

ЛИПОСОМИРОВАННАЯ ФОРМА ЭКСТРАКТА ПРЕПУЦИАЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КАБАРГИ — НОВОЕ СРЕДСТВО АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

В.Н. Каркищенко, М.С. Дуля*, Р.А. Агельдинов, С.Л. Люблинский, Н.Н. Каркищенко

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»

143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

Впервые получена и охарактеризована липосомальная форма нового оригинального средства на основе препуциальной железы мускуса кабарги сибирской. Для препаративного выделения липосом мускуса кабарги использован эффективный и масштабируемый метод гомогенизации при высоком давлении. Полученный липосомальный продукт охарактеризован методами динамического светорассеяния, просвечивающей микроскопии, препаративной и аналитической хроматографии, хромато-масс-спектрометрии на показатели качества распределения по размерам, гомогенность и степень включения биологически активных компонентов. Получены гомогенные дисперсии липосом мускуса кабарги с равномерным распределением по размерам — с максимумами распределения при 50 и 240 нм. Установлена высокая физико-химическая стабильность липосомальной дисперсии: ζ -потенциал полученных наночастиц составил $-35...-47$ мВ. Степень включения в липосомы целевых компонентов мускуса кабарги по данным гель-размерной хроматографии и масс-спектрометрии для липосом мускуса по стероидам и общему белку составила 55–75%. Полученные показатели качества формируют предпосылки к высокой эффективности средства на основе липосомальной формы экстрактов мускуса кабарги как адаптогена природного происхождения с усиленным и выраженным действием.

Ключевые слова: кабарга, мускус, железа, липосомы, хроматография, масс-спектрометрия, адаптогены, пептиды, белки, андростероиды

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Агельдинов Р.А., Люблинский С.Л., Каркищенко Н.Н. Липосомированная форма экстракта препуциальной железы кабарги — новое средство адаптогенного действия. *Биомедицина*. 2019;15(4):34–45. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-34-45>

Поступила 02.09.2019

Принята после доработки 31.10.2019

Опубликована 10.12.2019

A LIPOSOMAL COMPOSITION OF MUSC DEER PREPUTIAL GLAND EXTRACT AS A NEW AGENT OF ADAPTOGENIC ACTION

Vladislav N. Karkischenko, Maxim S. Dulya*, Ruslan A. Ageldinov,
Stanislav L. Lyublinskiy, Nikolay N. Karkischenko

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

For the first time, a liposomal form of a new original drug based on the Siberian musk deer preputial gland extract was obtained and characterized. An effective and scalable method of high-pressure homogenization was used for preparative extraction of liposomes from musk extracts. For the obtained liposomal product,

such indicators as the quality of size distribution, homogeneity and the degree of inclusion of biologically active components were characterized using the methods of dynamic light scattering, transmission microscopy, preparative and analytical chromatography and chromatography-mass spectrometry. A homogeneous dispersion of musk liposomes with a uniform size distribution was obtained, with the maximum distribution values being achieved at 50 and 240 nm. The ζ -potential of the obtained nanoparticles of $-35...-47$ mV confirmed a high physicochemical stability of the developed liposomal dispersion. According to the gel filtration chromatography and mass spectrometry results, the degree of inclusion of the target musk extract components in the liposomes was 55–75% in terms of steroid and total protein values. The obtained quality indicators indicate that the developed liposomal composition of musk deer extracts can be used as a high-effective natural adaptogen.

Keywords: musk deer, musk, gland, liposomes, chromatography, mass spectrometry, adaptogens, peptides, proteins, androsteroids

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

For citation: Karkischenko V.N., Dulya M.S., Ageldinov R.A., Lyublinskiy S.L., Karkischenko N.N. A Liposomal Composition of Musk Deer Preputial Gland Extract as a New Agent of Adaptogenic Action. *Journal Biomed.* 2019;15(4):34–45. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-34-45>

Submitted 02.09.2019

Revised 31.10.2019

Published 10.12.2019

Введение

Адаптогены

Одним из ключевых понятий, отражающих особенности существования живого организма в изменяющихся условиях среды, является адаптация. Под адаптацией понимают системный ответ организма на длительное или многократное воздействие окружающей среды, обеспечивающий выполнение основных задач деятельности и направленный на достижение адекватности первичной реакции и минимизацию побочных реакций. Такой ответ связан с изменением структуры гомеостатического регулирования, направленным на оптимизацию регуляторных, энергетических и пластических процессов в организме [5].

Фармакология адаптационных процессов — одно из ключевых направлений «фармакологии здорового человека», являющихся связующим звеном физиологии и биохимии адаптации, медицины экстремальных состояний, спортивной и военной медицины, производственной медицины, экологической медицины, иммунофармакологии, нейрофармакологии, эндокринологии, а также фитохимии и фармакогнозии.

К настоящему времени предложено значительное количество средств, способных ускорять процессы адаптации, стимулировать защитные силы организма, повышать его работоспособность и резистентность в ходе приспособления к неблагоприятным эколого-профессиональным факторам. Препараты, обладающие такими свойствами, называются адаптогенами [2, 4, 5]. Эти вещества с большим успехом применяются для повышения физической выносливости и умственной работоспособности. Адаптогены все более широко применяются в клинической практике при комплексном лечении ослабленных больных, в процессе медицинской реабилитации.

В настоящее время имеется достаточно большой материал, свидетельствующий об их положительном действии на здоровых людей, выполняющих тяжелую физическую и умственную работу (в т.ч. и в условиях Крайнего Севера и др. тяжелых климатических условиях), на спортсменов, на лиц, ослабленных различными заболеваниями и вредными воздействиями. Общим эффектом для всех адаптоге-

нов является неспецифическое повышение функциональных возможностей (состояние повышенной неспецифической резистентности), повышение приспособляемости (адаптации) организма при осложненных условиях существования.

Адаптогены практически не меняют нормальных функций организма, но значительно повышают физическую и умственную работоспособность, переносимость нагрузок, устойчивость к различным неблагоприятным факторам и сокращают сроки адаптации к ним. Под действием адаптогенов мышечная работа характеризуется более экономичным расходом энергетических ресурсов организма, усиливаются окислительные процессы, связанные с фосфорилированием, улучшается энергетический обмен, по-видимому, за счет усиления аэробных реакций и использования в качестве источника энергии не только углеводов, но и липидов [1].

Действие адаптогена должно быть неспецифично и универсально, т. е. под его влиянием должна повышаться устойчивость к действию основных природных (физическая нагрузка, гипоксия, холод и т. д.) и техногенных (кинетозы, вибрации) экстремальных факторов. Положительные эффекты при его применении должны осуществляться за счет оптимизации обменных процессов, защиты тканевых структур от деструкции. Повторные введения адаптогена приводят к формированию «системно-структурного следа адаптации» [2].

По своему происхождению адаптогены могут быть разделены на две группы: природные и синтетические. Источниками природных адаптогенов являются наземные и водные растения, животные и микроорганизмы. К преимуществам природных адаптогенов относятся их малая токсичность, широта терапевтического действия, отсутствие фазы отрицательного последствия и привыкания вследствие длительного применения. Препараты

животного происхождения: пантокрин, рантарин, пантогематоген (экстракт из неокостенелых рогов марала, изюбря или пятнистого оленя), рог носорога (при истощении и импотенции, как антитоксическое и жаропонижающее средство), порошок из костей тигров и медведя, свежая и консервированная кровь и мышцы змей (особенно японского ужа), кожа и мясо ежа, экстракт из свежих улиток, порошок из сушеных сверчков, раковины жемчужницы, пауки и скорпионы (как успокаивающее, наркотическое и антитоксическое средство), червяки, пиявки, продукты пчеловодства (перга, цветочная пыльца, маточное молочко, комбинированные препараты из женьшеня и маточного молочка пчел), сотовый мед из рамок многолетней экспозиции, мед с препаратами адаптогенов (женьшенем, родиолой розовой, левзеей и др.), препараты из морских и океанических животных (морских львов и др. млекопитающих, морских черепах), моллюсков и иглокожих (кукумарий, мидий, морского гребешка) и др.

Экстракт препуциальной железы кабарги — природный адаптоген

Кабарга (*Moschus moschiferus*) — небольшое, похожее на оленя животное, населяющее крутые, поросшие хвойным лесом скалистые склоны гор. Кабарга характеризуется стенофагией (узкоспециализированное питание животных) и преобладанием в ее рационе лишайников, доля которых очень высока и может достигать 95%. Muskus (выделение особой железы) кабарги является одним из наиболее ценных природных биостимуляторов, применение которых в арабской, тибетской, китайской и индийской медицине известно с середины IV века. Он применяется или как монокомпонентная зернистая субстанция, или как обязательный базисный компонент различных комплексов поддержания жизнедеятельности и долголетия.

Экспериментальные и клинические наблюдения на мышах, крысах, морских свинках и кроликах показали, что мускус в дозах 1–100 мг/кг массы оказывает анальгезирующее и противовоспалительное влияние, вызывает спонтанные сокращения матки у крыс, тормозит перистальтику изолированной подвздошной кишки у кролика [4].

В экспериментальных исследованиях обнаружены антиоксидантные свойства мускуса кабарги [7]. Антиоксидантные свойства мускуса предполагают эффективное его применение в профилактике и лечении заболеваний, причиной которых является оксидативный стресс или в патогенезе которых он участвует. Перспективность для современной медицины новых биогенных стимуляторов, полученных из мускуса кабарги, основанная на многовековом опыте их применения в арабской, тибетской, китайской и индийской медицине, не вызывает сомнений [9].

Установлено, что отличительными особенностями состава мускусовой железы кабарги являются наличие широкого ряда андростероидов, жирных ненасыщенных и насыщенных кислот (и их эфиров), кетонов и альдегидов (мусконподобные производные, придающие мускусовой железе специфический запах), ароматических производных и гетероциклического класса соединений (пиримидины, фураны) [4]. Согласно установленному составу мускуса кабарги нами предложено выделить 3 группы соединений, значимых с точки зрения биологического эффекта и его выраженности: 1) стероидные компоненты; 2) жирные кислоты; 3) пептиды и белки. Широкий спектр показаний к применению мускуса кабарги является следствием многокомпонентного состава ткани, в которой особое внимание вызывают регуляторные соединения пептидной природы, гормонально активные комплексы и ростовые факторы, в т. ч. активирующие жизненный цикл стволовых клеток [8].

Использование липосомальных форм гормональных препаратов позволяет уменьшить проявление побочных эффектов, повысить терапевтическую эффективность и уменьшить используемую дозу гормона. В настоящее время разработаны различные формы липосом гормональных препаратов: инъекционные, аэрозольные и мазевые.

Липосомирование биологически активных компонентов мускуса кабарги

Липосомы представляют собой коллоидные образования, состоящие из небольшого объема водной фазы, отделенной от объема раствора замкнутым липидным бислоем. Многие фосфолипиды при диспергировании в воде самопроизвольно образуют гетерогенную смесь везикулярных структур, состоящих из нескольких бислойных концентрических оболочек. Такие липосомы называются мультисамеллярными везикулами. Большой интерес представляют моноламеллярные везикулы, т. е. везикулы, образованные одинарным бислоем. При получении липосом возможно контролировать их внутреннее содержимое, состав бислоя и его кривизну (размер липосом).

Состав липосом (соотношение компонентов) определяет характер и свойства биологического действия липосомального препарата. Основным компонентом липосом являются фосфолипиды (ФЛ). ФЛ относятся к классу полярных липидов и представляют собой сложные эфиры жирных кислот и глицерола. Уникальное строение природных ФЛ, в молекулах которых одновременно находятся гидрофобные и полярные фрагменты, предопределяет их незаменимую роль во многих важнейших биологических процессах.

ФЛ являются одними из основных компонентов биомембран эукариотических и прокариотических клеток, среди них есть биологически активные вещества, которые

используются в пищевой и фармацевтической промышленности. Широкое использование липидов в медицине основано на их высокой функциональной активности, малой токсичности, биосовместимости и биодegradуемости. ФЛ для медицинских целей производятся в основном из желтков куриных яиц или соевых бобов, в небольших количествах используется также другое растительное сырье и ткани животных. Наиболее частое применение нашел фосфатидилхолин, получаемый из природного сырья.

Липосомы рассматриваются как эффективные средства доставки к органам-мишеням лекарственных средств и широко применяются в клинической практике [3]. Благодаря особенностям транспорта, транслокации через гистогематические барьеры и клеточные мембраны, метаболической трансформации липосомальные препараты обладают уникальными свойствами [6]. Применение липосом как средств доставки позволяет в некоторых случаях существенно увеличить биодоступность, в других — напротив, предотвратить чрезмерное увеличение концентрации препарата в крови, тем самым снижая опасность передозировки и уменьшая побочные эффекты. На сегодняшний день наиболее значимым способом оценки эффективности новых липосомальных лекарственных форм является существующий арсенал различных современных методов оценки биодоступности веществ (хроматография, масс-спектрометрия).

Особую роль липосомы стали играть в связи с появлением препаратов, получаемых методами биотехнологии, таких как белковые и пептидные препараты, а также лекарственных средства на основе нуклеиновых кислот.

Цель работы — препаративное получение и характеристика липосомальной формы экстракта репуциальной железы кабарги сибирской.

Материалы и методы

Выбор метода получения липосом определяется необходимостью максимального сохранения в них биологической активности выделяемых компонентов, регулированием заданного размера липосом, скоростью и производительностью процесса гомогенизации, а также возможностью масштабирования технологии.

Диспергирование реакционной смеси выполняли на гомогенизаторе высокого давления «Донор» (Россия).

Полученные р-ры липосом мускуса кабарги измерялись на корреляционном спектрометре Photocor Compact-Z с использованием программного обеспечения Photocor Software.

Микроскопическое исследование выполнялось для образца липосом мускуса кабарги с помощью просвечивающего электронного микроскопа LEO-912 AB Omega.

Молекулярно-массовое распределение липосомальных продуктов оценивали на жидкостном изократическом хроматографе среднего давления NGC Discovery (Bio-Rad, США), оснащенный многоволновым спектрофотометрическим детектором, датчиком pH элюента, кондуктометрической ячейкой и хроматографической колонкой для гель-размерной хроматографии (ГРХ) высокого разрешения Enrich SEC 650, в качестве калибровочных стандартов с известными молекулярными массами использовали Gel Filtration Standard (Bio-Rad, США). Условия ГРХ-анализа: 0,1 М Трис-HCl; 0,1 М NaCl pH=7,4.

Степень включения биологически активных компонентов мускуса кабарги в состав липосом определяли методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения ВЭЖХ-МС BP 1290 QTOF 6545XT (Agilent Technologies, США) для фракций, собранных после гель-размерной хроматографии, позволяющей отделить липосомы от низкомолекулярной не включаемой доли субстанции липосом мускуса кабарги и фос-

фатидилхолиновой части. Маркерными компонентами включения выбраны стероидная фракция, холестерин и общий белок.

Готовую липосомальную форму мускуса кабарги получали лиофилизацией в оптимизированных условиях высушивания на лиофильной станции Alpha 2-4 LSCplus Lyocube Freeze Dryer (Martin Christ, Германия).

Реагенты и реактивы. В работе использовались следующие реактивы и материалы: спирт этиловый, ортофосфорная кислота, натрия хлорид, натриевая соль дезоксиголевой кислоты, трис(гидроксиметил)-аминометан, ацетонитрил (для ВЭЖХ-МС), соевый лецитин, экстракт мускусовой железы кабарги, буфер для гомогенизации, лактоза, криопротектор, буферы для хроматографии и масс-спектрометрии.

Из существующих на сегодняшний день промышленных методов получения липосом наиболее предпочтительным является метод гомогенизации под высоким давлением.

Диспергируемые компоненты приготавливаемого продукта после предварительного перемешивания в механическом смесителе, в нашем случае — в суперblendере, переносили в расходную ёмкость. При продавливании через микрощель процессы диспергирования, гомогенизации и дезинтеграции осуществляли за счет резкого падения давления и действия гидродинамических сил турбулентного потока, возникающих в области микрощели. Микрокапли с включаемыми компонентами мускуса кабарги, испытывая усилия растягивания и среза, дробятся и диспергируются на части. Величина давления характеризует степень этих усилий и служит основным технологическим показателем трудоемкости процесса.

После продавливания через микрощель продукт поступает либо в приёмную ёмкость, если процесс закончен, либо вновь в расходную ёмкость для повторного про-

давливания через микрощель. Процесс повторяется несколько раз до достижения необходимого качества продукта.

Контроль за процессом проводили при помощи измерения средней величины размеров полученных после диспергирования частиц и величины ζ -потенциала. Если достичь нужного среднего размера частиц при установленном давлении не удаётся, то давление гомогенизации повышается. Процесс гомогенизации необходимо проводить до получения устойчивой суспензии, которая характеризуется высокой агрегативной (конденсационной) и седиментационной стабильностью.

Важность ζ -потенциала состоит в том, что его значение связано с устойчивостью коллоидных дисперсий. ζ -потенциал определяет степень и характер взаимодействия между частицами дисперсной системы. Для молекул и частиц, которые достаточно малы, высокий ζ -потенциал будет означать стабильность, т. е. раствор или дисперсия будут устойчивы по отношению к агрегации. Когда ζ -потенциал низкий, притяжение превышает отталкивание, и устойчивость дисперсии будет нарушаться. Так, коллоиды с высоким ζ -потенциалом являются электрически стабилизированными, в то время как коллоиды с низким ζ -потенциалом склонны коагулировать или флокулировать.

Значение ζ -потенциала, равное 30 мВ (положительное или отрицательное), нами рассматривается как характерное значение для условного разделения низкозаряженных и высокозаряженных поверхностей. Чем больше электрокинетический потенциал, тем устойчивее коллоид.

Для получения липосом методом гомогенизации высоким давлением 100 мл реакционной среды (в различных соотношениях мускуса кабарги и лецитина) пропускали через гомогенизатор 3 раза при рабочем давлении 1000 атм до получения монодисперсного опалесцирующего р-ра.

Анализ размерных эффектов получаемых липосом. Для определения размера наночастиц и величины ζ -потенциала использовался метод лазерной корреляционной спектроскопии, или метод динамического рассеяния света (ДРС). Он широко используется при исследованиях молекулярных растворов. Измерения проводились на спектрометре Photocor Compact-Z.

Спектрометром измерялись радиусы частиц в 11-ти растворах. Проводилось по четыре измерения каждого раствора. Обработка производилась программным обеспечением DynaLS: каналы коррелятора с 30 по 150, границы поиска решения от 0,01 до 10 000 нм.

Среднее арифметическое значение размера липосом мускуса кабарги для двух независимых измерений составило 50 и 240 нм (рис. 1).

Микрофотографии липосом мускуса кабарги приведены на рис. 2.

Данные рис. 2А коррелируют с получаемыми значениями распределения по размерам методом динамического светорассеяния (50 ± 10 нм).

Микрофотография липосом мускуса кабарги после 5-ти циклов гомогенизации высоким давлением (до 160 МПа) представлена на рис. 2Б. Видны более гомогенные

и однородные по размеру липосомы, без агрегирования и конгломерации. Данные коррелируют с получаемыми значениями распределения по размерам методом динамического светорассеяния (243 ± 10 нм).

Хроматограмма раствора липосом мускуса кабарги и соответствующий им масс-спектр представлены на рис. 3.

Каждая из собираемых фракций после гель-размерной хроматографии подвергалась ВЭЖХ-МС ВР на содержание включаемого компонента липосом мускуса кабарги в состав липосом (рис. 4).

На этапе выбора оптимального режима хроматографического разделения компонентов фосфатидилхолина от включаемого компонента липосом мускуса кабарги использовали набор фаз для ВЭЖХ-разделения (C18, C8, SEC и PLRP).

Анализ восстановленных липосом после лиофилизации проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity II с использованием хроматографической колонки Yarra SEC-2000; $4,6 \times 300$ mm; 5 μ m; Phenomenex.

Элюирование осуществляли смесью, состоящей из компонентов 5% В, в изократическом режиме: до 30 мин — 5% В.

Время уравнивания колонки на исходных условиях — 2 мин. Компонент

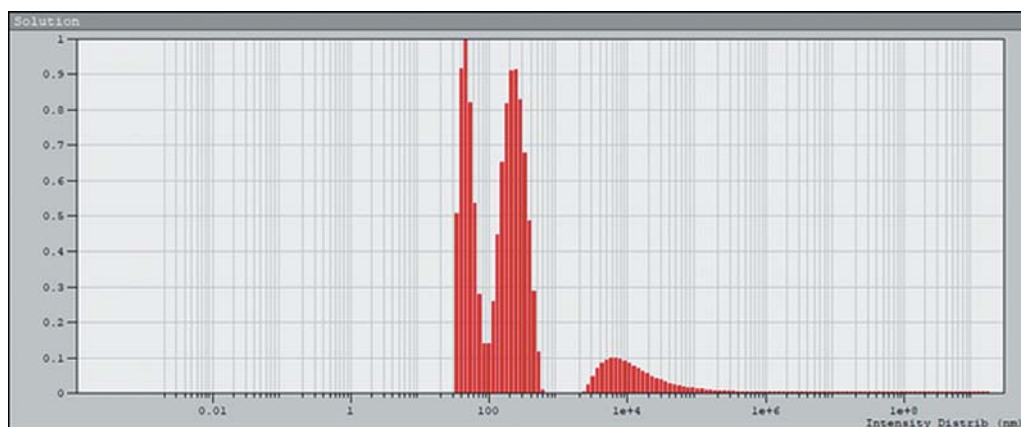


Рис. 1. Гистограмма распределения по размерам частиц липосом мускуса кабарги.

Fig. 1. Histogram of the particle size distribution of musk deer liposomes.

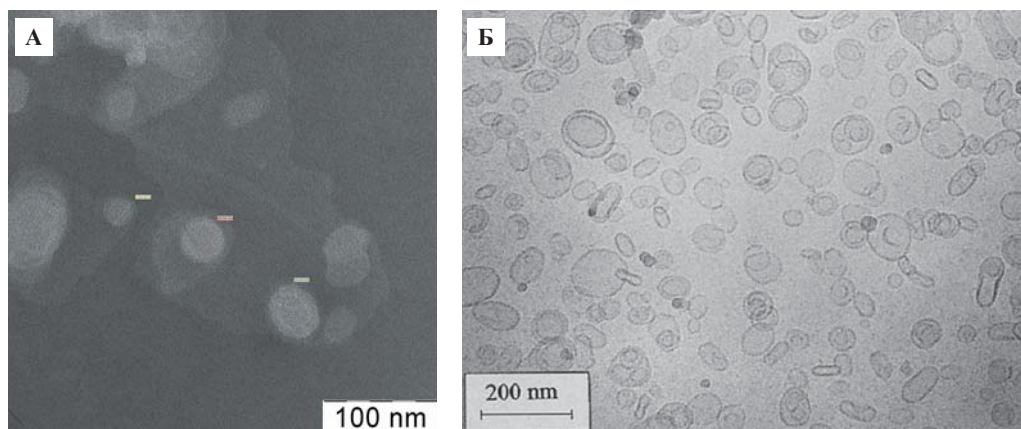


Рис. 2. Микрофотографии липосом мускуса кабарги.
Fig. 2. Microphotographs of musk deer liposomes.

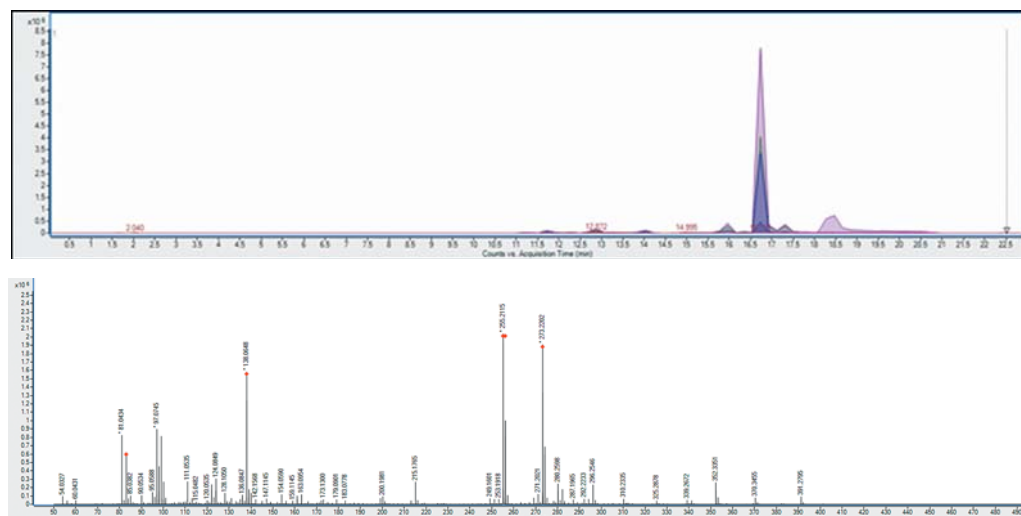


Рис. 3. Хроматограмма полного ионного тока (TIC) (сверху) и масс-спектр высокого разрешения экстракта липосом мускуса кабарги (0,1 мг/мл, хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse XDB-C18; 2,1×100 мм; 1,8 μm).
Fig. 3. Chromatogram of the total ion current (TIC) (top) and a high-resolution mass spectrum (HR-MS) of the developed musk liposome extract (0.1 mg/ml, ZORBAX Eclipse XDB-C18 column, 2.1×100 mm, 1.8 μm).

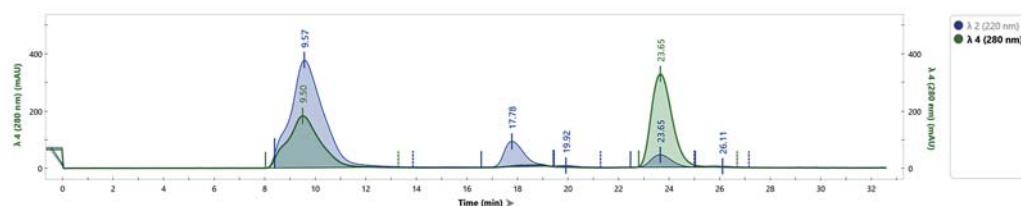


Рис. 4. Препаративная гель-размерная хроматограмма раствора липосом мускуса кабарги (хроматографическая колонка Enrich SEC 650; 4,6×300 мм, 10 μm).
Fig. 4. Preparative size exclusion chromatography of musk liposomes in aqueous solution (Enrich SEC 650 column, 4.6×300 mm, 10 μm).

А представлял собой 0,1%-й р-р муравьиной кислоты в деионизированной воде, компонент В — 0,1%-й р-р муравьиной кислоты и 10%-й деионизированной воды в ацетонитриле. Скорость потока — 200 мкл/мин, время анализа составило 30 мин.

Степень включения для липосом мускуса кабарги составила 55–70%. ζ -потенциал для полученных липосом имеет значения $-35...-47$ мВ, что свидетельствует о стабильности полученной липосомальной формы мускуса кабарги.

Результаты и их обсуждение

Оценку степени включения липосом мускуса кабарги проводили двумя методически независимыми способами: 1) по данным гель-размерной хроматографии; 2) по данным ВЭЖХ-МС ВР анализа.

Данные гель-размерной хроматографии информативны и свидетельствуют о липосомировании (образовании мицелл и липосом) гомогенизацией при высоком давлении (рис. 6, 7).

Данные относительных вкладов каждой из собираемых фракций ГРХ позволяют сопоставить доли получаемых липосом и оценить степень включения компонентов в состав липосом мускуса кабарги, исходя из понимания, что целевой фракцией, содержащей липосомы с включенными биологически активными компонентами (стероиды, пептиды и белки), являются фракции А1–А2, соответствующие цельным загруженным липосомальным частицам с высоким ζ -потенциалом стабильности и установленного размера. При этом липосомированная форма в условиях гель-размерной хроматографии разделяется от низкомолекулярной невключаемой фракции и элюируется в начальном объеме колонки.

Выводы

1. Формирование липосом мускуса кабарги в условиях гомогенизации при высоком давлении происходит в широком диапазо-

не изучаемых соотношений лецитин : экстракт мускуса кабарги.

2. Получены гомогенные дисперсии липосом мускуса кабарги с равномерным распределением по размерам (по данным динамического светорассеяния и микроскопии, 5 циклов циркуляции, 16 МПа), при этом для липосом достигнут наноразмерный эффект — 50 и 240 нм.

3. Значения ζ -потенциала полученных наночастиц составили $-35...-47$ мВ и отражают высокую стабильность полученных липосом.

4. Степень включения в липосомы целевых компонентов мускуса кабарги по данным гель-размерной хроматографии и масс-спектрометрии для *липосом мускуса кабарги* по стероидам и общему белку составила 55–75%, что свидетельствует о *высоком сродстве биологически активных компонентов препуциальной железы к фосфотидилхолину (лецитину)*, используемому в технологическом цикле получения липосом.

5. Для липосомальной формы экстракта мускуса кабарги успешно оптимизированы условия лиофильного высушивания и получены опытные серии порошка-лиофилизата для дальнейших исследований особенностей биологического действия и параметров фармакокинетики тестируемых липосом.

6. Преимуществами получения липосомальной формы методом гомогенизации высокого давления являются стандартность и возможность масштабирования, высокая производительность метода, минимальное окисление и гидролиз фосфолипидов, сохранность и стабильность липосомального средства, а также возможность постоянного контроля температуры и давления в процессе технологии. Режим гомогенизации позволяет получить липосомальное средство стандартного состава, основная масса которых представлена частицами размерами в диапазоне 50–250 нм.

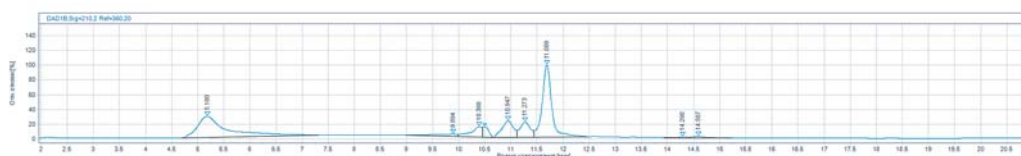


Рис. 5. Аналитическая гель-размерная хроматограмма раствора липосом мускуса кабарги (хроматографическая колонка Yarra SEC-2000; 4,6×300 mm; 5 μm).

Fig. 5. Analytical size exclusion chromatography of musk liposomes in aqueous solution (Yarra SEC-2000 column, 4.6×300 mm, 5 μm).

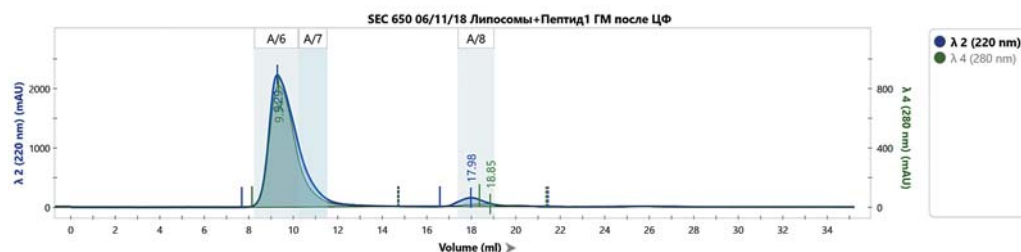


Рис. 6. Гель-размерная хроматограмма липосом мускуса кабарги (хроматографическая колонка Enrich SEC 650; 4,6×300 mm; 10 μm).

Примечание: A6, A7 — фракции целевых липосом мускуса кабарги; A8 — фракция невключённых компонентов в состав липосом мускуса кабарги.

Fig. 6. Size exclusion chromatography of musk liposomes (Enrich SEC 650 column, 4.6×300 mm, 10 μm).

Note: A6, A7 — fraction of target musk liposomes; A8 — fraction of the components that were not included in the final composition.

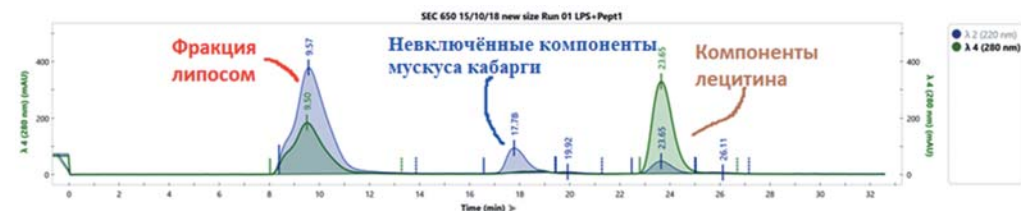


Рис. 7. Гель-размерная хроматограмма восстановленных после лиофильной сушки липосом мускуса кабарги (хроматографическая колонка Enrich SEC 650; 4,6×300 mm, 10 μm).

Примечание: A1, A2 — фракции липосом; A3 — фракция невключённых в липосомы компонентов мускуса кабарги; A4 — фракция низкомолекулярных фрагментов разрушения липосом.

Fig. 7. Size exclusion chromatography of musk liposomes restored after freeze-drying (Enrich SEC 650 column, 4.6×300 mm, 10 μm).

Note: A1, A2 (first peak) — fraction of the liposomes; A3 (second peak) — fraction of the musk extract components that was not included in the composition; A4 (third peak) — fraction of low-molecular weight fragments of liposome destruction.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Виноградов В.М., Бобков Ю.Г. *Фармакологическая стратегия адаптации. Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации*. М.: Б.И., 1986. С. 3–11. [Vinogradov V.M., Bobkov Yu.G. *Farmakologicheskaya strategiya adaptatsii Farmakologicheskaya regulyaciya sostoyanij dezadaptatsii* [Pharmacological adaptation strategy. Pharmacological regulation of maladaptation states]. Moscow: B.I., 1986. P. 3–11. (In Russian)].
2. Воскресенский О.М. *О связях адаптогенного и антиоксидантного действия. Адаптация и адаптогены*. Владивосток, 1977. С. 91–96. [Voskresenskiy O.M. *O svyazyah adaptogennogo i antioksidantnogo dejstviya. Adaptatsiya i adaptogeny* [On the links of adaptogenic and antioxidant effects. Adaptation and adaptogens]. Vladivostok, 1977. P. 91–96. (In Russian)].
3. Дудниченко А.В., Краснополянский Ю.М., Швец В.И. *Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике*. Харьков: РА-Каравелла, 2001. [Dudnichenko A.V., Krasnopol'skiy Yu.M., Shvets V.I. *Liposomal'nye lekarstvennye preparaty v eksperimente i klinike* [Liposomal drugs in experiment and clinic]. Kharkov: RA-Karavella Publ, 2001. (In Russian)].
4. Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Хвостов Д.В., Агелдинов Р.А. 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. Analiz biologicheskii aktivnykh soedinenij muskusa kabargi *Moschus moschiferus* metodom gazovoj hromatografii s mass-selektivnym detektorom [The analysis of biologically active compounds of musk of *Moschus moschiferus* by gas chromatography with a mass-selective detector. *Biomedicine*. 2018;1:19–39. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Котенко К.В., Люблинский С.Л. *Очерки спортивной фармакологии. Т. 3. Векторы фармакорегулирования*. М., СПб.: Ай-синг, 2014. 356 с. [Karkischenko N.N., Ujba V.V., Karkischenko V.N., Shustov E.B., Kotenko K.V., Lyublinskiy S.L. *Ocherki sportivnoj farmakologii. T. 3. Vektory farmakoregulirovaniya* [Essays on sports pharmacology. Vol. 3. Pharmacoregulatory vectors]. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2014. 356 p. (In Russian)].
6. Сариев А.К., Абаймов Д.А., Сейфулла Р.Д. Проблема повышения биодоступности лекарственных средств методами нанофармакологии: фармакокинетика липосомальных препаратов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(1):34–38. [Sariev A.K., Abaimov D.A., Sejfulla R.D. Problema povysheniya biodostupnosti lekarstvennykh sredstv metodami nanofarmakologii: farmakokinetika liposomal'nykh preparatov [The problem of increasing the bioavailability of drugs by nanopharmacology methods: pharmacokinetics of liposomal drugs]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2010;73(1):34–38. (In Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2010-73-11-34-38
7. Уйба В.В., Котенко К.В., Корчажжина Н.Б., Петрова Н.Б., Михайлова А.А. *Применение мускуса кабарги в клинической практике (метод. реком.)*. М., 2013. 18 с. [Ujba V.V., Kotenko K.V., Korchazhkina N.B., Petrova N.B., Mikhajlova A.A. *Primenenie muskusa kabargi v klinicheskoy praktike* (metod. rekom.) [The use of musk musk deer in clinical practice (guidelines)]. Moscow, 2013. 18 p. (In Russian)].
8. Karkischenko V.N., Dulya M.S., Khvostov D.V., Ageldinov R.A., Lyublinskiy S.L. Proteomic Analysis in the Identification of Active Components in the Preputial Gland Secretion of the Siberian Musk Deer. *Biomedicine*. 2019;15(1):35–47. DOI: 10.33647/2074-5982-15-1-35-47
9. Li D., Chen B., Zhang L. The musk chemical composition and microbiota of Chinese forest musk deer males. *Scientific Report*. 2016.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства 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

Дуля Максим Сергеевич*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

e-mail: mdulya@gmail.com

Люблинский Станислав Львович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

e-mail: scbmt@yandex.ru

Агельдинов Руслан Андреевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

e-mail: ageldinov@gmail.com

Каркищенко Николай Николаевич, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, акад. РАН, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

e-mail: niknik2808@yandex.ru

Maxim S. Dulya*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: mdulya@gmail.com

Stanislav L. Lyublinskiy, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: scbmt@yandex.ru

Ruslan A. Ageldinov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: ageldinov@gmail.com

Nikolay N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: niknik2808@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author