

ТЕХНОЛОГІЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Рекомендована д.ф.н., професором П.Д.Пашнєвим

УДК 615.451.16:638.1:577.115

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ЛІПІДІВ НАСТОЙКИ З БІОМАСИ ЛИЧИНОК ВОГНІВКИ БДЖОЛИНОЇ

О.І.Тихонов, О.Є.Богуцька, Є.М.Хряпа

Національний фармацевтичний університет

Проведені дослідження з вивчення ліпідів, які входять до складу настойки з біомаси личинок вогнівки бджолиної. Розроблений препарат містить у значній кількості різні ненасичені жирні кислоти. Холестерин, тригліцериди присутні в настойці у невеликій концентрації. Визначено взаємозв'язок виявлених біологічно активних сполук та фармакологічної дії лікарського препарату.

Туберкульоз — серйозна медико-біологічна та соціальна проблема багатьох країн. На теперішній час чисельність хворих у світі наближається до 60 мільйонів. Туберкульоз з мультирезистентністю не піддається лікуванню більшістю відомих лікарських за-собів [6, 7, 12, 16].

Враховуючи вищевикладене, ми вважаємо за актуальне створення нових альтернативних препаратів для лікування туберкульозу. Перспективною сировиною для створення нетоксичних лікарських препаратів природного походження є личинки вогнівки бджолиної.

Застосування у лікуванні спиртових витяжок з личинок воскової молі має багаторічну історію. Про незвичайні лікувальні властивості витяжок з личинок вогнівки бджолиної відомо з кінця XIX століття, коли видатний вчений І.І.Мечников вперше провів наукові дослідження цього біологічного матеріалу та опублікував результати своєї роботи. Вчений дав наукове пояснення лікувального феномена екстракта, який успішно застосовувався для лікування туберкульозу навіть на тяжких стадіях [4], але на теперішній час препарат не існує.

На основі біомаси вогнівки бджолиної нами розроблено склад лікарського препарату у формі настойки для лікування туберкульозу. Завершуються дослідження з вивчення біологічно активних сполук лікарського препарату [5].

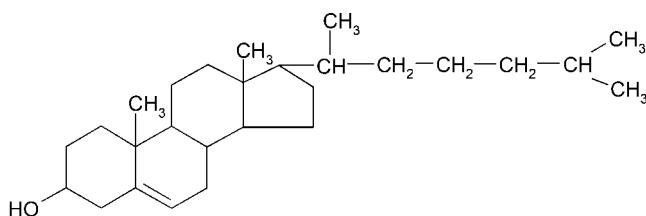
Метою нашої роботи є дослідження складу ліпідів та їх впливу на фармакологічну дію лікарського препарату.

Ліпіди — гідрофобні органічні сполуки рослинного або тваринного походження, які супроводжують жири та разом з ними можуть бути виділені з тканин організмів за допомогою неполярних розчинників (наприклад, ефіру, хлороформу, вуглеводнів). Ліпіди — це похідні вищих жирних кислот і багатоатомних спиртів або альдегідів. До ліпідів відносять речовини різної хімічної природи: вищі спирти та карбонові кислоти, воски, деякі пігменти, вітаміни, низькомолекулярні речовини з гідрофобними властивостями тощо. Більшість ліпідів є складними ефірами жирних кислот та багатоатомних спиртів. Загальною властивістю цих сполук є гідрофобність і нерозчинність у воді, але всі вони добре розчиняються в органічних розчинниках — ефірі, бензолі, толуолі, ацетоні, спирті, бензині. Самі ліпіди є розчинниками для деяких вітамінів [8].

Класифікація ліпідів дуже складна у зв'язку зі складністю будови молекул цих речовин та їх різноманітністю. Розрізняють нейтральні жири (три-ацилгліцериди жирних кислот) і ліпоїди (фосфатиди, цереброзиди, мієлін).

Фосфоліпіди — найбільша частина ліпідів, які входять до складу клітинних мембрани. Якщо в середньому на ліпіди припадає 40% сухої маси мембрани, то 80% з них — на фосфоліпіди. За участю фосфоліпідів здійснюються основні функції мембрани: регулювання проникності різних речовин і клітинного вмісту, функціонування іонних насосів, сприйняття, обробка і передача в середину клітини інформації з її поверхні, імунна відповідь, синтез білків та ін.

Серед ліпоїдів розповсюдженім є холестерин (рис. 1), особливо в клітинах надниркових залоз і печінки, а також у клітинних мембраних. До ліпоїдів належать і фосфатиди (лецитин, цефалін, інозид, плазмалоген), які також беруть участь у побудові клітинних мембрани [15].

Рис. 1. Структура холестерину ($C_{27}H_{45}OH$).

Тригліцериди — це поєднання трьох ефірів жирних кислот і гліцерину, який є багатоатомним спиртом. Екзогенні або “харчові” тригліцериди синтезуються в клітинах тонкої кишki з моногліцеридів і надходять у кров у вигляді хіломікронів. Ендогенні тригліцериди синтезуються, головним чином у печінці з вільних жирних кислот, звідки транспортуються кров’ю переважно в складі ліпопротеїдів дуже низької щільноти.

Доросла людина щодня споживає майже 750 мг холестерину, крім того, в печінці його синтезується 1 г на добу. Нормальний рівень холестерину крові не перевищує 5,2 ммоль/л або 2 г/л. Після прийому жирної їжі концентрація тригліцеридів у крові швидко підвищується, але в нормі вже через 10-12 год повертається до вихідного рівня. У плазмі крові холестерин і тригліцериди поєднуються з білками, утворюючи ліпопротеїни. Ці сполуки забезпечують їх транспорт і є сферичними частинками різного розміру, що складаються з вільного і етерифікованого холестерину, тригліцеридів, фосфоліпідів і білків, кількість яких варіює. У нормі наявність ліпідів у плазмі крові наступна: загальні ліпіди — 4-8 г/л; триацилгліцерини — 0,5-2,1 ммоль/л; фосфоліпіди загальні — 2,0-3,5 ммоль/л; холестерин загальний — 4-10 ммоль/л [10, 14, 11, 17].

Патологія ліпідного обміну частіше за все проявляється у вигляді підвищеного рівня ліпідів у крові — гіперліпідемій, а також тканинних ліпідозів, тобто збиткового накопичення ліпідів у тканинах.

Раніше в настійці нами були виявлені незамінні жирні кислоти [5]. Даною роботою присвячена аналізу холестерину та тригліцеридів.

Експериментальна частина

Визначення тригліцеридів проводили за методом Флетчера [11, 13].

Принцип методу заснований на здатності тригліцеридів екстрагуватися з розчину ізопропіловим спиртом з одночасним виділенням із реакційної суміші фосфоліпідів шляхом осадження алюмінію оксидом. Тригліцериди гідролізуються лугом. Утворений гліцерин під впливом натрію метаперіодату окиснюється до формальдегіду. Формальдегід утворює з ацетилacetоном та амонієвими іонами 3,5-діацетил-1,4-дигідролутидин жовтого кольору. Інтенсивність визначали фотометрично (405-420 нм в діапазоні 0-1,0 од. опт. густини та при довжині оптичного шляху 10 мм).

Розрахунки проводили за формулою:

$$C = \frac{A_1}{A_2} \times 3,0,$$

де: C — концентрація тригліцеридів у пробі, ммоль/л; A_1 — абсорбція випробувальної проби; A_2 — абсорбція стандарту; 3,0 — концентрація тригліцеридів у калібрувальному розчині, ммоль/л.

Визначення холестерину проводили за методом Ілька [1, 3]. Принцип методу полягає в тому, що холестерин у присутності карбонового ангідриду та суміші оцтової та сірчаної кислот утворює речовину зеленого кольору. Інтенсивність визначали фотометрично (в діапазоні 0-1,0 од. опт. густини при довжині хвилі 630-690 нм та довжині оптичного шляху 10 мм). Дослідженю піддавалося 5 зразків настійки. Кількісний вміст холестерину визначали за калібрюваннями сумішами, а також окремо по кожній сполузі.

Розрахунки проводили за формулою:

$$C = \frac{A_1}{A_2} \times 4,665,$$

де: C — концентрація в дослідній пробі, моль/л; A_1 — абсорбція дослідної проби; A_2 — абсорбція калібрувальної проби; 4,665 — концентрація холестерину у калібрувальному розчині, ммоль/л.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно з ДФУ ($n = 5$) [1].

Результати та їх обговорення

Відомо, що ліпіди виконують дуже важливу роль в утворенні біологічних мембрани, беруть участь в енергетичній функції клітини, а також у стабілізації внутрішнього середовища клітин і організму. Патологія ліпідного обміну частіше за все проявляється у вигляді підвищеного рівня ліпідів у крові — гіперліпідемій, а також тканинних ліпідозів, тобто надлишкового накопичення ліпідів у тканинах [9].

Попередньо в настійці методом рідинної хроматографії нами було виявлено 13 жирних кислот. До складу препарату входять олеїнова, лінолева, ліноленова та інші ненасичені кислоти [5].

Проведені дослідження свідчать про наявність у настійці “Гретавоск” слідів холестерину та тригліцеридів. Склад і вміст дослідженіх сполук ліпідів у препараті наведено на рис. 2. Середні показники по холестерину становлять $0,0641 \pm 0,0058$ ммоль/л, а відповідно по тригліцеридам у невеликій кількості — $0,0360 \pm 0,0040$ ммоль/л.

Ліпопротеїни, зображені тригліцеридами, сприяють розвитку атеросклерозу, вони подібно до ліпопротеїдів низької густини можуть проникати у стінку артерії і запускати атерогенний процес. Також дані речовини пришвидшують атерогенний метаболізм дії ліпідів [2]. У розробленому препараті тригліцериди та холестерин присутні у невеликій кількості, що є позитивним при створенні лікарських препаратів.

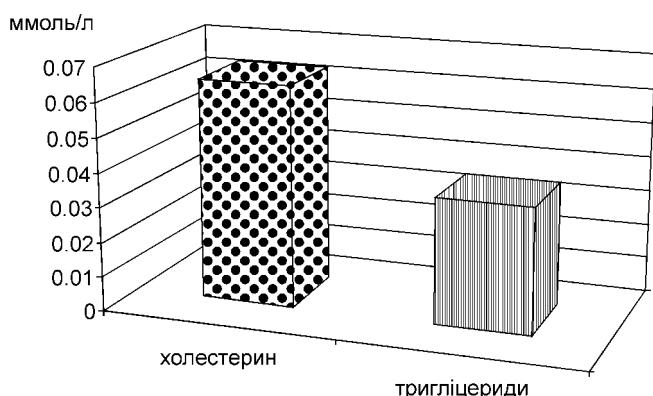


Рис. 2. Порівняльний аналіз вмісту тригліцеридів і холестерину в настоїці "Гретавоск".

Головний прояв атеросклерозу — це відкладення холестерину в стінках артерій. Н.Анічков сформулював концепцію, згідно з якою атеросклероз є результатом гіперхолестеринемії та проникнення холестерину з крові у стінки артерій. Ця концепція лежить в основі й сучасних поглядів на патогенез атеросклерозу. Найбільш небезпечними наслідками атеросклерозу є ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, інсульт, облітеруючий ендартеріїт [2].

Крім холестерину причиною атеросклерозу є надлишок жирів у харчах, особливо насичених жирних кислот. Саме зменшення засвоєння насичених жирних кислот та холестерину, більше споживання ненасичених жирних кислот, які присутні в розробленому препараті, має важливе значення для профілактики інфаркту міокарда, інсульту та інших захворювань [17].

Таким чином, при вживанні настойки "Гретавоск" можна вважати, що ризик виникнення захворювань, пов'язаний з підвищеним вмістом ліпідів, виявляється низьким та вважається позитивним показником при подальшому дослідженні та впровадженні даної настойки в медичну практику. Навпаки проведені дослідження настойки з біомаси вогнівки бджолиної свідчать, що за наявністю ненасичених кислот та низьким вмістом холестерину та тригліцеридів препарат є перспективним не тільки для лікування туберкульозу, а й у комплексі з іншими засобами для фармакотерапії серцево-судинних хвороб.

На теперішній час проводяться дослідження з вивчення комплексу ферментів, які входять до складу препарату та руйнують воскоподібну оболонку мікобактерій, що дозволить визначити вплив біологічно активних сполук на механізм дії розробленого препарату. Згідно з даними літератури вогнівка бджолина здатна переробляти бджолиний віск завдяки наявності ферменту церази [4]. Наявність цього ферменту дозволяє личинкам перетравлювати й воскоподібні оболонки туберкульозних бактерій.

ВИСНОВКИ

1. Проведені експериментальні дослідження свідчать, що в розробленому препараті присутні ненасичені жирні кислоти та у невеликій кількості холестерин і тригліцериди.

2. Біологічно активні сполуки настойки "Гретавоск" не тільки не сприяють розвитку атеросклерозу, а й за наявністю ненасичених кислот та низьким вмістом холестерину і тригліцеридів препарат є перспективним як для лікування туберкульозу, так і серцево-судинних хвороб.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Доп. 1. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 520 с.
2. Затєєв С. // Ваше здоров'я. — 2002. — №35. — С. 7.
3. Розенцвейг К.И. // Лабораторное дело. — 1962. — С. 9, 43.
4. Севаст'янов В.Г. // Бджола. Здоров'я. Апітерапія. — 2008. — №3. — С. 11-13.
5. Тихонов О.І., Богуцька О.Є. / Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л.Шупика. — К., 2007. — С. 658-662.
6. Шаповал О.Н. // Провізор. — 2006. — №2. — С. 20-24.
7. Шемякін І.Г., Степаншина В.Н. // Журн. мікробіол., епідеміол. та імунол. — 2006. — №6. — С. 71-76.
8. Assmann G., Schulte H. // Am. J. Cardiol. — 1992. — Vol. 70, №7. — P. 733-737.
9. Austin M., King M.C., Vranizan R., Krauss R. // Aterogenic lipoprotein phenotype. Circulation. — 1990. — Vol. 82, №2. — P. 495-506.
10. Balantype C.M., Grundi S.M., Oberman A., Reisberg R.A. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85, №6. — P. 2098-2105.
11. Chromy V., Homakova M., Breinek P. // Biochem. Clin. Bohemoslov. — 1977. — P. 6, 167.
12. Fleischmann R.D., Alland D., Eisen J.A. et al. // J. Bacteriol. — 2002. — Vol. 184, №19. — P. 5479-5490.
13. Fletcher M.J. // Clin. Acta. — 1968. — P. 22, 393.
14. Hirani S., O'Byrne D., Devaraj S., Jialal I. // Clin. Chem. — 2000. — Vol. 46, №5. — P. 667-672.

15. Patel A., Barzi F., Jamrozik K. et al. // *Circulation.* — 2000. — Vol. 110, №17. — P. 2678-2686.
16. Rad M.E., Bifani P., Martin C. et al. // *Emerg. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 9, №7. — P. 838-845.
17. Stein E.A., Lane M., Laskarzewski P. // *Am. J. Cardiol.* — 1998. — Vol. 81, №4A. — P. 66-69.

УДК 615.451.16:638.1:577.115

РЕЗУЛЬТАТИ ИЗУЧЕНИЯ ЛИПИДОВ НАСТОЙКИ ИЗ БИОМАССЫ ЛИЧИНОК ОГНЕВКИ ПЧЕЛИНОЙ

А.И.Тихонов, Е.Е.Богутская, Е.М.Хряпа

Проведены исследования по изучению липидов, которые входят в состав настойки на основе биомассы личинок огневки пчелиной. Разработанный препарат содержит в значительном количестве разнообразные ненасыщенные жирные кислоты. Холестерин и триглицериды входят в состав настойки в небольшой концентрации. Выявлена взаимосвязь биологически активных соединений и фармакологической активности лекарственного препарата.

UDC 615.451.16:638.1:577.115

THE RESULTS OF STUDYING LIPIDS IN THE TINCTURE OF THE BEE LARVAE BIOMASS

O.I.Tikhonov, O.Ye.Bogutska, Ye.M.Khryapa

The research in studying lipids in the composition of the tincture based on the bee larvae biomass has been conducted. The medicine developed contains various unsaturated fatty acids in a significant amount. Cholesterol and triglycerides have been found in the tincture in a small amount. The relationship of biologically active substances and the pharmacological activity of the medicine has been revealed.