

Изобретение относится к медицине и может применяться в биохимии, гематологии, медицине и медицинской промышленности.

Известен способ получения дестабилазы из пиявки, взятый нами в качестве прототипа (1), включающий аффинную хроматографию на L-лизине, иммобилизованном на водонерастворимом носителе, элюацию целевого продукта, нейтрализацию элюата и лиофилизацию. Однако полученный данным способом продукт не является 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 дестабилаза-простаноид из медицинской пиявки, в котором обеспечивается увеличение выхода конечного продукта и повышение его чистоты.

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

Способ осуществляют следующим образом. Обработанное сырье (секрет желез медицинской пиявки, лиофилизат, бактерию-симбионт) очищают, экстрагируют органическими растворителями не менее 2-х раз, далее жирорастворимую фракцию собирают и упаривают до сухого остатка.

Приводим примеры осуществления способа.

Пример 1. 5 мл секрета слюны пиявок дважды экстрагируют трехкратным объемом этилацетата при pH 7,4. Собирают жирорастворимую фракцию, упаривают в ротаторном испарителе, растворяют в 0,05 М трис-HCl буфере pH-8,4. Конечный продукт обладает фибринолитической активностью, содержит простаноид, не имеет активности гирудина и ингибитора калликреина. 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 экстракцию проводили 3 раза, трехкратным объемом хлороформа. Полученный препарат соответствует целевому продукту.

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

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

Преимущества способа заключаются в повышении 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 Ун/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 екз.

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