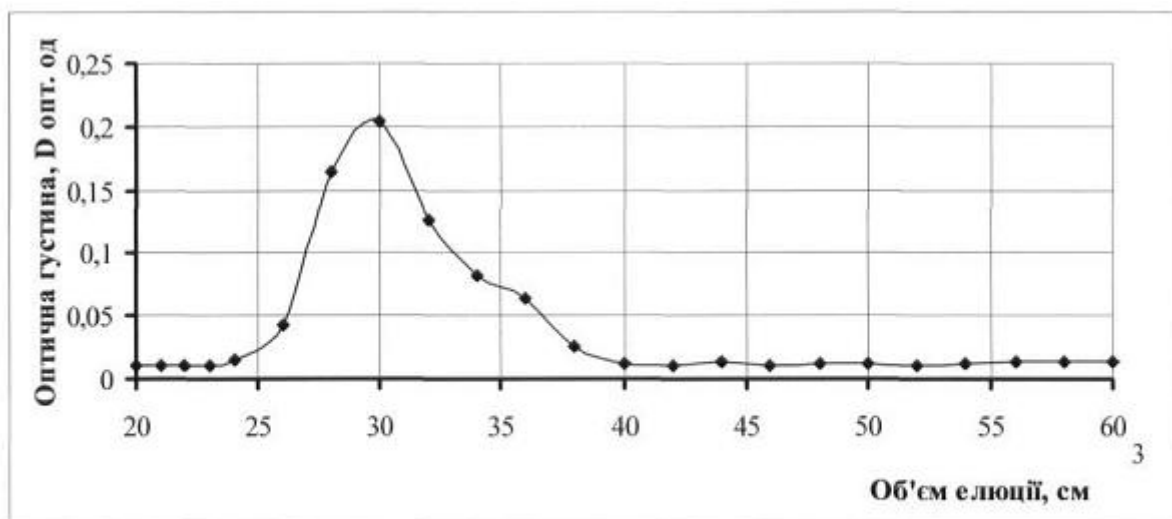


Рисунок 5 - Гель-хроматограма арабіногалактану

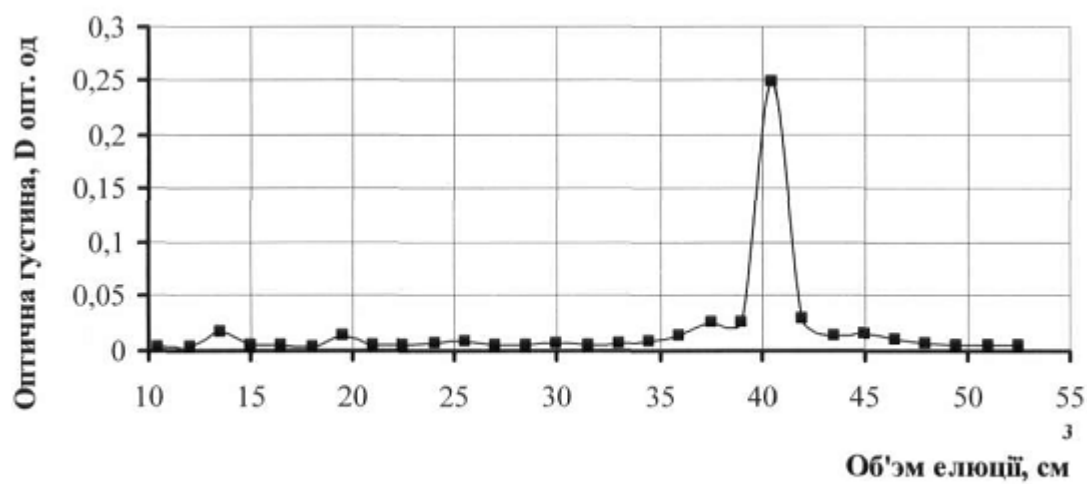


Рисунок 6 - Гель-хроматограма бромелайну

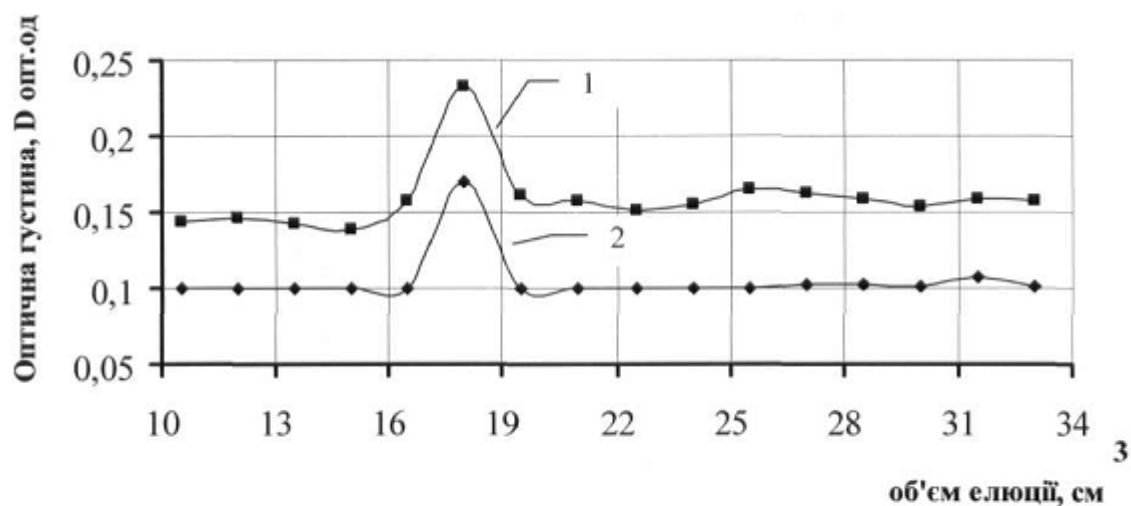


Рисунок 7 - Гель-хроматограма комплексу арабіногалактан-бромелайн  
(1 - полісахаридна складова; 2 - білкова складова)

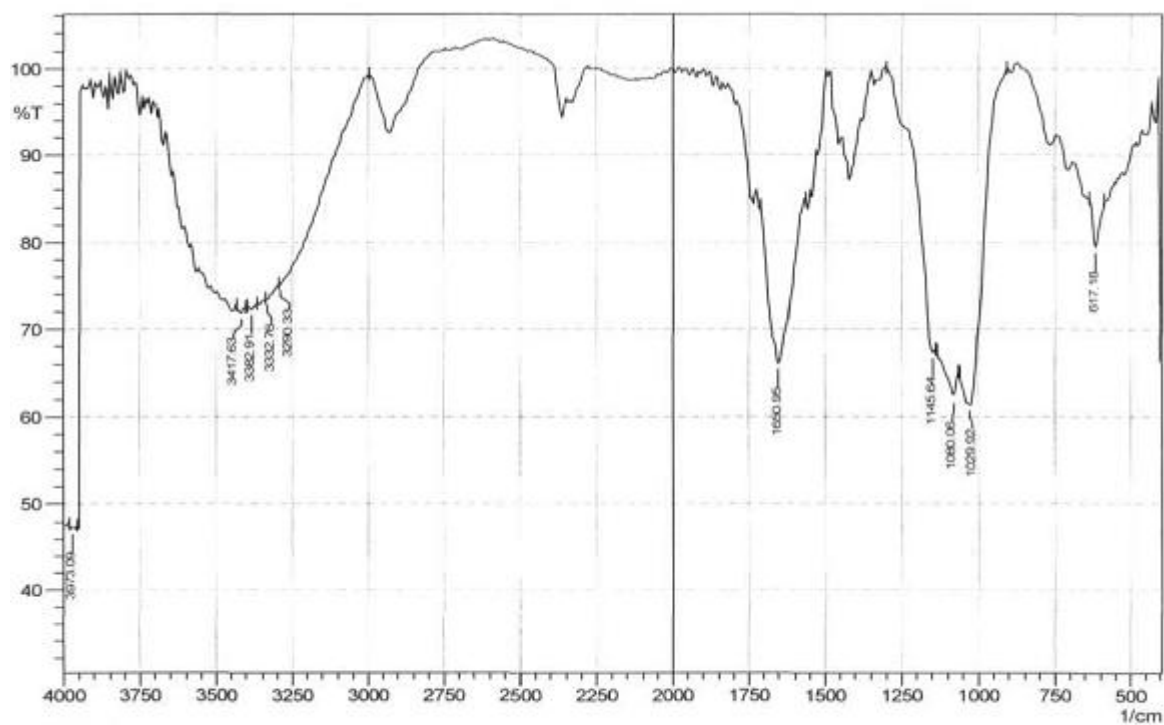
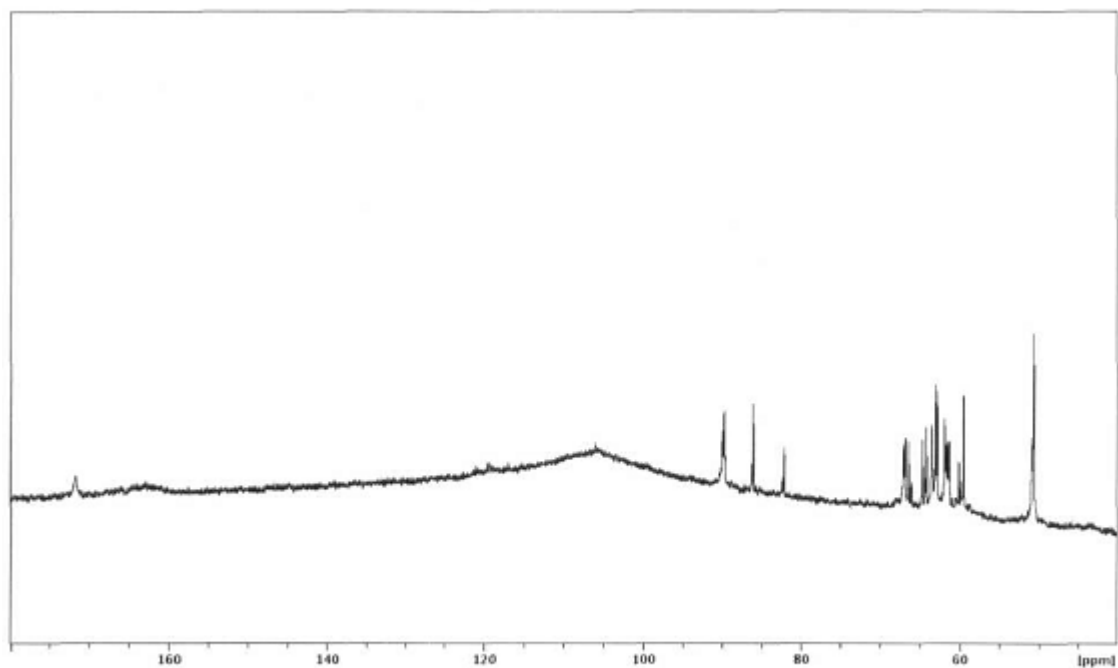


Рисунок 8 - ІЧ-спектр білок-полісахаридного комплексу



**Рисунок 9 - ЯМР  $\text{C}^{13}$  - спектр білок-полісахаридного комплексу.**

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601