Союз Советских Социалистических Республик

Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 891777

(61) Дополнительное к авт. свид-ву –

(22) Заявлено 220180 (21) 2878326/23-04

с присоединением заявки № –

(23) Приоритет –

Опубликовано 23.1281. Бюллетень № 47

Дата опубликования описания 23.1281

(51) М. Кл.[3] C 12 N 9/62// A 61 K 37/48

(53) УДК 577.15.07(088.8)

(72) Авторы изобретения В.Т.Чернобай, А.Г.Сорокин, В.Ф.Рудюк, Ж.А.Любецкая и Н.Ф.Маслова

(71) Заявитель Харьковский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт

[illegible]

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА АСПЕРАЗЫ

1

Изобретение относится к новому способу получения нового ферментного препарата из поверхностной культуры Aspergillus oryzae, который может найти применение в медицине и др. отраслях.

Близкими по специфическому действию на субстраты являются химотрипсин и террилитин.

Известен способ получения ферментного препарата амилолитического действия – "Оразы" из поверхностной культуры Aspergillus oryzae, который включает экстракцию водой, осаждение этанолом при отношении объема 1:2, растворение полученного осадка в воде при отношении веса 1:3 и осаждение целевого продукта этанолом при отношении 1:(1-3).

Первый осадок в процессе получения "Оразы", полученный осаждением этанолом при отношении 1:2, содержит помимо целевого амилолитического фермента и протеолитический.

2

Полученный продукт – препарат "Ораза" обладает выраженным амилолитическим действием и используется как лекарственное средство для лечения желудочно-кишечных заболеваний[1].

Однако известный способ не обеспечивает возможности получения нового ферментного препарата – асперазы, хотя препарат "Ораза", получаемый из этого же сырья указанным способом содержит небольшие примеси продукта ферментативной природы, обладающего протеолитической активностью (40-50 ед/г).

Таким образом, известный способ не обеспечивает возможности комплексного использования сырья, тогда как в принципе возможно получение препарата "Оразы" и препарата асперазы по единой технологической схеме.

Цель изобретения – разработка нового способа получения нового ферментного препарата асперазы, расширяющего арсенал лекарственных средств

и медико-биологических средств воздействия на живой организм, а также комплексное использование сырья.

Указанная цель достигается способом получения нового ферментного препарата асперазы, который заключается в том, что поверхностную культуру Aspergillus oryzae подвергают экстракции водой, из полученного экстракта осаждают комплекс ферментов этанолом при отношении объема 1:2, осадок растворяют в воде при отношении веса 1:(3-4) и осаждают асперазу этанолом при отношении объема 1:(0,4-0,6) с последующим перераспределением осадка в воде при отношении веса 1:1 и переосаждением этанолом при отношении объема 1:(0,9-1,1).

Асперазa относится к протеазам типа трипсина (КФ 3.4.4.4).

Предлагаемый способ основан на выделении ферментного препарата асперазы из выращенной поверхностным способом культуры Aspergillus oryzae (т.е. Амилоризина Пх).

Выход препарата составляет 0,22-0,25% от исходного сырья, протеолитическая активность - 150-160 ед/г. Препарат представляет собой порошок от светло-желтого до буровато-серого цвета со слабым специфическим запахом, растворимый в воде и нерастворимый в этаноле, хлороформе, ацетоне, эфире и других органических растворителях.

Пример. 120 кг поверхностно выращенной культуры гриба Aspergillus oryzae загружают в батарею перколяторов и подвергают экстракции водопроводной водой. Из полученных 60 л экстракта осаждают сумму ферментов исчерпывающим объемом 96°-ного этанола (по объему). Полученный осадок растворяют в дистиллированной воде в соотношении 1:4 по весу и фракционно осаждают 0,5 объемами 96°-ного этанола (по объему), полученный осадок растворяют в дистиллированной воде 1:1 (по весу), удаляют нерастворившуюся часть путем центрифугирования, а из фугата переосаждают одним объемом 96°-ного этанола целевой продукт, который промывают этанолом и сушат на воздухе. Протеолитическая активность 150-160 ед/г, выход 295 г.

Кроме получения препарата протеолитического действия, способ позволяет комплексно использовать сырье и повысить амилолитическую активность препарата "Оразы" до 280-340 ед/г, а также утилизировать отходы производства препарата "Оразы".

Проведенные фармакологические исследования показывают безвредность препарата и его специфическое действие. Препарат асперазы обладает выраженным протеолитическим действием, которое характеризуется способностью расщеплять белки, например казеин до продуктов, не осаждаемых трихлоруксусной кислотой, а также может найти применение в ферментной и пищевой промышленности.

Ферментный препарат протеолитического действия проявляет выраженное лизирующее действие в отношении некротических биосубстратов: ожогового струпа, гнойно-воспалительного секрета гайморовой полости, сгустков крови и тромбов, при внутрибрюшинном введении оказывает противовоспалительное действие, вызывая уменьшение экссудативных явлений, вызванных рядом флотогенных агентов и при ингаляционном пути введения в дозах 0,4-1,6 ПЕ/кг не оказывает токсического влияния на функциональное состояние жизненно важных органов.

Формула изобретения

Способ получения ферментного препарата асперазы, отличающийся тем, что поверхностную культуру Aspergillus oryzae подвергают экстракции водой, из полученного экстракта осаждают комплекс ферментов этанолом при отношении объема 1:2, осадок растворяют в воде при отношении веса 1:(3-4) и осаждают асперазу этанолом при отношении объема 1:(0,4-0,6) с последующим перерастворением осадка в воде при отношении веса 1:1 и переосаждением этанолом при отношении объема 1:(0,9-1,1).

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Авторское свидетельство СССР №587150, кл. С 12 D 13/10, 1976 (прототип).

ВНИИПИ Заказ 11152/39 Тираж 531 Подписное

Филиал ППП "Патент", г.Ужгород, ул.Проектная,4