



УКРАЇНА

(19) UA (11) 13552 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 36/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛЕКТИНУ

1

2

(21) u200507661

(22) 01.08.2005

(24) 17.04.2006

(46) 17.04.2006, Бюл. № 4, 2006 р.

(72) Поспелов Сергій Вікторович, Поспелова Ганна
Дмитрівна(73) ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКА-
ДЕМІЯ(57) Спосіб одержання лектину шляхом екстракції
рослинної сировини, центрифугування, послідов-
ного фракціонування екстракту етиловим спиртом
і висушування цільового продукту, який відрізня-
ється тим, що як рослинну сировину використо-
вують насіння калини звичайної (*Viburnum opulus*
L.), а екстракцію проводять при рН 4,5-5,0.

Корисна модель відноситься до галузі біології та медицини, а конкретно способам отримання лектинів і можливості використання для вивчення фізіологічних процесів, які відбуваються в клітинах, а також імунології.

Відомий спосіб отримання лектину шляхом екстракції рослинної сировини, в якості якої використовують подрібнене насіння обліпихи крушиновидної [*Hipporhae rhamnoides* L.], центрифугування, послідовного фракціонування екстракту етиловим спиртом та сушки цільового продукту. Екстракцію проводять буфером Мак-Ілвейна в розчині хлориду натрію (0,9%) при рН 5,0÷6,0 [див. а.с. СРСР №1732998, МПК⁶ A61K35/78, 18.04.1990р.]. Даний спосіб взятий за найближчий аналог.

Недоліком відомого способу є низький показник агрегаційної активності одержаного лектину, що обумовлено недостатнім рівнем екстрактивності даної сировини при вказаному веденні процесу екстракції.

Задача, на рішення якої спрямована корисна модель, складається з розширення сировинної бази і підвищення агрегаційної активності лектинів за рахунок використання іншої рослинної сировини та особливого процесу екстракції.

Вона досягається за рахунок того, що, як рослинну сировину використовують насіння калини звичайної, а екстракцію проводять при рН 4,5÷5,0. Авторами вперше було встановлено, що насіння калини звичайної [*Viburnum opulus* L.] мають значну агрегаційну активність, що обумовлено вмістом в них лектинів високої біологічної активно-

сті. Відповідно до цього були розроблені умови екстракції, які дозволяють з максимальною ефективністю провести видобування цих білків.

Для екстрагування готують суміш шляхом об'єднання 0,2М Na₂HPO₄·12H₂O та 0,1М лимонної кислоти до необхідного значення рН. Кожний з компонентів розчиняють в 0,9% NaCl на дистильованій воді. Для приготування 1 літра 0,2М розчину Na₂HPO₄·12H₂O потрібно 71,64г реактиву, а 1 літр 0,1М лимонної кислоти - 19,21 препарату.

Спосіб здійснюють наступним чином. Насіння калини розмелюють і екстрагують (10л фосфатно-цитратного буферу при рН 4,5÷5,0 на 1кг насіння) протягом 2-х годин при кімнатній температурі. Суміш фільтрують і фільтрат центрифугують 20 хвилин при 5000об/хв. Осад виводять з технічного процесу, надосадкову рідину доводять до рН 4,0, додаючи холодний етанол (-2°C) до кінцевої 75%-ної концентрації і знову центрифугують. Надосадкову рідину виділяють, осад сушать під вакуумом, розчиняють в 600мл 0,9% NaCl. Після центрифугування осад виділяють і повторюють етанольне фракціонування, як описано вище. Отриманий при повторному осаджуванні 75%-ним етиловим спиртом осад висушують під вакуумом, розчиняють в 400мл 0,9%-ного розчину хлориду натрію, і повторюють етанольне фракціонування ще раз. Осад, отриманий після третього осаджування етанолом, розчиняють в дистильованій воді, діалізують та висушують. Вихід лектину становить 0,3%.

(13) U
13552
(11)
UA
(19)

Таблиця

Ефективність виділення пектинів
при різному рН екстрагенту

Умови екстрагування	Титр аглютинації
Екстрагування при рН=4,0	1:256
Екстрагування при рН=4,5	1:2048
Екстрагування при рН=5,0	1:2048
Екстрагування при рН=5,5	1:1024
Екстрагування при рН=6,0	1:512
Екстрагування при рН=6,5	1:256
Екстрагування при рН=7,0	1:256
Екстрагування при рН=7,5	1:256
Екстрагування при рН=8,0	1:128

Контроль за ефективністю виділення пектинів з насіння калини звичайної здійснюється шляхом постановки реакції гемаглютинації з використанням еритроцитів людини 0(1) групи в системі АВО.

Дані таблиці свідчать, про те що при видобуванні пектинів забуференою системою в діапазоні рН 4,5-5,0 титр аглютинації складає 1:2048. Під час проведення екстракції за найближчим аналогом титр аглютинації складає 1:512-1:2048, що значно поступається запропонованому способу. Це свідчить про те, що під час виділення лектинів за пропонуваним способом підвищується їх активність до гемаглютинації.