

ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЖОВЧІ ТВАРИН

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Жовч тварин – перспективне джерело отримання природних біологічно активних речовин. Вибір жовчі птахів для біохімічного та фізико-хімічного вивчення був обумовлений достатньою сировинною базою, а також зменшенням поголів'я корів та свиней на Україні, з яких отримують препарати жовчі.

Мета. Вивчення фізико-хімічних та біохімічних показників жовчі тваринного походження для визначення перспективних джерел біологічно активних речовин та збільшення сировинної бази, за рахунок жовчі птахів.

Матеріали та методи. Сумарну кількість біологічно активних речовин визначали на біохімічному аналізаторі «Stat-fax 1904» з використанням стандартних реагентів фірм «Ольвекс діагностікум» та «Фелісіт-діагностіка», фізико-хімічні та органолептичні показники визначали за ДСТУ та ДФУ, експериментальні данні було зібрано в 2015 році.

Результати. Встановлено фізико-хімічні та біохімічні показники жовчі: сумарну кількість жовчних кислот, загальних ліпідів, ліпопротеїдів високої (ЛПВГ) та низької густини (ЛПНГ), вільних жирних кислот, фосфоліпідів, холестерину, білірубину, ферментів та загального білку.

Висновки. Отримані данні щодо хімічного складу сировини жовчі тварин вказують на перспективність подальших досліджень з метою створення препаратів на основі жовчі курчат та розробці нормативної документації на жовч птахів.

Ключові слова: жовч, жовчні кислоти, ферменти, ліпіди.

Вступ. В арсеналі лікарських засобів медицини препарати природного походження, як рослинного, так і тваринного, займають значне місце. Тваринництво створює достатню сировинну базу для одержання біологічно активних речовин (БАР) різної фармакологічної дії. Сировина тваринного походження, яка містить значну кількість різних класів БАР, таких як стероїди, гормони, ферменти, фосфоліпіди, вітаміни, жирні і органічні кислоти, застосовується у виробництві лікарських засобів лише для отримання окремих компонентів. До такої сировини належить жовч тварин та птахів.

Матеріали та методи. Об'єктами нашого дослідження були середні проби трьох зразків жовчі: бичача – *Bos taurus* L. (ВРХ), свиняча – *Sus scrofa domestica* L., качок – *Anas platyrhynchos* L., гусей – *Anser anser* L. та куряча жовч – *Gallus gallus* L. Нативну, сертифіковану за вимогами нормативної документації ДСТУ 4495, жовч ВРХ (ЖВt), свиней (ЖSs), качок (ЖАр), гусей (ЖАа) і курей (ЖGg) заготовляли на м'ясопереробних підприємствах та птахофабриках Харківської обл. Сумарну кількість жовчних кислот, загальних ліпідів, ліпопротеїдів високої (ЛПВГ) та низької густини (ЛПНГ), вільних жирних кислот, фосфоліпідів, холестерину, білірубину, ферментів та загального білку визначали на біохімічному аналізаторі «Stat-fax 1904» з використанням стандартних реагентів фірм «Ольвекс діагностікум» та «Фелісіт-діагностіка».

Визначення вмісту вологи [2]. Наважку нативної жовчі тварин масою близько 1 г зважували на аналітичних вагах (точна наважка) і поміщали у

попередньо висушений до постійної маси бюкс, що заповнено на одну п'яту обсягу прожареним піском, зі скляною паличкою. Далі висушували при температурі від 100 до 105 °С до постійної маси. Різниця між останніми зважуваннями не повинна перевищувати 0,001 г. Вміст вологи у відсотках (X) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m}$$

де m_1 – маса бюкса з наважкою до висушування, г;

m_2 – маса бюкса з наважкою після висушування, г;

m – наважка досліджуваної жовчі, г.

Реакція осадження [2]. 1 мл жовчі поміщали у пробірку, додавали до 10 мл очищеної води, в іншу пробірку наливали лише 10 мл очищеної води. Пробірки охолоджували до температури $12 \pm 2^\circ\text{C}$ і всипали в них 20 мг очищеної сірки. У пробірці з водою сірка плавала на поверхні, а у пробірці з розчином жовчі вона швидко опускалася на дно. Жовч знижує поверхневий натяг за рахунок наявності в ній жовчних кислот і фосфоліпідів, які емульгують сірку, утворюючи міцели. Кольорова реакція [2]. 1 мл жовчі, поміщали у пробірку і розчиняли в 10 мл очищеної води. Розчин змішували з двома краплями 10%-ного розчину цукру і обережно додавали 3-4 мл концентрованої сірчаної кислоти. На межі рідин утворювався осад жовчних кислот і з'являлося забарвлене кільце. При обережному змішуванні рідина набувала вишнево-червоного забарвлення.

Додатково, до вимог ДСТУ 4495, за методами ДФУ визначали відносну густину жовчі, сухий залишок, загальну золу сухого залишку, рН та біохімічні показники [1, 2].

Результати та їх обговорення. За результатами аналізу зразків жовчі тварин згідно до вимог ДСТУ 4495 та ДФУ проводили органолептичний контроль, реакцію осадження та кольорову реакцію ідентифікації жовчних кислот, визначали вміст вологи. Результати аналізу наведено у табл. 1.

Як видно з наведених даних, досліджувані зразки жовчі мають не суттєві розходження в усіх визначених показниках. Слід зазначити, що зелений відтінок (білівердин) має жовч ВРХ і свійської птиці; свиняча жовч відрізняється брунатно-жовтим кольором. Також жовч тварин була різна за консистенцією, так лише ЖSs була аморфна. У зразку ЖGg спостерігали повільне випадіння осаду при реакції з сіркою, що може свідчити про менші поверхнево активні властивості курячої жовчі, ніж у інших зразків.

Біохімічними показниками жовчі визначали на біохімічному аналізаторі з використанням стандартних реагентів [3]. Результати визначення показників у зразках жовчі тварин наведено в табл. 2.

Одержані результати біохімічних показників довели відмінності у складі жовчі тварин та птахів. При цьому найбільші розбіжності були між жовчу, що дозволена до медичного застосування та жовчу птиці. Ферментний склад жовчі однаковий, але в ЖGg переважає: трипсин, ліпаза, кисла і лужна фосфатаза, тоді як у ЖSs – кисла фосфатаза, а у ЖВt, ЖАa, ЖАp – амілаза, що пов'язано з режимом харчування тварин. За вмістом ліпідів переважала ЖАa: загальні ліпіди склали 15,55 г/л; серед них на ЛПНЩ припадає 12,07 г/л, на ЛПВЩ – 8,27 г/л. Слід відмітити, що у ЖGg кількість ліпопротеїнів

ФАРМХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

високої та низької густини була приблизно однакова, тоді як у жовчі ВРХ і свині перебільшували ЛПВЩ у 1,95 і 1,03 рази відповідно, а у жовчі качок та гусей навпаки ЛПВЩ переважали ЛПНЩ у 1,31 і 1,46 рази відповідно.

Таблиця 1

Результати дослідження зразків жовчі тварин (n=15, M±SD)

Вид контролю	ЖВt	ЖSs	ЖGg	ЖAp	ЖAa
Відносна густина	1,021	1,028	1,024	1,031	1,035
pH	6,4	7,0	6,5	6,4	6,4
Вміст води, %	84,30±2,54	86,08±2,59	82,58±2,49	83,30±1,54	82,98±1,87
Сухий залишок, %	15,73±0,47	13,95±0,42	17,45±0,53	16,53±0,45	16,45±0,68
Зола сухого залишку, %	12,11±0,36	12,51±0,38	13,78±0,42	11,91±0,32	11,50±0,4
Запах	різко специфічний, але не гнильний				
Консистенція	рідка	аморфна	рідка	рідка	рідка
Колір (у т.ч. при розведенні у воді 1:4)	темно-брунатна із зеленуватим відтінком	брунатно-жовтий	брунатно-жовтий із зеленуватим відтінком	темно-коричневий із зеленуватим відтінком	
Осадова реакція з очищеною сіркою	++	++	+	++	++
Реакція забарвлення з цукром та сірчаною кислотою	червонувато-фіолетове кільце	червонувато-фіолетове кільце	вишнево-червоне кільце	червонувато-фіолетове кільце	фіолетове кільце

Примітка: ++ швидке випадання осаду, + повільне випадання осаду.

Слід зазначити, що ЛПНЩ вміщують до 45% холестерину, 10% тригліцеридів та 20% фосфоліпідів, тоді як ЛПВЩ навпаки, вміщують менше холестерину та більше білка і фосфоліпідів (приблизно 50%) та є транспортом холестерину від різних органів до печінки тварин.

Для визначення стабілізуючих властивостей жовчі та індекса атерогенності були визначені співвідношення: холато-холестериновий коефіцієнт (ХХК), ліпідо-холестериновий коефіцієнт (ЛХК), холато-ліпідний коефіцієнт (ХЛК), відношення ЛПНЩ до загальних ліпідів (ЛПНЩ/ЗЛ) та відношення ЛПВЩ до загального холестерину (ЛПВЩ/ЗХ). Результати визначення наведені у табл. 3.

За результатами ЛПНЩ знаходяться у межах норм не більш 75% від загального рівня ліпідів), крім ЖАа у якої ЛПНЩ складають більш 77%, тоді як кількість ЛПВЩ перевищує норму у 2 та більше рази. Таке співвідношення дозволяє створювати нові субстанції з жовчі тварин для зменшення холестерину.

Біохімічні показники жовчі тварин (n=15, M±SD)

Показник	ЖВт	ЖSs	ЖGg	ЖAp	ЖAa
Загальний білок, г/л	24,28 ±0,73	14,41 ±0,43	57,92 ±1,75	53,13 ±2,80	51,85 ±2,73
Амілаза, г/(год·л)	39,38 ±2,08	36,52 ±1,93	35,25 ±1,86	115,15 ±6,07	120,12 ±6,34
Трипсин, од./мл	2,35 ±0,12	3,09 ±0,16	8,83 ±0,47	3,01 ±0,16	5,97 ±0,31
Ліпаза, к Р/(год·л)	227,81 ±12,02	252,45 ±13,32	313,28 ±16,52	298,70 ±15,75	388,03 ±20,47
Фосфатаза лужна, мкмоль/с·л	23,77 ±1,25	24,23 ±1,28	24,84 ±1,3	21,57 ±1,14	19,83 ±1,05
Фосфатаза кисла, нмоль/с·л	132,23 ±6,97	155,90 ±8,22	155,36 ±8,19	131,89 ±6,96	118,84 ±6,27
Білірубін загальний, мкмоль/л	303,03 ±9,13	479,41 ±14,45	362,58 ±10,93	250,15 ±13,19	265,67 ±14,01
Білірубін вільний, мкмоль/л	268,19 ±8,08	408,38 ±12,31	341,77 ±10,30	198,72 ±10,48	211,28 ±11,14
Загальні ліпіди, г/л	9,30 ±0,28	9,76 ±0,29	11,75 ±0,35	11,58 ±0,61	15,55 ±0,82
ЛПНЩ, г/л	4,76 ±0,14	5,97 ±0,18	4,56 ±0,14	7,54 ±0,40	12,07 ±0,64
ЛПВЩ, г/л	9,30 ±0,28	6,12 ±0,18	4,39 ±0,13	5,75 ±0,30	8,27 ±0,44
Холестерин загальний, ммоль/л	4,89 ±0,15	6,12 ±0,18	3,12 ±0,09	4,04 ±0,21	4,44 ±0,23
Жовчні кислоти, ммоль/л	23,13 ±0,70	31,40 ±0,95	21,36 ±0,64	21,46 ±1,13	27,16 ±1,43
Вільні жирні кислоти, ммоль/л	12,32 ±0,37	13,46 ±0,41	9,25 ±0,28	10,61 ±0,56	5,42 ±0,29

Таблиця 3

Показники стабілізуючих властивостей жовчі тварин (n=15)

Показник	ЖВт	ЖSs	ЖGg	ЖAp	ЖAa
ХХК, %	21,14	19,49	14,61	18,83	16,35
ЛХК, %	190,18	159,48	376,60	286,63	350,23
ХЛК, %	40,21	31,08	55,01	53,96	57,25
ЛПНЩ/ЗЛ, %	51,18	61,17	38,81	65,11	77,62
ЛПВЩ/ЗГ, %	190,18	100,00	140,71	142,33	186,26

ХХК, як один з показників стабільного стану жовчі відносно холестерину, розраховували як відношення загальної кількості холатів до вмісту холестерину. Стабілізуючі властивості у ЖGg – ХХК дорівнює 14,61 %,

у той час як відношення холатів до холестерину у ЖВт було 21,14 %, а у інших зразках жовчі він знаходився в межах 16-20 %. Другим показником стабільного стану жовчі є ЛХК – розраховували як відношення загальної кількості ліпідів до вмісту холестерину, при цьому у ЖGg був найбільшим і складав 376,60 %.

Значна кількість загальних ліпідів для жовчі відображена двома коефіцієнтами: ЛХК та ХЛК, дозволяє утримувати ліпофільні сполуки у водному середовищі жовчі з утворенням стабільної багатокомпонентної системи, що підтверджується реакцією з сіркою (випадіння осаду). У зразку ЖGg спостерігали повільне випадіння осаду (поверхнево активні властивості), а з урахуванням високого ЛХК та низького ХЛК дає підстави використовувати ЖGg як перспективне джерело ліпідів для створення нових лікарських засобів.

Висновки. За допомогою фізико-хімічних реакцій і органолептичного контролю жовчі була підтверджена відповідність вимогам ДСТУ, і вперше встановлені показники первинного контролю для жовчі *Gallus gallus L.*, *Anas platyrhynchos L.* та *Anser anser L.* Встановлено вміст жовчних кислот, загальних ліпідів, ліпопротеїдів високої та низької щільності, вільних жирних кислот, фосфоліпідів, холестерину, білірубину, загального білку та ферментів (амілаза, трипсин, ліпаза, лужна та кисла фосфатаза) у жовчі тварин, виявлені кількісні відмінності біохімічних показників.

Завдяки схожості жовчі тварин за фізико-хімічними та біохімічними показ-никами можливо збільшити сировинну базу за рахунок свійської птиці, але потрібно відмітити, що високій сухий залишок понад 17%, найбільший вміст білків, ферментів (трипсину, лужної фосфатази), найменша кількість холестерину, специфічний вміст жовчних кислот (вишнево-червоне кільце у реакції забарвлення з цукром та сірчаною кислотою) та достатня сировинна база створює жовч курчат серед жовчі свійської птиці найбільш перспективною сировиною.

Література

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т. 1. — 1128 с.
2. ДСТУ 4495:2005. Сировина ендокринно-ферментна та спеціальна. Технічні умови / Н. Левитська (розроб.). — Вид. офіц. — К. : Держспожив-стандарт України, 2007. — III, 37 с.
3. Стремоухов О.О. Біохімічне вивчення нативної жовчі тварин / О. О. Стремоухов, Н. В. Деркач, Д. О. Барсук, І. О. Березенцева // Запороз. мед. журн: науч.-практ. журн. ЗГМУ. - Запорозьке: ЗГМУ, 2012. - N 4. - С. 129-131

А. А. Стремоухов

Изучение физико-химических и биохимических показателей желчи животных

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Вступление. Желчь животных - перспективный источник получения природных биологически активных веществ. Выбор желчи птиц для биохимического и

фізико-хімічного вивчення був обумовлений достаточною сировинною базою, а також зменшенням поголов'я корів і свиней на Україні, із яких отримують препарати жовчі.

Ціль. Вивчення фізико-хімічних і біохімічних показувачів жовчі тваринного походження для визначення перспективних джерел біологічно активних речовин і збільшення сировинної бази, за рахунок жовчі птахів.

Матеріали і методи. Суммарна кількість біологічно активних речовин визначали на біохімічному аналізаторі «Stat-fax 1904» з використанням стандартних реагентів фірм «Ольвекс діагностикуми» і «Фелісити-діагностика», фізико-хімічні і органолептичні показувачі визначали за ГОСТ і ГФУ, експериментальні дані були зібрані в 2015.

Результати. Встановлено фізико-хімічні і біохімічні показувачі жовчі: суммарна кількість жовчних кислот, загальних ліпідів, ліпопротеїнів високої і низької щільності, вільних жирних кислот, фосфоліпідів, холестерину, білірубину, ферментів і загального білка.

Висновки. Отримані дані про хімічний склад сировини жовчі тварин вказують на перспективність подальших досліджень з метою створення препаратів на основі жовчі ципляк і розробки нормативної документації на жовч птахів.

Ключові слова: жовч, жовчні кислоти, ферменти, ліпіди.

O. O. Stremoukhov

The study of physico-chemical and biochemical parameters animal bile

National University of Pharmacy

Introduction. Bile animals - a promising source of natural bioactive substances. Choice bile birds for biochemical and physicochemical study was due to sufficient raw materials and a decrease in the number of cows and pigs in Ukraine, of which drugs are bile.

The aim. Study of physico-chemical and biochemical indicators of animal bile to identify promising sources of bioactive substances and an increase in raw materials of by bile birds.

Materials and methods. The total amount of active ingredients was determined in biochemical analyzer «Stat-fax 1904" using standard reagents firm "OlveX diagnosticums" and "Felicity-diagnosis", physico-chemical and organoleptic parameters were determined in accordance with GOST and HFC, the experimental data were collected in 2015.

Results. It established the physicochemical and biochemical parameters bile: total amount of bile acid, total lipid, lipoprotein and low density, free fatty acids, phospholipids, cholesterol, bilirubin, and total protein enzymes.

Conclusions. Received information about the chemical composition of raw animal bile indicate the prospects for further research in order to create drugs based on bile chicken and developing standard documentation for bile birds.

Key words: bile, bile acids, enzymes, lipids.

Відомості про автора:

Стремухов Олександр Олександрович - к. фарм. н., доцент кафедри фармакогнозії НФаУ. Адреса: 61129, м. Харків, вул. Блюхера 4, тел.: (057) 267-9208.