Рекомендована д.ф.н., академіком АНТК України В.І.Чуєшовим

УДК 615.451.16:628.511.132:577.161.001.5

ДОСЛІДЖЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ КВІТКОВОГО ПИЛКУ

О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних, О.М.Котенко, Ю.В.Ковтун, Н.В.Живора, С.О.Тихонова

Українська фармацевтична академія

Методом ГРХ проведено визначення якісного та кількісного складу жирних кислот нової біологічно активної субстанції природного походження — ліпофільного екстракту квіткового пилку (ЛЕКП). Встановлено, що до складу ЛЕКП входить значна кількість вільних жирних кислот, зокрема лінолева (фактор вітаміну F).

Гармонічне поєднання діючих речовин у складі біологічно активних субстанцій природного походження обумовлює їх високу фармакологічну активність, яка є близькою до фізіологічної дії натуральних речовин внутрішнього метаболізму. Саме цим пояснюється зростаючий інтерес до рослинної та тваринної сировини, в тому числі до такого раніше мало дослідженого продукту бджільництва, як квітковий пилок (бджолине обніжжя).

Внаслідок наявності різноманітних за хімічною природою і фармакологічною активністю речовин (білків, вуглеводів, ліпідів, гормонів, вітамінів, ферментів, макро- та мікроелементів тощо) квітковий пилок являє собою перспективну сировину для фармації.

З метою розробки оригінальних лікарських і лікувально-профілактичних препаратів співробітниками кафедри аптечної технології ліків Української фармацевтичної академії з поліфлерного бджолиного обніжжя екстракцією скрапленим газом (хладоном-12) виділена окрема фракція — ліпофільний екстракт квіткового пилку (ЛЕКП). Це дозволило одержати біологічно активну субстанцію направленої дії та розробити оптимальні методи контролю її якості. Вивченням біологічних властивостей ЛЕКП доведена його нешкідливість і висока репаративна активність. Мікробна забрудненість ЛЕКП відповідає існуючим вимогам до препаратів для внутрішнього застосування.

Проведеними раніше дослідженнями якісного і кількісного складу ЛЕКП встановлена наявність комплексу ліповітамінів, зокрема, провітаміну А, вітамінів F та Е, а також ненасичених і насичених жирних кислот, їх ефірів, терпенів, стеринів та інших біологічно активних речовин.

Біологічна активність квіткового пилку в значній мірі обумовлена наявністю у його складі вітаміну F — поліненасичених жирних кислот [1]. Тому з метою поглибленого вивчення хімічного складу та стандартизації нової перспективної субстанції з бджолиного обніжжя нами проведені експериментальні дослідження з визначення складу жирних кислот ЛЕКП.

Експериментальна частина

Жирнокислотний склад ЛЕКП визначали методом ГРХ на базі Харківського НДІ "Монокристалреактив". Хроматографування жирних кислот ЛЕКП у вигляді метилових ефірів проводили за стандартною методикою [2, 4, 5]. Метилові ефіри одержували етерифікацією проби ЛЕКП метанолом у присутності ацетилхлориду (вільні кислоти), а також етерифікацією проби ЛЕКП після попереднього омилення спиртовим розчином калію гідроксиду (сума вільних і зв'язаних кислот).

Проведеними раніше дослідженнями жирнокислотного складу ЛЕКП встановлена наявність мірістинової кислоти у слідовій кількості, тому її використовували при дослідженнях як внутрішній стандарт.

Мірістинову кислоту вводили до початкової проби ЛЕКП у вигляді метанольного розчину в кількості 3-5% від маси наважки, що дозволяло кількісно визначити жирні кислоти ЛЕКП (припускали, що всі операції по обробленню проби проходять з однаковою погрішністю для мірістинової кислоти і для жирних кислот ЛЕКП).

Підготовка проби ЛЕКП до хроматографічного визначення суми вільних і зв'язаних кислот

Таблиця

Кількісний та якісний склад жирних кислот ЛЕКП

№ п/п	Назва кислоти	Номер серії									
		10992		20992		30992		40992		50992	
		Вміст жирних кислот, %									
		вільних	зв'язаних	вільних	зв'язаних	вільних	зв'язаних	вільних	зв'язаних	вільних	зв'язаних
1	Капринова	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-
2	Лауринова	1,0	0,5	-	-	сл.	0,1	-	сл.	0,9	0,6
3	Тридеканова	сл.	-	-	-	-	-	-	-	сл.	-
4	Тридеценова	-	-	-	-	-	-	-	-	сл.	-
5	Тридекадієнова	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	сл.	<0,1
6	Мірістинова (вн.станд.)	3,07	2,64	3,0	3,0	2,70	3,03	3,00	2,90	3,23	2,93
7	Мірістолеїнова	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
8	Тетрадекадієнова	2,0	-	0,1	-	0,8	0,1	0,5	-	2,2	-
9	Пентадеканова	0,1	-	<0,1	<0,1	0,1	-	0,1	-	0,1	-
10	Пентадеценова	-	0,1	0,3	-	-	-	-	-	-	<0,1
11	Пентадекадієнова	0,1	-	<0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-
12	Пальмітинова	6,5	2,2	4,6	5,5	11,5	2,7	9,1	5,6	8,0	0,8
13	Пальміолеїнова	0,5	-	<0,1	0,6	-	<0,1	0,5	-	-	0,2
14	Гексадекадієнова	0,5	-	0,4	0,6	1,2	0,3	1,2	-	0,4	-
15	Маргаринова	0,1	-	-	0,2	сл.	0,1	0,1	-	0,1	-
16	Гексадеценова	сл.	0,1	-	0,1	-	сл.	сл.	сл.	сл.	0,1
17	Гексадекадієнова	0,2	-	0,3	-	0,1	-	0,2	-	0,1	-
18	Стеаринова	1,9	1,0	0,4	0,7	0,8	0,9	0,7	0,9	2,3	0,7
19	Олеїнова	4,3	1,1	1,2	1,5	1,6	1,4	2,3	0,2	4,4	1,0
20	Лінолева	0,2	-	1,4	-	0,4	0,6	0,6	0,2	0,2	-
21	Ліноленова	8,0	2,6	0,8	2,2	4,2	4,1	4,1	1,6	9,9	0,8
22	Нонадеканова	0,1	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
23	Нонадекадієнова	8,1	1,2	11,1	1,8	16,8	11,3	15,2	7,9	6,3	3,2
24	Арахінова	0,2	0,5	0,2	2,2	0,2	0,1	0,8	-	0,3	0,4
25	Ейкозенова	-	0,3	0,6	0,1	0,1	-	сл.	0,1	0,2	0,1
26	Ейкозадієнова	0,5	-	3,4	0,1	0,6	0,2	0,9	-	0,5	-
27	Генейкозанова	0,1	-	-	-	сл.	0,1	0,1	-	0,1	0,1
28	Генейкозадієнова	0,8	0,3	-	0,3	0,1	0,2	0,3	-	0,2	0,1
29	Бегенова	0,1	0,3	-	3,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1
30	Ерукова	0,1	-	-	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-
31	Гекозадієнова	0,1	-	-	-	0,2	-	0,1	0,2	0,1	-

проводилась за відомою методикою [3]: наважку ЛЕКП (0,03 г) поміщали в колбу, додавали 0,9-1,5 мл метанольного розчину мірістинової кислоти концентрації 1 мг/мл, 40 мл 96% етанолу, 3 мл 10%-ного водного розчину калію гідроксиду і нагрівали на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником при періодичному перемішуванні протягом 1 години.

Після закінчення реакції омилення колбу охолоджували, додавали 50 мл води очищеної, переносили у ділильну мірку і доводили 10%-ним розчином сірчаної кислоти до pH 1 для переходу жирних кислот у молекулярну форму. Одержані кислоти з водного розчину екстрагували медичним ефіром (3 рази по 30 мл). Для відділення води з ефірного екстракту його фільтрували крізь паперовий фільтр з шаром безводного натрію сульфату і промивали фільтр 10 мл ефіру тричі. З'єднані ефірні витяжки промивали 30-40 мл води до одержання нейтральної реакції промивних вод по універсальному індикатору.

Ефір відганяли на роторному випарнику. До сухого залишку додавали 1 мл метанолу, 2-3 краплі ацетилхлориду і нагрівали на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 1 години. Залишок метанолу відганяли, додавали 0,2 мл гексану, перемішували, мікрошприцем відбирали 0,2 мкл одержаної суміші і вводили до хроматографу.

Підготовку проби для визначення вільних кислот проводили за методикою: 0,03 г ЛЕКП поміщали в колбу, додавали 0,9-1,5 мл метанольного розчину мірістинової кислоти концентрації 1 мг/мл, 5 мл метанолу, 2-3 краплі ацетилхлориду, нагрівали зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 1 години. Потім відганяли залишок метанолу, додавали 0,2 мл гексану, перемішували і вводили до хроматографу 0,2 мкл одержаної суміші.

Аналіз жирнокислотного складу ЛЕКП здійснювали на газовому лабораторному хроматографі моделі ЦВЕТ-530 з двома чарунками полум'яно-іонізаційного детектора, включеними за диференціальною схемою. Мінімально визначаєма абсолютна проба — 2,10 г. Мінімально визначаємий вміст компонентів (поріг виявлення) — 0,05%. Погрішність визначення компонентів не менше 1,0%±0,1%. Одержані результати наведені в табл.

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що склад жирних кислот ЛЕКП всіх вивчаємих серій приблизно однаковий. Вміст вільних жирних кислот в ЛЕКП у залежності від серії знаходиться в межах 25,3-39,0%, що більше, ніж вміст зв'язаних кислот — 8,4-22,4%. Загальна кількість вільних і зв'язаних жирних кислот в ЛЕКП становить 44,9-61,4%.

Основу жирнокислотного складу становлять вільні ненасичені кислоти, в яких різні серії ЛЕКП містять від 19,9% до 26,3%, зокрема, поліненасичені жирні кислоти (фактор вітаміну F) — ліноленова (0,8-9,9%), лінолева (0,2-1,4%) та нонадекадієнова (6,3-16,8%), а також ненасичена кислота — олеїнова (1,2-4,4%). З насичених жирних кислот найбільш представлена пальмітинова (4,6-11,5%). Крім цього ЛЕКП містить комплекс інших жирних кислот, кількість яких в різних серіях не перевищує 2%: тетрадекадієнову, пентадекадієнову, гексадієнову, ейкозадієнову, пальмітолеїнову, стеаринову, арахінову та ін.

Серед зв'язаних жирних кислот також переважають ефіри ненасичених кислот: нонадекадієнової (1,2-11,3%), ліноленової (0,8-4,1%), олеїнової (0,2-1,5%) і насиченої кислоти — пальмітинової (0,8-5,6%).

Таким чином, в результаті експериментальних досліджень жирнокислотного складу ЛЕКП різних серій встановлена наявність і достатньо високий кількісний вміст вільних ненасичених жирних кислот, які відрізняються високою біологічною активністю, зокрема, ліноленової кислоти (фактор вітаміну F) — 0,8-9,9%, що значно перевищує її кількість у відомих природних джерелах.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що до складу ЛЕКП входить значна кількість вільних і зв'язаних жирних кислот — 44,9-61,4%. Визначено, що основу жирнокислотного складу ЛЕКП становлять вільні ненасичені жирні кислоти — 19,9-26,3%, зокрема, ліноленова кислота.

2. Доведено, що якісний склад і кількісний вміст жирних кислот в ЛЕКП незначно відрізняються в залежності від серії, що дозволяє стандартизувати ЛЕКП за даним показником.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Грачева О.А., Мелентьева Г.А., Беленин А.Н.// Фармация. — 1985. — Т. 35. — №5. - С. 38-39.*
2. *Губен-Вейль. Методы органической химии. Методы анализа.// Госхимиздат: Москва. — 1963. — С. 513-517.*
3. *Дейнеко Г.И., Бандюкова В.А.// Химия природных соединений. — 1981. — №4. — С. 515-516.*
4. *Линберт Л.Ф., Попов С.А.// Журн. аналит. химии. — 1987. — Т. 42. — Вып. 1. — С. 139-144.*
5. *Масло облепиховое. Oleum Hippophaes// ФС 42-1730-86. — 7 с.*
6. *Laaksol T., Wojcicki J., Samochowies L.// Phytother Res. — 1989. — №3. — С. 115-116.*

УДК 615.451.16:628.511.132:577.161.001.5

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПОФИЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ЦВЕТОЧНОЙ ПЫЛЬЦЫ

А.И.Тихонов, Т.Г.Ярных, А.М.Котенко, Ю.В.Ковтун, Н.В.Живора, С.А.Тихонова

Методом ГЖХ проведено определение качественного и количественного состава жирных кислот новой биологически активной субстанции природного происхождения — липофильного экстракта цветочной пыльцы (ЛЭЦП). Установлено, что в состав ЛЭЦП входит значительное количество свободных жирных кислот, в частности линоленовая (фактор витамина F).

UDC 615.451.16:628.511.132:577.161.001.5

INVESTIGATION FAT-ACIDIC STRUCTURE OF LYPOPHILIC EXTRACT OF FLOWER POLLEN

A.I.Tikhonov, T.G.Yarnykh, A.M.Kotenko, Yu.V.Kovtun, N.V.Zhivora, S.A.Tikhonova

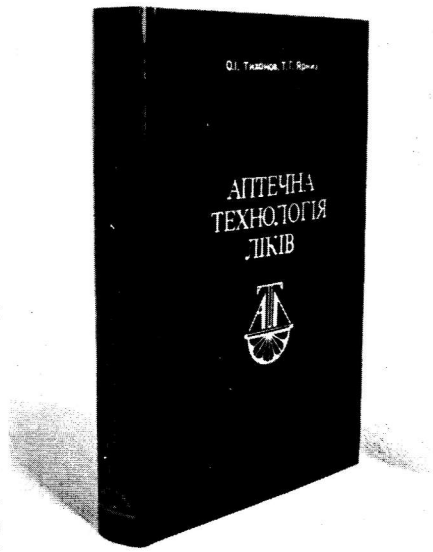
The qualitative and quantitative structure of fat acids in lypophilic extract of flower pollen (LEFP) different series has been studied which unimportantly modifies depending on the series. It is proved that in LEFP unsaturated fat acids have the most presentation with high biology activity namely linolenic (factor of vitamin F).

ДОВІДНИК ВФ

ПІДРУЧНИК "АПТЕЧНА ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКІВ"

О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних; Під ред. О.І.Тихонова. — Харків: РВП "Оригінал", 1995. — 600 с.

В основу підручника "Аптечна технологія ліків" (для студентів фармацевтичних вузів і факультетів) покладена програма з технології ліків. При цьому автори враховували питання біофармації, яка є теоретичною базою технології лікарських форм, удосконалення способів виробництва ліків, технології нових видів лікарських форм, оновлення номенклатури лікарських засобів і готових лікарських форм, що випускаються промисловістю. Підручник складається зі вступу, в якому автори висвітлюють основні завдання охорони здоров'я, в тому числі фармації і основні завдання аптечної технології ліків на сучасному етапі, і двох частин обсягом 542 с.



Перша частина має 10 розділів і присвячена загальним питанням виготовлення ліків в умовах аптеки.

У другій частині підручника, яка складається з 6 відділів та 23 розділів, викладена технологія окремих видів лікарських форм, наведені сучасні досягнення аптечної технології ліків і перспективи подальшого поліпшення їх приготування в умовах аптеки.

Оригінальним є узагальнення матеріалу про засоби малої механізації технологічних процесів лікарських препаратів аптечного виробництва, виділене в окремий розділ.

Викладення матеріалу з технології лікарських форм представлене в єдиному плані: визначення, характеристика, вимоги до лікарських форм та їх реалізація, стадії технологічного процесу (загальні та власні), вплив технологічних факторів на біодоступність лікарських речовин і стабільність лікарських форм, сучасний вигляд упаковки. В кінці підручника подані додаткові матеріали, які найчастіше бувають необхідні в практичній роботі.

Дана книга — цінне керівництво для фахівців фармацевтичного виробництва ліків, наукових працівників в галузі створення лікарських препаратів, практичних працівників аптек, а також для студентів, магістрантів та аспірантів вузів.