

УДК 547.972.582.944

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СТРУКТУРИРОВАННЫХ НАНОСОРБЕНТОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ И РАЗДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТАНЦИЙ

Н.А. Султанова, М.А. Бийсенбаев, Б.К. Ескалиева, Г.Ш. Бурашева, М. Сейлгазы,
Ж.А. Абилов, З.А. Мансуров, Г.Е. Жусупова

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
e-mail: zhusupova@gmail.com

В статье отражены результаты по установлению доброкачественности лекарственных растений (*Alhagi Kirgisorum Schrenk*, *Tamarix hispida*, *Climacoptera obtusifolia*, *Limonium gmelinii*), разработке оптимальных схем выделения из них комплексов биологически активных веществ и их разделение на сорбентах отечественного производства.

Обеспечение населения медикаментами отечественного производства является одним из основных приоритетов социально-экономической политики правительства Республики Казахстан и действующей государственной программы импортозамещения, которые нашли отражение в ряде государственных документов: «Стратегия 2030», актов Президента и Постановлениях Правительства Республики Казахстан.

В ведущих странах мира в последние десятилетия наметилась отчетливая тенденция по увеличению в общем арсенале выпускаемых лекарственных средств доли растительных препаратов и к настоящему времени она достигает более 50 %, в то время как в нашей стране эта цифра крайне низка и колеблется в пределах от 5 % до 10 %. На территории Казахстана, занимающей 220 тысяч квадратных километров, сосредоточена уникальная флора, насчитывающая более 100 лекарственных растений, которые относятся к самовозобновляемому дикорастущему сырью и могут служить источником для получения на их основе малотоксичных, высокоэффективных лекарственных средств широкого спектра действия, не вызывающих кумулятивных и аллергических реакций в организме, что особенно важно при длительном их использовании для лечения или профилактики болезней [1-4].

Для решения указанной глобальной государственной проблемы необходимо осуществлять отбор наиболее перспективных видов растений, произрастающих на территории Казахстана, с учетом их биоактивности, сырьевых ресурсов, целесообразности заготовки, степени сложности технологических процессов получения субстанций на их основе, исходя из экономических и экологических расчетов.

Объектами исследования являются различные виды растений, имеющие промышленные запасы на территории Казахстана (*Alhagi Kirgisorum Schrenk*, *Tamarix hispida*, *Climacoptera obtusifolia*, *Limonium gmelinii*), заготовка которых целесообразна как с экологической, так и с экономической стороны. При экстракции сырья растворителями, отличающимися по полярности, экстрагируются различные группы биологически активных веществ (БАВ), по принципу «подобное растворяется в подобном». При извлечении субстанций из растений в виде сухих экстрактов с использованием в качестве экстрагентов водных растворов этилового спирта или же водных растворов ацетона извлекаются суммарные экстракты, содержащие в себе как гидрофобные, так и гидрофильные синергично действующие вещества. Для их разделения и выделения индивидуальных соединений с целью стандартизации сырья и получаемых на его основе лекарственных средств используют, как правило, методы избирательной экстракции, препаративного бумажного и колоночного хроматографирования с применением в последнем случае различных сорбентов. Последние представляют собой сеффадексы, силикагель, оксид алюминия, целлюлозу, силикат магния, ионообменные смолы, полиамид. Деление на сеффадексах возможно только для гидрофильных фракций природных веществ с применением для их элюирования воды и водных растворов ацетона. Силикагели различных марок и оксид алюминия применяют в основном для разделения гидрофобных фракций и они отличаются высокой адсорбцией природных гидрофильных веществ; их элюирование из оксида алюминия возможно только фронтальным методом элюирования, при котором разделение веществ происходит за счет вытеснения наименее адсорбируемых наиболее адсорбируемыми. Необходимо отметить, что наиболее удобным сорбентом из всех указанных, широко используемым для разделения различных групп полифенолов, является полиамид, который

можно было бы отнести к универсальным сорбентам, так как именно при использовании данного сорбента можно элюировать вначале неполярные вещества, а затем перейти к получению элюатов, содержащих более полярные вещества. Однако недостатком данного сорбента является его невысокая емкость и малая эффективность для препаративного получения индивидуальных веществ, а также невозможность его повторного использования для хроматографического разделения. Деление суммы веществ одного класса соединений при использовании полиамида осуществляется многократным повторным их разделением с постепенным увеличением в элюатах одного из доминирующих компонентов [5-7]. Кроме того, все указанные сорбенты, в том числе и полиамид, производятся только за рубежом и являются дорогими.

Таким образом, применяемые для разделения и очистки комплекса БАВ, включающего в себя сложнейшие природные соединения, необходимы сорбенты и, в первую очередь, созданные в Республике Казахстан, для снятия импортной зависимости в их приобретении.

Целью исследования является экспериментальное обоснование эффективности применения новых разработанных отечественных наноструктурированных сорбентов, используемых для очистки и разделения основных групп БАВ, выделяемых из промышленно значимых казахстанских лекарственных растений в виде сухих экстрактов.

Применение новых разработанных эффективных сорбентов отечественного производства для очистки и разделения суммы биологически активных соединений лекарственных растений является чрезвычайно актуальным и несомненно имеет большое научное и практическое значение, так как отвечает потребностям Казахстана в получении высокоэффективных лекарственных средств на базе собственного стандартизованного растительного сырья, введенного в официальную медицину и соответствующего по качеству требованиям Европейской Фармакопеи и гармонизированной с нею Государственной фармакопеи РК.

Углеродные сорбенты находят широкое применение в различных процессах очистки от вредных примесей и рекуперации ценных веществ из жидких и газообразных сред. Активированные угли применяют в нефтеперерабатывающей, нефтехимической, винодельческой, масложировой и других отраслях промышленности. В последнее время углеродные сорбенты успешно используют в медицине для очистки крови от эндо- и экзотоксинов, для детоксикации желудочно-кишечного тракта и др. целей [8]. Осуществлена иммобилизация спиртообразующих клеток дрожжей на пористых субстратах (порошок Канумы, активированный уголь, порошок целлюлозы). Отмечено, что при иммобилизации на активированный уголь клетки достигают максимальной продуктивности [9]. В ходе карбонизации меняются морфология и структура сорбента, и, конечно же, оптимизируются его выходные параметры.

Известны промышленные сорбенты на основе активных углей, которые получают из различных видов органического сырья: антрацита, торфа, древесины и продуктов ее переработки, материалов животного происхождения [10-13]. В Европе ряд производителей получает прочный активированный уголь из скорлупы кокосового и лесного орехов и оливковых косточек. В Институте проблем горения КазНУ им. аль-Фараби в качестве сырья для получения наноструктурируемых сорбентов используют виноградные косточки и скорлупу грецких орехов, являющихся отходами производства [13].

Применение относительно дешевых растительных отечественных наноструктурированных сорбентов, способных к разделению и очистке как гидрофобных, так и гидрофильных соединений, с большой удельной поверхностью и пористостью, в производстве фармацевтических препаратов позволит не только существенно улучшить качество производимых субстанций, но и создать новые отечественные препараты, отвечающие всем требованиям надлежащей практики – GMP.

Использование новых оптимальных по совокупности свойств наноструктурированных сорбентов природного происхождения для очистки, выделения, разделения и получения новых комплексов БАВ из исследуемых растений позволит создать импортозамещающую технологию, что будет способствовать укреплению, устойчивому развитию и конкурентоспособности экономики и фармацевтической отрасли Республики Казахстан, повышению экспортного потенциала республики. При создании наноструктурируемых сорбентов были учтены все закономерности, определяющие физико-химические свойства и структурную обусловленность используемых материалов.

Материалы и методы исследований

Объекты исследования - *Limonium gmelinii*, *Alhagi kirgisorum Schrenk*, *Climacoptera obtusifolia* и *Tamarix hispida*, заготовленные в Алматинском регионе в фазу цветения.

Определение доброкачественности сырья анализируемых растений проводили по методикам в ГФ XI издания.

Для исследования качественного состава экстрактов, а также индивидуальных соединений использованы методы тонкослойной хроматографии – ТСХ (Silica gel DC- Alugram 60 UV₂₅₄ фирмы MERCK art. 7739); бумажной хроматографии – БХ (бумага марки Watman S2, Германия).

Для выделения веществ использовали колоночную хроматографию на наноструктурированном сорбенте из рисовой шелухи.

Для исследования качественного состава экстрактов различных фракций и выделенных веществ использованы следующие системы растворителей: бутиловый спирт-уксусная кислота-вода (40:12.5:29), 15% -ная уксусная кислота, 2%-ная уксусная кислота, бензол-уксусная кислота-вода (6:7:3, органическая фаза), хлороформ-метанол (8:2), хлороформ-метанол-вода (8:2:0.2).

Для проявления хроматограмм на наличие различных классов соединений использованы следующие реагенты: УФ-свет, пары аммиака, 1%-ный раствор хлористого алюминия, 1%-ный раствор железоммониевых квасцов (ЖАК), о-толуидиновый и нингидриновый проявители, ванилин в конц. HCl, диазотированный п-нитроанилин (ДзПНА), сульфат церия в 60%-ной H₂SO₄.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследуемые виды сырья (*Limonium gmelinii*, *Alhagi kirgisorum Schrenk*, *Climacoptera obtusifolia* и *Tamarix hispida*) были заготовлены в соответствии с требованиями к их заготовке, сушке и хранению. Доброкачественность исследуемых видов растений была изучена по всем показателям, предъявляемым к растительному сырью, согласно требованиям ГФ РК и Европейской фармакопеи [14-15]. Влажность надземной части *Alhagi kirgisorum Schrenk*, *Climacoptera obtusifolia* и *Tamarix hispida* составляет 6,10-11,83 %, а корней *Limonium gmelinii* 9,11 %, т.е. влажность, как корней, так и надземной части растений не превышает значений данного показателя для фармакопейных образцов (от 10 до 20 % для надземной части растений и 12-15% для корней). Необходимо отметить, что данный показатель для исследуемых растений ниже поставленных пределов, элемент их сухости исключает порчу и сохраняет соответственно их товароведческий вид. Исследуемые виды сырья отличаются высоким содержанием экстрактивных веществ (от 29,69 до 48,30 %), что свидетельствует об экономической целесообразности их извлечения из данных видов сырья.

Содержание экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье – важный числовой показатель, определяющий его доброкачественность, особенно для тех видов сырья, у которых количественное определение действующих веществ не проводится. В зависимости от химического состава лекарственного растительного сырья и используемого растворителя в извлечение переходят те или иные действующие и сопутствующие вещества.

Показатель «Общая зола», отражающий количество минеральных веществ, содержащихся как в самом сырье, так и в примесях для исследуемых частей сырья оказался ниже, чем максимально приемлемое значение для фармакопейных образцов (до 24 % для надземной части и до 14 % для корней). Высокой зольностью отличается *Climacoptera obtusifolia* (26,57%). Таким образом, все установленные товароведческие показатели характеризуют исследуемые виды растений как достаточно качественное лекарственное сырье для получения на их основе лекарственных субстанций в виде сухих экстрактов. Значения показателя «Зола, нерастворимая в 10% HCl» для надземной части и корней исследуемых видов растений значительно ниже регламентируемых норм для фармакопейных образцов растений, где он колеблется в пределах до 12 % (надземная часть) и до 10 % (корни). Таким образом, показатели доброкачественности исследуемого вида соответствуют регламентируемым нормам для лекарственного сырья.

Методами двумерной хроматографии на бумаге (БХ) и тонкослойной хроматографией (ТСХ) в различных системах растворителей с использованием специфических проявителей установлено, что основными группами биологически активных веществ надземной части исследуемых растений являются флавоноиды, аминокислоты, олиго- и полисахариды, фенолоксилоны, сапонины (*Climacoptera obtusifolia*), дубильные вещества (*Tamarix hispida*), проантоцианидины (*Limonium gmelinii*, *Alhagi kirgisorum Schrenk*).

В эксперименте варьированием соотношения экстрагента и сырья, времени, температуры экстракции и ее кратности отработаны оптимальные технологии выделения субстанций в виде сухих экстрактов. В субстанциях методом двумерного бумажного хроматографирования с применением специфических проявителей обнаружены аминокислоты, углеводы, полифенольные соединения и терпеноиды.

Для выделения биологически активных соединений из исследуемых растений оптимизирован технологический режим. Проведен подбор растворителей, время экстракции, температурный режим экстракции, а также соотношение сырье : растворитель. Учитывая, что в исследуемых растениях присутствуют все классы органических соединений были апробированы в основном гидрофильные представители, а именно спирт и ацетон и их водные растворы в различных соотношениях. Наиболее приемлемым растворителем, обеспечивающим выход максимального количества БАВ из растительного сырья, является водный раствор этилового спирта. В соответствии с разработанными оптимальными технологическими схемами наработаны в необходимых количествах субстанции, содержащие БАК. Совместное присутствие соединений, обладающих сходным строением и близкими свойствами, представляет затруднительную задачу для их разделения, что требует дальнейшего применения колоночной хроматографии.

Для стандартизации лекарственных субстанций, выделяемых в виде сухих экстрактов из дикорастущего растительного сырья, имеющего промышленные запасы на территории Республики Казахстан, необходимо разделение комплекса БАВ, входящих в субстанцию, на индивидуальные соединения с целью их идентификации. Эта задача достигается как с использованием методов избирательного экстрагирования с применением различных, отличающихся по полярности растворителей, так и применением различных методов хроматографирования и, прежде всего, колоночного.

Для этой цели чаще используют сеффадексы, силикагель, оксид алюминия, целлюлозу, полиамид. Однако все указанные сорбенты, производятся только за рубежом и являются дорогими. Поэтому применение новых разработанных эффективных сорбентов отечественного производства для разделения и выделения индивидуальных веществ из субстанций имеет большое научное и практическое значение для стандартизации как самих лекарственных растений, так и получаемых на их основе субстанций.

В связи с вышесказанным, проведена наработка сорбента, который представляет собой карбонизованный, активированный и обработанный в соответствии с медицинскими требованиями продукт из рисовой шелухи. При разработке технологического регламента и устройства для осуществления производственного процесса карбонизации природного сырья выделены следующие процессы: измельчение, сушка, дегидратация, дегидроксилирование, обезвоживание, сульфирование, декарбоксилирование, гидроксидирование, созревание, деактивирование.

Для разделения БАК из исследуемых видов растений использовали разработанный наноструктурированный сорбент из рисовой шелухи, а в качестве элюента использовали вода-спирт в различных соотношениях, с увеличением градиента последнего [17, 18].

В результате проведенной работы разработаны оптимальные технологические схемы очистки субстанций и выделения индивидуальных соединений из исследуемых растений. При делении субстанции на наносорбенте с применением в качестве элюента воды, было выделено соединения полифенольного характера - полифлаван, флавоноиды и фенолокислоты [19, 20]. Для идентификации структур выделенных соединений использовали различные химические и физико-химические методы анализа.

Так, из исследуемых видов растений выделены и идентифицированы *n*-оксibenзойная, феруловая, ванилиновая, изованилиновая кислоты; окисленные флавоноиды - 3-О-сульфатами тамариксетина и кверцетина, галактопиранозидом кверцетина, восстановленные формы флавоноидов - 3,5,7,3',4',6'-гексагидроксифлаван, (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлатом, (-)-эпигаллокатехин-(4 β →8)-(-)-3,5,7,3',4',6'-гексагидроксифлаван, 3-О- β -D-глюкопиранозид кверцетина, 3-О- β -D-глюкопиранозид изорамнетина; вещество; 3-О- α -L-рамнопиранозид тамариксетина.

Таким образом, вышеприведенные результаты показывают, что применение разработанного сорбента отечественного производства для разделения и выделения индивидуальных веществ из субстанций имеет большое научное и практическое значение для стандартизации как самих лекарственных растений, так и получаемых на их основе субстанций.

Литература

- 1 Лекарственные растения Казахстана и их использование. - Алматы: Ылым, 1996. - 344 с.
- 2 Флора СССР. - М.: АН СССР, 1952. - Т. XVIII. - С. 411-467.
- 3 Флора Казахстана. - Алма-Ата: Наука, 1961. - Т. VII. - С. 79-80.
- 4 Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений Казахстана. - Алматы: Ылым, 1994. - С. 41.
- 5 Хефтман Э. Хроматография. Практическое приложение метода.-Москва: Мир,- 1986. - Т.2. - 422 с.

- 6 Harbone J.B., Dey P.M. Methods in plant biochemistry. Volume 1: Plant phenolics. - New York: Academic Press, 1989.-552 p.
- 7 Георгиевский В.П., Казаринов Н.А., Литвиненко В.И. Хроматографические методы в анализе фитохимических препаратов и растительного сырья // Мат. 2 Всес. съезда фармацевтов.- Рига.-1974.-С. 163-165.
- 8 Лопухин Ю.М., Молоденков Н.М. Гемосорбция.-М:Медицина.-1985, вып.2.-399 с
- 9 Kumakura M., Yoshida M., Asano M. Preparation of immobilized yeast cells with porous substrates // Process Biochem.-1992.-27, N 4.-P. 225-229.
- 10 Исламов М.Ю. Шире внедрять безотходные технологии //Пищевая промышленность.-1990, № 11.-С. 20-21.
- 11 Лимонов Н.В. Оконцев В.Ф., Глушанков Л.В., Солнцев В.В. Карбонизация полимеров // Журнал прикладной химии. -1994.-Т. 67, № 10.-С.1648-1650.
- 12 Мансуров З.А., Жылыбаева Н.К., Уалиева П.С., Мансурова Р.М. Получение и свойства сорбентов растительного сырья //Химия в интересах устойчивого развития.-2002, № 10.-С. 339-346.
- 13 Мансуров З.А. Синтез углеродных наноматериалов и их прикладные аспекты // Вестник КазНУ. Серия химическая. 2008. Т. 50, № 2.-С. 16-31.
- 14 Государственная фармакопея СССР, Медицина, Москва, 1990, вып. 2, 399 с.
- 15 European Pharmacopoeia.- Strasburg.- 2001.- 1705 p.
- 16 Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств.-Харьков: НФАУ, 2002.-С. 393-415.
- 17 Sultanova N.A., Zhusupova G.E., Abilov Zh.A., Mansurov Zh.A., Beisenbaev M.A. The separation of biological active complexes from genus *Tamarix* by using nanostructure sorbents //2-nd Annual Russian-Korean Conference “Current issues of natural products chemistry and biotechnology”, Novosibirsk, March 15-18, 2010, с. 144
- 18 Сейтимова Г.А., Ескалиева Б.К., Бурашева Г.Ш., Абилов Ж.Д.А., Мансуров З.А., Айса К. Применение наносорбентов для выделения БАВ из растений рода Климкоптера //В сб. конф. «Актуальные проблемы ботанического ресурсоведения», посвященной памяти выдающего казахстанского ботаника–ресурсоведа, член–корр. НАН РК, д.б.н. М.К. Кукунова, г. Алматы, 12 мая 2010 г. , с.346-350.
- 19 Султанова Н.А., Абилов Ж.А., Мансуров З.А., Жусупова Г.Е., Бийсенбаев М.А. Перспективы использования наноструктурированного сорбента для выделения БАВ из *TAMARIX HISPIDA* // В сб. конф. «Актуальные проблемы ботанического ресурсоведения», посвященной памяти выдающего казахстанского ботаника–ресурсоведа, член–корр. НАН РК, д.б.н. М.К. Кукунова, г. Алматы, 12 мая 2010 г. , с.354-356
- 20 Seitimova G.A., Yeskaliyeva B.K., Burasheva G.Sh. Abilov Zh. A.,Mansurov Z.A., Hajiakber Aisa Isolation of biological active compounds from *Climacoptera obtusifolia* by using Kazakhstan nanosorbents//2nd International Symposium on Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients - China, Urumqi - 2010. - P.70.

ӨСІМДІК ДӘРІЛІК СУБСТАНЦИЯЛАРДЫ ТАЗАЛАУ ЖӘНЕ БӨЛУГЕ АРНАЛҒАН ЖАҢА ОТАНДЫҚ ҚҰРЫЛЫМДЫҚ НАНОСОРБЕНТТЕРДІ ҚОЛДАНУДЫҢ ТИІМДІЛІГІ

**Н.А. Султанова, М.А. Бийсенбаев, Б.К. Ескалиева, Г.Ш. Бурашева, М. Сейлгазы,
Ж.А. Абилов, З.А. Мансуров, Г.Е. Жусупова**

Мақалада дәрілік өсімдіктердің (Alhagi Kirgisorum Schrenk, Tamarix hispida, Climacoptera obtusifolia, Limonium gmelinii), сапасын анықтау, олардан биологиялық белсенді заттардың кеңендерін бөліп алудың тиімді сызбанұсқасын жасау және отандық сорбенттерде бөліп алу нәтижелері көрсетілген.

EFFICIENCY OF APPLICATION OF THE NEW ORIGINAL STRUCTURED NANOSORBENTS FOR PURIFICATION AND SEPARATION OF MEDICINAL SUBSTANCES

**N.A. Sultanova, M.A. Biysenbaev, B.K. Eskalieva, G.Sh. Burasheva, M. Seilgazy,
Zh.A. Abilov, Z.A. Mansurov, G.E. Zhusupova**

In the article results are reflected on establishment of quality of medical plants (Alhagi Kirgisorum Schrenk, Tamarix hispida, Climacoptera obtusifolia, Limonium gmelinii), to development of optimum charts of separation from them of complexes of bioactive compounds and their isolation on the sorbents of original production.