

Рисунок 2. Зависимость глубины проникновения красителя в образец от мощности и продолжительности УЗ воздействия

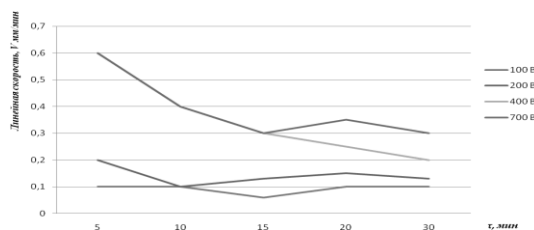


Рисунок 3. Зависимость линейной скорости проникновения красителя в образец от мощности и продолжительности УЗ воздействия

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленных данных можно сделать вывод, что оптимальными параметрами ультразвуковой обработки для диффузии водорастворимых веществ в пористый канал растительного происхождения является мощность 100 - 300 Вт и продолжительность 15 – 30 минут. Более высокие параметры могут привести к необратимым разрушениям структуры и снижению жизнеспособности растительных объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ультразвуковые многофункциональные и специализированные аппараты для интенсификации технологических процессов в промышленности, сельском и домашнем хозяйстве / В. Н. Хмелев, Г. В. леонов, Р. В. Барсуков и др. – Барнаул : Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2007. – С. 17.
2. Акопян В. Б., Ю. А. Ершов. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / В. Б. Акопян, Ю. А. Ершов; под общ. ред. И. Б. Федорова. – М. : Изд-во МГТУ им. Баумана, 2005. – С. 27.

К ПОПЫТКЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ПРЕПАРАТОВ МУМИЁ НА ОСНОВЕ ДЕТОНАЦИОННЫХ АЛМАЗОВ

Е.А. Гуров, П.В. Кузнецов, В.С. Бондарь, А.П. Пузырь

Исследована возможность разделения гуминовой кислоты мумиё гель-фильтрационной хроматографией на сефадексе LH-20. Установлена возможность адсорбции-десорбции гуминовой кислоты на частицах наноалмазов, что позволяет рассматривать данный наноматериал как перспективный новый адсорбент для выделения и наработки гуминовых и гуминоподобных веществ.

ВВЕДЕНИЕ

В последние 15-20 лет, как в нашей стране, так и за рубежом, возрос практический и научный интерес к изучению различных свойств мумие. Сегодня препараты из различных источников залегания широко применяется в фармацевтической практике в виде различных лекарственных форм (таблетки, капсулы, мази и др.) Несмотря на многовековую историю изучения и применения, мумие остается до сих пор недостаточно исследованным природным продуктом. В конце

XX века делались попытки создать на них временную фармакопейную статью[1]. Из-за сложности своего состава мумиё очень трудно поддается стандартизации по качественным и количественным показателям. Мумиё является многокомпонентным препаратом природного происхождения, в состав которого входит и гуминовая кислота[2]. Цель данной работы дать оценку возможности разделения гуминовой компоненты разных образцов мумиё гель-фильтрационной хроматографией с последующей проверкой возможности адсорбции-десорбции полученных пиковых

фракций на частицах детонационных наноалмазов. Последние стали широко применяться для процессов выделения и очистки веществ белковой природы лишь в конце XX века[3].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исходным сырьем для получения ГПКМ являлись:

I - Мумиё алтайское очищенное; таблетки; 0,2; № 20; ЗАО «Эвалар» (г. Барнаул);

II - Мумиё Брагшун алтайское; капсулы; 0,24; №30; ООО «Юнифарм» (г. Барнаул);

III - Мумиё Дабур (Шиладжит); капсулы; 0,2; №10; «Дабур Лтд.» (Индия).

Все реактивы и реагенты имели квалификацию "хч" и "чда".

В настоящей работе гуминовую кислоту, получали щелочной экстракцией из препаратов I-III, а их последующую хроматографию проводили на сефадексе LH-20 таким же образом, как это изложено в работе [4]. Исходные образцы мумиё (2г вещества) растворяли в 0,1М NaOH и предварительную очистку гуминовой кислоты проводили 3-х кратным переосаждением HCl до pH 1 – 2 с применением центрифугирования в течение 5 мин при 4000-6000 об/мин. Полученную на финальной стадии субстанцию темно-коричневого цвета растворяли в 0,1М NaOH и использовали для хроматографии на сефадексе LH -20 (колонка 10x400мм; объём геля 30мл; объём наносимого образца 1 мл; элюция дистиллированной водой; скорость хроматографирования 0,5-0,6мл/мин). Объём фракции 1мл. Выход компонентов контролировали на спектрофотометре СФ-26 (Россия) при длине волны 260 нм, УФ-спектры элюированных фракций получали в диапазоне 220 - 330 нм.

В дальнейших экспериментах использовали наноалмазы марки RUDDM, производимые ООО «Реал-Дзержинск» (г. Дзержинск) [5] и являющиеся аналогом модифицированных наноалмазов [6], адаптированных для медико-биологических исследований. Эксперименты проведены с фракциями А и Б гуминовой кислоты, полученных после хроматографии экстрактов I-III на сефадексе LH-20.

После добавления наноалмазов к фракциям гуминовой кислоты смесь в течение 10 секунд интенсивно перемешивали на Vortex-Genie 2 (Scientific Industries, США) и собирали наночастицы центрифугированием при 14500 об/мин в течение 2 мин с помощью центрифуги MiniSpin plus (Eppendorf, Германия). Спектральный анализ фракций до и после обработки наноалмазов проводили в диапазоне

200 - 800 нм с помощью UV/VIS спектрометра UVIKON 943 (Kontron Instruments, Италия).

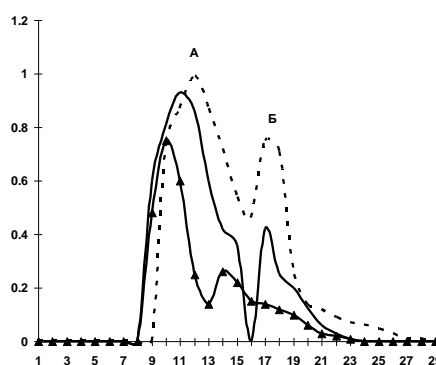


Рисунок 1. Хроматография исследуемых образцов на сефадексе LH-20 образец I(—), образец II (---), образец III (-▲-). По оси абсцисс - номер фракции, по оси ординат – оптическая плотность

Все образцы адсорбировались на наноалмазные частицы. По предварительным данным, адсорбция может составлять до 100мкг вещества на 1 мг частиц. Десорбция осуществлялась в двух режимах: элюионный буфер и раствор хелатора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что впервые гели сефадекса G-25 применили для оценки полидисперсности гуминовых веществ из образца мумиё-сырца Галимова и соавт.[2]. В работе[7] была показана возможность применения сефадекса G-25 для выделения из образцов мумиё фульво кислот - других компонентов гуминовых веществ. Из известных нам литературных данных сефадексы и его аналоги для выделения и очистки гуминовой кислоты мумиё не применялись.

Однако, по данным Сухих и соавт. [8,9] сефадекс LH-20 оказался удобным хроматографическим носителем в тандемном способе выделения и очистки гуминовых и гуминоподобных кислот из различных природных объектов, в том числе и некоторых лекарственных средств (чага, полифепан). Данный тандемный метод впервые предложен нами в работе [10] для разделения и очистки гуминовых кислот на агарозных носителях в препарате мумиё (ООО Алтай, г. Барнаул).

Как показано на рисунке 1, гуминовая кислота образцов мумиё разделяется сефадексом LH-20 на две ключевые фракции А и Б. Эти фракции можно считать лишь условно высоко- и низкомолекулярными, так как механизм хроматографического разделения на

К ПОПЫТКЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ПРЕПАРАТОВ МУМИЁ НА ОСНОВЕ ДЕТОНАЦИОННЫХ АЛМАЗОВ

сефадексе LH-20 считается более сложным, чем простая гель-фильтрация [11].

Для проверки возможности использования наноалмазов в качестве адсорбента гуминовой кислоты мумиё использовались полученные хроматографические пики А (фракции №11-13) и Б (фракции №17-18, образец I и II; фракции №14-15, образец III).

На рисунке 2 приведены полученные нами данные по адсорбции-десорбции образца I пик А гуминовой кислоты мумиё.

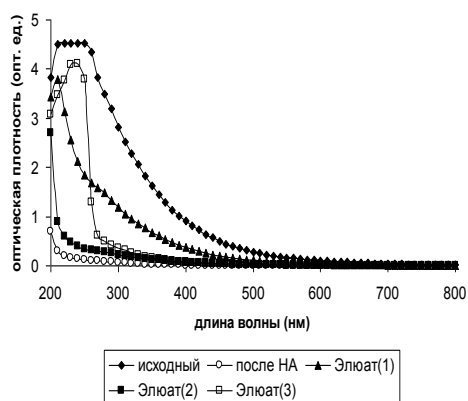


Рисунок 2. Данные спектрального анализа препаратов гуминоподобных компонентов из образца мумиё I на этапах их выделения с помощью наноалмазов: (исходный) - исходный экстракт; (после наноалмазов, НА) - супернатант после обработки экстракта частицами наноалмаза; (Элюаты 1, 2) - препараты гуминоподобных компонентов, последовательно десорбированные с поверхности наночастиц элюирующим буфером; (Элюат 3) - гуминоподобные компоненты, элюированные раствором хелатора

Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать однозначный вывод об уникальных возможностях детонационных наноалмазов, как оригинальных адсорбентов гуминовых кислот мумиё. Понятно, что полученный нами феномен сорбции-десорбции гуминовых кислот в дальнейшем может быть тиражирован для выделения и очистки гуминовых и гуминоподобных кислот из других природных объектов, в том числе и некоторых лекарственных средств (чага и др.). В связи с тем, что наноалмазы обладают высоким адсорбционным потенциалом, возможно, что оптимальным способом их применения является так называемый бейтч-метод [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что детонационные наноалмазы могут использоваться в химии гумино-

вых и гуминоподобных веществ для их выделения и очистки, в том числе и в комбинации с различными хроматографическими способами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фролова Л.Н., Киселева Т.Л., Карпеев А.А. Терминологические аспекты традиционной медицинской и фармацевтической деятельности в России. Современная этимология и синонимика мумиё. // Фармация. – 2000. - №4. – С.57-61.
2. Галимов Э.М., Кодина Л.А., Власова Л.В. К геохимии мумиё // Геохимия. - 1986. - №10. - С.1494-1505.
3. Бондарь В.С. Методические основы высокоэффективных технологий разделения и очистки белков посредством лигандного обмена и использования частиц детонационных наноалмазов // Автореф. доктора биол. н., Красноярск. – 2006. – 44с.
4. Сухих А.С., Кузнецов П. В. К проблеме хроматографического исследования гомата натрия (Aldrich, Германия) на перешитых полисахаридных гелях // Вест. КузГТУ. - 2006. - №6. - С.115-117.
5. <http://www.diamond-nanodiamond.com/>
6. Бондарь В.С., Пузырь А.П. Наноалмазы для биологических исследований // Физика твердого тела. -2004. -Т.46, вып. 4. - С.698-701.
7. Kwon B.S., Khlebnikov A. I., Schepetkin I.A., Woo S.B. Fulvic acid fractions for mumie // Proceedings of the 8th Korea-Russia International Symposium on Science and Technology (KORUS-2004). – 2004. – Vol.3. – P.352-355.
8. Сухих А.С. Эпоксिमодифицированные полисахаридные гели в химии гуминовых, гуминоподобных веществ и препаратов на их основе //Автореф. канд. фарм.н., Тюмень. - 2007. - 21с.
9. Сухих А.С., Кузнецов П.В. Новый tandemный хроматографический способ выделения и очистки гуминовых кислот и их аналогов из природных объектов и лекарственных препаратов // Разработка исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Вып. 62. сб. науч. трудов. Пятигорск. - 2007. - С. 383-387.
10. Гуров, Е.А. К проблеме хроматографического разделения гуминовых кислот в препарате мумиё /Е.А. Гуров, П.В. Кузнецов // Вест. РАЕН (ЗСО). – 2007. – вып.9. С.
11. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. – М.:Высшая школа. – 1974. – С.74-75.
12. Кузнецов, П.В. Эпоксидированные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ / П.В. Кузнецов. – Кемерово, 2002. – 104 с.