

Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою
УДК 615.362.357:577.127.2:615.324:547.932

ОТРИМАННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІПОФІЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ЖОВЧІ ТВАРИН

© О. О. Стремоухов

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: запропоновано комплексну переробку жовчі тварин. Визначено деякі параметри стандартизації комплексів жовчі. Розроблено методики якісного аналізу та визначення кількісного вмісту жовчних кислот у ліпофільному комплексі. Вміст жовчних кислот у перерахунку на холевую кислоту повинен становити не менше 16 %.

Ключові слова: жовч, жовчні кислоти, холева кислота, ліпофільний комплекс (ЛК), глікопротеїновий комплекс (ГПК).

Вступ. На території України застосовують жовч великої рогатої худоби, овець, кіз і свиней у вигляді сухої, згущеної та консервованої жовчі. За виробничим призначенням жовч підрозділяють для виробництва лікарських препаратів, бактеріологічного поживного середовища, жовчних кислот. Збір, обробку і вироблення згущеної та консервованої жовчі, проводять відповідно до вимог чинних технічних умов, за технологічними інструкціями з дотриманням санітарних правил для підприємств м'ясної промисловості, затверджених в установленому порядку. Жовч, яку заготовляють, реалізують партіями, у яких вона має однакові властивості, бо вироблена за певний час, за однакових умов на одному об'єкті. Кожна партія супроводжується відповідним ветеринарним документом (ветеринарною довідкою або ветеринарним свідоцтвом). За органолептичними та бактеріологічними показниками жовч повинна відповідати вимогам ДСТУ 4495 [1–3, 5].

Методи дослідження. Для отримання комплексів використовують жовч тварин за ДСТУ 4495. Проведення стандартизації БАР у одержаних комплексах жовчі проводили відомими методиками аналізу жовчі [6, 8–10], які були адаптовані до отриманих комплексів. Визначення жовчних кислот для ЛК проводили у перерахунку на холевую кислоту.

Результати й обговорення. З метою комплексного використання сировини нами проведено роботи, спрямовані на створення безвідходної, економічної технології переробки жовчі, з одержанням трьох комплексів: ЛК, ГПК та водний залишок (ВЗ). Даний спосіб дає змогу раціонального використання вітчизняних сировинних ресурсів. Новизну розробленого оригінального способу одержання комплексів жовчі підтверджено патентом України № 94830 [7].

Вибір екстрагентів та параметрів екстракції здійснено експериментальним шляхом з урахуванням ступеня біологічної активності одержаних комплексів, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах. Для розробки оптимальної технології отримання комплексів жовчі встановлювали вміст екстрактивних речовин різними екстрагентами за стандартною методикою [4].

Органолептичні властивості, вологість та вихід готового продукту для різних комплексів жовчі наведено в таблиці 1.

З метою стандартизації ЛК визначали наявність та кількісний вміст БАР: жовчних кислот, ферментів, амінокислот.

Якісні реакції. 0,5 г ЛК жовчі поміщають у пробірку і розчиняють в 10 мл спирту. Розчин змішують з двома краплями 10 % розчину сахарози і обережно нашаровують 1–2 мл концентрованої сірчаної кислоти. На межі обох рідин з'являється червоно-фіолетове кільце. При обережному змішуванні рідина набуває вишнево-червоне забарвлення.

Кількісне визначення. Сума жовчних кислот.

Кількісне визначення суми жовчних кислот проводили колориметричним методом із використанням реакції комплексоутворення у перерахунку на холевую кислоту. Оптичну густину розчинів вимірювали при довжині хвилі 630 нм. Для цього виготовляли стандартний розчин холевої кислоти: 0,2 г чистої холевої кислоти з температурою плавлення (196 ± 1) °С (точна наважка) вносять в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють в 5 мл 0,1 м розчину гідроксиду натрію і доливають водою до позначки. 1 мл отриманого розчину містить 2 мг холевої кислоти. З цього розчину готують розчини з вмістом в 1 мл: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 мг і так далі холевої кислоти.

Таблиця 1. Органолептичні показники комплексів жовчі

Назва	ГПК жовчі	ЛК жовчі	ВЗ жовчі
Агрегатний стан	Порошок	Густа однорідна маса, без зайвих включень	Розчин без зайвих включень
Колір	Від кремового до світло-жовтого або світло-брунатного кольору	Темно-зеленого або темно-коричневого кольору	Ясно-жовтого або жовто-коричневий
Запах	Специфічний	Специфічний	Специфічний
Смак	Гіркуватий	–	–
Розчинність	Добре розчинний у воді, практично не розчинний в етері, хлороформі	Розчиняється у спирті, хлороформі, петролейному етері, гексані	Розчиняється у воді, етиловому спирті
Вологість	Не більш 10 %	–	–
Золи загальної	Не більш 20 %	–	–
Вихід готового продукту	18 % з урахуванням крохмалю	16 %	10 %

Для приготування розчину фурфуролу його відганяють при температурі (160 ± 2) °С до появи фракції фурфуролу світло-жовтого забарвлення. Ця фракція може зберігатися протягом трьох тижнів при температурі (4±2) °С. Для аналізу з відігнаної фракції готують 0,9 % водний розчин фурфуролу, який придатний для використання протягом 12 годин.

Близько 1,7 г (точна наважка) ЛК жовчі вносять в мірну колбу місткістю 100 мл, додають 5 мл 2 м розчину гідроксиду натрію, перемішують, доводять водою до мітки, збовтують і фільтрують через сухий складчастий фільтр в суху колбу, відкидають перші 5–10 мл фільтрату, 10 мл фільтрату вносять в мірну колбу на 100 мл, доводять водою до мітки і перемішують. Потім беруть пробірки і вносять в перші три по 1 мл випробовуваного розчину, у четверту – 1 мл стандартного розчину, який містить 0,2 мг холевої кислоти, у п'яту – 1 мл стандартного розчину, який містить 0,4 мг холевої кислоти, у шосту – 1 мл стандартного розчину, який містить 0,6 мг холевої кислоти. До всіх шести пробірок додають по 1 мл свіжовиготовленого 0,9 % водного розчину фурфуролу і по 6 мл 16 м розчину сірчаної кислоти. Всі

пробірки нагрівають у термостаті при 70 °С протягом 8 хв, потім охолоджують в льоду.

Після цього в кожен пробірку додають по 7 мл спирту і колориметрують проти очищеної води в кюветі 10 мм при довжині хвилі 630 нм. Вміст холевої кислоти (X) у відсотках (табл. 2) розраховують за формулою:

$$X = \frac{a \cdot b \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A \cdot m \cdot 10 \cdot 1000}$$

де а – вміст холевої кислоти у стандартному розчині, оптична щільність якого відповідає оптичній щільності випробовуваного розчину, мг/мл;

А – оптична щільність стандартного розчину, що відповідає оптичній щільності випробовуваного розчину;

b – оптична щільність випробовуваного розчину;

m – наважка, г;

100 – переведення у відсотки;

100 – перше і друге розведення;

10 – число мл перше розведення, взяте для аналізу;

1000 – коефіцієнт перерахунку, г.

Таблиця 2. Метрологічні характеристики кількісного визначення суми жовчних кислот у ЛК жовчі

m	v	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, v)	Довірчий інтервал	ε _{ср} , %
5	4	16,01	16,53	0,1531	0,175	0,95	2,78	16,53±0,49	2,94
		16,66							
		16,64							
		16,30							
		17,04							

Висновки. Встановлено такі показники стандартизації ЛК жовчі: опис, розчинність, ідентифікація, кількісне визначення. Вміст жовчних кис-

лот у перерахунку на холеву кислоту в ЛК повинен становити не менше 16 %.

Література

1. Бельмер С. В. Болезни желчевыводящей системы у детей / С. В. Бельмер, Т. В. Гасилина, Е. Е. Левина. – М. : ГОУ ВУНМЦ МЗ и СР РФ, 2006. – С. 58.
2. Вихрова Т. В. Сократительная функция желчного пузыря у больных с билиарным сладжем / Т. В. Вихрова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение № 23. – 2004. – С. 95.
3. Вишневская В. В. Состояние моторной функции желудка и двенадцатиперстной кишки при заболеваниях билиарного тракта / В. В. Вишневская, И. Н. Кабанова, И. Д. Лоранская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение № 23. – 2004. – С. 95.
4. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство науково-експериментальний фармакопейний центр., редкол. : В. П. Георгієвський. – 1-ше вид. – Х. : РІПЕГ, 2001. – 532 с.
5. ДСТУ 4495:2005 Сировина ендокринно-ферментна та спеціальна. Технічні умови.
6. Состав желчи и желчных камней у больных холелитиазом при спектрофотометрии и дериватографии / А. М. Ногаллер, Р. А. Иванченкова, Г. С. Дорджин [и др.] // Клинич. мед. – 1986. – № 1. – С. 17–24.
7. Спосіб одержання біологічно активних речовин з тваринної сировини / О. О. Стремоухов, М. О. Мошко // Патент України № 94830, МПК А61К 35/413, А61Р 1/14, заяв. № а201000821 від 27.01.2010, опубл. 10.06.2011, бюл. № 11/2011.
8. Стремоухов О. О. УФ-дослідження речовин жовчі / О. О. Стремоухов, О. Б. Наріжна // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : мат. всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, 17–18 травня 2007 р., м. Харків. – Х., 2007. – С. 63–64.
9. Чупич С. П. Спектроскопические критерии литогенности желчи в ранней диагностике холелитиаза / С. П. Чупич, Г. Л. Грицких. – М. : Междунар. Академия информатизации, 1993. – 69 с.
10. Coca E. A method for quick determination of bile acids in bile of patients with biliary lithiasis. / E. Coca, B. Ribas, G. Trigueros // J. Liquid Chromatogr. – 1994. – Vol. 17. – P. 1349-1363.

ПОЛУЧЕНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛИПОФИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЧИ ЖИВОТНЫХ

А. А. Стремоухов

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: предложена комплексная переработка желчи животных. Определены некоторые параметры стандартизации комплексов желчи. Разработаны методики качественного анализа и определения количественного содержания желчных кислот в липофильном комплексе. Содержание желчных кислот в пересчете на холевую кислоту должен быть не менее 16 %.

Ключевые слова: желчь, желчные кислоты, холевая кислота, липофильный комплекс (ЛК), гликопротеиновый комплекс (ГПК).

PREPARATION AND STANDARDIZATION OF LIPOPHILIC BILE COMPLEX IN ANIMALS

O. O. Stremouhov

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: a complex bile processing of animals was proposed. There were identified some options of standardization of bile systems. The techniques of qualitative analysis and determination the quantity of bile acids in the lipophilic complex were developed. The content of bile acids based on cholic acid should be at least 16 %.

Key words: bile, bile acids, cholic acid, lipophilic complex, glycoprotein complex.