

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САПРОПЕЛЯ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ (п. СОЛЬ-ИЛЕЦК), ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ С СОСТАВОМ САПРОПЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛЕЙ

В.В. ПЛАТОНОВ, А.А. ХАДАРТЦЕВ, К.Я. ФРИДЗОН

Медицинский институт, Тульский государственный университет, ул. Болдина, 128, Тула, Россия, 300028

Аннотация: подробно изучены особенности химического состава сапропеля района Соль-Илецк Оренбургской области; выполнено биологическое тестирование сапропелевых препаратов; проведен сравнительный анализ химического состава сапропеля, а также флоры, фауны, луговой, высшей растительности, водорослей с составом органического вещества сапропеля. Установлена генетическая связь химического состава сапропеля, растительного и животного материала, участвовавшего в образовании последнего, с биологической активностью сапропелевых препаратов.

Ключевые слова: сапропели, ИК-Фурье спектроскопия, жидкостная хроматография, УФ/ВИС спектроскопия.

CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SAPROPEL IN THE ORENBURG REGION (V. SOL-ILETSK), GENETIC LINK WITH THE COMPOSITION OF THE SAPROPEL FORMERS

V.V. PLATONOV, A.A. KHADARTSEV, K.YA. FRIDZON

Medical Institute, Tula State University, str. Boldin, 128, Tula, Russia, 300028

Abstract. The features of chemical composition of sapropel in district Sol-Iletsk (Orenburg region) were studied in detail. Biological testing of sapropel preparations was carried out. Comparative analysis of the chemical composition of sapropel and flora, fauna, meadow, higher plants, algae with a composition of organic matter sapropel was made. Genetic link of chemical compound of sapropel, plant and animal material, participating in the formation of the latter, with biological activity sapropel drugs was established.

Key words: sapropel, IR-Fourier spectroscopy, liquid chromatography, UV/VIS spectroscopy.

Согласно [1-3] сапропелеобразование может быть представлено следующим образом. Быстро размножаясь, простейшие растительные и животные организмы, накапливаются в огромных количествах, отмирают и откладываются в виде ила. Осаждение исходного материала ускоряется процессами коагуляции, обусловленными присутствием в воде *гуминовых веществ* (ГВ), солей железа, кальция и магния. Летом в открытых водоемах развиваются многообразные представители фитопланктона, прежде всего сине-зеленые и зеленые водоросли, занимающие главное место среди предшественников сапропеля. После отмирания водоросли, обогащенные белком, клетчаткой, жирами, фосфором, кальцием и калием, становятся компонентами сапропеля. В [4] показано, что водоросли являются поставщиками самых различных аминокислот, сахаров, водорастворимых карбоновых кислот, окси- и кетокислот, широкого спектра витаминов, алкалоидов, каротина, стероидных соединений. Значительное влияние на формирование химического состава сапропелей оказывают высшая растительность и остатки животных, береговой флоры и фауны, заносимых ветром и сточными водами. Накапливающийся на дне водоема материал под влиянием ферментов, микро- и макроорганизмов подвергается дальнейшим глубоким преобразованиям. В образовании сапропелевых отложений наряду с органическим материалом участвуют минеральные компоненты.

Таким образом, основным процессом в сапропелеобразовании является разложение органического вещества растительного и животного происхождения в поверхностных слоях сапропеля – в пограничной зоне вода – ил, главным образом под влиянием микроорганизмов. По мере углубления в толщу ила уменьшается количество кислорода и накапливается все больше продуктов обмена веществ. Постепенно снижается активность микроорганизмов и, по-видимому, они переходят в состояние анабиоза, а затем погибают.

Следует отметить, что роль микроорганизмов в сапропелеобразовании не исчерпывается разложением исходного органического материала; они синтезируют новые соединения, необходимые для собственной жизнедеятельности. Последние, ровно как и продукты их метаболизма, остаются в формирующейся сапропелевой залежи.

В сапропелях, представляющих собой геологически молодое образование, установлено присутствие до 16 аминокислот, в т.ч.: незаменимых (лейцин, лизин, метионин, треонин, фенилаланин), присутствие которых указывает на преимущественно белковую природу азота сапропелей [7]; углеводов (глюкозы, галактозы, арабинозы, ксилозы и рамнозы); полипептидов, 5-ти и 6-членных содержащих азот гетероциклических

соединений, ванилина, сиреневого и параоксibenзальдегида, являющихся фрагментами ароматических структур высшей растительности; разнообразных пигментов, в частности, порфиринов и каротиноидов, флавоноидов, ксантонов, большой группы витаминов (В₁, В₃, В₆, В₁₂, С, D, E, РР и др.), стероидных соединений, ликопина, неоксантина, зеаксантина, виолаксантина, хлорофилов.

Все это указывает на чрезвычайную сложность состава органической массы сапропелей, многообразии растительного и животного материала, участвовавшего в его образовании, и путей биогеохимического преобразования последнего в сапропелевую залежь.

Присутствие в сапропелях широкого спектра соединений, перечисленных выше, определяет его высокую биологическую активность и активное применение, например, в медицине: положительное влияние на нервную, эндокринную, сердечно-сосудистую системы; улучшение состояния опорно-двигательного аппарата, стимуляция метаболических процессов в печени; быстрое прекращение воспалительных процессов, хорошее излечение экзем, дерматитов, ожогов, флегмонов, маститов; усиление фагоцитарной активности лейкоцитов в крови.

Цель исследования – подробное комплексное изучение особенностей химического состава и биологической активности сапропеля п. Соль-Илецк Оренбургской области, сравнительный анализ структуры соединений сапропеля и растительного материала, участвовавшего в его образовании, с установлением генетической связи состава сапропеля и биологической активности препаратов на его основе, с составом биоматериала Оренбургской области.

Характеристика объекта исследования. Объект исследования – кремнезенистый сапропель п. Соль-Илецк Оренбургской области, плотный, серовато-оливкового цвета, с включением песчинок.

Влажность (W^d, масс. % на исходный сапропель) – 20,3; зольность (A^c, масс. % на воздушно-сухой сапропель) – 92,9; элементный состав (масс. % daf): С – 56,0; Н – 18,4; N – 0,9; O+3 – 24,7.

Групповой состав изучался последовательным выделением *битумов* (Б), *водорастворимых* (ВРВ), *легкогидролизующихся* (ЛГВ) веществ, *уроновых кислот* (УК) и *гуминовых веществ* (ГВ), *целлюлозы* (Ц), *лигнина* (Л) и *негидролизующего остатка* (НГО).

Битумы извлекали последовательной экстракцией воздушно-сухого сапропеля дистиллированной водой (ВРВ) – 0,14; гексаном – 0,13; толуолом – 0,03; смесью бензола – этанола (1:1) об., – 0,31 (масс. %).

Остаточный сапропель (I) в течение 2 час. кипятили с хлороводородной кислотой с массовой долей 2% (ЛВГ) – 8,83%

Остаточный сапропель (II) в течение 2 час. кипятили с хлороводородной кислотой массовой долей 12% (УК) – 7,30%;

Остаточный сапропель (III) в течение 2 час. кипятили с 0,1-м раствором *гидроксида натрия* (ГВ), при нейтрализации которых хлороводородной кислотой массовой долей 5% получили гуминовые – 2,70 и фульвокислоты – 0,84%. Обработкой остаточного сапропеля (IV) смесью диоксан: Н₂O (10:1) об. выделили *лигнин* (Л) – 0,07; после чего *гидролизом остатка* (V) серной кислотой массовой долей 80% выделили *целлюлозу* (Ц) – 6,48; *негидролизующий остаток* (НГО) составил ~ 73,0 масс.% от *органической массы сапропеля* (ОМС).

Все полученные групповые составляющие сапропеля были исследованы комплексом методов, включая: элементный, количественный, функциональный, рентген-флуоресцентный, эмиссионный и атомно-абсорбционный анализы, ИК-Фурье и УФ/ВИС – спектроскопию, тонкослойную и адсорбционную колоночную жидкостную хроматографию, хромато-масс-спектрометрию, криоскопию по Рау в камфоре и 2,4,6-трибромфеноле.

В составе ВРВ, ЛГВ, УК и ФК тонкослойной хроматографией с использованием набора индивидуальных соединений и специфических реакций были определены *аминокислоты* (16 компонентов): лейцин, фенилаланин, валин, L-α-аланин, глицин, аспарагин, аргинин, лизин, гистидин, аспарагиновая кислота, тиразин, цистеин, триптофан, глутамин, серин, изолейцин. Содержание суммы аминокислот варьирует от 12,8 (ВРВ) до 793,5 (ЛГВ) (масс. % · 10² от сапропеля).

Сахара (арабиноза, Д-галактоза, Д-глюкоза, L-рамноза, лактоза): от 0,72 (ВРВ) до 169,0 (УК) (масс.% 10 от исходного сапропеля).

Водорастворимые карбоновые кислоты, в т.ч.: щавелевая, янтарная, адипиновая, пимелиновая, винная, яблочная, салициловая, о-фталевая, галловая, феруловая, ванилиновая, сиреневая, терефталевая – от 0,25 (ВРВ) до 146,0 (УК) (масс. % от сапропеля).

Особое внимание в исследовании особенностей качественного химического состава ОМС было уделено подробному изучению различных экстрактов и *гуминовых кислот* (ГК), на долю которых приходится основная часть гидролизующихся и легковыделяемых компонентов сапропеля.

Гексановый экстракт (0,13 масс. % от воздушно-сухого сапропеля), средняя молекулярная масса 306 а.е.м.; элементный (масс.% daf): с 45,9 Н 6,4, N 0,1, O+S 47,6; функциональный состав (мг-экв г): *фенольные* (ФГ) – 0,39, *кетонные* (КГ) – 1,89; *хиноидные* (ХГ) – 0,10; *карбоксильные* (КрГ) группы – 0,43, *йодное число* (ИЧ) – 0,10.

По внешнему виду экстракт – высоковязкая жидкость со специфическим луковым запахом, с выпавшими желтыми игольчатыми кристаллами. В составе экстракта идентифицированы: Al, Si, Fe, Cu, Zn, Br, Ag. ИК-Фурье спектр гексанового экстракта характеризуется полосами поглощения (ν см⁻¹):

– очень интенсивными CH -, CH_2 - и CH_3 - групп алкановых и циклоалкановых структур (2976, 2925, 2860, 2740, 1480, 1465, 1450, 1385, 1310, 1260, 980, 730);
 – слабыми ароматических ядер (3100-3000, дублет 1600/1500, серия п.п. 1200-900 и 900-650);
 – средней интенсивности п.п. карбонильных и карбоксильных групп (1720-1700, 1315-1280, 2680, 2740, широкие 3100-2500 и 960-875);
 – примесь ненасыщенных двойных связей (1650, 1600, 990, 960, 680).

Наличие в УФ/ВИС спектре максимумов поглощения (250, 272 и 430 нм) свидетельствует о присутствии в экстракте кетонов и карбоновых кислот циклического или ненасыщенного типа, не исключено, три-терпеноидного или стероидного типа.

Желтые кристаллы экстракта нерастворимы в воде и полярных органических растворителях; растворялись в большом избытке неполярных (н-гексан, толуол), в уксусной и разбавленной HCl (при кипячении).

Элементный состав (масс.% daf): C 50,1, 49,9; в зольном остатке (26,2%) обнаружены: Al (основа); примесь C, Si, Fe, Ni, Mg, K.

Игольчатые кристаллы являются кристаллогидратом алюминиевой соли бензолгексакарбоновой (меллитовой) кислоты минералом меллитом, который под названием «медовый камень» был ранее обнаружен в бурых углях. В сапропеле меллит найден впервые.

Толуольный экстракт – коричневатый кристаллический порошок со следующими характеристиками: зольность – 4,7 (масс. % от воздушно-сухого экстракта); (масс.% daf): C 47,8, 48,0; N 0,3, O+S 43,9; функциональный состав (мг–экв/г 1 г): ФГ – 0,51, КГ – 0,82, ХГ – 1,26, КрГ – 0,25, ИЧ – 0,28.

В ИК–Фурье спектра идентифицированы п.п (ν , см^{-1}):

– очень интенсивные CH -, CH_2 - CH_3 - групп алкановых циклоалкановых фрагментов (2960, 2925, 2875, 2740, 1470, 1440, 1475, 1380, 1300, 1270, 1260, 970). Широкая интенсивная п.п. (1380) свидетельствует о преимущественном связывании CH_3 -групп с неароматическими фрагментами; очень интенсивная п.п. (720) – о наличии длинных алкильных цепей (CH_2) и ($n \geq 5$), средняя длина которых оценивается серией п.п. (1100–1000) и составляет C_{21} ;

– достаточно интенсивные п.п. ароматических циклов (3080–3030, 3100), дублет 1600/1500, с намного более высокой интенсивностью низкочастотной полосы указывает на доминирование неконденсированных ароматических циклов (серия п.п. 900–650 и 1200–905);

– средней интенсивности п.п. простых эфиров (2990, 2815, 12510, 1150, 1070), кетонных групп (1720, 1710, 1700, 1960), первичных и вторичных алифатических аминов (3350-3310, 1580, 1490, 01360-1259, 1280-1180), двойных связей (1648, 1680, 895, 805, 680), возможно терпенов;

– малоинтенсивные п.п. хиноидных групп (1675, 1645), сложных эфиров и лактонов (1780, 1760, 1750, 1740), включая и метиловые эфиры (1440-1435, 1365-1356, 1155, 1135, 790-760);

– серия довольно интенсивных п.п. в регионе (2800–2700) предположительно отнесена к хинолизидину, морфолину или N-этилпирдину.

Максимум поглощения (450 нм) в УФ/ВИС-спектре может быть обусловлен каротиноидами, производными витамина А, а также α -дикетонами или ненасыщенными катенами; (545 нм) – флавоноидами, (603) – пиррольными пигментами.

Бензольно-этанольный экстракт. По внешнему виду – зеленоватое мазеподобное вещество с включениями блестящих звездчатых кристаллов; зольность 6,56 (масс. % от экстракта), средняя молекулярная масса (а.е.м) – 315; элементный (масс. % daf): C 47,4, H 11,5; N 1,9, O+S 39,2; функциональный состав (мг–экв/г): ФГ – 1,31, КГ – 0,95, ХГ – 1,17, КрГ – 0,03, ИЧ – 0,33.

В ИК-фурье спектре идентифицированы п.п. следующих структурных фрагментов (ν , см^{-1}):

– интенсивные п.п. алкановых и циклоалкановых фрагментов (2960, 2925, 2875, 1475-1440, 1380, 1270, 1260, 970) со значительно меньшим вкладом ароматических бициклических, преимущественно ортодизамещенных, вероятно, нафталиновых (3080-3030, дублет 1600/1500, 1275-1175, 1070-1000, 770-735, 750) и сложноэфирных групп (1190, 1165, 1050);

– интенсивные п.п. кетонных групп (1745, 1715, 1100), включая ненасыщенные кетоны (1675) или α -гидроксикетоны; α (1740-1720, 1650-1620, 1570-1540) и в меньшей степени γ -пироновых циклов (1650-1600, 1680-1650, 1590-1560);

– двойные связи (1650, 1600, 990, 960, 680), эпокси-группы (3040, 3000, 1250, 1035–1000, 900-800, 950-810 840-750) и сопряженные пиррольные циклы, вероятно, порфиринов или хлорофилла (3490, 3150, 3050, 1526, 1040, 750-690);

– широкие малоразрешенные п.п. в регионе (1300-1150, 1150-950) предполагают присутствие спиртов три-терпеноидного и стероидного ряда, а также углеводов (940-930, 917, 892, 840, 770).

Данные ИК-Фурье спектроскопии подтверждаются УФ/ВИС спектроскопией. Так, максимумы поглощения (212 и 270 нм) отвечают нафталиновому кольцу; (270 и 470 нм) – α -, β - ненасыщенным кетонам; (451 и 470) – каротиноидам; (408, 525 и 760 нм) – порфириновым структурам, плечо (625 нм) – хромонам.

В бензольно-этанольном экстракте концентрируется основная доля пиррольных и каротиноидных пигментов, флавонолов, чем объясняется его зеленоватая окраска.

Принимая во внимание сложность и полифункциональность бензольно-этамольного экстракта, а также основную задачу исследования – полное детальное изучение химической структуры компонентов сапропеля, экстракт был дополнительно разделен на ряд узких элюатов методом адсорбционной жидкостной хроматографии на модифицированном силикагеле марки АСКМ, последовательным элюированием соединений органическими растворителями по мере возрастания их диэлектрической характеристики. Были получены: гексановый (5,06), гексан-бензольный (1:1)об – (0,21), бензольный (0,17), хлороформный (3,32), ацетоновый (7,07), этанольный (49,88) и этанол-уксуснокислотный элюаты (30,33%), масс.% от экстракта.

Элюаты были охарактеризованы комплексом физико-химических методов анализа, перечисленных выше.

Гексановый элюат. Желто-оранжевое мазеподобное вещество, согласно данным ИК-Фурье спектроскопии (ν , см^{-1}), основу которого составляют алканы с примесью циклоалканов (2970, 2940, 2880, 2870, 1470, 1460, 1380, 1260, 725, 970, 750, 740). Ароматических соединений нет (отсутствие п.п. в регионе 3080-3010 и дублета 1600/1500).

Серия п.п. (1185-1175) типична для простых эфиров циклического типа; п.п. (1080) – для циклических спиртов или связей (Si-o-Si).

В качестве примеси присутствуют сложные эфиры, возможно, лактоны (1750, 1740) и флавоноиды (3105, 1750, 1760, 1615); две характерные п.п. α -пиренового цикла (1650-1630 и 1570-1520). Непредельные связи (1680, 1645, 680) предположительно обусловлены каротиноидами.

Максимумы поглощения 450 нм (УФ/ВИС) соответствуют флавоноидам или каротиноидам; 210 нм – ненасыщенным амидам и лактонам, α -, β -ненасыщенным кислотам, 365 нм – производным метоксикоричной кислоты.

Бензольный элюат. Светло-желтое мазеподобное вещество.

Для ИК-Фурье спектра (ν , см^{-1}) характерными являются п.п. алканов, циклоалканов (2975, 2950, 2875, 2850, 1470, 1460, 1380, 1260, 970, 725) и ароматических циклов (3080-3030, дублет 1600/1500, 1525, 1455, 1070-1000, 860-800, 840-750).

Присутствуют п.п. пиррольных и пиридиновых циклов (3480, 3400-3200, 1565, 1525), хиноидных групп (1675, 1645), тетрапиррольных пигментов (3490, 3120-3100, две полосы в области 1600-1500), кумаринов и изокумаринов (1740-1725, 1650-1620, 1570-1540); 5- и 6-членных циклических кетонов (1745, 1715), эпоксигруппы (широкая п.п. 1275).

Наличие в УФ/ВИС-спектре максимума поглощения 225 нм указывает на присутствие производных циклопентанона и циклогексанона; (355 нм) – производных акридина; (450 нм) – флавоноидов или каротиноидов; (450, 460, 500 нм) – производных микоксантина, виолаксантина или тараксантина; (460, 500, 530, 620 нм) – пигментов пурпурных бактерий, хлорины или пурпурины (700 нм).

Хлороформный элюат. При использовании хлороформа на хроматографической колонке наблюдалось четкое разделение элюата на 4 узкие субэлюата, каждый из которых отбирался и анализировался отдельно.

1. Хлороформный субэлюат 1

Субэлюат 1 желто-зеленого цвета; выход – 0,84 (масс.% от экстракта).

В ИК-Фурье-спектре (ν , см^{-1}) основным п.п. являлись CH -, CH_2 - и CH_3 -групп алкановых и циклоалкановых фрагментов (2950, 2925, 2850, 1470, 1460, 1450, 1380, 1370, 1355, 1260, 980, 970, 725), наряду со следовыми количествами ароматических циклов (3060-3010, 1600/1500).

Сери п.п. (1190, 1180, 1170, 1160) обусловлена спиртами, простыми эфирами; (1720-1710) – карбоксильными группами; (1750, 1745, 1730) – лактонными циклами; (1900; 1880) – циклическими ангидридами и 5-членными лактонами; (3430, 3125-3100, две п.п. в регионе 1600-1500) – пиррольными пигментами порфиринового типа; (795) – первичные амины.

УФ/ВИС-спектр указал на присутствие бактериофеофитина или флавонолов (450 нм); (550 и 590 нм) – производных феофитина.

2. Хлороформный субэлюат 2

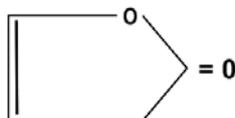
Субэлюат 2 светло-желтого цвета; выход 1,17 (масс.% от экстракта)

В ИК-Фурье спектре присутствуют п.п. фрагментов (ν , см^{-1}):

– конденсированных ароматических циклов (3030, дублет 1600/1500, 1580);

– индолов, пирролов, возможно алкалоидов (3400-3200, 3490, 1565, 1560, 1525, 1500), амидов и лактонов (3300, 1690-1650, 1610, 1300-1260), хинонов (1675), карбоксильных групп (1700, 1300; узкая п.п. (3100-2500; 3580, 1315-1280, 2220, 2310, 1100-1000, 960-875)

– серия п.п. (1760, 1745, 1730, 1720) принадлежит сложным эфирам, α -пиранам и лактонам; (1325, 1810, 1800, 1300-1050) – циклическим ангидридам, 5-членным лактонам; (1885-1850) – α -, β -ненасыщенным γ -лактамом и структурам типа:



Общий вид УФ/ВИС-спектра свидетельствует о присутствии в данном субэлюате ненасыщенных амидов и лактонов (210, 230, 250 нм), α -, β -ненасыщенных кислот (210 нм), производных бензойной кислоты (230, 275 нм), метоксипроизводных тетралонов, оксооктагидрофенантрена.

Максимумы поглощения (230, 250, 275, 290 нм) могут быть обусловлены индольными алкалоидами, предположительно, производными аллоихимбина; (560 нм) – пигментами афис; (310, 460 нм) – производными холестадиена, возможно, ацетофенона (310 нм) и камфорхинона (460 нм); (460 530 нм) – производными β -каротина или неоликопина.

3. *Хлороформные субэлюаты 3 и 4.* Выход субэлюатов 3 и 4 составил 0.41 и 0.90 (масс.% от экстракта, соответственно).

Общий вид ИК-Фурье спектров для субэлюатов 3 и 4 практически одинаковый (ν , см^{-1}).

Интенсивные п.п. C-H -, C-H_2 - и C-H_3 - групп алкановых и циклоалкановых структур с преобладанием последних (2950, 2925, 2850, 1470, 1460, 1380-1370, 1260, 970, 730-710), причем длинных алкильных цепей мало, на что указывает пониженная интенсивность в регионе (730-710). Вклад ароматических структур не высок, судя по интенсивности п.п. (3060 и дублета 1600/1500).

Существенным является содержание гидроксильных групп (3440, 1200, 1310).

Серия п.п. (1660, 1650, 1630) характеризует наличие монозамещенных гуанидина или производных хлорофилла, в пользу которых свидетельствует серия п.п. характерных для пиррольных циклов (3490, 3125, 3100; две п.п. в регионе 1600-1500) максимумы поглощения в УФ/ВИС-спектре (340, 400, 650, 770 нм), обусловленные производными бактериохлорофиллов « ϵ » и, возможно, « ω »; хлорофилла «с» (450, 650 нм), феофетина « α » (595, 650 нм).

Заметным в ИК-Фурье-спектре являются п.п. двойных связей (3080, 1660, 1600, 1415, 2975), несколько п.п. в области (990, 800-650), хиноидных (или кетонных групп), сопряженных с двойными связями (1675, 1645).

Максимумы поглощения (240, 260, 340 нм) в УФ/ВИС-спектре субэлюата 3 говорят о присутствии метоксикумаринов; (260, 280 нм) – производных фенилкетонов, ненасыщенных кетонов, хинонов, витамина К (200 нм), ацетофенона (280 нм), производных пиперидина (200 нм), дитерпенов (240 нм) – производных абиетиновой кислоты. В субэлюате 4 (УФ/ВИС-спектр) присутствуют: производные хлорофилла « α » (370, 440, 500, 570, 670 нм) и « β » (440, 460, 670 нм), дейтеропорфиринов (500, 525, 570 нм, полоса Core 408 нм); феофорбида « α » (408, 440, 610, 670 нм), феофетина « α » или пурпурина (500, 670 нм), микоксантина (виолак-сантина или тараксантина) (440, 460, 500 нм); возможно присутствие каротиноидов – производных β -каротина и ликопина (440, 460, 340 нм), енонов, производных пиридина и оксипиридина (265, 300 нм), β -иона (300, 340 нм). Интенсивными в спектре являются максимумы (670, 610, 500 нм), характерные для гиперидинов.

Ацетоновый элюат. Элюат имеет черно-коричневый цвет, твердый; выход – 7,07 (масс.% от экстракта).

ИК-Фурье спектр элюата характеризуется интенсивными п.п. (ν , см^{-1}) C-H -, C-H_2 -, C-H_3 - групп циклоалканов и алканов, длинные алифатические цепи отсутствуют (2950, 2925, 2850, 1460, 1375, 1255, 970, слабая п.п. 720).

Основными заместителями циклоалканов и ароматических колец являются метильные.

Присутствие ароматических циклов несущественно (пл. 3040-3010, дублет 1600/1490).

Повышенной интенсивностью в спектре отличаются п.п. аминов (3400, 1650-1590, 835, широкая п.п. 850-750), преимущественно первичных, и средней – лактонов (13400, двойных связей (1810, 1680, 680).

Полифункциональность элюата обусловлена кетонами – арилкетонами, 7-членные кетоны, дикетоны (1725, 1720, 1705, 1690); карбоновыми кислотами (1725–1705), сложными эфирами и лактонами (1756, 1740), циклическими простыми эфирами (широкая п.п. 1280–1150); возможно также присутствие спиртов и фенолов (3400-3200, 3400, 1410-1310, 1200-1100), сульфидов (705-570, 655-605).

Многочисленные п.п. в регионе (1125-1000) типичны для углеводов.

Максимумы поглощения в УФ/ВИС-спектре элюата (нм): (250) – производные абиетиновой кислоты или, возможно, стероидным кетонам (250), производным микомидина (250, 305), флавоноидам (260, 305, 395), хлорофиллам «с» и «d» (460, 560), β -каротина и ликопина (460).

Этанольный элюат. Представляет собой коричневое с зеленовато-оливковым отливом мазеподобное вещество с включениями блестящих кристаллов бледно-желтого цвета; выход элюата – 49,88 (масс.% от экстракта).

В ИК-Фурье спектре проявляются п.п. (ν , см^{-1}):

– очень интенсивные (3670, 3580, 3480), отвечающие связи Si–OH, в т.ч. в сочетании с органическими структурами.

– очень низкая интенсивность п.п. ароматических циклов (3050-3030, 1600/1500, при большей интенсивности п.п. C-H -, C-H_2 -, C-H_3 - групп алифатических и циклоалкановых структур (3000-2800, 1470, 1385, 1660).

Серия п.п. в области «карбонильного поглощения» (1780, 1745, 1730, 1720, 1700, 1690) обусловлена наличием разнообразных функциональных групп (кетонных, карбоксильных, сложноэфирных и лактонных); п.п. (1680-1630 и 1630-1540а) характерны для сопряженных ненасыщенных связей; п.п. (1160-1030) – высокомолекулярных стероидных спиртов.

Этанольно-уксуснокислотный элюат. Элюат твердый, неоднородный, визуально различимы бесцветные и зеленоватые кристаллы с коричневыми включениями.

Наиболее интенсивны в спектре (ИК-Фурье) п.п. (ν , см^{-1}) (3430, 1240) – гидроксильных групп для соединений сложной структуры, типичной для стероидных спиртов.

Ароматические циклы представлены в следовых количествах (3060-3020, дублет 1600/1500), в то же время высокая интенсивность п.п. алкановых, включая длинные алкильные цепи, и циклоалкановых структур (3000-2800, 1470, 1460, 1380, 1260, 965, 925, 725); сопряженных непередельных связей (1675-1665, 1650, 1640, 1630).

Протяженные максимумы п.п. (1735-1730 и 1745) – сложноэфирные и циклические лактонные группы, включая флавоноиды и производные кумаринов.

Среднеинтенсивные п.п. (620, 570) характерные для аминов и амидов; (1610-1550, 1420-1300) – для солей карбоновых кислот.

Цель детализации изучения структурных особенностей ОМС с учетом полифункциональности ее соединений поставила задачу более глубокого разделения толуольного экстракта методом препаративной тонкослойной хроматографии на узкие субфракции и индивидуальные компоненты.

Препаративная ТСХ выполнялась на пластинках «Silyfol» (ЧССР) размером 20x20 см, неактивированных, длина пробега смеси растворителей 15 см, использовался вариант восходящей ТСХ; система растворителей: хлороформ : бензол : ацетон (90:1:5) об.

Элюат был разделен на 21 узкую субфракцию, каждая из которых была охарактеризована комплексом физико-математических методов анализа, специфическими реакциями на функциональные группы, как, например, реактив Фурта-Хефманна (уксусная кислота : пиридин 1:9), метанольный раствор FeCl_3 с массовой долей 2%, водный раствор КОН с массовой долей 30% в метаноле, 0,4%-ный раствор *n*-нитроанилина в 0,33 N HCl; 1,0%-ный раствор NaNO_2 ; мочевины: вода=1:1:1:7, метанольный раствор *n*-аминодиметиланилина и SbCl_3 в CH_3OH ; этанольный раствор AlCl_3 (реактив Розенгейма), хлороформ, трихлоруксусная кислота.

Были идентифицированы: галлат меди, *n*-аминосалицилат натрия, бактериохлорофилл «а», гризеоксантон, ликоподин, стипитатовая кислота, криптоксантин, витамин К, эргостенилацетат.

Изучение гуминовых кислот. Одной из составных частей ОМС являются ГК, структура соединений которых во многом определяет такие важные в практическом отношении качества сапропелей, как биологическая активность, биохимическая устойчивость, бальнеологические свойства и др.

Выход ГК составил 2,7 (масс.% от воздушно-сухого сапропеля); значение средней молекулярной массы (а.е.м.) – 1128, элементный (масс.% daf): с 58,9, Н 4,5, О+S 31,8; функциональный состав (мг-экв/г): ФГ 3,75, КГ 0,61, ХГ 2,72, КрГ 0,26.

В ИК-Фурье спектре ГК были идентифицированы п.п. (ν , см^{-1}):

– ароматические, преимущественно неконденсированные циклы (4000-3000, дублет 1600/1500, 1450, 1228); циклоалканы и алканы (2960, 2920, 2860, 2850, 1470, 1380, 725); фурановые гетероциклы (3165-3125, 1550, 1495, 1030-1015, 870, 800-740);

– очень интенсивные п.п. кислородосодержащих функциональных групп: фенольных и вторичных спиртовых (3550-3800, 3630, 3615, 1410-1310, 1200), карбоксильных (2600, 1720-1700, 1300), включая карбоксилат-ионы солей металлов (1610-1550, 1400, 570-515, 470), метоксильных (2850-2830), хиноидных (1675, 1645), сложноэфирных и кетонных (1740-1735, 1175, 960), циклических агидридов (1850-1835, 1785-1765), тропонов и трополонов (1650), аминогруппы и пиррольные циклы (3550-3300, 3200, 1680, 220-1800).

Данные УФ/ВИС-спектроскопии подтвердили и уточнили результаты ИК-Фурье спектроскопии. В ГК содержатся полициклические хиноны и пиррольные пигменты (503, 525, 538, 572, 610, 615 нм), π -комплексы фенольных гидроксидов и хиноидных групп с металлами (442, 445 нм), хлорофилл «с», феофетин «а» (503 нм).

Биологическое тестирование гуминовых кислот и отдельных сапропелевых препаратов. В качестве штаммов микроорганизмов использовались культуры, выделенные при острых воспалительных процессах от больных.

Антибактериологическое воздействие ГК и сапропелевых препаратов (бензольно-эталонный экстракт, толуольный элюат) исследовалось на штаммах *St. aureus*-260, *E.coli*, *Candida* – представителях кокковой, палочковидной и грибковой групп микроорганизмов. На поверхность нейтрального питательного агара наносился 1 мл физиологического раствора, в котором суспензировано 10^6 клеток *St. aureus*-260 или *E.coli*. Для грибов рода *Candida* применялась специальная стандартная среда Собоуро, изготовленная ГНЦПМ. Клетки на поверхности сред распределялись шпательем, среды подсушивались. На приготовленные таким способом питательные среды накладывались диски из фильтрованной бумаги (фильтр «белая лента»), пропитанные исследуемыми ГК, экстрактом и элюатом различной концентрации. Чашки Петри с питательными средами и препаратами помещались в термостат при 37⁰С сроком на 1-5 сут. Рост бактериального «газона» на чашках Петри просматривался ежедневно. При бактерицидном воздействии сапропелевых препаратов вокруг дисков образуются зоны просветления разной степени выраженности в зависимости от токсичности для бактерий данного препарата, в котором отсутствует рост микроорганизмов.

Результаты исследования фиксировались при помощи компьютерно-телевизионной системы, соединенной со световым микроскопом.

Результаты данного исследования позволили сделать следующие выводы. ГК, бензольно-этанольный и толуольный экстракты сапропеля проявляют значительный бактерицидный эффект по отношению к стандартным грамположительным и грамотрицательным бактериям *St. aureus*, *E.coli* и дрожжеподобным грибам рода *Candida*, сравнимый с таковым у промышленно выпускаемых антибиотиков.

Выявлена четкая тенденция избирательного воздействия исследуемых препаратов: бактерицидным эффектом по отношению к *E.Coli* обладают только ГК; бензольно-этанольный и толуольный экстракты проявляют наиболее высокую антибиотическую активность к *St. aureus*-260. максимальный лизис дрожжеподобных грибов рода *Candida* вызывает гексановый экстракт.

Сделана попытка установления взаимосвязи особенностей молекулярной структуры соединений сапропеля с физиологической активностью препаратов на его основе. Присутствие в составе толуольного и бензольно-этанольного экстрактов гризеоксанта, *n*-аминосалицилата натрия, галлата меди, бактериохлорофилла «а», ликоподина, криптоксантина, витамина К, эргостенилацетата, каротиноидов, хлорофиллов, терпенов и их производных, флавонолов, ненасыщенных кетонов, γ -пироновых циклов, углеводов, хромонов, ненасыщенных амидов, лактонов, индольных алкалоидов, производных холестерина объясняет высокую физиологическую активность сапропеля в целом, а также препаратов на его основе.

Так, *n*-аминосалициловая кислота и ее производные обладают бактериостатической активностью в отношении ликобактерий туберкулеза [5], соли галловой кислоты увеличивают амплитуду сердечных сокращений [6], хромофорные группы хиноидной структуры – противоопухолевые свойства; фенольные соединения толуольного и бензольно-этанольного экстрактов: капилляроукрепляющее, спазмолитическое действие, противовоспалительная, антиоксидантная, противоязвенная активность – ингибирование окислительных процессов; витамин К – антигеморрагический агент, активирующий факторы свертывания крови путем γ -карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты. Производные кумаринов, галловой кислоты обладают Р-витаминной активностью, иохимбин вызывает адренолитический эффект. Каротиноиды, производные хлорофиллов – участники переноса электронов в важнейших процессах метаболизма живых организмов. Мелитт – компонент гексанового экстракта, содержащий шесть карбоксильных групп, способен связывать ионы тяжелых металлов, радионуклиды.

Одной из задач настоящего исследования являлось установление генетической связи химического состава сапропеля, экстрактов и ГК, выделенных из последнего, и их биологической активности с особенностями состава флоры и фауны Соль-Илецкого района Оренбургской области, значительную часть которого занимают массивы песчаных степей. Для песчаных степей характерны корневищные растения: волоснец гигантский, осока лигарийская, пырей ползучий, овсяница Беккера, тырса, тонконог сизый, астрал песчаный, маголоватка киргизская, катран татарский; в поймах – тополевики, заросли ветлы, кустарниковых ив, чернольшанники; в притеррасных понижениях березово-осиновые урочища; лесополосы из карагоча, клена, ясеня зеленого, смородины золотистой. Кроме того, распространены пижма, полынь, бессмертник песчаный, ромашка аптечная, щавель конский, татарский колючий. В гидросфере: телорез, рдесты, осока бутылчатая, синие, сине-зеленые, диатомовые, харовые, нитчатые, красные и бурые водоросли. Сравнительный анализ химического состава сапропеля, гуминовых, фульвокислот, уроновых кислот, различных экстрактов, выделенных из сапропеля, с составом флоры и фауны перечисленной выше, позволяет констатировать, что существует четкая корреляция между химическими составами продуктов сапропеля и флоры, фауны района Соль-Илецк с биологической активностью сапропелевых препаратов. Значительная часть соединений растительного и животного материала сохраняется в сапропелевой залежи в нативном виде, определенная часть подвергается сложным биохимическим преобразованиям с накоплением в залежи новых биохимически устойчивых соединений [10].

Поэтому, несомненно, возможно научное предсказание биологической активности сапропелей с учетом состава водорослей, луговой, высшей растительности, зоопланктона.

Например, в доминирующих в районе Соль-Илецка растениях пырей ползучий, осока песчаная, льнянка обыкновенная, овсянка Беккера, клен, ясень зеленый, осина, береза отсутствуют соединения со структурой антрахинона и его производных [7-9], что также отмечается и в составе органического вещества изученного сапропеля. Однако значительно содержание алкалоидов, абиетиновой и дегидроабиетиновой кислот, производных пиридна, пиперидина, стеролов, также характерных для сапропелевых продуктов.

Выводы:

1. Комплексом современных физико-химических методов, включая элементный, количественный функциональный, рентгено-флуоресцентный и атомно-абсорбционный анализы, ИК-Фурье, УФ/ВИС-спектроскопию, хромато-масс-спектрометрию, тонкослойную и колоночную жидкостную хроматографию, криоскопию, выполнено подробное изучение вещественного состава сапропеля района Соль-Илецк Оренбургской области.

2. Выявлены структурные особенности соединений органической массы сапропеля.

3. Выполнено биотестирование сапропелевых препаратов с привлечением штаммов *St. aureus*-260, *E.coli*, *Candida albicans*-представителей палочковидной и грибовой групп микроорганизмов.

4. Проведен сравнительный анализ химического состава сапропеля с составом растительного и животного материала – сапропелеобразователей. Выявлена генетическая связь большой группы соединений сапропеля с составом исходного биоматериала и с биологической активностью сапропелевых препаратов.

Литература

1. Казаков Е. И. Генезис и химическая природа пресноводных сапропелей.- Труды института горючих ископаемых. М.: Изд-во АН СССР, 1950. Т.2. С. 253–266.
2. Скадовский С. Н. Факторы накопления и преобразования органического вещества иловых отложений // Тр. лаборатории генезиса сапропеля. М. 1941. Вып. 2. С. 169-173.
3. Мессина М. А., Панкратова В. Я. Разложение пресноводного фитопланктона и роль микроорганизмов в этом процессе // Тр. лаб. генезиса сапропеля.– М.–Л, 1941. Вып. 2. С. 131-140.
4. Винберг Г. Г. Некоторые количественные данные по биомассе планктона озер БССР // Уч. Зап. БГУ им. В. И. Ленина. Сер. биол, Минск, 1954. Вып. 17. С. 57-60.
5. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. М.: Высш. шк., 1985. 768 с.
6. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений.-Киев: Наукова думка, 1976. 223 с.
7. Виноградова Т. А., Гажев Б. Н., Виноградов В. М. Полная энциклопедия практической фитотерапии: Санкт-Петербург. «Нева», «Олма-Пресс», «Валери СПД». 1998. 640 с.
8. Полный медицинский травник: Практическое руководство по траволечению / П. Оуди; Пер. с англ. Москва; Лондон; Нью-Йорк; Штуттгарт, 2000.
9. Никонов Г.К., Мануйлов Б.М. Основы современной фитотерапии. М.: Медицина, 2005. 520 с.
10. Платонов В.В., Елисеев Д.Н., Трейтяк Р.З., Швыкин А.Ю., Хадарцев А.А., Хрупачев А.Г.. Оксиметилирование гуминовых веществ как способ повышения их детоксицирующих и протекторных свойств // Вестник новых медицинских технологий. 2011. №4. С. 35-37

References

1. Kazakov EI. Genezis i khimicheskaya priroda presnovodnykh sapropelye. Trudy instituta goryuchikh iskopaemykh. Moscow: Izd-vo AN SSSR; 1950. T.2. Russian.
2. Skadovskiy SN. Faktory nakopleniya i preobrazovaniya organicheskogo veshchestva ilovykh otlozhe-niy. Tr. laboratorii genezisa sapropelya. 1941;2:169-73. Russian.
3. Messinova MA, Pankratova VYa. Razlozhenie presnovodnogo fitoplanktona i rol' mikroorganiz-mov v etom protsesse. Tr. lab. genezisa sapropelya. 1941;2:131-40. Russian.
4. Vinberg GG. Nekotorye kolichestvennyye dannye po biomasse planktona ozer BSSR. Uch. Zap. BGU im. V. I. Lenina. Ser. Biol. 1954;17:57-60. Russian.
5. Belikov VG. Farmatsevticheskaya khimiya. Moscow: Vyssh. shk.; 1985. Russian.
6. Baraboy VA. Biologicheskoe deystvie rastitel'nykh fenol'nykh soedineniy. Kiev: Naukova dumka; 1976. Russian.
7. Vinogradova TA, Gazhev BN, Vinogradov VM. Polnaya entsiklopediya prakticheskoy fitoterapii. Sankt-Peterburg: «Neva», «Olma-Press», «Valeri SPD»; 1998. Russian.
8. Polnyy meditsinskiy travnik: Prakticheskoe rukovodstvo po travolecheniyu / P. Oudi; Per. s angl. Moskva; London; N'yu-York; Shtuttgart; 2000. Russian.
9. Nikonov GK, Manuylov BM. Osnovy sovremennoy fitoterapii. Moscow: Meditsina; 2005. Russian.
10. Platonov VV, Eliseev DN, Treytyak RZ, Shvykin AYU, Khadartsev AA, Khrupachev AG. Oksimetilirovaniye guminovykh veshchestv kak sposob povysheniya ikh detoksitsiruyushchikh i protektornykh svoystv [Oxy-methylation of humic substances as a mean of augmentation of their detoxicative and bioprotective abilities]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2011;4:35-7. Russian.