



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 55562

(13) C2

(51) 7 A61K31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКУВАЛЬНОГО ЗАСОБУ, ЩО ВІДНОВЛЮЄ ПАТОЛОГІЧНИЙ СТАН
МЕМБРАН КЛІТИН

1

2

(21) 2001042145

(22) 02 04 2001

(24) 15 04 2003

(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р.

(72) Комісаренко Сергій Васильович, Волков
Георгій Леонідович, Даценко Зоя Михайлівна(73) ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН
УКРАЇНИ

(56) UA, 20471, A61K35/78, 1998

UA, 16988, A61K37/22, A61K37/24, 1997

SU, 1392685, A61K35/56, 1986

(57) 1 Спосіб одержання лікувального засобу, що
відновлює патологічний стан мембран клітин, який
включає подрібнення сировини морських
організмів, її екстракцію етанолом, відокремлення
від екстракту жмиху і очистку екстракту від

домішок, додавання до одержаного екстракту
вітаміну Е, який відрізняється тим, що як
сировину морських організмів використовують їх
репродуктивні органи, а подрібнюють сировину в
замороженому стані, причому, перед очисткою
одержаного екстракту проводять повне видалення
етанолу, очистку одержаного екстракту
здійснюють за допомогою додавання суміші 50%
етанолу та гексану при їх об'ємному відношенні (1-
5) (20-40), при цьому вітамін Е додають до
концентрату, одержаному після відокремлення
гексанової фракції від водно-спиртової

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що до
жмиху додають водно-спиртову фракцію, суміш
висушують

Винахід відноситься до фармацевтичної
промисловості, а саме, до технології одержання
лікарських засобів з морських гідро біонтів, і може
бути застосований як специфічний засіб для
лікування порушень функцій печінки, серця,
легенів, репродуктивних органів, мозку, стіквіки
ока

За прототип винаходу прийнято "Спосіб
одержання з морських організмів комплексного
лікувального засобу репаруючого мембрани
функційно різних клітин людини" (Патент 20471 А)

Спосіб одержання з морських організмів
комплексного лікувального засобу, репаруючого
мембрани функційно різних клітин людини, який
включає подрібнення сировини, екстракцію
етанолом, підкисленням оцтовою кислотою,
фільтрацію від залишків сировини, відстоювання
екстракту на холоді до повного осадження білків,
фільтрацію, видалення осаду, очищення
активованим вугіллям, фільтрацію від вугілля,
стабілізацію екстракту вітаміном Е,
концентрування у вакуумі. Одержаний екстракт
відстоюють на холоді до повного осадження білків,
а після видалення осаду та очищення
активованим вугіллям і фільтрації, розчин

стабілізують вітаміном Е і концентрують
випаровуванням у вакуумі

Цей спосіб включає екстракцію сировини
етанолом з оцтовою кислотою, в зв'язку з чим
збільшується вихід амінокислот та білкових
речовин, які не мають активності, що притаманна
кінцевому продукту. Очистку етанольного
екстракту провадять відстоюванням до повного
осадження білків на холоді, що являє собою
трудомісткий процес, який потребує застосування
холодильних камер з температурою -20°C,
оскільки більшість білкових компонентів та ліпідів
випадають в осад при низьких температурах. Крім
цього очистка екстракту від небажаних ліпідних
компонентів за допомогою активованого вугілля
приводить до зниження вмісту цінних біологічно-
активних речовин (БАР) (фосфоліпідів (ФЛ) та
жирних кислот (ЖК)), в зв'язку з чим в кінцевому
продукті високий загальний вміст субстанції
обумовлений збагаченням її сполуками білкової
природи за рахунок яких знижується вміст
речовин, що репарують мембрани клітин. В той же
час очищення розчину активованим вугіллям з
подальшою фільтрацією під вакуумом
провадиться за допомогою спеціальних фільтрів і

(13) C2

(11) 55562

(19) UA

теж потребує певного часу. Взагалі, одержаний таким способом препарат БАР з певною кількістю нейтральних ліпідів, фосфоліпідів, амінокислот і коротких пептидів належить більше до біологічно активних препаратів для застосування в профілактичних цілях, як харчова біодобавка. Таким чином, цей засіб включає досить трудомісткі технологічні прийоми, препарат має низьку біологічну активність, одержаний продукт забруднено ліпідами та білками, які не мають позитивного внеску та фізіологічної активності в одержаному продукті.

Задача - створення способу одержання лікувального засобу, що відновлює патологічний стан мембран клітин шляхом оптимального поєднання технологічних прийомів та режимів з врахуванням сировини, за допомогою якого можливо вилучити найбільший відсоток біологічно-активних фосфоліпідів з омега-3 ПНЖК, в результаті чого досягається спрощення технології, покращується якість одержаного засобу і максимально збільшується його біологічна активність.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання лікувального засобу, що відновлює патологічні стани мембран клітин, що включає подрібнення сировини репродуктивних органів (гонади кальмарів або морських риб) в замороженому стані, екстракцію етанолом, фільтрацію екстракту, і одержання рідкої етанольної фази та твердої - жмих, упарювання етанолу до його остаточного видалення, очищення одержаної фракції від залишків нейтральних ліпідів та білкових компонентів сумішшю 50% етанолу та гексану, відокремленню гексанову фракцію упарюють і одержують субстанцію морських ФЛ, що вміщують омега-3 ПНЖК, яку стабілізують вітаміном Е, який відрізняється тим, що згідно винаходу, як сировину морських організмів використовують репродуктивні органи (гонади кальмарів або морських риб) в замороженому стані.

Очистку фракції ФЛ провадять сумішшю 50% етанолу гексану при їх об'ємному відношенні (1-5) (20-40).

Крім того авторами передбачено до жмих додавати водно-спиртову о^а фракцію, що відокремлюється від гексанової, одержану суміш сушать. Це дозволяє одержати додатковий продукт - білкову кормову добавку.

Сукупність визначених авторами операцій способу, його режимів, вибір сировини дозволяє вирішити поставлену задачу. Використання операцій способу призводить до наступних переваг:

- використання сировини репродуктивних органів морських організмів підвищує відсоток виходу фосфоліпідів з омега-3 жирними кислотами,

- подрібнення сировини в замороженому стані зменшує окислення фосфоліпідів і ненасичених жирних кислот в їх складі і, таким чином, збільшується вихід кінцевого продукту, тобто фосфоліпідів з омега-3 жирними кислотами,

- очистка екстракту від домішок ліпідів та білків за допомогою етанолу та гексану призводить до

остаточного видалення залишків нейтральних ліпідів та білкових компонентів,

- підібране відношення суміші 50% етанолу та гексану призводить до повної екстракції біологічно-активних речовин і при цьому одержується кінцевий продукт.

Перевага нового способу в порівнянні з прототипом є:

- скорочення технологічних операцій та технологічного часу,

- одержання субстанції, де фосфатидилхолін (ФХ) та фосфатидилетаноламін (ФЕА) з ДГК та ЕПК в структурі маючи найбільший вихід, визначає достеменність препарату і діючий початок лікарського засобу при лікуванні вказаних вище захворювань і порушень різних станів організму,

- усунення новим засобом одночасно найбільшої кількості небажаних ліпідних та білкових залишків з використанням суміші 50% етанолу та гексану,

- проведення безвідходного процесу виробництва лікарського засобу завдяки використанню водно-спиртової фракції жмиху, які є відходами виробництва і на їх основі одержання природної білкової кормової добавки.

Новий спосіб дозволяє виділити субстанцію фосфоліпідів з омега-3 жирними кислотами ейкозапентаєновою та докозагексаєновою в структурі фосфоліпідів, яка має подвійний лікувальний ефект за рахунок властивостей фосфоліпідів і омега-3 жирних кислот, і може бути використана як лікарський засіб для терапії різних захворювань як антидот, регенеруючий мембрани клітин при порушенні антиоксидантної системи організму та імунологічного статусу, серцево-судинних захворювань, для лікування порушень репродуктивної системи організму та чоловічої неплідності, підвищення фертильності, для зниження холестеролу та тригліцеридів у крові при атеросклерозі, лікуванні захворювань печінки та легень при розпаді сурфактантної системи.

На фіг 1 представлено результати дослідження хімічного складу засобу, одержаного запропонованим способом, які свідчать, що склад ФЛ з омега-3 ПНЖК відрізняється процентним вмістом головних ФЛ - ФХ та ФЕА і кількістю ЕПК та ДГК, яка залежить від досліджуваної сировини (різні види кальмарів та різні види риб). Головними фосфоліпідами цього комплексу є ФХ, ФЕА та сфінгомієлін (СМ). Саме субстанція ФЛ з гонад кальмару вміщує до 80% омега-3 ФЛ (табл 1). Основними компонентами цього комплексу є ФХ, кількість якого складає, в залежності від сировини, 72-87%, та ФЕА (табл 2). Ці два ФЛ вміщують в своїй структурі основну масу ПНЖК - ЕПК та ДГК. Як свідчить таблиця 3, відсотковий рівень ЕПК та ДГК найвищий як в загальних ФЛ з гонад кальмарів, так і в індивідуальному ФХ, і десь нижчий в ФЛ з гонад лосося або тіла моллюска ропану, в той час, як ФЛ з курячих яєць не вміщують вказаних біологічно активних ЖК. Крім цього стає відомо, що ПНЖК (відомі комерційні препарати), як ненасичені жирні кислоти, можуть окислюватись в препаратах і в організмі при недостатності антиоксидантів. В той же час омега-3 ПНЖК в структурі фосфоліпідів виявляють

стабільність. Таким чином, запропонований спосіб одержання морських ФЛ з гонад головоногих молюсків (кальмару) або інших молюсків та риб свідчить про одержання активного лікарського препарату. Введений вітамін Е стабілізує лікарський засіб і підвищує його властивості за рахунок синергічної взаємодії ФЛ з вітаміном Е.

Суть винаходу ілюструється конкретними прикладами його здійснення та результатами дослідження одержаного кінцевого продукту як фізіологічно-активного препарату (приклад 1-6).

Приклад 1. 100г заморожених гонад кальмарів подрібнюють на м'ясорубці, заливають 10 об'ємами етилового спирту, перемішують 3 години в реакторі з мішалкою, далі екстракт фільтрують, випарюють в вакуумі при температурі не більше 40°C до повного видалення спирту. Одержаний жмих збирають. До упареної фракції ліпідів додають суміш 50% спирту і гексану (1:20), відокремлюють гексанову фракцію, яку далі упарюють в вакуумі і одержують кінцевий продукт - субстанцію морських ФЛ з омега-3 ЖК, яку стабілізують вітаміном Е. Одержують кінцевий продукт субстанції 8г. Водно-спиртову фракцію змішують із жмихом, сушать на відкритому повітрі і одержують кормову добавку.

Приклад 2. 100г заморожених молок лососевих риб подрібнюють на м'ясорубці, заливають 10 об'ємами етилового спирту, перемішують 5 годин в реакторі з мішалкою, далі екстракт фільтрують, випарюють в вакуумі при температурі не більше 40°C до повного видалення спирту. Одержаний жмих збирають. До упареної фракції ліпідів додають суміш 50% спирту і гексану (2:30), відокремлюють гексанову фракцію, яку далі упарюють в вакуумі і одержують кінцевий продукт - субстанцію морських ФЛ з омега-3 ЖК, яку стабілізують вітаміном Е. Одержують кінцевий продукт субстанції 6г. Водно-спиртову фракцію змішують із жмихом, сушать на відкритому повітрі і одержують кормову добавку.

Приклад 3. 100г заморожених гонад морських риб (скупбрія, оселедці, хек, треска) подрібнюють на м'ясорубці, заливають 10 об'ємами етилового спирту, перемішують 3 години в реакторі з мішалкою, далі екстракт фільтрують, випарюють в вакуумі при температурі не більше 40°C до повного видалення спирту. Одержаний жмих збирають. До упареної фракції ліпідів додають суміш 50% спирту і гексану (5:40), відокремлюють гексанову фракцію, яку далі упарюють в вакуумі і одержують кінцевий продукт - субстанцію морських ФЛ з омега-3 ЖК, яку стабілізують вітаміном Е. Одержують кінцевий продукт субстанції 5,5г. Водно-спиртову фракцію змішують із жмихом, сушать на відкритому повітрі і одержують кормову добавку.

Приклад 4. Дослідження біологічних властивостей і специфічної біологічної активності одержаного засобу, який вміщує ФЛ з омега-3 ПНЖК.

Експерименти проводили на щурах самця вагою 150-200г, яких утримували на раціоні віварію. Дослідні тварини одержували в експерименті субстанцію морських ФЛ в кількості 5мг на 100г ваги на протязі одного місяця для

вивчення її впливу на склад ЖК загальних та індивідуальних ФЛ мікосомальних мембран в тканинах, різних за функцією органів печінка, мозок, серце, гонади в нормі та при експериментальному гепатиті, індукованому чотирьохлористим вуглецем (CCl_4). Було встановлено, що як в нормі, так і при патологічних станах організму введення ФЛ з омега-3 ПНЖК призводить до змін в мембранах клітин концентрації ЖК, індексу ненасиченості n-6/n-3 та відношення арахідонової кислоти (АК) до ДГК. При цьому спостерігається зменшення або збільшення вказаних відношень в залежності від функцій тканин та від стану організму. На фіг 2 представлено співвідношення основних поліненасичених жирних кислот n-6/n-3 мікосом різних тканин. Встановлено, що зміни цих відношень відбуваються як в загальних ФЛ (табл 4) так і в індивідуальних ФЛ - ФЕА та фосфатидилсерині (ФС). На фіг 3 представлено співвідношення арахідонової кислоти до докозагексаєнової в мікосомах різних тканин. Показано, що зміни цих відношень відбуваються за рахунок зниження АК або підвищення ДГК як в загальних ФЛ, так і в індивідуальних ФЛ - ФЕА та фосфатидилсерині (ФС). Показано, що у нормальних тварин під впливом ФЛ з омега-3 ПНЖК ДГК вибірково включається в ФЕА та ФС мембран печінки, мозку, серця та гонад. Морські ФЛ не тільки індукують концентраційні зміни ЖК мікосом індивідуальних ФЛ, а й контролюють насиченість мембран та активність АК в кожному ФЛ класі і, таким чином, підтримують баланс концентрації ПНЖК, в той же час ЕПК та ДГК конкурують з АК.

При дослідженні впливу ФЛ з омега-3 ПНЖК при індукованому CCl_4 гепатиті було виявлено, що індекс ненасиченості n-6/n-3 збільшується в 10 разів в ФЕА, відношення АК/ДГК в 4 рази. Введення морських ФЛ зменшує вказані індекси до норми. Таким чином, введення досліджуваного засобу щурам на протязі 30 діб індукує ефективне включення омега-3 ЖК в біологічні мембрани клітин і зумовлює підвищення всіх важливих омега-3 ЖК, а також омега-6 ЖК - лінолевої та ліноленової і, тим самим, підвищує ненасиченість клітинних мембран.

Приклад 5. Вивчення біологічних сурфактантоподібних властивостей засобу.

На основі вивчення складу та кількості ФЛ з репродуктивних органів молюсків та морських риб було встановлено, що одержаний комплекс морських ФЛ подібний за складом і кількісним співвідношенням поверхнево-активним речовинам легеневого сурфактанту, але відрізняється складом та кількістю ЖК, які входять в їх структуру, а саме, присутністю омега-3 ПНЖК ЕПК та ДГК. Специфічну дію одержаного засобу, як сурфактанту, визначали на щурах, яким інгаляційно вводили субстанцію водно-спиртового розчину субстанції на тлі інтоксикації метротаном, аміаком, бензином. Масова концентрація субстанції морських ФЛ у фізіологічному розчині складала 250мг/мл, сумарна рахункова концентрація - $6705,6 \pm 23,9$ част./мл повітря. Витрати речовини, що інгалювалась, не

перевищували 0,25мл на хв. Експозиція аерогенного впливу в усіх дослідах складала 15хв (табл 5)

В результаті застосування одержаного засобу, який має властивості сурфактанту, на висоті зовнішніх ознак інтоксикації без застосування інших спеціальних методів антидотної терапії, виживання тварин зросло в групах відповідно при метротановій, аміачній та бензиновій інтоксикації на 40, 35, 50%

Одноразове застосування інгаляційного впливу субстанції ФЛ не виявило відхилень у тварин нормальної групи, а в умовах інтоксикації сприяло нормалізації порушень функцій легень - знижувало інтенсивність піноутворення, нормалізувало клітинну реакцію сурфактанту легень, певним чином полегшувало хід токсичного процесу. При дослідженні *in vivo* властивостей сурфактанту - ФЛ з омега-3 ПНЖК на недоношених кроликах з недостатністю сурфактанту в порівнянні з стандартним препаратом "Survanta" (досліди університету Каліфорнії) було відмічено зниження рівня респираторного тиску (1) та підвищення об'єму ушкодження легень (2)

Препарат "Survanta"

1 - $21,2 \pm 1,1$

2 - $9,8 \pm 0,1$

Засіб морських фосфоліпідів

1 - $24,9 \pm 1,1$

2 - $9,2 \pm 0,3$

Біологічна активність засобу проявляється, також, в заміщувальній терапії і важливу роль при цьому можуть відігравати ЕПК та ДГК в їх структурі, оскільки ФЛ з омега-3 ПНЖК здатні до більш швидкого обміну та швидкої абсорбції.

Приклад 6. Дослідження специфічної дії одержаного засобу на репродуктивну систему організму.

В зв'язку з тим, що засіб морських ФЛ одержано з репродуктивних органів кальмарів або морських риб в період їх статевого дозрівання, а утворення в статевих залозах біологічно активних речовин тісно пов'язане з гіпофізарно-гонадною системою, виникла обґрунтована ідея використання одержаного засобу при різних статевих розладах. Оскільки в останні роки стало відомо, що в основі неплодних станів чоловіків лежить глибоке порушення ліпідного стану сперматозоонів, а саме, зниження деяких есенціальних ФЛ, а також ПНЖК омега-3 ряду - ЕПК та ДГК, перспективним є використання засобу для патогенетичного лікування чоловічої неплодності. В зв'язку з цим специфічну дію препарату (його здатність стимулювати запліднюючу спроможність) було досліджено на моделі, викликаної іонізуючим опроміненням, стерильності у щурів для вивчення здатності засобу стимулювати запліднюючу спроможність щурів-самців та дослідити стан потомства опромінених щурів, яким був чи не був призначений лікарський засіб.

Досліди проводили на щурах-самцях лінії Вістар, які були розділені за віком: дорослі (6міс) та старі (20міс). Дорослих самців опромінювали в апараті РУМ-17 при дозі 2Гр. Розчин субстанції

одержаного засобу в олії вводили раз по раз опроміненим дорослим тваринам на протязі 30 діб, старим (без опромінення) на протязі 60 діб у кількості 25мг/кг ваги тіла. Контрольні групи - дорослі самці без опромінення і старі одержували розчин олії. Досліджували наступні показники: вміст тестостерону в плазмі крові, вагу тестикул та їх морфологічні показники, кількість сперматозоїдів в епідідимусі, а також, фертильність здатність дорослих самців після спарювання з інтактними самками (дві самки на одного самця). В результаті було знайдено, що у дорослих опромінених щурів відносна вага тестикул та кількість сперматозоїдів в епідідимусі знижувались, рівень тестостерону не змінювався. Обробка опромінених щурів одержаним засобом не повертала ці індекси до норми, але спостерігалась деяка тенденція до їх підвищення. В той же час морфологічні дослідження тестикул опромінених щурів, які одержували на протязі 30 діб субстанцію засобу ФЛ з омега-3 ПНЖК показали зменшення кількості ушкоджених сперматогенних каналців і їх кількість при введенні препарату була 0,2% на відміну від опромінених самців, де загальна кількість ушкоджених каналців складала 2,8%. Крім цього, при введенні опроміненим самцям досліджуваного засобу, було виявлено підвищення ділення сперматогоній і більше збереження популяції сперматоцитів (табл 6).

В кінці дослідження було встановлено, що після спарювання опромінених шестимісячних самців тільки 40% вагітних самок принесли потомство. В групі самок, спарюваних з опроміненими самцями, які одержували засіб морських ФЛ, цей індекс становив 90%.

При дослідженні групи старих щурів, яким на протязі 2 місяців вводили одержаний засіб, було знайдено збільшення в 1,2 рази відносно ваги тестикул, зниження рівня тестостерону в крові в 1,8 рази. Ведення старим щурам засобу знижувало вікові зміни в кров'яних судинах тестикул і запобігало гіперплазії клітин Лейдига, властиві старим щурам. Таким чином, досліджуваний засіб впливає на репродуктивну систему, покращує морфо-функційні характеристики еякуляту при патологічному ушкодженні дорослих самців, що обумовлює його ефективність при усуненні порушень статевої функції та сприяє реалізації здатності до запліднення. Крім цього, засіб має позитивний вплив на старих щурів, знижуючи тестостерон в крові і вікові зміни в судинах тестикул і запобігаючи гіперплазії клітин Лейдига.

Таким чином, запропонований винахід вирішує задачу одержання з гонад морських організмів засобу, до якого входять ФЛ з омега-3 ЖК (ЕПК та ДГК), в зв'язку з чим засіб проявляє подвійний ефект: як за рахунок властивостей ФЛ, так і за рахунок омега-3 ЖК. Одержаний запропонованим способом лікарський засіб може бути застосований для лікування як антидот, регенеруючий мембрани клітин при порушеннях функцій печінки (гепатити різної етіології), серця (зменшує частоту приступів стенокардії при хворобі ішемії міокарду, знижує рівень

холестеролу в крові при різних серцево-судинних захворюваннях, має антиатерогенну дію), легенів (при різних інтоксикаціях, при недостатку сурфактанту у недоношених дітей та при

запаленнях легенів), репродуктивних органів (при радіаційному синдромі, для лікування чоловічої неплідності та статевих розладів) та інших захворювань (виявляє імуномодельючу дію)

Таблиця 1

Хімічний склад фосфоліпідного комплексу із гонад кальмара

Досліджувана речовина	Кількість (% від загальної кількості)
Фосфоліпіди	80±10
Загальний холестерин	3,5±1,3
Вільні жирні кислоти	2,0±0,5
Вуглеводи	0,2±0,05
Пептиди	0,3±0,05

Таблиця 2

Процентне співвідношення індивідуальних фосфоліпідів у фосфоліпідному комплексі з гонад молюсків

Досліджувана речовина	Кількість (% від загальної кількості фосфоліпідів)
Фосфатидипхолін (ФХ)	72,0-87,0
Фосфатидилетаноламін (ФЕА)	7,0-12,0
Сфінгомелін (СМ)	7,0-9,0
Фосфатидилсерин (ФС)	0,6-1,2
Фосфатидилінозитол (ФІ)	1,5-2,2
Дифосфатидилгліцерин (ДФГ)	0,4-0,8
Лізофосфатидилхолін (ЛФХ)	1,4-2,0

Таблиця 3

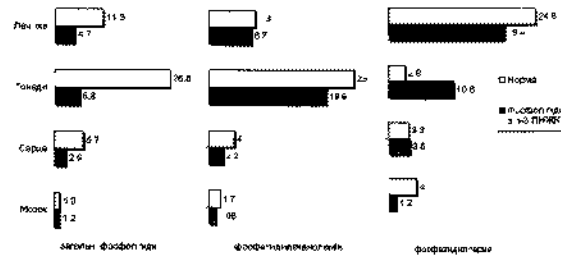
Відсоткове співвідношення метилових ефірів жирних кислот у складі фосфоліпідів із різних джерел

Жирні кислоти	Гонади кальмару (комплекс фосфороліпідів)	Гонади кальмару (фосфатиди холін)	Молюск ропан (комплекс фосфоліпідів)	Гонади лосося (комплекс фосфоліпідів)	Яйця курячі (комплекс фосфоліпідів)
Пальмітинова C _{16:0}	27,0	34,2	6,05	4,5	33,9
Пальмитолеїнова C _{16:1}	2,6	0,52	1,1	2,3	1,0
Стеаринова C _{18:0}	5,6	7,6	1,2	1,9	10,5
Олеїнова C _{18:1}	13,7	17,0	7,6	25,6	31,1
Лінолеїва C _{18:2}	1,5	0,3	1,3	0,75	17,7
α-лінолеїнова C _{18:3}	0,34	0,31	3,9	-	-
Арахідонова C _{20:4}	2,0	1,0	12,6	1,5	3,1
Ейкозапентаєнова C _{20:5}	15,9	10,0	17,7	15,7	-
Докозагексаєнова C _{22:6}	17,3	16,7	5,6	9,3	-

Таблиця 4

Відсоткове співвідношення метилових ефірів основних жирних кислот у складі фосфоліпідів мітросомальних мембран різних органів нормальних щурів та після введення в організм фосфоліпідів з омега-3 ПНЖК (ФЛ) на протязі 1 місяця

Жирні кислоти	Печінка Серце Мозок						Гонади	
	Норма	Введення ФЛ	Норма	Введення ФЛ	Норма	Введення ФЛ	Норма	Введення ФЛ
C _{16:0}	16,0	17,7	11,9	13,1	22,0	20,6	29,8	24,4
C _{18:0}	24,1	24,1	27,9	24,9	24,7	24,3	12,2	19,4
C _{18:1}	7 Л	6,3	6,3	6,5	16,9	14,5	19,7	9,6
C _{18:2}	13,7	12,9	19,3	16,5	2,1	4,0	8,1	9,5
C _{20:4}	23,7	24,9	16,7	19,9	10,9	12,8	12,8	19,3
C _{22:5}	1,8	1,4	1,5	0,8	0,7	0,5	0,7	1,0
C _{22:6}	2 Л	5,4	2,5	7,6	8,9	10,6	0,5	3,3



Фіг.3

Прототип

- 1 Сировина - молюски
- 2 Подрібнення сировини
- 3 Екстракція ліпідів етанолом (підкисленим оцтовою кислотою)
- 4 Фільтрація розчину з видаленням жмиху
- 5 Відстоювання етанольного екстракту на холоді при -20° для осадження білків
- 6 Фільтрація від осаду
- 7 Очистка активованим вугіллям від ліпідів
- 8 Ультрафільтрація фракції від вугілля
- 9 Стабілізація вітаміном Е
- 10 Концентрування розчину упарюванням в вакуумі

Заявлений спосіб

- 1 Сировина - репродуктивні органи молюсків (кальмари) та риб
- 2 Подрібнення сировини в замороженому стані
- 3 Екстракція ліпідів етанолом
- 4 Фільтрація розчину з видаленням жмиху
- 5 Упарювання етанольного екстракту до повного видалення етанолу
- 6 Додавання до упареної фракції суміш 50% етанолу та гексану при їх співвідношенні (1-5 20-40)
- 7 Відокремлення гексанової фракції
- 8 Концентрування гексанового розчину у вакуумі
- 9 Стабілізація вітаміном Е