

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ВЫСУШЕННОЙ КРОВИ МАРАЛА В УСЛОВИЯХ СТРЕСС-ИСПЫТАНИЙ

К.П. Лунин, В.Ф. Турецкова, О.Г. Макарова

Алтайский государственный медицинский университет;
Российская Федерация, 656038, Барнаул, пр. Ленина, д. 40

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Турецкова Вера Феопеновна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (3852) 366-091. E-mail: vft@agmu.ru

Лунин Константин Петрович – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7-909-501-8669. E-mail: lunin.86@mail.ru

Макарова Олеся Геннадьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (960) 952-29-09. E-mail: olesia552@mail.ru

Введение. Факторы внешней среды оказывают значительное влияние на сроки и условия хранения препаратов на основе продуктов пантового оленеводства. Сложный химический состав исходного сырья затрудняет определение стабильности. Стабильность активных фармацевтических субстанций определяют различными методами, в том числе ускоренными испытаниями и стресс-испытаниями.

Цель работы – изучение влияния факторов окружающей среды на стабильность физико-химических показателей высушенной крови марала в стресс-условиях.

Материал и методы. Объект исследования – субстанция высушенной крови марала. Стабильность крови марала оценивали на основании наличия или отсутствия изменений основных показателей качества после воздействия таких факторов, как естественный солнечный свет, искусственный свет, УФ-излучение, повышенные значения влажности воздуха и температуры. Определение аминокислот проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Естественный дневной и искусственный свет, УФ-излучение и повышенная температура не влияют на показатель «Описание высушенной крови марала». Выдерживание сырья в условиях 100% относительной влажности воздуха приводит к комкованию. Изучаемые физические факторы не влияют на качественный состав аминокислот. УФ-излучение не оказывает влияния на их количественное содержание. Под воздействием как естественного солнечного, так и искусственного света незначительно снижается содержание лейцина и аланина. Наибольшая стабильность к воздействию всех изучаемых факторов выявлена у лизина. Под воздействием повышенной температуры происходит значительное снижение содержания всех аминокислот в высушенной крови марала.

Заключение. Полученные данные по изучению стабильности физико-химических показателей и содержанию некоторых аминокислот высушенной крови марала следует учитывать при организации технологического процесса получения субстанции и при ее хранении.

Ключевые слова: высушенная кровь марала, физико-химические показатели, аминокислоты, стабильность, факторы внешней среды, стресс-испытания.

Для цитирования: Лунин К.П., Турецкова В.Ф., Макарова О.Г. Изучение стабильности высушенной крови марала в условиях стресс-испытаний. Фармация, 2018; 67 (4): 29–33. DOI: 10.29296/25419218-2018-04-06

ВВЕДЕНИЕ

Стабильность физико-химических показателей препаратов на основе продуктов пантового оленеводства под воздействием факторов окружающей среды в настоящее время практически не изучена. Вместе с тем, данные факто-

ры оказывают значительное влияние на сроки и условия хранения препаратов.

Определение стабильности препаратов животного происхождения, к которым относится продукция на основе высушенной крови марала, весьма затруднительно. Это обусловлено слож-

ным химическим составом исходного сырья, в том числе такими биологически активными веществами, как белки, гормоны и ферменты. Последние могут способствовать разложению активных субстанций, а также затруднять определение стабильности [1, 2].

Современная российская нормативная база определяет подходы к изучению стабильности лекарственных средств (ЛС), включает в себя ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств», из Государственной фармазии РФ XII издания (ГФ РФ XIII). На международном уровне основными документами, регламентирующими проведение исследований стабильности лекарственных препаратов, являются руководства ICH и ЕМА. Стабильность активных фармацевтических субстанций определяют различными методами: долгосрочными испытаниями, или испытаниями в реальном времени; ускоренными испытаниями и стресс-испытаниями [3–5].

Цель работы – изучение влияния факторов окружающей среды на стабильность физико-химических показателей высушенной крови марала в стресс-условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – субстанция высушенной крови марала. Забор крови осуществляли сотрудники ООО «АЛТАМАР» во время плановой срезки пантов у маралов-рогачей (май–июнь 2015 г.), после чего кровь подвергалась дальнейшей сушке распылительным методом на сушилке ВРА-1 (Китай) при температуре 130°C в течение 20 с [1].

Стабильность высушенной крови марала оценивали на основании наличия или отсутствия изменений основных показателей качества высушенной крови марала, возникших в результате воздействия следующих факторов: естественный солнечный свет; искусственный свет (линейная люминесцентная лампа Т8F18W/54-765 (54-765), мощность 18W); УФ-излучение (250 и 365 нм). Исследования проводили при относительной влажности воздуха 60±5% и температуре 15–25°C. Дополнительно изучали влияние повышенной температуры (70°C) при выдерживании сырья в сушильном шкафу марки СНОЛ-3,5.3.5.3,5/3,5-И1М. При этом исследуемые серии высушенной крови марала массой по 0,5 г (т.н.) помещали в боксы (толщина стенок – не более 3 мм), закрывали крышкой и содержимое подвергали принудительной деградации под воздействием вышеуказанных факторов в течение 48 ч.

Кроме того, изучали стабильность исследуемого сырья в условиях 100% влажности воздуха. Образцы выдерживали в течение 48 ч в открытых боксах при относительной влажности воздуха 50–60% и комнатной температуре 15–25°C, а также в герметичной камере при влажности воздуха 100%, при этом исключалось воздействие всех видов излучений.

Показатель «Описание» оценивали органолептически, показатель «потеря в массе при высушивании», – согласно ГФ РФ XIII, ОФС.1.2.1.0010.15 [3]. Качественное обнаружение и количественное определение аминокислот (АК) в высушенной крови марала осуществляли на высокоэффективном хроматографе фирмы «SHIMADZU» (Япония), по предложенной ранее на кафедре фармацевтической технологии АГМУ методике. Пробоподготовка заключалась в расщеплении пептидных связей белка в ходе кислотного гидролиза с последующей модификацией АК раствором фенилизотионата (ФИТЦ). Идентификацию веществ выполняли по временам удерживания в сравнении со стандартными образцами АК: глицин, пролин, оксипролин, аргинин, лизин, лейцин, треонин, валин, аспарагин, глутамин, фенилаланин, серин, гистидин, аланин, тирозин, изолейцин («Sigma», Германия). Содержание основных АК крови марала (аланин, лейцин, лизин) рассчитывали методом абсолютной градуировки. При этом определяли также зависимость между количеством введенного раствора АК в различных концентрациях и площадью пиков на хроматограмме [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований по изучению влияния вышеперечисленных факторов на внешний вид высушенной крови марала и на показатель «Потеря в массе при высушивании» показали, что естественный дневной и искусственный свет, УФ-излучение и повышенная температура не влияют на показатель «Описание» исследуемого сырья. Только выдерживание сырья в условиях 100% относительной влажности воздуха приводит к его комкованию.

Результаты исследований по изучению влияния вышеперечисленных факторов в «стресс-условиях» на качественный состав АК высушенной крови марала представлены на рисунке.

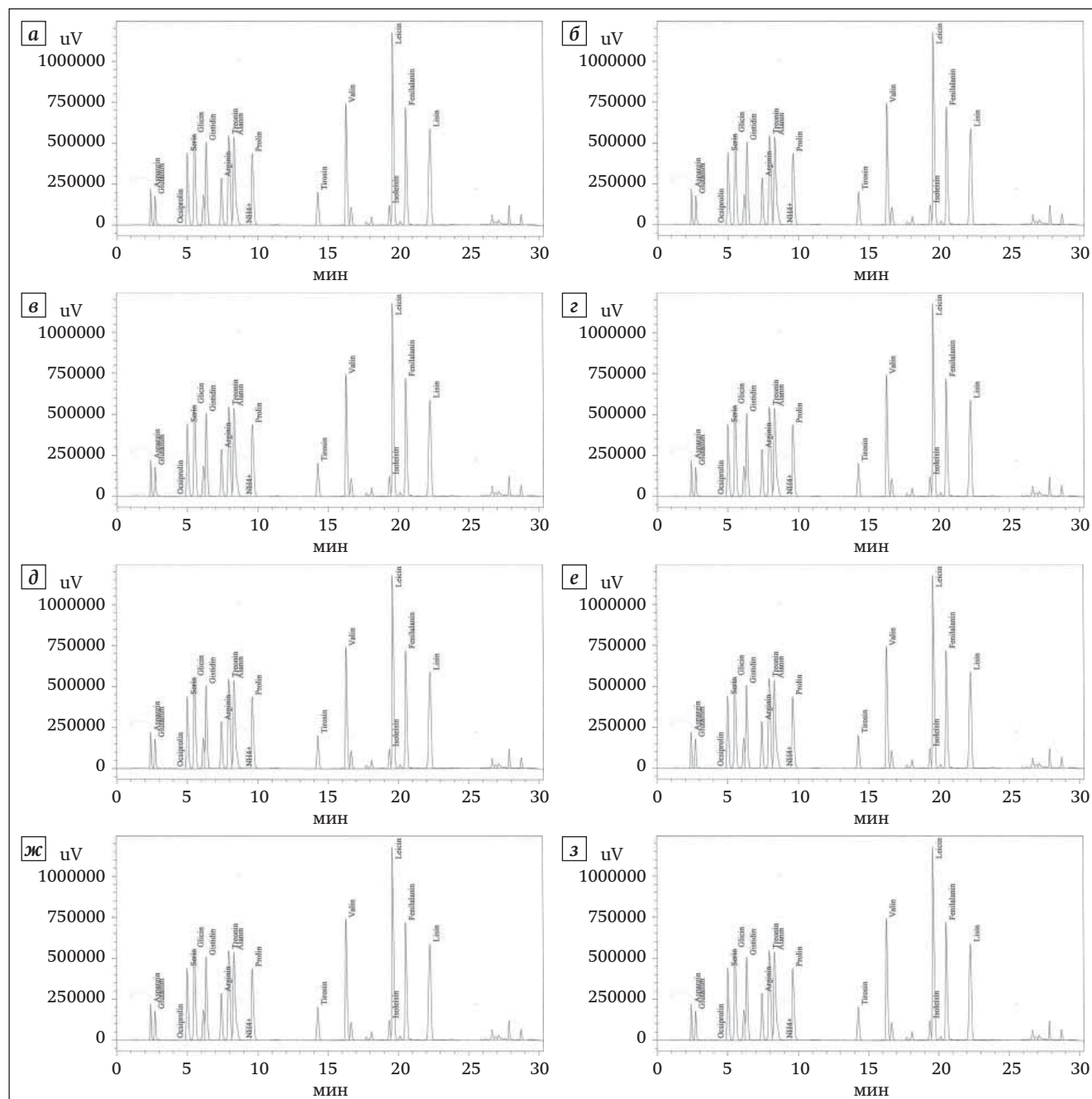
Сопоставление состава АК высушенной крови марала до и после воздействия вышеуказанных физических факторов указывает на идентичность аминокислотного состава всех исследуемых об-

разцов и, следовательно, на отсутствие влияния на качественный состав АК.

Согласно ГФ РФ XIII, неотъемлемая часть «стресс-исследований» – испытания фотостабильности. С учетом этого изучали влияние вышеуказанных факторов на количественное содержание основных АК (табл. 1).

Сравнительная оценка содержания АК в высушенной крови марала до и после воздействия различных видов излучения указывает на то, что

УФ-излучение не влияет на их количественное содержание. В отличие от этого, после воздействия как естественного солнечного, так и искусственного света, отмечено незначительное снижение содержания лейцина и аланина (на 10,4 и 5,1% соответственно). Наибольшая стабильность к воздействию всех изучаемых факторов выявлена у лизина, содержание которого при всех вариантах деструктирующего воздействия не изменилось.



Хроматограммы аминокислот высушенной крови марала до и после воздействия физических факторов: а – до воздействия; б – при естественном дневном свете; в – при искусственном свете; г – воздействие УФ-излучения, 250 нм; д – то же, 365 нм; е – при относительной влажности, 100%; ж – при повышенной температуре – 70°С

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ВЫСУШЕННОЙ КРОВИ МАРАЛА ДО И ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИЗЛУЧЕНИЯ

Аминокислота	Содержание, %				
	до воздействия излучения	свет		УФ-излучение	
		естественный солнечный	искусственный	длина волны, 250 нм	длина волны, 365 нм
Аланин	5,93±0,21	5,58±0,22	5,47±0,23	5,82±0,21	5,21±0,24
Лейцин	7,15±0,15	6,84±0,18	6,73±0,17	7,050±0,016	6,52±0,17
Лизин	3,82±0,05	3,96±0,19	4,08±0,21	3,74±0,18	3,63±0,14

Важной частью стресс-испытаний является изучение влияния повышенной влажности воздуха. Согласно анализу полученных данных (табл. 2), повышение влажности воздуха приводит к снижению содержания всех изучаемых АК.

В ходе дальнейших исследований высушенную кровь марала подвергали воздействию повышенной температуры (70°C) как одного из основных факторов, вызывающих деструкцию биологически активных веществ. Поэтому зависимость между температурой и скоростью химических реакций положена в основу мето-

дов как ускоренного хранения ЛС, так и «стресс-испытаний» (табл.3).

Как показало сравнение полученных данных, значительное снижение содержания всех АК в высушенной крови марала наблюдалось под воздействием повышенной температуры. При этом было зафиксировано уменьшение количественного содержания аланина, лейцина и лизина на 31,2, 21,7 и 24,0% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследований по изучению стабильности физико-химических показателей высушенной крови марала в стресс-условиях свидетельствуют о воздействии таких факторов окружающей среды, как свет, естественный дневной и искусственный, а также повышенная влажность воздуха и температура, которые приводят к снижению количественного содержания некоторых аминокислот при сохранении их качественного состава. Результаты исследования следует учитывать при организации технологического процесса получения субстанции высушенной крови марала и ее хранении.

Таблица 2

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ВЫСУШЕННОЙ КРОВИ МАРАЛА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА

Аминокислота	Содержание, %	
	до «стресс-испытаний» (относительная влажность воздуха 50–60%)	при относительной влажности воздуха 100%
Аланин	5,44±0,13	4,75±0,11
Лейцин	6,98±0,21	5,94±0,23
Лизин	3,22±0,09	2,57±0,11

Таблица 3

СОДЕРЖАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ВЫСУШЕННОЙ КРОВИ МАРАЛА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР

Аминокислота	Содержание, %	
	до «стресс-испытания» (t= 15–25 °C)	при t=70°C
Аланин	6,02±0,21	4,14±0,17
Лейцин	7,13±0,21	5,58±0,19
Лизин	3,41±0,15	2,59±0,09

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Земцова Н.П., Турецкова В.Ф., Макарова О.Г. Стабильность измельченных пантов марала в условиях стресс-испытаний. Фармация, 2016; 8: 25–7.
2. Луницын В.Г. Производство, переработка и биохимический состав продукции пантового оленеводства. Барнаул, РАСХН, Сибирское отделение, ВНИИПО. 2008; 294.
3. Государственная фармакопея РФ XIII издание [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml>
4. Мешковский А.П. Испытание стабильности и установления сроков годности. Фарматека, 2000; 5: 25–34.
5. Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products, Q1B. International Conference on

Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. [online resource]: URL: http://www.ich.org/fi.leadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B_Guideline.pdf

6. Лунин К.П., Земцова Н.П., Турецкова В.Ф. Сравнительный анализ качественного состава аминокислот крови и пантов марала методом ВЭЖХ. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. Вып.68. Пятигорск, 2013; 257–9.

Поступила 22 февраля 2017 г.

INVESTIGATION OF THE STABILITY OF DRIED MARAL (CERVUS ELAPHUS) BLOOD DURING STRESS TESTS

K.P. Lunin, V.F. Turetskova, O.G. Makarova

Altai State Medical University, 40, Lenin Pr., Barnaul 656038, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Turetskova Vera – doctor of Pharmaceutical Sciences, professor of pharmacy department of Altai State Medical University. Tel.: +7 (3852) 366-091. E-mail: vft@agmu.ru

Konstantin Lunin – Altai State Medical University. Tel.: +7 (909) 501-86-69. E-mail: lunin.86@mail.ru

Makarova Olesia – candidate of pharmaceutical sciences, docent of pharmacy department of Altai State Medical University. Tel.: +7 (960) 952-29-09. E-mail: olesia552@mail.ru

SUMMARY

Introduction. Environmental factors significantly influence the periods and conditions of storage of antler-based preparations. The complex chemical composition of their feedstock makes it difficult to determine stability. The latter of active pharmaceutical substances is determined by various methods, including accelerated tests and stress ones.

Objective: to study the influence of environmental factors on the stability of physicochemical parameters of dried maral blood under stresses.

Material and methods. The investigation object was dried maral blood. Its stability was evaluated whether changes in the main quality indicators were present or absent after exposure to factors, such as natural sunlight, artificial light, UV radiation, and higher air humidity and temperature levels. Amino acids were determined by high-performance liquid chromatography.

Results. Natural daylight and artificial light, UV radiation, and elevated temperatures do not affect the index «A description of dried maral blood». Raw material conditioning at 100% relative humidity leads to clumping. The examined physical factors do not influence the qualitative composition of amino acids. UV radiation does not affect their quantitative content. Exposure to both natural sunlight and artificial light can slightly decrease the levels of leucine and alanine. Lysine is found to have the greatest stability against all the examined factors. Exposure to elevated temperature causes a significant reduction in the content of all amino acids in the dried maral blood.

Conclusion. The data obtained from the study of the stability of physicochemical parameters and the content of some amino acids in dried maral blood should be taken into account during the technological process for preparing the substance and its storage.

Key words: dried maral blood, physicochemical parameters, amino acids, stability, environmental factors, stress tests.

For citation: Lunin K.P., Turetskova V.F., Makarova O.G. Investigation of the stability of dried maral (cervus elaphus) blood during stress tests. Farmatsiya (Pharmacy), 67 (4): 29–33. DOI: [10/29296/25419218-2018-04-06](https://doi.org/10.29296/25419218-2018-04-06).

REFERENCES

1. Zemtsova N.P., Turetskova V.F., Makarova O.G. Stability of crushed unossified antlers of maral (cervus elaphus) during stress test. Farmatsiya, 2016; 8: 25–7 (in Russian).
2. Lunitsin V.G. Manufacture and processing of antler-based reindeer breeding products and their biochemical composition. Siberian division of RAAS, VNIPO. Barnaul, 2008; 294 (in Russian).
3. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
4. Meshkovskiy A.P. Testing of stability and establishment of expiration dates. Journal of Pharmateka, 2000; 5: 25–34 (in Russian).
5. Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products, Q1B. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. [Electronic resource]. Access mod: http://www.ich.org/fi.leadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B_Guideline.pdf
6. Lunin K.P., Zemtsova N.P., Turetskova V.F. Comparative HPLC assay of qualitative composition of amino acids in the blood and antlers of Siberian stag. Development, research info and marketing of new pharmaceutical products: In Abstracts. Issue 68. Pyatigorsk, 2013; 257–9 (in Russian).