

Химический состав липидно-белковой фракции, выделяемой при производстве биопрепарата «Эпсорин»

С.М. Рожина, И.В. Слепцов, А.Н. Журавская

*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия
sahayana-rozhina@mail.ru*

Аннотация. Проведено исследование химического состава липидно-белковой фракции, выделяемой при производстве биопрепарата «Эпсорин». Препарат на основе пантов северного оленя «Эпсорин» применяется в качестве эффективного лекарственного средства в отношении астенических состояний различного происхождения, при неврастении, неврозе, в послеоперационных периодах, при слабости сердечной мышцы, при гипотонии, обладает иммуномодулирующим и радиопротекторным действием, стимулирующим и придающим силы свойствами, повышает физическую и умственную работоспособность. Выделены путем последовательной экстракции фракции липидов, водорастворимых веществ и продуктов гидролиза из липидно-белковой массы из остатков производства биопрепарата «Эпсорин». Все полученные фракции переводили в триметилсилильные (ТМС) производные. Анализировали полученные ТМС-производные методом ГХ-МС на приборе «МАЭСТРО» 7820/5975 (Россия), построенном на базе газового хроматографа Agilent 7820 (США) и масс-спектрометрического детектора Agilent 5975. Показано, что выход исследуемых веществ был выше при лиофильном высушивании относительно термической обработки. Установлено высокое содержание заменимых и незаменимых аминокислот, полиолов, органических, неорганических и жирных кислот в липидно-белковом остатке «Эпсорин», который таким образом может использоваться как биологически активная добавка в косметические средства.

Ключевые слова: панты северного оленя, липидно-белковая фракция, «Эпсорин», аминокислоты, жирные кислоты, органические кислоты, косметические средства.

Благодарности. Работа выполнена в рамках НИР VI.62.1. «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера» (№ госрегистрации - АААА-А17-117020110055-3).

Введение

Оленеводство у северных народов представляет собой основу экономики, культуры и образа жизни. Республика Саха (Якутия) является одним из крупнейших оленеводческих регионов Дальнего Востока и Арктики в целом. Олени используются северными народами в качестве основного источника питания, в качестве транспортного средства для передвижения по тундре, для изготовления одежды из шкур, в народной медицине и т. д. Северные народы, в том числе и якуты, применяют панты северного оленя как тонизирующее и укрепляющее организм средство, употребляя как в сыром, так и в отваренном виде.

Применение пантов в качестве лекарственного сырья впервые упоминается в книге «Джуд-Ши» тибетского врача Цо-Жен-Шонну около 3 тысяч лет назад. Лекарственные средства, приготовленные на основе пантов, в представлении

древних китайских врачей повышают энергию организма, способствуют омоложению, лечат болезни крови, почек, улучшают заживление ран и т. д. [1]. Биологическая активность экстракта из пантов связана главным образом с уникальным составом липидов, аминокислот, пептидов, сбалансированным набором водо- и жирорастворимых витаминов, макро- и микроэлементов, трех основных органических кислот – метаболитов цикла Кребса.

Препарат на основе пантов северного оленя «Эпсорин», разработанный в Институте биологических проблем криолитозоны (ИБПК) СО РАН, содержит в 2,2–2,8 раза больше указанных выше биоактивных веществ по сравнению с пантами пятнистого и благородного оленей [2]; применяется в качестве эффективного лекарственного средства в отношении астенических состояний различного происхождения, при неврастении, не-

врозе, в послеоперационных периодах, при слабости сердечной мышцы, при гипотонии, обладает иммуномодулирующим и радиопротекторным действием, стимулирующим и придающим силы свойствами, повышает физическую и умственную работоспособность [3].

По химическому составу «Эпсорин» представляет 50%-ю водно-этанольную смесь, содержащую в сухом остатке белок, фосфолипиды, свободные аминокислоты, эфиры ненасыщенных жирных кислот, макро- и микроэлементы, сбалансированный набор жирно- и водорастворимых витаминов и другие соединения, в том числе внутриклеточные регуляторы действия многих гормонов и пептидов, нормализующих реактивность иммунной системы [4].

В результате производства биопрепарата «Эпсорин» в ходе технологического процесса в качестве одной из фракций после низкотемпературной обработки ($-40 \div -42$ °C) первичного водно-спиртового экстракта пантов северного оленя выделяется твердофазный биоактивный липидно-белковый остаток [5], прошедший успешные испытания в качестве добавки в косметологические средства в Московском Институте красоты в целях усиления роста волос.

Целью данной работы является сравнение химического состава лиофильно и термически высушенного липидно-белкового остатка, выделяемого при производстве биопрепарата «Эпсорин».

Материалы и методы

В качестве тест-объекта использовали липидно-белковый остаток, выделяемый при производстве биопрепарата «Эпсорин». Так как данная фракция содержала воду, вначале проводили высушивание липидно-белкового остатка двумя разными способами: лиофилизацией (Л) и термической обработкой (Т). Далее работали с каждым отдельно.

Проводили последовательное экстрагирование веществ из высушенных остатков (Л) и (Т). Сначала выделяли липиды по методу Фолча [6].

Затем из оставшегося шрота получали водорастворимую фракцию путем двойной экстракции в воде без нагревания. Отделяли раствор от шрота центрифугированием в течение 5 минут при 13000 об./мин. Объединенные растворы водорастворимых фракций высушивали на лиофильной установке. Оставшийся шрот экстрагировали в воде при 100 °C в течение 4 ч. Отделяли раствор от шрота центрифугированием и прово-

дили повторную экстракцию при таких же условиях. Объединенные растворы полностью высушивали на лиофильной установке. Полученный шрот и выделенные фракции подвергали полному кислотному гидролизу 2М раствором трифторуксусной кислоты (ТФУ) в течение 5 часов при 100 °C. После кислотного гидролиза полностью выпаривали ТФУ до образования сухого остатка, получали продукты гидролиза.

Все полученные фракции растворяли в пиридине, каждую отдельно друг от друга, добавляли силирующие агенты (гексаметилдисилазан и триметилхлорсилан) для получения триметилсилильных (ТМС) производных. Силирование проводили при температуре 80 °C в течение 1 ч [7]. Анализировали полученные ТМС-производные методом ГХ-МС на приборе «МАЭ-СТРО» 7820/5975 (Россия), построенном на базе газового хроматографа Agilent 7820 (США) и масс-спектрометрического детектора Agilent 5975. Разделение проводили на колонке HP-5MS (30 м × 0,25 мм, Agilent, США) со скоростью потока газа-носителя (гелий) 1 мл/мин. Ввод образца в колонку составлял 0,5 мкл при температуре инжектора 250 °C. Анализировали в градиентном режиме: 3 минуты 100 °C, от 100→200 °C со скоростью 2 °C/мин и от 200→250 °C со скоростью 3 °C/мин. Для идентификации полученных пиков использовали базу данных NIST 11 [8].

Результаты и обсуждения

Из «отходов» производства биопрепарата «Эпсорин», которым является липидно-белковая масса, выделены липидная фракция, водорастворимые вещества и продукты гидролиза (табл. 1).

Таблица 1
Масса фракций, выделенных из 100 мг
липидно-белковых остатков
биопрепарата «Эпсорин», мг

Table 1
The mass of fractions isolated
from 100 mg of lipid-protein residues
of the biological product «Epsorin»

Фракция	Метод сушки	
	Л	Т
Липидная	17,0±0,1	18,9±0,1
Водорастворимая (20 °C)	19,0±0,1	14,7±0,1
Водорастворимая (100 °C)	9,4±0,1	8,0±0,1
Гидролиз HCl	49,7±0,2	49,0±0,2

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЛИПИДНО-БЕЛКОВОЙ ФРАКЦИИ

Выход липидной фракции из липидно-белковой массы (ЛБМ) при лиофилизации составил 17 %, при термической обработке – 18,9 %. Выход водорастворимых веществ при экстракции из лиофилизованного остатка ЛБМ при 20 °С и при 100 °С выше по сравнению с термическим высушиванием на 29 и 17,5 % соответственно.

Выход веществ при кислотном гидролизе лиофильно и термически высушенных образцов составлял 49,7 % и 49,0 % соответственно.

Таким образом, общий выход веществ при лиофилизации составил 95,1 %, при термической обработке – 90,6 %. Следовательно, лиофилизация способствует немного большему выходу исследуемых веществ по сравнению с термическим высушиванием, особенно в водорастворимой фракции при 20 °С.

В липидно-белковом остатке «Эпсорина» обнаружены незаменимые аминокислоты: треонин, валин, изолейцин, лейцин, метионин и фе-

нилаланин, а также заменимые аминокислоты: глицин, аланин, серин, пролин, 5-оксипролин, глутамин, тирозин, аспарагиновая, глутаминовая и 2-аминомасляная кислота (табл. 2). Концентрация глицина, лейцина, пролина, фенилаланина, тирозина и глутаминовой кислоты при лиофильном высушивании выше по сравнению с термической обработкой в 1,5, 1,5, 2,2, 1,7, 174,6 и 167,6 раза соответственно. Таким образом, при лиофильном высушивании содержание аминокислот значительно выше, чем при термической обработке.

Изучено содержание органических и неорганических кислот в липидно-белковой массе остатков «Эпсорина» при лиофильном и термическом высушивании. При термической обработке малеиновая, адипиновая, субериновая и азелаиновая кислоты не обнаружены в полученных фракциях (табл. 3). Это может быть связано с тем, что данные кислоты в результате термиче-

Таблица 2

Аминокислотный состав липидно-белкового остатка биопрепарата «Эпсорин»

Table 2

Amino acid composition of the lipid-protein residue of the biological product «Epsorin»

Соединение	Концентрация, усл. ед/г _{эпсорина}	
	Л	Т
Глицин	92,66	62,97
Аланин	50,47	46,53
Серин	47,12	42,28
Валин	44,49	42,06
Лейцин	92,68	62,56
Пролин	77,55	35,54
Изолейцин	1,12	2,49
Треонин	48,38	41,66
Метионин	1,88	1,57
Аспарагиновая кислота	33,74	23,1
Глутамин	0,03	0,04
5-оксипролин	7,26	2,12
Фенилаланин	45,43	26,02
Тирозин	12,22	0,07
Глутаминовая кислота	28,49	0,17
2-аминомасляная кислота	0,8	0,55

Примечание. Здесь и в следующих таблицах за 1 усл. ед. принят 1 мг TMS-производных.

Note. Here and in other tables 1 c.u. – 1 mg TMS-derivatives.

Таблица 3

Содержание органических и неорганических кислот липидно-белкового остатка биопрепарата «Эпсорин»

Table 3

The content of organic and inorganic acids of the lipid-protein residue of the biological product «Epsorin»

Соединение	Концентрация, усл. ед/г _{эпсорина}	
	Л	Т
Щавелевая кислота	9,96	10,34
Молочная кислота	7,18	6,66
Уксусная кислота	1,79	1,42
Пировиноградная кислота	0,06	0,07
Бензойная кислота	0,32	0,19
Фосфорная кислота	97,93	91,79
Малеиновая кислота	0,13	–
Фумаровая кислота	0,66	0,6
Себациновая кислота	0,09	0,39
Янтарная кислота	0,96	0,88
Яблочная кислота	0,12	0,53
Адипиновая кислота	0,07	–
Аминомалоновая кислота	0,88	1,64
Субериновая кислота	0,05	–
Азелаиновая кислота	0,13	–
Лимонная кислота	0,07	0,57

Таблица 4

Жирнокислотный состав липидно-белкового остатка биопрепарата «Эпсорин»

Table 4

The fatty acid composition of the lipid-protein residue of the biological product «Epsorin»

Соединение	Концентрация, усл. ед/г _{эпсорина}	
	Л	Т
Миристиновая кислота	0,22	—
Пентадекановая кислота	0,07	—
Пальмитолеиновая кислота	0,11	—
Пальмитиновая кислота	1,57	—
Линолиевая кислота	0,53	—
Олеиновая кислота	0,27	—
Транс-13-октадеценовая кислота	0,24	—
Стеариновая кислота	0,5	—
Арахидоновая кислота	0,03	—

ской обработки разрушаются, но сохраняются при лиофильном высушивании.

При лиофильной обработке полученной липидно-белковой массы обнаруживаются ряд жирных кислот: миристиновая, пентадекановая, пальмитолеиновая, пальмитиновая, линоленовая, олеиновая, транс-13-октадеценовая, стеариновая и арахидоновая, которые не обнаруживаются при ее термической обработке, по-видимому, из-за того, что при высоких температурах они окисляются (табл. 4).

Показано, что при лиофильном высушивании, по сравнению с термической обработкой, содержание глицерина, этиленгликоля и мио-инозитола выше в 1,7, 2,1 и 1,2 раза соответственно.

Заключение

Выделены фракции липидов, водорастворимых веществ и продуктов гидролиза из липидно-белковой массы остатков «Эпсорина». Показано, что выход исследуемых веществ был несколько выше при лиофильном высушивании относительно термической обработки. Установлено, что лиофильное высушивание липидно-белковой массы способствует сохранению биологически активных веществ, таких как аминокислоты, полиолы, жирные, органические и неорганические кислоты, по сравнению с термической об-

Таблица 5

Содержание полиолов липидно-белкового остатка биопрепарата «Эпсорин»

Table 5

The content of polyols of the lipid-protein residue of the biological product «Epsorin»

Соединение	Концентрация, усл. ед/г _{эпсорина}	
	Л	Т
Глицерин	4,52	2,72
Этиленгликоль	0,23	0,11
Мио-инозитол	3,69	3,14

работкой. Отмечается высокое содержание заменимых и незаменимых аминокислот, полиолов, органических, неорганических и жирных кислот в липидно-белковом остатке «Эпсорин».

Таким образом, липидно-белковый остаток «Эпсорина» может использоваться как биологически активная добавка в косметические средства. Для сохранения биологически активных веществ липидно-белкового остатка «Эпсорина» рекомендуется применять лиофильное высушивание.

Литература

1. Варалаков М.Н. К вопросу изучения пантов // Бюллетень научн.-исслед. хим. фарм. ин-та. 1931. № 4–5. С. 124–126.
2. Алексеева С.Н. Влияние адаптогенов на иммунную и кроветворную системы в условиях радиационного и цитостатического воздействия: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1996. 16 с.
3. Свидетельство о государственной регистрации Роспотребнадзора РФ №77.99.23.3.У.462.1.08 от 28.01.2008.
4. Шеина Н.Е., Шеин А.А., Кузьмина В.Ф., Веденкин В.А., Кершенгольц Б.М. Возобновляемое биосырье Якутии: состав, свойства, биотехнологические аспекты переработки (обзор). Часть 1. Разработки на основе животного сырья // Наука и образование. 2011. № 4. С. 59–64.
5. Кершенгольц Б.М., Ахременко А.К., Рогожин В.В. Способ получения экстракта из пантов оленя // Авт. свидет. РФ №1822785 от 12.10.92 (приоритет от 03.08.1990)
6. Folch J., Lees M., Stanley G. A simple method for total lipid extraction and purification // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497–509.
7. York W.S., Darvill A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components // Methods in enzymo-

logy. 1986. Vol. 118. P. 3–40. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(86\)18062-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(86)18062-1)

8. Слепцов И.В., Журавская А.Н. Полисахариды в вегетативной массе *Amaranthus retroflexus*, *Agastache*

rugosa и *Thlaspi arvense* в условиях Центральной Якутии // Химия растительного сырья. 2018. № 4. С. 73–79. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcrpm.2018043809>

Поступила в редакцию 08.04.2020

Принята к публикации 18.06.2020

Об авторах

РОЖИНА Сахаяна Михайловна, лаборант, Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677000, Якутск, пр. Ленина, 41, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7223-9297>, sahayana-rozhina@mail.ru;

СЛЕПЦОВ Игорь Витальевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677000, Якутск, пр. Ленина, 41, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-5980-579X>, nerohasg@mail.ru;

ЖУРАВСКАЯ Алла Николаевна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677000, Якутск, пр. Ленина, 41, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7570-2328>, jan43@mail.ru.

Информация для цитирования

Рожина С.М., Слепцов И.В., Журавская А.Н. Химический состав липидно-белковой фракции, выделяемой при производстве биопрепарата «Эпсорин» // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2020, Т. 25, № 3. С. 117–122. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2020-25-3-11>

DOI 10.31242/2618-9712-2020-25-3-11

Chemical composition of the lipid-protein fraction separated in the production of Epsorin biopreparation

S.M. Rozhina, I.V. Sleptsov, A.N. Zhuravskaya

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia
sahayana-rozhina@mail.ru

Abstract. The chemical composition of the lipid-protein fraction separated in the production of the biological preparation Epsorin was studied. Epsorin, the drug based on reindeer antlers, is used as an effective medicine for asthenic conditions of various origins, with neurasthenia, neurosis, in postoperative periods, with weakness of the heart muscle, with hypotension; this drug has immunomodulating and radioprotective effect, stimulating and strength-recovering properties, it increases the physical and mental performance. The fractions of lipids, water-soluble substances and hydrolysis products were isolated from the lipid-protein mass by sequential extraction from the residues of the production of Epsorin biopreparation. All fractions obtained were converted to trimethylsilyl (TMS) derivatives. The obtained TMS derivatives were analyzed by means of GC-MS using a MAESTRO 7820/5975 instrument (Russia), built on the basis of an Agilent 7820 gas chromatograph (USA) and an Agilent 5975 mass spectrometric detector. It was shown that the yield of the studied substances was higher after freeze drying than after thermal treatment. A high content of replaceable and irreplaceable amino acids, polyols, organic, inorganic and fatty acids in the «Epsorin» lipid-protein residue was established. Thus, the Epsorin lipid-protein residue can be used as a biologically active cosmetic additive..

Key words: reindeer antlers, lipid-protein fraction, Epsorin, amino acids, fatty acids, organic acids, cosmetics.

Acknowledgements. *The work was performed as part of research VI.62.1. «Development of biological products from tissues of plants and animals of Yakutia based on the study of the peculiarities of their biochemical composition and mechanisms of adaptation to the conditions of the North» (state registration number – AAAA-A17-117020110055-3).*

References

1. Varalakov M.N. K voprosu izucheniya pantov // Byulleten' nauchn. issled. him. farm. in-ta. 1931. No. 4–5. P. 124–126.
2. Alekseeva S.N. Vliyanie adaptogenov na immunitet i krovetvornuyu sistemu v usloviyakh radiatsionnogo i citostatsicheskogo vozdejstviya: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Novosibirsk, 1996. 16 p.
3. Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii Rospotrebnadzora RF №77.99.23.3.U.462.1.08 ot 28.01.2008.
4. Sheina N.E., Shein A.A., Kuz'mina V.F., Vedekina V.A., Kershengol's B.M. Vozobnovlyаемое biosyr'e Yakutii: sostav, svoystva, biotekhnologicheskie aspekty pererabotki (obzor). Chast' 1. Razrabotki na osnove zhivotnogo syr'ya // Nauka i obrazovanie. 2011. No. 4. P. 59–64.
5. Kershengol's B.M., Ahremenko A.K., Rogozhin V.V. Sposob polucheniya ekstrakta iz pantov olenya / Avt. svdet. RF No. 1822785 ot 12.10.92 (prioritet ot 03.08.1990)
6. Folch J., Lees M., Stanley G. A simple method for total lipid extraction and purification // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497–509.
7. York W.S., Darvill A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components // Methods in enzymology. 1986. Vol. 118. P. 3–40. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(86\)18062-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(86)18062-1)
8. Sleptsov I.V., Zhuravskaya A.N. Polisaharidy v vegetativnoj masse *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* i *Thlaspi arvense* v usloviyakh Central'noj YAKUTII // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2018. No. 4. P. 73–79. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018043809>

About the authors

ROZHINA Sakhayana Mikhailovna, assistant, Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, 41 Lenin pr., Yakutsk 677000, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7223-9297>, sahayana-rozhina@mail.ru;

SLEPTSOV Igor Vitalievich, candidate of biological sciences, researcher, Institute of Biological Problems of Cryolithozone, SB RAS, 41 Lenin pr., Yakutsk 677000, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-5980-579X>, neroxasg@mail.ru;

ZHURAVSKAYA Alla Nikolaevna, doctor of biological sciences, professor, chief researcher, Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, 41 Lenin pr., Yakutsk 677000, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7570-2328>, jan43@mail.ru.

Citation

Rozhina S.M., Sleptsov I.V., Zhuravskaya A.N. Chemical composition of the lipid-protein fraction separated in the production of Epsorin biopreparation // Arctic and Subarctic Natural Resources. 2020, Vol. 25, No. 3. P. 117–122. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2020-25-3-11>