

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МУСКУСЕ КАБАРГИ СИБИРСКОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПЕКТРА ПИТАНИЯ ЖИВОТНЫХ

А.М. Зубалий^{1,*}, М.С. Нестеров¹, В.Н. Каркищенко¹, Д.В. Хвостов^{1,2}, Р.А. Агельдинов¹,
С.В. Огнев¹

¹ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

² ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
109316, Российская Федерация, Москва, ул. Талалихина, 26

Проведено исследование содержания биологически активных веществ методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии с применением дериватизации силилированием в прижизненно полученном мускусе кабарги. Проведено сравнение химического состава мускуса кабарги сибирской в природных и вольерных условиях. Выявлено влияние спектра питания кабарги на содержание биологически активных компонентов мускуса, прежде всего веществ андростероидного профиля. Подробно представлены результаты содержания наиболее значимых компонентов мускуса кабарги, имеющих биологические эффекты. Установлено, что увеличение разнообразия поедаемых кормов приводит к улучшению качественного состава биологически активных веществ мускуса, получаемого от самцов кабарги при вольерных условиях содержания.

Ключевые слова: газовая хроматография, масс-спектрометрия, дериватизация, андростероиды, жирные кислоты, репутационная железа кабарги сибирской, рацион питания кабарги, условия содержания кабарги

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках Государственного задания «Разработка научно-технической документации с целью получения возобновляемых источников сырья биологического происхождения для производства фармацевтических субстанций и биологически активных веществ» (шифр: «Питомник-НЦБМТ»).

Для цитирования: Зубалий А.М., Нестеров М.С., Каркищенко В.Н., Хвостов Д.В., Агельдинов Р.А., Огнев С.В. Содержание биологически активных веществ в мускусе кабарги сибирской в зависимости от спектра питания животных. *Биомедицина*. 2022;18(4):24–38. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-4-24-38>

Поступила 08.08.2022

Принята после доработки 17.11.2022

Опубликована 01.12.2022

CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE MUSK OF SIBERIAN MUSK DEER DEPENDING ON FOOD SPECTRUM OF ANIMAL NUTRITION

Anastasiia M. Zubalii^{1,*}, Maksim S. Nesterov¹, Vladislav N. Karkischenko¹,
Daniil V. Khvostov^{1,2}, Ruslan A. Ageldinov¹, Sergey V. Ognev¹

¹ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

² V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences
109316, Russian Federation, Moscow, Talalikhina Str., 26

The content of biologically active substances in the gland secretion of Siberian musk deer obtained *in vivo* was studied by gas chromatography-mass spectrometry using derivatization by silylation. The musk chemical composition of animals held under natural conditions and in captivity was compared. The food spectrum of Siberian musk deer was found to affect the content of biologically active components in the musk, primarily of androsteroid substances. The results of evaluating the content of musk components exhibiting the most pronounced biological effects are presented. An increase in the diversity of food spectrum was established to improve the qualitative composition of biologically active substances in the musk obtained from the adult males of Siberian musk deer held in captivity.

Keywords: gas chromatography, mass spectrometry, derivatization, androsteroids, fatty acids, preputial gland of musk deer, food spectrum of musk deer, musk deer farming

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the work was carried out within the framework of the State assignment “Development of scientific and technical documentation for the purpose of obtaining renewable sources of raw materials of biological origin for the production of pharmaceutical substances and biologically active substances” (code: Nursery-SCMBT).

For citation: Zubalii A.M., Nesterov M.S., Karkischenko V.N., Khvostov D.V., Ageldinov R.A., Ognev S.V. Content of Biologically Active Substances in the Musk of Siberian Musk Deer Depending on Food Spectrum of Animal Nutrition. *Journal Biomed.* 2022;18(4):24–38. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-4-24-38>

Submitted 08.08.2022

Revised 17.11.2022

Published 01.12.2022

Введение

Кабарга (*Moschus moschiferus* L., 1758) — исчезающий вид копытных млекопитающих, который включён в список Международной Красной книги со статусом уязвимого (vulnerable) [9]. Дальнейшие исследования показали, что этот вид сокращается более серьёзно, чем предполагалось, и может быть отнесён к категории находящихся под угрозой исчезновения [1, 5]. Основная причина устойчивого снижения численности вида — это массовое браконьерство с целью получения мускуса — секрета препуциальной железы самцов кабарги. Современные фак-

тические ресурсы вида в России не превышают 25–30 тыс. особей, что намного ниже официальных данных [6].

Введение кабарги в зоокультуру путём полувольного вольерного содержания является наиболее перспективным способом использования биологических ресурсов кабарги. Методика прижизненного получения мускуса позволяет получать сырьё для коммерческого использования, без ущерба природным популяциям [7, 12]. Однако остаётся ряд нерешённых вопросов, касающихся оптимизации кормления и содержания кабарги для получения высококачественного

мускуса как сырья для производства биологически активных добавок.

Мускус кабарги с древних времён используется в традиционной восточной медицине при широком спектре заболеваний и как общеукрепляющее средство для поддержания жизнедеятельности и активного долголетия [2, 4, 8]. Современные исследования биологической активности мускуса показали, что эти препараты имеют не только гормональную активность, актуальную в андрологии и гинекологии, но и обладают выраженными противовоспалительными свойствами, широко применяются при нарушениях иммунной системы, неврологических расстройствах, заболеваниях сердечно-сосудистой системы и других патологиях [10].

Мускус кабарги является сложным комплексом химических соединений разных классов: липидов (в т. ч. стероидов с гормональной активностью, насыщенных и ненасыщенных жирных кислот), пептидов, кетонов, альдегидов, ароматических производных и др. [2–4, 10].

Установлено, что биологическая активность различных образцов мускуса может очень сильно варьировать в зависимости от разных факторов, таких как возраст, физиологическое состояние животных, экологические особенности содержания [11].

В связи с этим **целью** нашего исследования стало изучение влияния условий содержания и питания кабарги на химический состав биологически активных веществ (БАВ), производимых животными.

Материалы и методы

Животные и рацион питания

Было проведено сравнение химического состава мускуса, полученного от самцов кабарги в питомнике филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Отбор проб мускуса проводили без ущерба для здоровья животных по методике прижизненной экстракции

мускуса самцов кабарги сибирской, разработанной в НЭБ «Черноголовка» ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН [7]. Данная методика была апробирована, адаптирована и внедрена в питомнике филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Основу поголовья питомника составляют три размножающиеся пары животных, отловленных в природе в конце 2019 г. Возраст самцов при отлове составлял примерно 5–6 лет, т. е. они были половозрелыми и имели активно функционирующую препуциальную железу, продуцирующую мускус. Животные были клинически здоровы, средней упитанности, содержались семейными парами (1 самец + 1 самка) в вольерах питомника, от каждой пары в 2021 и 2022 гг. было получено потомство. Содержимое препуциальной железы отбиралось в 2020, 2021 и 2022 гг., один раз в год (в июле-августе). Мускус из проб 2020 г. отбора можно считать соответствующим вольному содержанию и питанию, т. к. животные были недавно изъяты из природной среды, и, кроме того, на территории вольеров питомника находился значительный запас (по количеству и разнообразию кормовых растений) естественной кормовой базы. Далее животные были постепенно адаптированы к основному рациону питомника, который содержит следующие корма: древесный лишайник, веники из растений лиственных пород, грибы, овсяная крупа, сухофрукты (яблоки), витаминно-минеральный комплекс.

Пробы мускуса 2021 г. были взяты от самцов кабарги, питающихся этим рационом, в течение года после предыдущей экстракции мускуса. Далее проводилась оптимизация рациона кормления животных, находящихся на вольерном содержании, с целью повышения качественного состава БАВ, получаемых от них. Оптимизация рационов была направлена на дополнение основного рациона кабарги, содержащей-

ся в искусственных условиях, разработанными премиксами и добавками до уровня разнообразия состава кормов, потребляемых животными в естественных условиях обитания. В состав премиксов входили следующие компоненты, повышающие неспецифическую резистентность организма животных к неблагоприятным факторам среды и обеспечивающие поступление широкого спектра веществ, оказывающих регуляторное воздействие на физиолого-биохимические процессы в организме животных: жмых копеечника забытого (*Hedysarum neglectum*), экстракты лимонника китайского (*Schisandra chinensis*), левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*), гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*), алтея лекарственного (*Althaea officinalis*), иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis*), эфирное масло рододендрона даурского (*Rhododendron dauricum*), уснеевая кислота, лактулоза, инулин. Пробы мускуса в 2022 г. были получены от самцов, получающих оптимизированные рационы с добавлением премиксов по рецептуре ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Биоаналитические исследования

Пробы мускуса кабарги для исследования были переданы в лабораторию биоаналитических исследований ФГБУН НЦБМТ ФМБА России из филиала «Алтайский». Полученные пробы были разделены на три группы:

- 1) мускус, полученный от кабарги естественного кормления и содержания (2020);
- 2) мускус, полученный от кабарги, содержащейся в вольерных условиях с обычным кормовым рационом (2021);
- 3) мускус, полученный от животных в вольерных условиях, потреблявших рацион с премиксами и добавками (2022).

В каждой группе анализировался усреднённый образец, составленный из индивидуальных проб. Качественный и количественный анализ полученных образцов мускуса проводили на ГХ/МС-анализаторе

с масс-спектрометрическим детектором «Хроматэк», сопряжённым с газовым хроматографом «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостным дозатором ДАЖ-2М (ЗД). Для наибольшей информативности ГХ/МС проводились следующие стадии пробоподготовки: экстракция этилацетатом, упаривание, концентрирование и дериватизация силилированием.

Подготовка проб на ГХ/МС

При подготовке проб для анализа образцы мускуса тщательно перемешивали и измельчали до прохода через сито. Перед измельчением пробы с высокой влажностью высушивали при температуре не выше 50 °С в течение 3 ч. Около 0,03 г измельчённого сырья помещали в стеклянную вialу с закручивающейся крышкой вместимостью 2 мл, добавляли 1 мл этилацетата (соотношение сырьё/растворитель: 1/10–1/50), тщательно вортиксовали. Вialу помещали на плитку и нагревали при 50 °С в течение 20–24 ч. Отбирали 200 мкл раствора, центрифугировали при 12000 об./мин (4 °С) в течение 10 мин. Далее работали с супернатантом.

Во вставку объёмом 250 мкл добавляли 20 мкл надосадочной жидкости и 20 мкл дериватизирующего агента (силилирование BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide) + TMCS (Trimethylchlorosilane) (99:1). Вialу со вставкой ставили на плитку при 80 °С в течение 60 мин. Добавляли 70 мкл этилацетата (концентрация 5–20 мг/мл по сырью), закрывали, перемешивали и ставили на вкол.

Режим ГХ/МС анализа

Выбрана следующая температурная программа: начальная температура — 60,0 °С; 3,0 мин; 7,0 °С/мин до 170,0 °С; 0,0 мин; 3,5 °С/мин до 205,0 °С; 0,0 мин; 7,0 °С/мин до 300,0 °С и выдерживание 14,0 мин.

МС: Деление потока 10,0. Температура источника ионов — 200 °С. Температура переходной линии — 290 °С. Диапазон сканирования — 50–650, длительность скана —

0,3 с. Колонка Phenomenex ZB-DRUG-1 30 м×0,25 мм×0,25 мкм. Время анализа — 56,29 мин, скорость потока — 0,6 мл/мин, объём вводимой пробы — 1 мкл.

Для надёжной идентификации дериватов использовали автоматическую базу поиска и идентификации данных хромато-масс-спектрометрии NIST17 MS Library. Весь пул хроматографически разделённых компонентов был подвергнут ранжированию по вкладам площадей каждого компонента в общий ионный ток и степени достоверности предложенных структур.

Результаты и их обсуждение

В данном эксперименте использовали колонку Phenomenex, которая позволяет разделить компоненты сложной пробы с дериватизацией. Выбран длинный режим: начинающийся с 60,0 °С, с медленных градиентов в 7,0 °С до конечной температуры 300,0 °С, которая держалась в течение 10,0 мин. Такая хроматограмма позволяет разделить и проанализировать многокомпонентный состав сложной смеси. При использовании метода дериватизации силилированием для всех фракций экстрактов мускуса кабарги время удерживания полученных продуктов изменяется, а форма

пика компонента значительно улучшается (рис. 1).

Известны многочисленные варианты эффективной дериватизации первичных и вторичных аминов, карбоновых кислот, спиртов, стероидов методом силилирования. Для ГХ/МС анализа определяемые аналиты химически модифицируются для обеспечения более разделяемых пиков с улучшенными хроматографическими свойствами — временем удерживания и разрешением, а также более информативных масс-спектров после электронной ионизации (ЭИ). Анализ состава экстрактов без дериватизации представлен малым количеством компонентов в сравнении с профилем состава с предварительной дериватизацией силилированием. Поэтому использовалась подготовка с предварительным введением силильных групп.

Для сравнительного анализа все хроматограммы приведены в одинаковых единицах по осям. Для того чтобы дериватизирующий агент не учитывался, запись сигнала начиналась с 13,0 мин. Было обнаружено по 40–41 основных компонентов в каждом из трёх образцов мускуса кабарги. Полный перечень компонентов с временами выхода и площадями представлен в табл. 1–3.

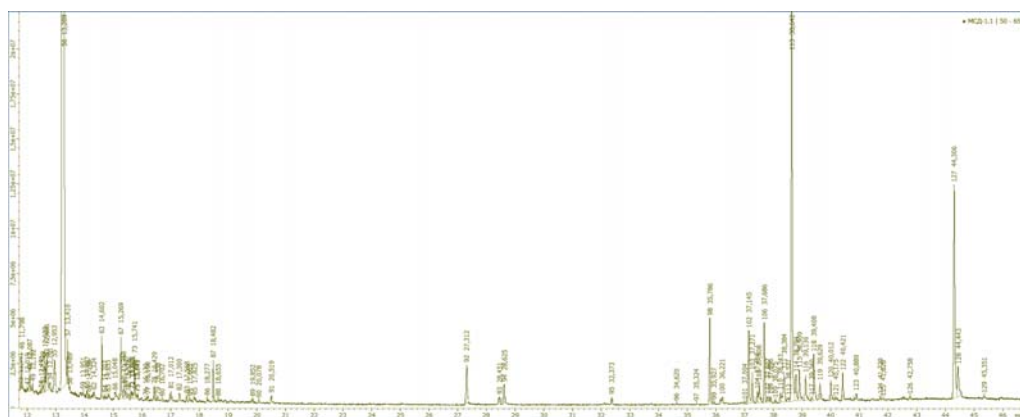


Рис. 1. Вид хроматограммы ГХ/МС анализа исследуемого образца мускуса кабарги сибирской.

Fig. 1. GC-MS chromatogram of a studied musk sample of Siberian musk deer.

Таблица 1. Состав основных соединений в образце мускуса № 1, полученных методом ГХ-МС после силилирования

Table 1. Composition of the main compounds in musk sample No. 1 obtained by GC-MS after silylation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (p)
Органические кислоты					
1	Benzoic acid, TMS derivative	13,77	35809992,25	3,6	55,48
2	Benzeneacetic acid, TMS derivative	14,83	120035235,71	11,9	98,42
3	Succinic acid, 2-(2-chlorophenoxy)ethyl propyl ester	14,96	1595317,47	0,2	30,5
4	3-Hydroxybenzoic acid, 2TMS derivative	19,75	2038570,24	0,2	54,19
5	4-Hydroxybenzeneacetic acid, 2TMS derivative	21,28	1789451,58	0,2	93,2
6	5,7-Dihydroxy-3,4'-dimethoxyflavone	33,25	1795160,79	0,2	48,1
7	3',4',5,7-Tetramethoxyflavone	35,95	1293794,53	0,1	61,37
8	D-Galactitol, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, anhydride with 1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-β-D-galactofuranose	40,76	3678040,79	0,4	63,7
9	Retinoic acid, TMS derivative	40,55	3218418,18	0,3	23,17
Холестерины					
10	Lanost-8-ene-3β,7α-diol, 3-acetate	44,40	2293124,03	0,2	82,91
11	Cholesterol, TMS derivative	45,76	164913139,85	16,4	72,57
12	Cholestan-3-ol, (3β,5α)-, TMS derivative	45,99	31708947,33	3,2	71,85
Андрогены (андростероиды)					
13	5β-Dihydrotestosterone, TMS derivative	38,39	16258238,19	1,6	89
14	Cetadiol, 2TMS derivative	38,85	3699162,72	0,4	49,41
15	Androstane-3,17-diol, (3β,5α,17β)-, 2TMS derivative	38,98	53385280,76	5,3	34,32
16	Androst-3-en-17-one, 3-(trimethylsilyloxy)-, (5β)-	39,40	9055547,21	0,9	26,79
17	Androst-5-en-16-one, 3-(trimethylsilyloxy)-, (3β)-	39,54	4883368,28	0,5	69,92
18	5α-Androstan-3β-ol-17-one, TMS derivative	39,76	5075065,19	0,5	39,44
19	Androstane-3,17-dione, (5β)-	39,85	7409682,79	0,7	57,37
20	Androst-5-ene-3β,17β-diol, 2TMS derivative	40,01	16824380,31	1,7	42
21	6β,19-Cycloandro-4-ene-3,17-dione	41,47	12154238,53	1,2	53,03
Жирные кислоты					
22	Nonanoic acid, TMS derivative	15,86	22586367,07	2,2	69,99
23	Pentanedioic acid, 2-(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester	16,18	3481847,37	0,3	46
24	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	16,42	20133210,92	2,0	73,64
25	Myristic acid, TMS derivative	25,80	3296273,15	0,3	85,75
26	Palmitelaidic acid, TMS derivative	29,89	2151501,77	0,2	44,45
27	Palmitic acid, TMS derivative	30,43	20368577,59	2,0	93,65
28	Stearic acid, TMS derivative	33,96	5331083,68	0,5	90,38
29	Behenic acid, TMS derivative	39,20	2916205,71	0,3	27,8

Продолжение Табл. 1
Table 1. Continuation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (р)
30	Lignoceric acid, TMS derivative	41,37	2901372,88	0,3	77,94
31	Heneicosanoic acid, TMS derivative	37,68	1232972,55	0,1	43,19
Прочие органические вещества					
32	Urea, 2TMS derivative	13,66	379932052,75	37,8	93,34
33	Levobunolol methylboronate	31,42	1420456,68	0,1	38,25
34	Hexadecane-1,2-diol, 2TMS derivative	32,08	3976824,29	0,4	50,35
35	16-Methyl-heptadecane-1,2-diol, trimethylsilyl ether	34,59	9470433,66	0,9	46,43
26	16-Methyl-heptadecane-1,2-diol, trimethylsilyl ether	35,42	1497923,04	0,1	18,65
37	Purin-2,6-dione, 1,3-dimethyl-8-2-3,4-dimethoxyphenylethenyl-	36,08	3646638,80	0,4	51,72
38	1-Heneicosanol, TMS derivative	36,47	20189962,70	2,0	26,38
39	Purin-2,6-dione, 1,3-dimethyl-8-2-3,4-dimethoxyphenylethenyl-	36,85	1078197,38	0,1	91,87
40	6-Hydroxy-4-(imidazol-1-ylmethyl)-7-methylchromen-2-one	37,01	1863547,48	0,2	34,29

Таблица 2. Состав основных соединений в образце мускуса № 2, полученных методом ГХ-МС после силилирования

Table 2. Composition of the main compounds in musk sample No. 2 obtained by GC-MS after silylation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (р)
Органические кислоты					
1	Benzoic acid, TMS derivative	13,76	20830956,09	2,6	77,38
2	Benzeneacetic acid, TMS derivative	14,83	68023797,13	8,5	98,46
3	5,7-Dihydroxy-3,4'-dimethoxyflavone	33,67	1783902,55	0,2	59,11
4	D-Galactitol, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, anhydride with 1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-β-D-galactofuranose	40,74	3550515,70	0,4	16,78
5	Retinoic acid, TMS derivative	40,53	4563353,29	0,6	10,43
Холестерины					
6	Benzoenaphth2',1':4,5indeno1,2-bindol-2-ol, 1,2,3,4,4a,4b,5,6,6a, 7,14,14a,14b, 15,16,16a-hexadecahydro-4a,6a-dimethyl-, acetate (ester), 2S-(2α, 4αa,4bβ,6αa,14aβ,14bα,16aβ)-	42,10	5494046,38	0,7	82,35
7	Cholest-2-ene, (5α)-	42,35	8891354,07	1,1	21,4
8	5-β-cholestan-3α-ol, octanoate	42,44	2463222,26	0,3	9,62
9	Cholesterol, TMS derivative	45,74	123928062,19	15,5	75,19
10	Cholestan-3-ol, (3β,5α)-, TMS derivative	45,97	27450236,21	3,4	69,81
Андрогены (андростероиды)					
11	5β-Dihydrotestosterone, TMS derivative	38,38	16935380,52	2,1	83,99
12	Cetadiol, 2TMS derivative	38,83	3006046,92	0,4	13,98
13	Androstane-3,17-diol, (3β,5α,17β)-, 2TMS derivative	38,95	54430928,78	6,8	32,41

Продолжение Табл. 2
 Table 2. Continuation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (р)
14	Androst-3-en-17-one, 3-(trimethylsilyl)oxy-, (5β)-	39,37	6564374,39	0,8	56,96
15	Dehydroepiandrosterone, (3β)-, TMS derivative	39,52	3737179,93	0,5	53,98
16	5α-Androstan-3β-ol-17-one, TMS derivative	39,75	5068754,06	0,6	58,1
17	Androstane-3,17-dione, (5β)-	39,83	8268647,16	1,0	63,51
18	Androst-5-ene-3β,17β-diol, 2TMS derivative	39,99	21222990,46	2,7	51,04
19	5,19-Cyclo-5β-androst-6-ene-3,17-dione	41,44	11850950,46	1,5	52,83
Жирные кислоты					
20	Nonanoic acid, TMS derivative	15,87	16656099,05	2,1	25,34
21	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	16,41	25050204,64	3,1	82,79
22	Myristic acid, TMS derivative	25,78	5273070,34	0,7	80,97
23	Pentadecanoic acid, TMS derivative	28,16	2592727,24	0,3	32,12
24	Palmitelaidic acid, TMS derivative	29,87	6450039,45	0,8	71,65
25	Palmitic acid, TMS derivative	30,41	26099208,06	3,3	94,8
26	Oleic Acid, (Z)-, TMS derivative	33,53	4450107,85	0,6	45,73
27	Stearic acid, TMS derivative	33,94	8854456,25	1,1	92,45
28	Arachidic acid, TMS derivative	36,76	1301898,60	0,2	54,27
29	10-Undecenoic acid, TBDMS derivative	36,98	1170083,07	0,1	20,46
30	Heneicosanoic acid, TMS derivative	37,66	5797924,32	0,7	64,35
31	Behenic acid, TMS derivative	39,18	3079885,26	0,4	61,9
32	Lignoceric acid, TMS derivative	41,35	4524495,37	0,6	61,12
33	Pentanoic acid, 3-phenyl-2-propenyl ester	43,02	3769150,57	0,5	13,89
Прочие органические вещества					
34	Urea, 2TMS derivative	13,64	243211107,88	30,5	93,04
35	Hexadecane-1,2-diol, 2TMS derivative	32,07	5071888,85	0,6	52,11
36	16-Methyl-heptadecane-1,2-diol, trimethylsilyl ether	34,57	10083514,11	1,3	49,52
37	Purin-2,6-dione, 1,3-dimethyl-8-2-3,4-dimethoxyphenylethenyl-	35,94	3064489,00	0,4	33,24
38	Purin-2,6-dione, 1,3-dimethyl-8-2-3,4-dimethoxyphenylethenyl-	36,06	3218263,83	0,4	67,9
39	1-Heneicosanol, TMS derivative	36,45	19742643,76	2,5	46,56
40	Purin-2,6-dione, 1,3-dimethyl-8-2-3,4-dimethoxyphenylethenyl-	36,84	442258,03	0,1	86,15

Таблица 3. Состав основных соединений в образце мускуса № 3, полученных методом ГХ-МС после силилирования

Table 3. Composition of the main compounds in musk sample No. 3 obtained by GC-MS after silylation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (p)
Органические кислоты					
1	Benzoic acid, TMS derivative	13,77	93083859,29	2,4	77,93
2	Hexanoic acid, 2-(trimethylsilyl)oxy-, trimethylsilyl ester	13,97	1761940,66	0,0	68,46
3	Benzeneacetic acid, TMS derivative	14,83	74081734,83	1,9	97,75
4	3-Hydroxybenzoic acid, 2TMS derivative	19,74	8717801,64	0,2	54,71
5	4-Hydroxybenzoic acid, 2TMS derivative	21,06	5133980,42	0,1	47,9
6	4-Hydroxybenzeneacetic acid, 2TMS derivative	21,28	8246166,66	0,2	96,03
7	Phenaceturic acid, TBDMS derivative	27,58	34220272,14	0,9	34,86
8	Arabinofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	37,85	2548069,03	0,1	15,6
9	Retinoic acid, TMS derivative	40,54	13919124,54	0,4	20,1
Холестерины					
10	Cholesterol, TMS derivative	45,76	318618443,57	8,3	75,46
11	Cholestan-3-ol, (3 β ,5 α)-, TMS derivative	45,98	96719557,39	2,5	56,46
12	Cholest-7-en-3-ol, (3 β ,5 α)-, TMS derivative	46,88	7447678,65	0,2	32,87
Андрогены (андростероиды)					
13	Dehydroisoandrosterone acetate	36,47	92401862,58	2,4	21,09
14	Androstane-3,17-diol, (3 α ,5 β ,17 β)-, 2TMS derivative	37,00	488452473,19	12,8	67,05
15	Androstane-3,17-diol, (3 α ,5 α ,17 β)-, 2TMS derivative	37,24	8375083,80	0,2	30,24
16	Androstane-3,17-diol, (3 α ,5 α ,17 β)-, 2TMS derivative	37,48	24050881,82	0,6	55,94
17	Androstane-3,17-diol, (3 α ,5 β ,17 β)-, 2TMS derivative	37,67	6344646,01	0,2	69,96
18	Dehydroepiandrosterone, (3 β)-, TMS derivative	38,36	12661668,12	0,3	27,61
19	3-Hydroxyandrostan-17-one o-methyloxime, (3 α ,5 β)-, TMS derivative	38,60	409497725,43	10,7	13,8
20	Etiocholanone, TMS derivative	38,81	689144839,80	18,0	55,94
21	Androstane-3,17-diol, (3 β ,5 α ,17 β)-, 2TMS derivative	38,96	160015715,56	4,2	40,34
22	Androstane-3,11,17-triol, (3 α ,5 β ,11 α ,17 β)-, 3TMS derivative	39,10	29053174,60	0,8	61,45
23	3-Hydroxyandrostan-17-one o-methyloxime, (3 α ,5 α)-, TMS derivative	39,39	55302860,26	1,4	16,66
24	Dehydroepiandrosterone, (3 β)-, TMS derivative	39,53	26189854,60	0,7	55,1
25	5 α -Androstan-3 β -ol-17-one, TMS derivative	39,76	25554397,20	0,7	75,79
26	Androst-5-ene-3 β ,17 β -diol, 2TMS derivative	40,01	16661919,14	0,4	28,97
27	Cyclohexene, 1,5,5-trimethyl-6-(2-propenylidene)-	40,14	3123897,97	0,1	53,41
28	Pregnane-3,17,20,21-tetrol, (3 β ,5 α ,20R)-, 4TMS derivative	40,45	13278485,74	0,3	13,58

Продолжение Табл. 3
 Table 3. Continuation

№	Название	Время, мин	Площадь, отн. ед.	Площадь, %	Вероятность (p)
29	Androstane-3,11,17-triol, (3 α ,5 β ,11 α ,17 β)-, 3TMS derivative	40,67	8363831,73	0,2	39,62
Жирные кислоты					
30	2-Ketoisocaproic acid, TBDMS derivative	14,96	50097317,43	1,3	8,97
31	10-Undecynoic acid, TMS derivative	15,84	27517891,06	0,7	16,96
32	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	16,42	34488941,84	0,9	83,3
33	Pentanoic acid, 3-methyl-2-(trimethylsilyl)oxy-, trimethylsilyl ester	16,70	4830033,03	0,1	49,49
34	α -Hydroxybutyric acid, trimethylsilyl ester, acetate	17,25	7671018,28	0,2	13,9
35	Hippuric acid, TMS derivative	26,58	83874217,12	2,2	97,88
36	Palmitic acid, TMS derivative	30,41	13988566,10	0,4	97,05
37	Stearic acid, TMS derivative	33,95	4923476,25	0,1	91,45
38	Arachidic acid, TMS derivative	36,77	2528230,60	0,1	75,06
39	Behenic acid, TMS derivative	39,19	8535925,79	0,2	92,72
40	Lignoceric acid, TMS derivative	41,36	10705358,79	0,3	92,8
Прочие органические вещества					
41	Urea, 2TMS derivative	13,68	838703369,17	22,0	92,31

В результате исследования химического состава мускуса было выделено пять основных кластеров анализов:

1) андрогены (андростероиды) — группа стероидных половых гормонов, которая считается основным и самым важным кластером в оценке биологической активности мускуса;

2) холестерин — вторая мажорная фракция, необходимы для выработки витамина D, синтеза надпочечниками различных стероидных гормонов (включая кортизол, альдостерон, половые гормоны: эстрогены, прогестерон, тестостерон), желчных кислот;

3) жирные кислоты (ЖК) — алифатические одноосновные длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные карбоновые кислоты, выполняющие в организме очень важные функции — пластическую и регуляторную;

4) органические кислоты, куда включены все низкомолекулярные соединения, воз-

можно отщепления кислот от более крупных молекул;

5) прочие органические вещества — побочные продукты реакции между веществами во время дериватизации, представляющие незначительный интерес.

Выявлены следующие основные действующие компоненты проанализированных образцов мускуса: андрогены (Etiocholanone; Androstane-3,17-diol, (3 α ,5 β ,17 β); Androstane-3,17-diol, (3 β ,5 α ,17 β)), холестерин, ретиноевая кислота (метаболит витамина A₁).

Далее было проведено сравнение общего содержания компонентов в полном ионном токе. Для удобства восприятия данные нормированы на образец мускуса, полученный от животных группы 1. В анализе общего содержания компонентов образец № 1 мускуса принимается за 100%, остальные образцы нормируются относительно него. В образце № 2 мускуса (полученном при вольерном содержании и кормлении

кабарги стандартным рационом) доля всех компонентов снизилась на 24,0% и составила 76%. Однако в образце № 3 мускуса (при кормлении кабарги оптимизированным рационом с добавлением премиксов, разработанных в НЦБМТ) отмечалось увеличение содержания компонентов мускуса на 3,4% в сравнении с природным образцом № 1. Это может говорить об эффективности использования кормовых добавок и возможности быстрого восстановления природного состава выделений препуциальной железы самцов кабарги при оптимизации кормления животных.

Для каждого образца были построены диаграммы по содержанию основных фракций относительно общего количества идентифицированных веществ (рис. 2). Из диаграмм видно, что классы аналитов, предположительно отвечающие за биологические эффекты мускуса (андрогены, холестерин и жирные кислоты), составляют в сумме: образец № 1 — 40,9%; образец № 2 — 49,8%; образец № 3 — 71,7%. Это

свидетельствует о наличии тенденции изменения органического состава веществ, секретируемых мускусной железой самцов кабарги при вольерном содержании.

В образце № 1 мускуса установлено наличие большего количества органических кислот и соединений, но меньшее количество холестерина и андрогенов.

Относительное содержание компонентов кластера андрогенов в образце № 3 мускуса составило 54,0% (рис. 2). Этот образец был получен от самцов кабарги, содержащихся в вольерных условиях и получавших рацион с кормовой добавкой-премиксом, содержащим биологически активные компоненты, оказывающие регуляторное воздействие на физиолого-биохимические процессы в организме животных. Перечень этих компонентов имел высокое разнообразие и содержал следующие растительные компоненты: жмых копеенника забытого (*Hedysarum neglectum*), экстракты лимонника китайского (*Schisandra chinensis*), левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*),

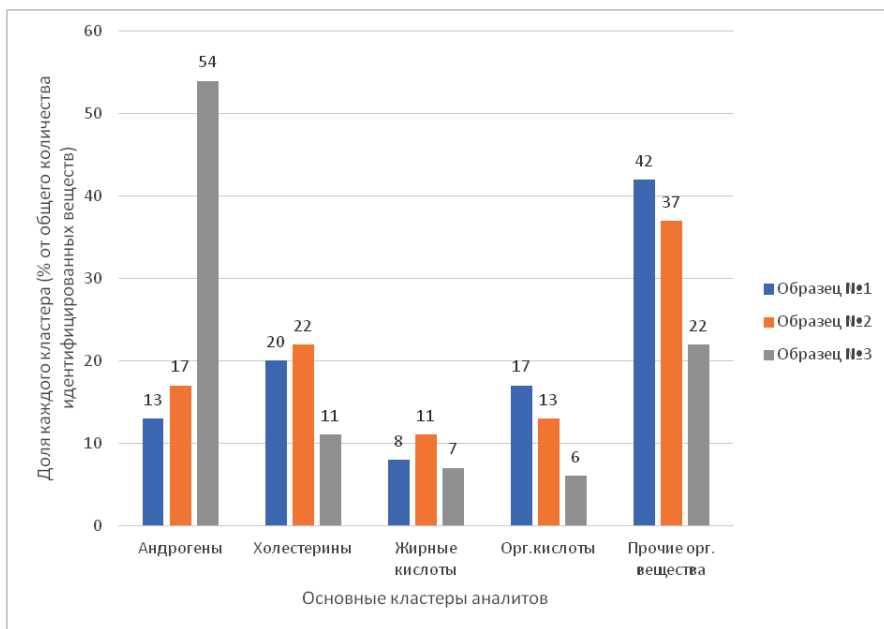


Рис. 2. Содержание основных кластеров аналитов в мускусе кабарги сибирской.

Fig. 2. Content of the main analyte clusters in the musk of Siberian musk deer.

гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*), алтея лекарственного (*Althaea officinalis*), иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis*), эфирное масло рододендрона даурского (*Rhododendron dauricum*), уснеевая кислота, лактулоза, инулин. Результаты нашего исследования показывают, что расширение спектра питания кабарги, содержащейся в искусственных условиях, премиксами и добавками до уровня разнообразия состава кормов, потребляемых животными в естественной среде, непосредственно влияет на содержание биологически активных компонентов секрета препуциальной железы самцов (мускуса). При этом следует отметить, что фракция андростероидов в образце № 3 мускуса занимает основную часть от общего состава БАВ, при этом одновременно наблюдается уменьшение количества органических кислот и прочих органических соединений. Такая специфика химического состава увеличивает биологическую ценность полученного мускуса.

Сравнение проанализированных образцов мускуса по содержанию кластеров выделенных соединений представлено на рис. 3. Образец № 1 принимался за 100%, остальные образцы нормировались относительно него. Наиболее значимое отличие между образцами наблюдается в составе андрогенового кластера анализов. Для образца № 3 мускуса данная фракция увеличивалась относительно других проб более чем в 2,5 раза. При этом в образце № 3 мускуса отмечено также увеличение количества жирных кислот на 38% и одновременно снижение содержания органических кислот на 53% (относительно образца сравнения № 1).

Вещества андрогенового кластера являются наиболее биологически активным компонентом мускуса, поэтому их разнообразие и количество представляет наибольший интерес. На рис. 4 представлен подробный относительный анализ содержания андрогенов в образце № 3 мускуса. Больше

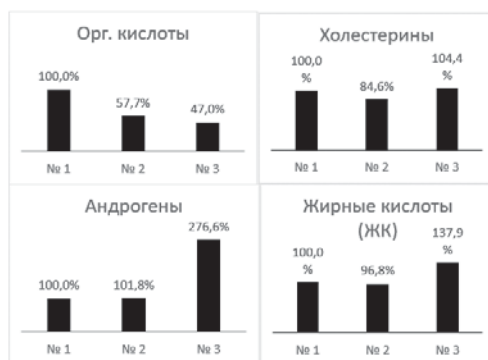


Рис. 3. Сравнение по группам выделенных соединений из препуциальной железы методом ГХ-МС. Общий вклад компонентов образца № 1 мускуса принимается за 100%.

Fig. 3. Comparison by groups of compounds isolated from the preputial gland by GC-MS. The total contribution of musk sample No. 1 components is taken as 100%.

всего в пробе выявлено TMS производного этиохоланона — 33,3%, в небольших количествах присутствуют его изомеры — 5 α -Androstan-3 β -ol-17-one — 1,2%. На втором месте по количеству два андростандиола: androstane-3,17-diol,(3 α ,5 β ,17 β) — 23,9% и androstane-3,17-diol,(3 β ,5 α ,17 β) — 7,7%.

При сравнении качественного состава и количественного содержания андростероидных соединений данной пробы с образцом № 1 мускуса оказалось, что основным компонентом в образце № 1 также является androstan-17-one,3-hydroxy-,(3 α ,5 β), или этиохоланон. Минорными компонентами во всех трёх образцах стали Androstane-3,17-diol,(3 α ,5 α ,17 β); 5 α -Androstan-3 β -ol-17-one; Androst-5-en-16-one,3-(trimethylsilyl)oxy-,(3 β)-. Их содержание в пробах не превышало 5,0%.

Выводы

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1) условия обитания и особенности диеты животных напрямую влияют на качественный состав выделений препуциальной железы (мускуса) самцов кабарги;

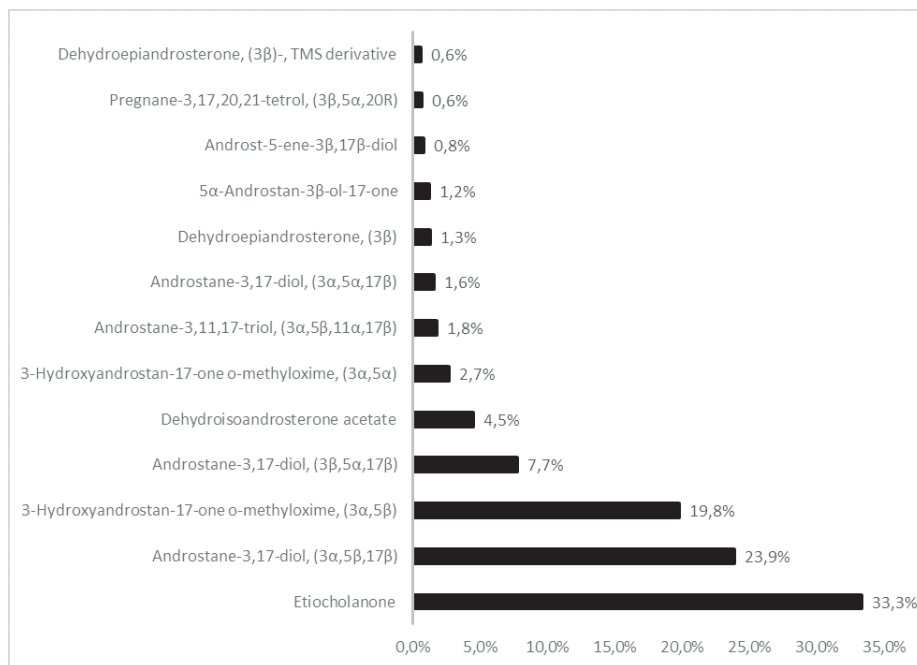


Рис. 4. Относительный анализ содержания андрогенов для образца № 3 мускуса.

Fig. 4. Relative analysis of androgen content for musk sample No. 3.

2) при анализе мускуса, полученного прижизненно путём экстракции у самцов кабарги при разных вариантах питания, идентифицировано 40–41 химическое соединение из пяти основных кластеров аналитов (андрогены, холестерины, жирные кислоты, органические кислоты, прочие органические вещества);

3) основные действующие компоненты проанализированных образцов мускуса: андрогены (Etiocholanone; Androstane-3,17-diol,(3α,5β,17β); Androstane-3,17-diol,(3β,5α,17β)), холестерин, ретиноевая кислота (метаболит витамина A₁);

4) химический состав мускуса, полученного от самцов кабарги, содержащихся

в вольерных условиях и получавших экспериментальный рацион и кормовую добавку-премикс, содержит большее количество и качественное разнообразие компонентов из фракции андростероидов, при этом одновременно наблюдается уменьшение содержания органических кислот и прочих органических веществ;

5) оптимизация диеты животных путём расширения спектра поедаемых кормов за счёт добавления физиологически значимых компонентов приводит к улучшению качественного состава биологически активных веществ (мускуса), получаемых от самцов кабарги в вольерных условиях содержания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Камбалин В.С. Динамические процессы в численности кабарги. *Биосферное хозяйство: теория и практика*. 2021;11(40):24–30. [Kambalin V.S. Dinamicheskie protsessy v chislennosti kabargi [Dynamic processes in the abundance of musk deer]. *Biosfernoe khozyaystvo: teoriya i praktika* [Biosphere economy: theory and practice]. 2021;11(40):24–30. (In Russian)].
2. Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Люблинский С.Л., Гасанов М.Т., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О.

- Источники сырья новой биоактивной добавки к пище для коррекции эректильной дисфункции. *Биомедицина*. 2018;(1):40–49. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Lyublinskij S.L., Gasanov M.T., Karanadze G.D., Revyakin A.O. Istochniki syr'ya novoy bioaktivnoy dobavki k pishche dlya korrektsii erektil'noy disfunktsii [Raw material sources of a new bioactive food supplement for erectile dysfunction correction]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;1:40–49. (In Russian)].
3. Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Хвостов Д.В., Агельдинов Р.А., Люблинский С.Л. Анализ биологически активных соединений мускуса кабарги (*Moschus moschiferus*) методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором. *Биомедицина*. 2018;(1):19–39. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Khvostov D.V., Ageldinov R.A., Lyublinskij S.L. Analiz bioloicheski aktivnykh soedineniy muskusa kabargi (*Moschus moschiferus*) metodom gazovoy khromatografii s mass-selektivnym detektorom [Analysis of biologically active compounds of musk deer (*Moschus moschiferus*) by gas chromatography with a mass-selective detector]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;1:19–39. (In Russian)].
 4. Копытко Я.Ф., Цыбулько Н.С. Летучие компоненты *Moschus moschiferus* настойки гомеопатической матричной. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2019;22(3):31–36. [Kopyt'ko Ya.F., Cybul'ko N.S. Letuchie komponenty *Moschus moschiferus* nastoyki gomeopaticheskoy matrichnoy [Volatile components of *Moschus moschiferus* homeopathic matrix tincture]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii [Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry]*. 2019;22(3):31–36. (In Russian)]. DOI: 10.29296/25877313-2019-03-05.
 5. Приходько В.И. Динамика численности кабарги (*Moschus moschiferus* L.) в России. *Вестник охотоведения*. 2018;15(1):26–32. [Prihod'ko V.I. Dinamika chislennosti kabargi (*Moschus moschiferus* L.) v Rossii [Population dynamics of musk deer (*Moschus moschiferus* L.) in Russia]. *Vestnik okhotovedeniya [Bulletin of hunting science]*. 2018;15(1):26–32. (In Russian)].
 6. Приходько В.И. *Кабарга: ресурсы, сохранение вида в России*. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2021:203. [Prihod'ko V.I. *Kabarga: resursy, sokhranenie vida v Rossii [Musk deer: resources, conservation of the species in Russia]*. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2021:203. (In Russian)].
 7. Приходько В.И. *Разведение кабарги. Научно-практические рекомендации*. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013:142. [Prihod'ko V.I. *Razvedenie kabargi. Nauchno-prakticheskie rekomendatsii [Breeding of musk deer. Scientific and practical recommendations]*. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2013:142. (In Russian)].
 8. Morishita S., Mishima Y., Shoji M. Pharmacological proper-ties of musk. *Gen. Pharmacol.* 1987;18(3):253–261. DOI: 10.1016/0306-3623(87)90008-5.
 9. Nyambayar B., Mix H., Tsytulina K. *Moschus moschiferus*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2015:e.T13897A61977573. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T13897A61977573.en>.
 10. Lv S., Lei Z., Yan G., Shah S.A., Ahmed S., Sun T. Chemical compositions and pharmacological activities of natural musk (*Moschus*) and artificial musk: A review. *J. Ethnopharmacol.* 2022;284:114799. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114799.
 11. Tang Z.-S., Liu Y.-R., Lv Y., Duan J.-A., Chen S.-Z., Sun J., Song Z.-X., Wu X.-M., Liu L. Quality markers of animal medicinal materials: Correlative analysis of musk reveals distinct metabolic changes induced by multiple factors. *Phytomedicine*. 2018;44:258–269. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.03.008.
 12. Wang J., Zheng Q., Xia C., Li Y., Zhou M., Sheng Y., Weladji R.B., Meng X. Seasonal reproduction of northernmost endangered forest musk deer (*Moschus berezovskii*) in China and the synchronization with climatic conditions. *Czech J. Anim. Sci.* 2021;66:46–54. DOI: 10.17221/202/2020-CJAS.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зубалий Анастасия Михайловна*, к.б.н.,
ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: amzubaliy@gmail.com

Нестеров Максим Сергеевич, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: mdulya@gmail.com

Anastasiia M. Zubalii, Cand. Sci. (Biol.),
Scientific Center of Biomedical Technologies
of the Federal Medical and Biological Agency
of Russia;
e-mail: amzubaliy@gmail.com

Maksim S. Nesterov, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: mdulya@gmail.com

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Vladislav N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Хвостов Даниил Владиславович, к.т.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;
e-mail: d.hvostov@fncps.ru

Daniil V. Khvostov, Cand. Sci. (Tech.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: d.hvostov@fncps.ru

Агельдинов Руслан Андреевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Ruslan A. Ageldinov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Огнев Сергей Валерьевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ogon07@rambler.ru

Sergey V. Ognev, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ogon07@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author