

ГАРМОНИЗАЦИЯ СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

© 2014 Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопалова, И.В. Фомин, М.Н. Глубокова,
С.Х. Шарипова

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 19.05.2014

Предлагается новый способ получения гуминовых кислот пелоидов с целью улучшения состава и выхода конечного продукта. Вместо традиционно используемой соляной кислоты предлагается хлорная кислота. Использование хлорной кислоты и изменение концентраций раствора гидроксида натрия представляется рациональным, так как, являясь наиболее сильной минеральной кислотой, хлорная кислота образует с большинством металлов, входящих в состав грязей, растворимые соединения, способствуя высвобождению органического вещества низкой степени минерализации. Хлорная кислота не вступает во взаимодействие с ненасыщенными олефиновыми фрагментами и практически в используемых концентрациях не проявляет окислительных свойств. Использование хлорной кислоты вместо хлороводородной позволяет сохранить нативную структуру гуминовых кислот без уменьшения степени ненасыщенности субстрата.

Ключевые слова: *пелоиды, гуминовые кислоты, декальцинирование, десульфирование, хлорная кислота, экстракция*

Специфические органические вещества, извлекаемые из низко минерализованных иловых сульфидных грязей, являются соединениями, перспективность использования которых доказана в работах как зарубежных, так и отечественных авторов [1-4]. Наиболее высоко молекулярная фракция гумусовых кислот пелоидов – гуминовые кислоты – обладает выраженной биологической активностью и проявляет иммунопротекторное, антиоксидантное, противовоспалительное и гепатопротекторное действие. Методика выделения гуминовых кислот пелоидов известна [5] и состоит из стадий последовательного осаждения гуминовых кислот серной кислотой и последующей экстракцией последних растворами щелочей. Следует отметить, что десульфирование и декальцинирование нативных грязей осуществляют многократной обработкой образцов 2-х молярным раствором хлороводородной кислоты, которая оказывает влияние на нативную структуру гуминовых кислот, вызывая деструктуризацию последних. Учитывая ненасыщенный характер гуминовых кислот очевидно, что хлороводородная кислота способна присоединяться по алкеновым фрагментам субстанции, понижая ее восстановительные свойства и может включаться в состав конечного продукта.

Аввакумова Надежда Петровна, доктор биологических наук, заведующая кафедрой общей, бионеорганической и биоорганической химии

Кривопалова Мария Ариевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: samchetu@yandex.ru

Фомин Игорь Викторович, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Глубокова Мария Николаевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Шарипова Сафия Хакимовна, кандидат химических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета

Присутствие хлора в биологически активной субстанции является нежелательным фактором. Кроме того, выход гуминовых кислот по методике [4] невелик.

Цель исследования: модификация способа получения гуминовых кислот пелоидов с целью гармонизации состава и увеличения выхода конечного продукта.

Для реализации поставленной цели на стадии декальцинирования и десульфирования вместо хлороводородной кислоты использовали раствор 1 М хлорной кислоты. Предлагаемая методика состоит в следующем: декальцинирование и десульфирование проводили путем многократной обработки образца нативной грязи 1 М раствора хлорной кислоты. Количество циклов составляло 5-6. Далее осадок обрабатывают 0,5 М раствором натрия гидроксида, осаждают 50% серной кислотой. Гуминовые кислоты извлекают 0,1 М раствором натрия гидроксида, осаждают 50% серной кислотой, осадок отмывают водой до отрицательной реакции на сульфат-ионы, растворяют 0,01 М раствором натрия гидроксида, фильтруют, пропускают через катионит КУ-2 в Н-форме, высушивают в тонком слое при температуре 35-40°C с принудительной вентиляцией. Готовый продукт представляет собой темно окрашенные чешуйки со слабым характерным запахом, зольность препарата <1%. Препарат следует хранить в бумажных пакетах с притертой пробкой в защищенном от света месте.

Предлагаемая методика предусматривает использование в качестве сырья низкоминерализованные иловые сульфидные грязи, в которых группа гуминовых кислот наиболее представлена количественно. Декальцинирование и десульфирование образца с помощью раствора хлорной кислоты уменьшает время данной операции, позволяет удалить большинство металлов, увеличивает выход гуминовых кислот, уменьшает воздействие на

нативную структуру органического вещества. Использование на стадии извлечения гуминовых кислот после осаждения серной кислотой 0,1 М раствора натрия гидроксида вместо 0,01 М позволяет сократить количество циклов экстрагирования в 2 раза и повысить выход конечного продукта в 1,7 раза. Уменьшение концентрации раствора натрия гидроксида на последней стадии в 2 раза позволяет увеличить время работы катионита в 1,8 раза и сократить время, затрачиваемое на выполнение данного этапа, сохранив качественные и количественные характеристики субстанции.

Идентификация выделенного препарата и отнесение его к гуминовым кислотам проводились в соответствии с общепринятыми диагностическими признаками, к которым относят элементный состав в массовых и мольных процентах, доля ароматичности (α), степень бензоидности (ω), коэффициент цветности. Содержание углерода и водорода определяли по методу Коршун-Климовой, азота – микрометодом Кьельдаля. Степень окисленности и бензоидности рассчитывали по общепринятой методике Орлова. Результаты проведенных физико-химических экспериментов приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Характеристика гуминовых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей с использованием хлорной кислоты

Элементные соотношения		Степень бензоидности	Степень окисленности	Коэффициент цветности
H/C	O/C			
0,92	0,55	0,336	0,1	2,46

Таблица 2. Элементный состав в мольных и массовых процентах гуминовых кислот

Содержание С, %%		Содержание N, %%		Содержание H, %%		Содержание S, %%		Содержание O, %%	
масс.	мол.	масс.	мол.	масс.	мол.	масс.	мол.	масс.	мол.
52,70	41,44	4,30	2,78	3,52	33,21	2,40	0,71	37,08	21,86

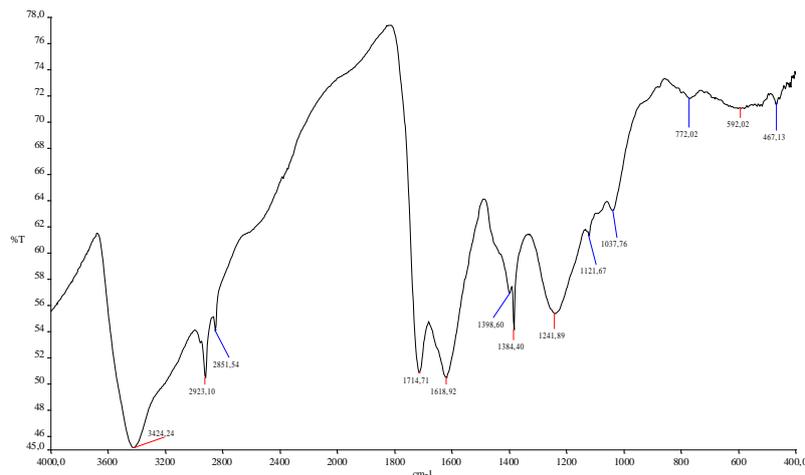


Рис. 1. ИК-спектр пропускания препарата гуминовых кислот, полученных с использованием хлорной кислоты

Таблица 3. Отнесение полос пропускания ИК-спектра гуминовых кислот, полученных с использованием хлорной кислоты

Интервал частот, см ⁻¹	3500-2800	1714	1619	1400-1000
Структурные фрагменты	метильные и метиленовые группы	карбонильная группа	ненасыщенные связи C=C	спиртовые и эфирные связи C-O

Содержание элементов и таких характеристик, как степень бензоидности, коэффициент цветности полученных образцов гуминовых кислот с использованием хлорной кислоты находится в том же интервале значений, которые характерны для гуминовых кислот почв (2) и для образцов, полученных по методике [4]. Спектры поглощения препарата получены на спектрофотометре ИК-Фурье Spectrum 100 (Perkin Elmer), условия записи: интервал длин волн 4000-400 см⁻¹, подавление

сигналов H₂O и CO₂, спектры записаны относительно воздуха. На рис. 1 приведен ИК-спектр гуминовых кислот, а в табл. 3 приведено отнесение полос пропускания. Интерпретация полос пропускания в области 1400-1000 см⁻¹ не является однозначной, так как в ней проявляются деформационные колебания большого числа структурных фрагментов.

Биологическая активность полученного препарата определялась по противовоспалительному

действию на модели адьювантного артрита. Хроническое иммунное воспаление моделировали у белых беспородных крыс массой 180-200 грамм субплантарным введением в правую заднюю лапу 0,1 мл адьюванта Фрейнда (взвесь БЦЖ в вазелиновом масле). Введение гуминовых кислот в виде 0,1% водного раствора (рН=7,4) начинали с 14-го дня после индукции воспаления и проводили ежедневно в течение 12 дней. Воспалительная реакция оценивалась на 3, 7, 12 сутки после начала введения гуминовых кислот, соответственно на 17, 21 и 26 сутки после индукции воспаления. Гистологические исследования проводили, используя кусочки селезенки, печени и лимфатические узлы, которые помещали в 10%-ный формалин (рН=7,2-7,4), проводили через спирты возрастающей концентрации по стандартной методике и заливали в парафин. Срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, азур-эозином. Морфологическое наблюдение осуществляли на автоматизированной аналитической системе, включающей микроскоп «Olympus CX 21 FS 1», цифровую фотокамеру «Olympus» C-4000 ZOOM и системный блок на базе процессора Intel Pentium 4 с использованием программы «Видео-тест-морфо».

В результате проведенных гистологических исследований получены следующие результаты:

- отсутствие признаков токсического действия гуминовых кислот пелоидов на организм крыс при парентеральном введении;

- применение гуминовых кислот пелоидов в значительной степени купировало воспалительный процесс, вызванный парентеральным введением адьюванта Фрейнда. Под влиянием гуминовых кислот в динамике происходило уменьшение количества лимфоидных узелков с герминативными центрами, так и размеров этих центров. У жи-

вотных, которым вводили гуминовые кислоты, в печени сохраняется структура большинства долек, отсутствуют некрозы, а явления кариопикноза и кариорексиса единичны.

Выводы: использование хлорной кислоты и изменение концентраций раствора гидроксида натрия представляется рациональным, так как являясь наиболее сильной минеральной кислотой, хлорная кислота образует с большинством металлов, входящих в состав грязей, растворимые соединения, способствуя высвобождению органического вещества низкой степени минерализации. Хлорная кислота не вступает во взаимодействие с ненасыщенными олефиновыми фрагментами и практически в используемых концентрациях не проявляет окислительных свойств. Использование хлорной кислоты вместо хлороводородной позволяет сохранить нативную структуру гуминовых кислот, без уменьшения степени ненасыщенности субстрата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Аввакумова, Н.П. / Н.П. Аввакумова, Е.Е. Катунина, М.А. Кривопалова и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11, №1(4). С. 1253-1255.
2. Аввакумова, Н.П. / Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопалова, М.Н. Глубокова, Е.Е. Катунина // Труды IV Всероссийской конференции: «Гуминовые вещества в биосфере», Москва, 19-21 декабря 2007. – 137 с.
3. Аввакумова, Н.П. / Н.П. Аввакумова, А.Я. Герчилов, В.Р. Хайруллина, А.В. Жданова // Химико-фармацевтический журнал. 2011. №3 С. 50-51.
4. Аввакумова, Н.П. / Н.П. Аввакумова, А.В. Жданова, М.Н. Глубокова, Ю.В. Жернов // Химико-фармацевтический журнал. 2011. №3, 50-51 (2011).
5. Патент RU 2043107 С1

HARMONIZATION THE WAY OF HUMIC ACIDS RECEIVING

© 2014 N.P. Avvakumova, M.A. Krivopalova, I.V. Fomin, M.N. Glubokova, S.K. Sharipova

Samara State Medical University

The new way of receiving peloids humic acids for the purpose of improvement the structure and output of the final product is offered. Instead of traditionally used hydrochloric acid the chloric acid is offered. Use the chloric acid and change the concentration of solution the sodium hydroxide is represented rational, as being the strongest mineral acid, chloric acid forms with the majority of metals which are a part of mud, soluble compounds, promoting release the organic substance of low mineralization degree. Chloric acid doesn't enter interaction with nonsaturated olefinic fragments and practically in used concentrations doesn't show oxidizing properties. Use the chloric acid instead of chlorine-hydrogen acid allows to keep native structure of humic acids without reduction the degree of substratum nonsaturation.

Key words: *peloids, humic acids, decalcifying, desulfonation, chloric acid, extraction*

Nadezhda Avvakumova, Doctor of Biology, Head of the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry; Maria Krivopalova, Candidate of Chemistry, Associate Professor at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry. E-mail: samchemy@yandex.ru; Igor Fomin, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry; Maria Glubokova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry; Safiya Sharipova, Candidate of Chemistry, Associate Professor at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty