



УКРАЇНА

(19) UA (11) 8152 (13) U

(51) 7 G01N33/02, G01N33/80

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**  
**ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ**  
**НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ РОСЛИН ЗА ГРУПАМИ КРОВІ ЛЮДИНИ**

1

2

(21) u200500763

(22) 28.01.2005

(24) 15.07.2005

(46) 15.07.2005, Бюл. №7, 2005р.

(72) Поспелов Сергій Вікторович, Самородов Віктор Миколайович

(73) Поспелов Сергій Вікторович, Самородов Віктор Миколайович

(57) Спосіб індивідуалізації рослин за групами крові людини в системі АВО шляхом оцінки гемаглютинувальної активності лектинів, який відрізняється тим, що визначають активність лектинів у діапазоні рН від 4,5 до 8,0 та індивідуалізують рослини для кожної групи крові на підставі середнього показника їх активності.

Корисна модель відноситься до області молекулярної біології та біотехнології і може знайти застосування для індивідуалізації рослин за конкретними групами крові людини в системі АВО.

Відомо, що лектини рослин наділені антигенною специфічністю до крові людини, диференційовано аглютинуючі її еритроцити в залежності від груп крові.

У зв'язку з цим, особливий інтерес викликає оцінка активності пектинів, синтезованих рослинами, які використовуються в харчуванні, а також при виготовленні біологічно активних добавок до їжі, що поліпшують фізіологічний стан людини. В тезисах Є.Л.Голинської «Лектины как действующее начало ряда лекарственных растений» [Первая Республиканская конференция по медицинской ботанике. Тезисы докладов. - К.: Наук. думка, 1984 - С.104-105.] пропонується методичний напрямок, за яким фармакологічна дія лікарських рослин пов'язується із вмістом в них лектинів та їх антигенною специфічністю.

Найбільш близьким до корисної моделі, що заявляється, є спосіб визначення індивідуалізації рослин шляхом оцінки гемаглютинуючої здатності їх лектинів, який включає проведення реакції аглютинації водно-солевих екстрактів рослин із еритроцитами крові людини усіх чотирьох груп у системі АВО. При цьому порівнюють активність реакції аглютинації для всіх груп крові, вважаючи, що індивідуальність до них того чи іншого екстракту рослин проявляється за максимальною реакцією аглютинації [див. Чорний І. Б., Мегалінська Г.П., Карпова І.С. Порівняльна характеристика лектинів деяких лікарських рослин // Мат-ли XI з'їзду Укр.

ботан. товариства (Харків, 25-27 вересня 2001р.). - Харків, 2001. - С.426].

Недоліком способу є його низька достовірність у зв'язку з тим, що оцінка гемаглютинуючої активності лектинів, що містяться у рослинах, ведеться лише за одним показником, в якості якого використовують значення рН екстракту, відповідного реакції рН екстрагента.

Задача, на рішення якої спрямована корисна модель, полягає у забезпеченні високої достовірності оцінки гемаглютинуючої активності екстрактів рослин, що, в свою чергу, дозволяє більш точно індивідуалізувати рослинну сировину для конкретної групи крові людини.

Вона досягається за рахунок того, що реакція аглютинації проводиться в діапазоні рН від 4,5 до 8,0, і рослини для кожної групи крові індивідуалізують на підставі середнього показника їх активності.

Діапазон рН, який заявляється, є оптимальним, оскільки визначення реакції аглютинації за його межами викликає розкладання (лізис) еритроцитів крові людини.

Відомо проведення реакції аглютинації при різних значеннях рН екстрагента, що забезпечується застосуванням буферних сумішей [див. Способ определения активности пектинов в почве. А.с. №1707530, МКИ G01N33/24] Але для оцінки активності рослинних лектинів діапазон рН, що заявляється, раніше не застосовувався.

Нами експериментально було доведено, що при різних значеннях рН активність рослинних лектинів може значно змінюватись і для достовір-

(19) UA (11) 8152 (13) U

ної оцінки необхідно визначати їх активність при різних значеннях рН - від 4,5 до 8,0.

Спосіб здійснюється наступним чином

Наважку подрібненої сухої рослини пересипають у скляний бюкс і заливають фізіологічним розчином при співвідношенні наважки до розчину, як 1 до 10. Екстрагування здійснюють протягом двох годин і згодом фільтрують.

Паралельно з цим готують буферні суміші із значенням рН 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0. Після цього, кожний із вказаних буферних розчинів лабораторним дозатором вносять у лунки імунологічних планшетів із напівкруглим дном. При цьому варіанти розташовують відповідно до рядків планшету.

Екстракт досліджуваного рослинного зразка вносять у першу лунку кожного із варіантів з наступною серією двократних розведень.

Далі у кожну лунку вводять рівний вихідному об'єму екстракту об'єм двохпроцентної суміші трічі відмитих еритроцитів та проводять інкубацію протягом 60-120 хвилин при  $t^{\circ} +25^{\circ}\text{C}$ .

Оцінку гемаглютинуючої здатності лектинів проводять візуально за п'ятибальною шкалою:

3 бали - різко виражена аглютинація. Еритроцити у вигляді тонкої плівки рівномірно розподіляються по всьому дну лунки;

2 бали - помірна аглютинація. Еритроцити розходяться по дну лунки на відстані, яка перевищує в діаметрі 2мм, утворюючи кільце із різко вираженою зернистістю по краях;

1 бал - слабка аглютинація. Еритроцити розходяться по донцю лунки на відстані менш 2-х мм, утворюючи кільце або диск;

0,5 бала - мінімальна аглютинація. В центрі скупчення еритроцитів, що осідають на дно лунки, утворюється невеличкий отвір;

0 балів - відсутність аглютинації. Еритроцити скупчуються у центрі лунки.

Використовуючи вказану послідовність, визначають інтенсивність аглютинації шляхом додавання значення в балах по кожній лунці імунологічного планшету і остаточно вираховують середнє значення по всьому діапазону рН, що досліджується.

Аналогічно оцінюють кожний зразок рослин із чотирма групами крові. Після цього ведуть статистичну обробку отриманих значень між собою.

На основі отримання достовірних статистичних відмінностей між групами крові роблять висновок про індивідуалізацію рослин до них.

#### Приклад 1

Проводять індивідуалізацію квіток глоду криваво-червоного (*Crataegus sanguinea*) за групами крові людини.

Для цього один грам сухої розмеленої сировини екстрагують фізіологічним розчином у співвідношенні сировина - екстрагент 1:10 протягом двох годин. Отриманий екстракт оцінюють в балах за викладеною вище п'ятибальною шкалою.

За прототипом (табл.1) гемаглютинуюча активність визначається при рН 6,5, що відповідає рН фізіологічного розчину. Після цього отримані дані статистичне обробляються. Результати свідчать про те, що активність екстракту по відношенню до еритроцитів першої та другої груп крові була суттєво вищою, ніж третьої та четвертої груп крові. На підставі цього робиться висновок, що квітки глоду індивідуалізовані особам із першою та другою групами крові.

Таблиця 1

	0(I)	A(II)	B(III)	AB(IV)
Оцінка активності в балах	8,0	8,5	5,5	6,0
Статистична оцінка:				
tфакт. I-II групи	0,86			
tфакт. I-III групи	4,33*			
tфакт. I-IV групи	4,00*			
tфакт. II-III групи		6,00*		
tфакт. II-IV групи		6,12*		
tфакт. III-IV групи			1,22	
tтеоретичне на 1% рівні	3,71	3,71	3,71	

\* - різниця суттєва на 1%-ному рівні достовірності

Оцінка, проведена за пропонуваним способом із використанням буферних сумішей з діапазоном рН від 4,5 до 8,0 (табл.2) і наступної статистичної обробки отриманих даних свідчить, що активність екстрактів, які вивчалися, по відношенню до еритроцитів першої, другої та третьої груп крові людини була суттєво вищою, ніж у осіб з четвертою

групою крові, чого не можна було встановити, застосовуючи прототип.

Таким чином, пропонуваний спосіб дозволив провести більш достовірне визначення гемаглютинуючої активності лектинів, індивідуалізуючи квітки глоду особам із першою, другою та третьою групами крові.

Таблиця 2

Гемаглютинуюча активність екстрактів квіток глоду за пропонованим способом

	0(I) група	A(II) група	B(III) група	AB(IV) група
Оцінка активності в балах при рН:				
4,5	10,0	11,0	11,0	9,5
5,0	11,0	11,0	11,0	8,0
5,5	9,5	10,0	9,5	6,0
6,0	8,0	8,5	8,0	5,0
6,5	8,0	8,5	5,5	3,0
7,0	3,5	1,5	0,0	0,0
7,5	3,5	2,0	0,0	0,0
8,0	3,5	2,5	0,0	0,0
Середнє:	7,1	6,9	5,6	3,9
Статистична оцінка:				
tфакт. I-II групи 0,41	0,41			
tфакт. I-III групи 3,56	3,56*			
tфакт. I-IV групи 8,55	8,55*			
tфакт. II-III групи		3,22		
tфакт. II-IV групи		8,43*		
tфакт. III-IV групи			6,58*	
tтеоретичне на 1% рівні 3,71	3,71	3,71	3,71	

\* - різниця суттєва на 1%-ному рівні достовірності

## Приклад 2

Проводять індивідуалізацію листків обліпихи крушиновидної (*Hieracium thamnoides*) за групами крові людини.

Для цього один грам сухої розмеленої сировини екстрагують фізіологічним розчином у співвідношенні сировина - екстрагент 1:10 протягом двох годин. Отриманий екстракт оцінюють в балах за викладеною вище п'ятибальною шкалою.

За прототипом (табл.3) гемаглютинуюча активність визначається при рН 6,5, що відповідає рН фізіологічного розчину. Після цього отримані дані статистичне обробляються. Результати свідчать про те, що активність екстракту по відношенню до еритроцитів першої та другої груп крові була суттєво вищою, ніж третьої та четвертої груп крові. На підставі цього зроблено висновок, що квітки глоду індивідуалізовані особам з першою та другою групами крові.

Таблиця 3

Гемаглютинуюча активність листків обліпихи (за прототипом)

	0(I) група	A(II) група	B(III) група	AB(IV) група
Оцінка активності в балах	21,6	21,3	19,9	17,8
Статистична оцінка:				
tфакт. I-II групи	1,44			
tфакт. I-III групи	6,50*			
tфакт. I-IV групи	9,04*			
tфакт. II-III групи		5,35*		
tфакт. II-IV групи		8,33*		
tфакт. III-IV групи			4,68*	
tтеоретичне на 1% рівні	3,71	3,71	3,71	

\* - різниця суттєва на 1%-ному рівні достовірності

Оцінка, проведена за пропонованим способом із використанням буферних сумішей з діапазоном рН від 4,5 до 8,0 (табл.4) та результати статистичної обробки отриманих даним свідчить про те, що активність досліджуваних екстрактів по відношенню до всіх чотирьох груп крові людини була однаково статистично доведеною, що неможливо було встановити, застосовуючи прототип.

Таким чином, рекомендований спосіб дозволить провести більш достовірне визначення гемаглютинуючої активності лектинів, індивідуалізуючи листки обліпихи особам із першою, другою, третьою та четвертою групами крові.

Пропонований спосіб дозволяє виявити різницю у фізіологічній активності в тих випадках, коли за прототипом вона не спостерігається.

Таблиця 4

Гемапгяютинуюча активність екстрактів листків обліпихи пропонованим способом

0(I) група		A(I) група	B(III) група	AB(IV) група
Оцінка активності в балах при рН:				
4,5	32,0	30,0	29,0	32,0
5,0	30,0	30,0	28,5	29,0
5,5	30,0	30,0	28,0	29,0
6,0	27,5	29,0	27,0	28,0
6,5	26,0	26,0	23,0	25,0
7,0	25,0	25,0	21,0	21,0
7,5	21,0	24,0	18,5	19,0
8,0	21,0	23,0	18,0	18,0
Середнє:	26,6	27,1	24,1	25,1
tфакт. I-II групи	0,64			
tфакт. I-III групи	3,32			
tфакт. I-IV групи	2,01			
tфакт. II-III групи		3,61		
tфакт. II-IV групи		2,42		
tфакт. III-IV групи			1,24	
tтеоретичне на 1% рівні	3,71	3,71	3,71	

\* - різниця суттєва на 1%-ному рівні достовірності