

СТАБИЛЬНОСТЬ ИЗМЕЛЬЧЕННЫХ ПАНТОВ МАРАЛА В УСЛОВИЯХ СТРЕСС-ИСПЫТАНИЙ

Н.П. Земцова*, В.Ф. Турецкова, доктор фармацевтических наук, профессор,
О.Г. Макарова, кандидат фармацевтических наук

Алтайский государственный медицинский университет;

Российская Федерация, 656038, Барнаул, проспект Ленина, д. 40

Введение. Определение стабильности продукции пантового оленеводства, производимой на основе измельченных пантов марала, весьма затруднительно. Эти препараты имеют сложный химический состав, включающий, наряду с другими биологически активными веществами, белки, гормоны и ферменты, которые могут служить причиной разложения активных субстанций, что затрудняет определение стабильности.

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

Материал и методы. Объект исследования – измельченные панты марала, заготовленные во время плановой срезки пантов у маралов-рогачей (май–июнь 2015 г.). Оценку стабильности проводили на основании наличия или отсутствия изменений основных показателей качества измельченных пантов марала после воздействия следующих факторов: естественный солнечный свет, искусственный свет, УФ-излучение, повышенные влажность воздуха и температура.

Результаты. Показано, что изучаемые физические факторы не оказывают влияния на качественный аминокислотный состав в измельченных пантах марала. УФ-излучение не влияет на количественное содержание аминокислот. Повышение влажности воздуха приводит к снижению содержания всех изучаемых аминокислот; максимально уменьшается содержание аланина. Повышенная температура ($t=70^{\circ}\text{C}$) способствует снижению содержания всех аминокислот в сырье.

Заключение. Воздействие естественного дневного и искусственного света, а также повышенной влажности воздуха и температуры приводит к снижению количественного содержания аминокислот при сохранении их качественного состава. Полученные данные следует учитывать при организации технологического процесса получения и при хранении измельченных пантов марала.

Ключевые слова: панты марала, стабильность, стресс-испытания

*E-mail: zemtsova9@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Определение стабильности препаратов животного происхождения, к которым относится продукция пантового оленеводства, производимая на основе измельченных пантов марала, весьма затруднительно. Проблема заключается в том, что данные препараты имеют сложный химический состав, включающий, наряду с другими биологически активными веществами, белки, гормоны и ферменты. Последние могут быть непосредственной причиной разложения активных субстанций, что также затрудняет определение стабильности [1, 2].

В настоящий момент отечественная нормативная база, определяющая подходы к изучению стабильности лекарственных средств, представлена в ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств» [3]. Основными международными документами, регламентирующими проведение исследований стабильности лекарственных препаратов, являются руководства ИСН и ЕМА. Для определения стабильности активных фармацевтических субстанций используют различные методы: долгосрочные испытани-

я, или испытания в реальном времени; ускоренные испытания и стресс-испытания [2–5].

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

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили измельченные панты марала. Заготовка сырья осуществлялась ООО «ВЭПО АСОХРА» во время плановой срезки пантов у маралов-рогачей (май–июнь 2015 г.), после чего панты подвергали консервированию по традиционной методике и измельчению на шаровой мельнице МШ-100 до частиц размером от 1,0 до 0,1 мм [6].

Изучали воздействие на стабильность пантов марала естественного солнечного света; искусственного света (линейная люминесцентная лампа Т8F18W/54-765 (54-765), мощность 18W); УФ-излучения (250 и 365 нм). Исследования проводили при относительной влажности воздуха $60\pm 5\%$ и температуре 15–25°C. Дополнительно определяли влияние повышенной температуры (70°C) при выдерживании сырья в сушильном шкафу марки СНОЛ

– 3,5.3,5.3,5/3,5 – ИМ. Исследуемые серии измельченных пантов марала массой по 0,5 г (т.н.) помещали в бьюксы (толщина стенок – не более 3 мм), закрывали крышкой и содержимое подвергали принудительной деградации под воздействием перечисленных выше факторов в течение 48 ч. Также изучалась стабильность пантов марала в условиях 100% влажности воздуха. Образцы сырья выдерживали в течение 48 ч в открытых бьюксах 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 ОФС.1.2.1.0010.15 ГФ РФ XIII издания [3].

Качественное и количественное определение аминокислот (АК) в измельченных пантах марала выполняли по предложенной нами ранее ВЭЖХ-методике. Пробоподготовка заключалась в расщеплении пептидных связей белка в ходе кислотного гидролиза с последующей модификацией АК раствором фенилизотиоционата (ФИТЦ). Идентификацию веществ осуществляли по временам удерживания в сравнении со стандартными образцами («Sigma») АК: глицин, пролин, оксипролин, аргинин, лизин, лейцин, треонин, валин, аспарагин, глутамин, фенилаланин, серин, гистидин, аланин, тирозин, изолейцин. Содержание основных АК пантов марала (глицин, аланин, пролин) рассчитывали методом абсолютной градуировки, при котором определялась зависимость между количеством введенного раствора АК в различных концентрациях и площадью пиков на хроматограмме [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам исследований, естественный дневной и искусственный свет, УФ-излучение и повышенная температура не влияют на показатель «описание» измельченных пантов марала. Только выдерживание сырья в условиях 100% относительной влажности воздуха приводит к его комкованию.

Сравнительная оценка состава АК измельченных пантов марала, не подвергшихся воздействию и после воздействия вышеуказанных физических факторов, показала идентичность аминокислотного состава всех изучаемых образцов и отсутствие влияния на качественный состав АК.

При планировании эксперимента по количественному содержанию основных АК учитывали, ссылаясь на ГФ РФ XIII издания, что неотъемлемой частью «стресс-исследований» должны быть испытания фотостабильности. Как показывает сопоставление содержания АК в измельченных пантах марала до и после воздействия различных видов излучения (табл. 1), УФ-излучение не влияет на их количественное содержание. В отличие от этого, после воздействия как естественного солнечного, так и искусственного света отмечено значительное снижение содержания глицина и аланина на 24,0 и 24,2% соответственно. Наибольшая стабильность к воздействию всех изучаемых факторов выявлена у пролина, содержание которого при всех вариантах деструктурирующего воздействия не изменилось.

Важная часть стресс-испытаний – исследование влияния повышенной влажности воздуха. Согласно результатам эксперимента (табл. 2), повышение влажности воздуха приводит к снижению содержания всех изучаемых АК. Содержание аланина максимально уменьшается на 45,6%.

Учитывая тот факт, что зависимость между температурой и скоростью химических реакций лежит в основе не только ускоренного хранения лекарственных средств, но и «стресс-испытаний», в ходе дальнейших исследований измельченные панты марала подвергали воздействию повышенной температуры (70°C) – одного из основных факторов, вызывающих деструкцию биологически активных веществ. Полученные данные (табл.3) свидетельствуют о значительном снижении содержания всех АК в измельченных пантах марала под воздействием повышенной температуры. Отмечено уменьшение количественного содержания глицина, аланина и пролина на 17,5, 30,0 и 29,7 % соответственно.

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ИЗМЕЛЬЧЕННЫХ ПАНТАХ МАРАЛА ДО И ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИЗЛУЧЕНИЯ

Аминокислота	Содержание, %				
	до воздействия излучения	свет естественный солнечный	свет искусственный	УФ-излучение	
				250 нм	365 нм
Глицин	6,33±0,21	4,81±0,22	4,80±0,23	6,13±0,21	6,47±0,24
Аланин	2,30±0,02	1,29±0,02	1,72±0,06	2,20±0,06	2,24±0,09
Пролин	4,74±0,05	4,16±0,19	4,48±0,13	4,34±0,20	4,71±0,14

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований по изучению влияния факторов окружающей среды на стабильность физико-химических показателей измельченных пантов марала в стресс-условиях установлено, что воздействие естественного дневного и искусственного света, а также повышенной влажности воздуха и температуры приводит к снижению

Таблица 2

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ
В ИЗМЕЛЬЧЕННЫХ ПАНТАХ МАРАЛА
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА**

Аминокислота	Содержание, %	
	до «стресс-испытаний» (относительная влажность воздуха 50–60%)	при относительной влажности воздуха 100%
Глицин	6,33±0,21	5,54±0,12
Аланин	2,30±0,02	1,25±0,01
Пролин	4,74±0,05	4,15±0,13

Таблица 3

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СОДЕРЖАНИЕ
АМИНОКИСЛОТ В ИЗМЕЛЬЧЕННЫХ
ПАНТАХ МАРАЛА**

Аминокислота	Содержание, %	
	t = 15–25°C (до «стресс-испытания»)	t = 70°C
Глицин	6,33±0,21	5,22±0,21
Аланин	2,30±0,02	1,61±0,07
Пролин	4,74±0,05	3,33±0,20

количественного содержания аминокислот при сохранении их качественного состава. Полученные данные следует учитывать при организации технологического процесса получения и хранения измельченных пантов марала.

STABILITY OF CRUSHED UNOSSIFIED ANTLERS OF MARAL (*CERVUS ELAPHUS*) DURING STRESS TESTS
N.P. Zemtsova, Professor V.F. Turetskova, PhD; O.G. Makarova, PhD

Altai State Medical University; 40, Lenin Prospect, Barnaul 656038, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. It is very difficult to determine the stability of reindeer breeding preparations made from crushed unossified antlers of maral (*Cervus elaphus*). These preparations have a complex chemical composition, which, along with other biologically active substances, include proteins, hormones and enzymes, which can decompose active substances, making it difficult to determine their stability.

Objective: to investigate the influence of environmental factors on the stability of physicochemical parameters of crushed unossified maral antlers under stress conditions.

Material and methods. Crushed unossified antlers stored during the planned cutting of unossified stag antlers in May–June 2015 were the subject of the investigation. Their stability was assessed relying on the presence and absence of changes in the main indicators of the quality of crushed maral antlers exposed to the following factors: natural sunlight, artificial light, UV radiation, and higher humidity and temperature.

Results. It is shown that the investigated physical factors do not influence the qualitative amino acid composition in the crushed maral antlers. UV radiation does not affect the quantitative content of amino acids. UV radiation has no impact in the levels of amino acids. Higher air humidity leads to a decrease in the content of all the test amino acids; the level of alanine is maximally decreased. Elevated temperature (70°C) results in the lower levels of all amino acids in raw materials.

Conclusion. Exposure to natural daylight and artificial light and higher air humidity and temperature leads to the decreased levels of amino acids, by preserving their qualitative composition. The findings should be taken into account when organizing a technological process to prepare and store crushed unossified maral antlers.

Key words: unossified maral antlers, stability, stress tests.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Луницын В.Г. Производство, переработка и биохимический состав продукции пантового оленеводства. РАСХН, Сибирское отделение, ВНИИПО. Барнаул, 2008; 294. (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)).
- Мешковский А.П. Испытание стабильности и установления сроков годности. Фарматека, 2000; 5: 25–34. (Meshkovskiy A.P. Testing of stability and establishment of expiration dates. Journal of Pharmateka, 2000; 5: 25–34 (in Russian)).
- Государственная фармакопея РФ, XIII изд. Том 1. М., 2015; 1470. (State Pharmacopoeia of the Russia Federation XIII-ed. Vol. 1. Moscow, 2015; 1470 (in Russian)).
- 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/ffi/leadadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B_Guideline.pdf.
- Stability Testing of Existing Active Ingredients and Related Finished Products (CPMP/QWP/122/02 Rev. 1 corr). European Medicines Agency. (online resource):URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003466.pdf.
- Земцова Н.П., Турецкова В.Ф. Влияние дополнительной обработки на показатели качества измельченных пантов марала. Современные тенденции развития науки и технологии: периодический научный сборник. Белгород, 2016; 1–3: 43–6. (Zemtsova N.P., Turetskova V.F. The influence of additional treatment on indicators of the quality of crushed Siberian stag antlers. Modern trends in development of science and technology: Scientific journal. Belgorod, 2016; 1–3: 43–6 (in Russian)).
- 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. Пятигорск, 2013; 68: 257–9. (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. Pyatigorsk, 2013; 68: 257–9 (in Russian)).

Поступила 24 августа 2016 г.