

Интересно, что недавно мумиё (Индия) исследовано методом масс-спектрометрии в работе [7].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые для элементного анализа мумиё предложен, использовать новый малоисследованный метод энерго-дисперсионной рентгеновской спектроскопии.

Экспериментально отмечены совокупные изменения ЯМР  $C^{13}$  и ИК для исследуемых образцов, в том числе и после хроматографии на сефадексе LH-20. Для образца из Индии отмечено резкое уменьшение ароматического и резкого увеличения карбоксильного углерода.

Выражаю свою благодарность д. фарм. н., проф. Кузнецову П.В. за оказанную помощь в интерпретации экспериментальных данных.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сухих, А.С. Эпоксिमодифицированные полисахаридные гели в химии гуминовых, гуминоподобных веществ и препаратов на их основе: Дис. ...к.фарм.н. – Кемерово, 2007. - 159с.
2. Колесников М.П. // Успехи биологической химии. Т.41. – 2001. – с.301-332
3. Agarwal SP., Khanna R., Karmarkar R., Anwer MK., Khar RK // Phytother Res. 21, 401–405 (2007).
4. Гуров Е А., Кузнецов П.В., Бондарь В.С., Пузырь А.П. // Ползуновский вестник. - 2008.- №3. С.273-275.
5. Калябин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектрометрия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Химия, 2000. - 408с.
6. Преч Э., Бюлбманн Ф., Аффольтер. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. - М.: Мир; Бином, 2006. – 438 с.
7. Kononikhin A., Vladimirov G., Kunenkov E., Perminova I., Popov I., Garmash A., Nikolaev E. In: From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances; Proceedings of the 14th International Meeting of the International Humic Substances Society, 2008, Russia, Moscow, pp. 103-104.

## ПОЛИМЕРНЫЕ АДСОРБЕНТЫ АФФИННОГО ТИПА В ИССЛЕДОВАНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ. ХХVII. К ФЕНОМЕНУ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ КОПЕЕЧНИКА ЗАБЫТОГО НА СЕФАДЕКСЕ LH-20 И ЕГО ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОМ АНАЛОГЕ

П.В. Кузнецов, Ю.С. Федорова.

*В настоящей работе впервые проведено сравнение сефадекса LH-20 и его химически модифицированного аналога при хроматографии фитопрепаратов копеечника забытого. Показано, что полное элюирование активных веществ фитопрепаратов достигается только с применением в качестве элюента насыщенного раствора буры (рН 9,2; элюент Кузнецова-Халахина). Отмечено, что биологически активные вещества ключевой фракции (олигомерные танины) в этих условиях резко меняют результаты реакций с раствором  $FeCl_3$  (красновато-желтое окрашивание), не дают положительной желатиновой пробы. Аналогичные результаты зафиксированы при применении эпоксиазадсорбента с п-нитроанилиновым лигандом-модификатором.*

### ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что сегодня фитопрепараты (ФП) различных видов копеечника (*Hedysarum*) исследуются во всем мире, прежде всего из-за уникального состава биоло-

гически активных веществ (БАВ) этого вида (их более 40 типов) [1].

Кроме официального в России препарата копеечника альпийского (*H. alpinum*; трава, ГФХ), содержащего ксантон мангиферин с выраженным антивирусным действием [2] (ФП «Алпизарин»), с конца 60-х годов активно

## К ФЕНОМЕНУ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ КОПЕЕЧНИКА ЗАБЫТОГО НА СЕФАДЕКСЕ LH-20 И ЕГО ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОМ АНАЛОГЕ

изучается спектр БАВ корней копеечника забытого (*H. neglectum*), копеечника чайного (*H. theinum*) и некоторых других видов [1, 3-5]. В аптечной сети России пользуются успехом капли «Красный корень» (ЗАО «Эвалар», г. Бийск) с выраженным влиянием на мочеполовую систему. Однако, ФП копеечников тем не менее продолжают относить к разделу малоизученного лекарственного сырья [1].

Цель данной работы – применение универсального адсорбента сефадекса LH-20 [6] и его химически модифицированного аналога в исследовании БАВ в ФП копеечника забытого методом жидкостной колоночной хроматографии (ЖКХ).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали сефадекс LH-20 [6] (СФД-20, «Pharmacia», Швеция), и его эпоксиазоаналог (СФД-20-БЭП-гСК-пНАН), полученные известными способами [7]. Водно-спиртовой ФП копеечника забытого, полученные по оригинальной авторской технологии. Хроматографические колонки («Pharmacia», Швеция; 150x0,5мм) упаковывали и подготавливали (объем адсорбента 5-6мл) известным способом [5,7]. Объем вводимой пробы ФП 0,2-0,4мл, собираемых фракций – 1,0-1,2мл; скорость – 0,2-0,4 мл/мин. Детектирование проводили на длине волны 270нм (СФ-26, Россия).

Другие препараты и реагенты имели марки х.ч. и ч.д.а. (натрия тетраборат, этанол медицинский и др.).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано [5], что ключевые БАВ исследуемых ФП копеечников – это олигомерные танины (фитохимические пробы с  $FeCl_3$ , желатином и др.). Они выходили в пределах 18-20 фракций на сефарозе CL-4В, кроме того наблюдалось несколько минорных фракций. Элюентами в работе [5] являлись  $H_2O$ , этанол 50%, 0,01М и 0,1М NaOH.

Интересно, что основные фитохимические реакции этих фракций практически не отличались от подобных реакций исходных ФП [5]. Их УФ-спектры имели относительно слабые полосы поглощения ароматического хромофора в зоне 265-280нм. За исключением ФП копеечника альпийского (один минорный пик в зоне 3-7 фракций, ключевой пик в зоне 11-14 фракций) все они характеризовались резким падением полосы поглощения в зоне 220-240нм. Это позволило нам предпо-

ложить в структурах их УФ-спектров иные, достаточно мощные хроматографические системы сопряжения, например,  $\beta$ -еноновую систему ( $\lambda_{max}$  240нм, стероидный хромофор), а также сильные полосы поглощения каких-то алифатических фрагментов БАВ в зоне 200-240нм.

Системы элюентов А и Б работы [5] включали 50% этанол и растворы щелочей различной концентрации. Тем не менее около 20-25% ФП в этих условиях элюции выделить не удавалось, хотя применение перешитого полисахаридного сорбента сефароза CL-4В оказалось, в целом, вполне удовлетворительным (сохранялась нативность элюатов).

Исследование СФД-20 (не модифицированного и его эпоксиазоаналого) для хроматографирования ФП копеечника забытого показано на рисунке 1.

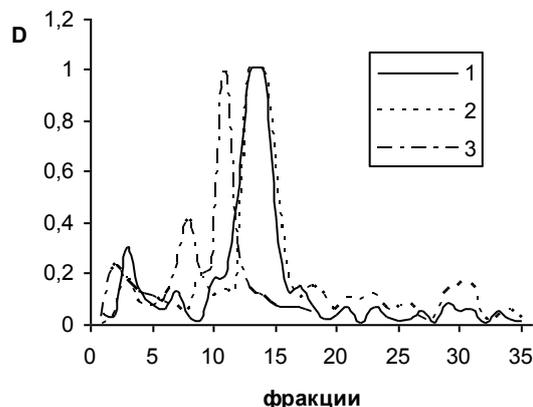


Рисунок 1. Хроматограммы БАВ ФП копеечника забытого в различных режимах элюции: типы сорбентов: 1- СФД-20, режим А 2- СФД-20-БЭП-гСК-пНАН, режим А 3-СФД-20, режим В

На наш взгляд нами получен вполне удовлетворительный результат, так как ФП копеечника забытого удалось нацело разделить и сконцентрировать (мощным пиком) элюентом Кузнецова-Халахина (насыщенный раствор буры, рН=9,2, режим В). Очень удивительным оказалось то, что элюат фракции 13 (пиковая фракция) давал с раствором  $FeCl_3$  (в кислой среде) лишь красновато-желтую окраску, причем желатиновая проба оказалась отрицательной. Напомним, что исходный ФП с этим реактивом моментально давал черно-зеленое окрашивание (с последующим осадком) [5].

Таким образом, налицо несколько интересных эффектов, выявленных при хроматографировании ФП копеечника забытого на исследуемых образцах СФД-20:

1. резко нарушалась цветность окраски нативного исходного ФП (в реакции с раствором  $FeCl_3$ ) для ключевой танинсодержащей фракции;

2. часть фракций, составляющие исходные БАВ ФП, показала необратимую сорбцию (примерно 20-25%) при использовании системы элюентов работы [5];

3. полное и быстрое элюирование (всего 17-20 фракций) исследуемых ключевых БАВ ФП копеечника забытого происходило лишь при использовании в качестве элюента насыщенного раствора буры (элюент Кузнецова-Халахина).

Объяснить наблюдаемые феномены можно, если предположить, что элюент Кузнецова-Халахина эффективно видоизменяет исходную нативную структуру БАВ исследуемого ФП копеечника забытого (*H. neglectum*), возможно по принципу супрамолекулярного взаимодействия, или образует неизученный боратный комплекс с ключевым типом БАВ (олигомерными танинами). Хорошо известно, по данным [8], что существует целый раздел аффинной хроматографии, называемый борлигандная хроматография. Как правило, применяемая в нем в качестве концевой лиганда аффинного адсорбента м-аминофенилборная кислота, легко образует достаточно стабильные комплексы с вицинальными гидроксогруппами хроматографируемых объектов (различные углеводы, их гликозиды, лекарственные средства на их основе и др.).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе впервые экспериментально доказан феномен изменения нативных свойств БАВ (реакция с раствором  $FeCl_3$ ) ФП копеечника забытого при хроматографировании на СФД-20 в условиях десорбции с элюентом Кузнецова-Халахина (насыщенный раствор буры, рН 9,2).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.Н., Семенов А.А. // Раст. ресурсы. Вып.4. 2004.-111-137с.
2. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия; учебное пособие / Под ред. Г.П. Яковлева. – СПб.: Спец. лит., 2006.-845с.
3. Неретина О.В. Химический состав экстрактивных веществ копеечника щетинистого. / Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук. Иркутск, 2004.-156с.
4. Hai L.Q. ets. // Yao Xue Xue Bao. 2003 Aug;38(8):592-595p.
5. Кузнецов П.В., Федорова Ю.С., Сухих А.С. // Вестник РАЕН (ЗСО). Вып.11.-2009.-185-189с.
6. Хенке Х. Жидкостная хроматография. Техносфера. 2009. 264с.
7. Кузнецов П.В. Эпоксидированные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. Кемерово. Кузбассвузиздат.-2002.-104с.
8. Handbook of Affinity Chromatography. Second Edition by D.S. Hage. - Taylor Francis.-944p.

## УТИЛИЗАЦИЯ ПШЕНИЧНЫХ ОТРУБЕЙ В НАТУРНОМ И МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

И.Н. Охтеменко, О.Ю. Сартакова, Е.А. Сартакова

*Исследовано действие различных химических отбеливателей на пшеничные отруби и показана нецелесообразность их использования. Как более перспективный метод утилизации пшеничных отрубей проведен ферментативный гидролиз крахмала пшеничных отрубей с последующим сбраживанием гидролизата до этанола. Последующей ректификацией бражки получен 96 % этанол. Проведено математическое моделирование процесса периодической ректификации и найдены оптимальные параметры технологического процесса.*

## ВВЕДЕНИЕ

Пшеничные отруби – ценный пищевой

продукт. В настоящее время их широко используют в натуральном виде в качестве пищевой добавки в продукты питания [1-3]. От-