Рекомендована д.ф.н., членом-кореспондентом АНТК України А.Г.Сербіним

УДК 582.651.224:57.083.331:577.112.853

ЗАЛЕЖНІСТЬ АГЛЮТИНУЮЧОЇ ЗДАТНОСТІ ЛЕКТИНІВ ОМЕЛИ БІЛОЇ ВІД ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТУ

В.М.Ковальов, А.В.Мартинов, Т.А.Краснікова

Українська фармацевтична академія

Показані результати дослідження стабільності лектинів омели білої в залежності від технологічних параметрів екстракції. Встановлено, що нагрівання екстракту довше 5 хв. при 100°С, а також додавання спирту до одержання концентрації розчину більше 60% призводить до незворотньої денатурації лектинів. Попереднє очищення сировини хлороформом не призводить до явної зміни аглютинуючої здатності лектинів, хоча стійкість лектинів до спирту трохи зменшується.

Важливим напрямком розробки високоефективних протипухлинних засобів є розробка оптимальної технології вилучення біологічно активних сполук, яка не приводила до втрати їх біологічної здатності. Лектини омели відповідають за такі біологічні властивості екстракту, як протипухлинна [2] та частково гіпотензивна дія. Так як біологічна дія омели білої залежить від наявності у складі екстракту сумарної фракції лектинів, то дуже важливо встановити кореляцію між методом отримання екстракту та активністю лектинів. Нами проведені дослідження по встановленню активності лектинів в залежності від температури та методів екстракції і очищення. Для підтвердження наявності лектинів у розчинах ми використали властивість лектинів приводити гепаринізовану кров до аглютинації через деякий час [4].

Результати дослідження

Нами було встановлено, що на активність лектинів впливає термін та температура екстракції сировини. Короткочасна екстракція водою (1-5 хв.) порошкоподібної сировини як на холоді, так і при температурі водяної бані не призводить до денатурації лектинів. Хоча довготривала екстракція (до 1,5 години) при 100°С призводить до втрати екстрактом здатності до аглютинації [1] гепаринізованої крові (табл. 1). Також встановлена залежність між активністю лектинів та об'ємом і концентрацією спирту (табл. 2), яким осаджували суму лектинів [3], полісахаридів та інших білків. Концентрація спирту більше 65% у розчині призводить до незворотньої денатурації лектинів (НДЛ), а мінімальна концентрація спирту, при якій осідають лектини, становить 42%.

Проведене також очищення сухої сировини від ліпофільних фракцій хлороформом та встановлена аглютинуюча дія екстракту після очищення. Встановлено, що холодна екстракція 0,9% розчином натрію хлориду очищеної сировини сприяє одержанню екстракту, який не втрачає аглютинуючої дії на еритроцити. Але подальше осадження спиртом білковополісахаридної фракції (БПФ) вже призводить до НДЛ при 40% спирті в розчині замість 65% спирту при неочищеному екстракті, а мінімальна концентрація спирту, яка осаджує активні лектини, становить 20% (табл. 2).

Таблиця 1

Технологічні параметри водних екстрактів

№ екстракту	Об'єм води дистильованої для екстракції	Об'єм фізрозчину для екстракції	Маса сировини	Об'єм екстракту	Маса сухого екстракту	Наявність аглютинації
1	-	1000	200	515	-	присутня
2	-	-	-	250	65	відсутня
3-8	2000	-	100	1750	-	див. табл. №2
9	-	250	50	100	-	присутня
10	-	-	-	50	13	відсутня
11-16	800	-	40	680	-	див. табл. №2

Таблиця 2

Технологічні параметри розчинів лектинів після осадження спиртом

№ екстракту	Первинний об'єм екстракту	Об'єм спирту для осадження лектинів	Об'єм 0,9% розчину натрію хлориду для розчинення лектинів	Концентрація спирту в розчині	Наявність аглютинації
3	50	15	25	12	відсутня
4	50	55	25	42	присутня
5	50	72	25	55	присутня
6	50	85	25	65	присутня
7	50	100	25	75	відсутня
8	50	115	25	86	відсутня
11	6	1,8	25	12	відсутня
12	6	3,0	25	20	присутня
13	6	6,0	25	40	присутня
14	6	10,2	25	65	відсутня
15	6	12,0	25	75	відсутня
16	6	13,8	25	86	відсутня

Це дає можливість зробити висновки, що в нативному неочищеному екстракті присутні сполуки, які стабілізують лектин і не дають змоги призвести до НДЛ.

Експериментальна частина

1. Отримання нативної неочищеної фракції омели білої.

Екстракт №1

Подрібнену сировину масою 200 г екстрагують 1000 мл 0,9% розчину натрію хлориду методом дрібної мацерації протягом 1,5 год. на холоді порціями по 250 мл, потім проціджують через ватний тампон 3-4 рази до зникання з розчину каламуті. Вихід становить 515 мл. Екстракт знову фільтрують, але через паперовий фільтр під вакуумом. Далі екстракт досліджують на предмет наявності аглютинуючої здатності.

2. Отримання сухого екстракту з нативної неочищеної фракції омели білої.

Екстракт №2

250 мл нативного екстракту випаровують під вакуумом в апараті RODATEST при 85-90°С у круглодонній колбі об'ємом 1000 мл. Далі 0,5 г висушеного екстракту розчиняють у 5 мл 0,9% розчину натрію хлориду та досліджують на предмет наявності аглютинуючої здатності.

3. Отримання "холодного" екстракту омели білої на дистильованій воді та подальше осадження спиртом БПФ.

Екстракти №3-8

Подрібнену сировину масою 100 г екстрагують 2000 мл води дистильованої методом вичерпної екстракції протягом 1,5 год. на холоді порціями по 250 мл, далі екстракт фільтрують через паперовий фільтр під вакуумом. Далі до 50 мл екстракту краплями додають 96% спирт (об'єми спирту та номери фракцій наведені в табл. 1.) при постійному перемішуванні розчину. Через 3 год. суміш центрифугують, рідину зливають, а до осаду додають 25 мл 0,9% розчину натрію хлориду, перемішують, фільтрують через паперовий фільтр. Отримані таким чином фракції досліджують на предмет наявності аглютинуючої здатності. Результати наведені в табл. 1. Концентрацію спирту в екстракті знаходили спиртометром при 20°С.

4. Очищення сировини омели білої від ліпофільних фракцій хлороформом та подальша екстракція і осадження БПФ.

Екстракти №9-16

100 г порошкоподібної сировини зашивають у мішок з льону і в апараті Сосклета очищають від ліпофільних фракцій 250 мл хлороформу. Очистку сировини припиняють при зниканні забарвлення хлороформу у зливному патрубку. Шрот сировини далі підсушують на холоді. Далі з 50 г шроту отримують екстракт (№9) на 500 мл 0,9% розчину натрію хлориду, як показано для екстракту №1. З 50 мл екстракту отримують сухий екстракт (№10), як показано для екстракту №2. З 40 г шроту отримують екстракти (відповідно №11-16), як показано для екстрактів №3-8. Для всіх отриманих екстрактів досліджують аглютинуючу дію (див. табл. 1).

5. Дослідження аглютинуючої здатності.

2 мл отриманого екстракту змішують з 3 мл 0,9% розчину натрію хлориду та 0,5 мл цитратної крові у плоскодонній пробірці, яку протягом 1,5 год. перемішують. У контрольну пробірку вносять 5 мл 0,9% розчину натрію хлориду та

0,5 мл крові і перемішують протягом 1,5 год. Пробірки ще на 2 год. залишають у стані покою. Потім, порівнюючи з контролем, встановлюють наявність кола аглютинації на дні пробірки.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Лапчик В.Ф., Юрчишина Т.В. Лектин каланхоэ.// Изучение и применение лектинов. Т. 1. Общие вопросы, химия и биохимия лектинов. Труды по химии. — Тарту, 1989. — 189 с.*
2. *Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. — Львов, Выща школа. — 1981. — 423 с.*
3. *Франц Х., Пфюллер К.// Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. — 1983. — №5. — С. 18-25.*
4. *Ziska P., Franz H.// Acta Biol. Med. Germ. — 1979. — B. 38. — №4. — P. 697-700.*

УДК 582.651.224:57.083.331:577.112.853

ЗАВИСИМОСТЬ АГГЛЮТИНИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ЛЕКТИНОВ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ ОТ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЕКСТРАКТА

В.Н.Ковалев, А.В.Мартынов, Т.А.Красникова

Представлены результаты исследования стабильности лектинов омелы белой в зависимости от технологических параметров экстракции. Установлено, что нагревание экстракта дольше 5 мин. при температуре водяной бани, а также добавление спирта до концентрации более 60% в растворе ведет к необратимой денатурации лектинов. Предварительная очистка сырья хлороформом не ведет к заметному изменению агглютинирующей способности лектинов, хотя их устойчивость к спирту незначительно падает.

UDC 582.651.224:57.083.331:577.112.853

DEPENDENCE BETWEEN AGGLUTINATION PROPERTIES OF VISCUM ALBUM LECTINS AND TECHNOLOGY OF EXTRACTION

V.N.Kovalev, A.V.Martynov, T.N.Krasnikova

Dependence between stability of Viscum album lectins and technological parameters of extraction was presented. Heating of extract above 5 min. about 100°C and addition of alcohol above 60% concentration in solution was leaded to irreversible denaturation of lectins. Preliminary purification of raw materials does not conduce to appreciable change of lectins agglutination, although stability of lectins to alcohol negligible decreased.

ДОВІДНИК ВФ

ПОСІБНИК "ІСТОРІЯ ФІЛОСОФІЇ" (у двох частинах)

Є.А.Подольська, Н.І.Парафійник

Автори посібника — професор Є.А.Подольська та ст. викладач Н.І.Парафійник розглядають концепції, ідеї, теорії, що входять до скарбниці світової філософської мудрості. Становлення філософських ідей аналізується у взаємозв'язку з розвитком природничих наук, медицини та фармації.

Філософські проблеми подаються у контексті минулого і сучасного культурного життя з позицій толерантності.

Автори приділяють увагу розгляду основних течій, напрямків найістотніших вчень світової і національної філософської думки, показують значення філософії у вирішенні світоглядних і смислово-життєвих проблем людського існування, методологічних досліджень в галузі хімії, біології, медицини та фармації.