

УДК615.838.97; 615.327; 543.054.2; 543.053.

## **СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЭКСТРАКЦИИ БАЛЬНЕОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД**

**Г.М. Шпейзер, В.А. Хуторянский, А.И. Смирнов,  
В.А. Родионова, Л.А. Минеева**

*Иркутский государственный университет, кафедра водных ресурсов ЮНЕСКО,  
г. Иркутск, [zippol@mail.ru](mailto:zippol@mail.ru)*

Разработана технология получения лечебных препаратов путем выделения биологически активных веществ (БАВ) из минеральных вод экстракцией этанолом после проведения окислительного гидролиза и последующей перегонки с водяным паром. Подобная технология неизвестна в России и за рубежом. Полученный препарат в отличие от обычных бальнеологических препаратов не содержит неорганическую матрицу. Выделенные БАВ более активны и стабильны по сравнению с исходными. Методами твердофазной экстракции и хромато-масс-спектрометрии исследован исходный состав БАВ рассола и препарата. Выявлены активные компоненты, определяющие механизм действия препарата. Препарат выделен из минеральной сульфидной воды «Новонкутская» (Сибирская Мацеста).

Практика применения препарата в течение пятнадцати лет показала, что он обладает противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным и анальгетическим эффектом. Повышает устойчивость организма к инфекциям, способствует выведению из организма токсических веществ, ускоряет лечение ожогов, обморожений и травм, эффективно блокирует развитие герпеса.

**Ключевые слова:** биологически активные вещества, твердофазная экстракция, хромато-масс-спектрометрия, полисульфиды, противовирусная активность

## **THE MODERN TECHNOLOGIES OF BALNEOLOGIC MEDICINE EXTRACTION FROM MINERAL WATERS**

**G.M. Speizer, V.A. Khutoryansky, A.I. Smirnov,  
V.A. Rodionova, L.A. Mineeva**

*State University, UNESCO Chair of water resources,  
Irkutsk, [zippol@mail.ru](mailto:zippol@mail.ru)*

The new technology of balneology medicine creation is developed. It is based on extraction of biologically active substances (BAS) from mineral waters with the ethanol after oxidative hydrolysis and evaporation with water steam. The technology is new both for Russia and abroad. The medicine obtained unlike usual balneology medicine does not contain inorganic matrix. Extracted BAS are more active and stable when compared with origi-

nal. The primary composition of BAS dilution is studied with the use of solid phase extraction and chromate-mass-spectrometry. The composition of the medicine developed from the mineral hydrogen sulfide water «Novonukutskaya» (Siberian Matsesta). The active components, determining the medicine action mechanism are discovered.

15th year practice of their use has demonstrated antiallergic, antiviruses and analeptic effect. They increase the resistance of organism to infection, activate the elimination of toxins from organism, increase the rate of wounds and trauma cure, and block the herpes development.

**Keywords:** biologically active substances, solid phase extraction, chromate-mass-spectrometry, polysulphids, herpes, antiviruses effect.

Широко известны минеральные воды, лечебным началом которых являются БАВ. К ним, прежде всего, относится всемирно известная минеральная вода типа «Нафтуса» (Трускавецкое месторождение), терапевтическое воздействие которой, обусловлено гидрофильными группами органических веществ, содержащих гидрофильные группы, что способствует активным процессам их усвоения человеком.

Авторами [5] в 1994 г. запатентован способ извлечения БАВ ранее не применявшийся в практической бальнеологии. Технология получения бальнеологически активных компонентов предусматривает перегонку минеральной воды с добавлением этанола, после окислительного гидролиза рассола с разделением на водно-спиртовой экстракт и солевой раствор, который отбрасывают. В настоящее время, аналогичные бальнеологически активные препараты получены из известных в Иркутской области минеральных вод «Новонукутская» (аналог Мацесты) и Мунокского (аналог Нафтуси) месторождений, а также из термальных азотных, углекислых и метановых вод месторождений района г. Алма-Аты, Восточ-

ного Саяна, Фунвэйского грабена (КНР) и минеральных вод Монголии. Анализ литературных источников показал, что данный способ получения лекарственных препаратов из минеральных вод не применялся ни в России, ни за рубежом.

Полученный препарат в отличие от обычных, бальнеологических препаратов характеризуется отсутствием соляной матрицы. Практика применения препарата показала, что такой способ получения приводит к усилению лечебных свойств [5] и расширению спектра лечебных свойств минеральных вод. Используемая методика приготовления препарата позволяет стабилизировать выделенные органические компоненты и повысить срок его хранения.

С учетом вышесказанного, проводимые нами исследования были направлены на разработку новых путей для развития технологии получения таких лекарственных средств и анализ состава препарата. Способ производства нового фармакологического препарата выгодно отличается тем, что основан на использовании доступного сырья из источника сульфидной минеральной воды Новонукутская («Сибирская Мацеста»)

хлоридно-натриевого состава, с минерализацией до 55 г/дм<sup>3</sup> и концентрацией растворенного сероводорода до 450 мг/дм<sup>3</sup>. Применение перегонки при пониженном давлении привело к снижению потерь активных компонентов минеральных вод при сохранении соотношения органических веществ. В этих условиях происходит интенсификация процесса и снижение окислительных потерь за счет более мягких условий, по сравнению с реакциями протекающими при перегонке в условиях нормального давления [7].

Понижение давления до 100–200 мм рт. ст. позволяет сократить время процесса в 2–3 раза.

Более эффективным оказался способ с применением концентрирования органической составляющей минеральных вод непосредственно у источника минеральной воды с использованием в качестве сорбента активированного угля или обращено-фазового сорбента [8]. Концентрирование БАВ минеральной воды проводили на сорбенте, при температуре окружающей среды и массовом соотношении сорбент — выделяемый суммарный компонент составляющем 10:1 непосредственно из источника и последующей фиксацией полученного концентрата на сорбенте, добавлением этилового спирта при их объемном соотношении от 1,0:0,1.

Предложенный способ позволяет выделить исходные бальнеологически активные компоненты со степенью извлечения 95–98%, а главное приводит к снижению транспортных затрат и соответственно к уменьшению стоимости конечного продукта. Такой технологический процесс позволяет сохранять полученный исходный

состав БАВ в виде концентрата при температуре –12 –18 °С длительное время. Оборудование для проведения процесса сорбции — десорбции исключает контакт активных компонентов с веществами и материалами, приводящими к изменению их структуры, химического состава и бальнеологических свойств получаемого препарата. Это также препятствует физическому воздействию внешней среды, исключая образование свободных радикалов и соответственно изменение свойств выделяемого из сорбента препарата.

Качественный и количественный анализ содержания органической части минеральных вод в исходном нативном сырье и конечном продукте проводился методом хромато-масс-спектрологии на хромато-масс-спектрометре «Agilent 5973N-6890». Колонка Ultra-2,5 м, объем пробы 2 мкл. Диапазон сканирования 42–500 m/z. Идентификацию компонентов по масс-спектрам осуществляли с помощью программы поиска NIST V 1.7, с прилагаемыми базами данных NIST/ERA/NIT на 150 000 соединений.

Анализ компонентного состава исходной минеральной воды и препарата осложнялся низкой концентрацией БАВ в исследуемой минеральной воде. Также существовала возможность понижения их содержания за счет деятельности сульфатрасщепляющих бактерий. Поэтому минеральную воду, для предотвращения расщепления органических веществ, отобранную из источника, консервировали добавлением этилового спирта в течение 0,5–1,0 час после отбора.

Для пробоподготовки, в процессе анализа биоорганического комплекса исходного рассола и состава выделенного препарата,

нами применена процедура экстракции, с использованием твердофазной экстракции [4]. В качестве сорбента использовался модифицированный силикагель [10].

Для определения состава БАВ препарата применялась методика извлечения лекарственных средств согласно [7]. Последовательно к 2,0 дм<sup>3</sup> этилового спирта добавляли 1,5 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды. В водно-спиртовую смесь добавляли хлорид натрия (10–15 %), оксид кальция (5–10%) и навеску (аликвоту) сорбента содержащего органические компоненты из 1,5 дм<sup>3</sup> минеральной воды, взбалтывали в течение суток, декантировали и отгоняли при давлении 100–200 мм. рт. ст. водно-спиртовой экстракт, отбирая фракцию с 32% содержанием спирта.

Анализ состава извлеченных органических компонентов из исследуемых образцов проводили прокачивая анализируемый раствор через патрон фирмы Supelco, заполненный обращеннофазным сорбентом C<sub>18</sub> со скоростью 1 капля/сек. Патрон для экстракции представляет собой пластиковую колонку размером 8×20 мм, заполненную сухим сорбентом, удерживаемым с обеих сторон пористыми полиэтиленовыми фильтрами. Проба минеральной воды после отделения взвесей фильтрованием вводится в патрон с содержанием 5 об.% этанола для улучшения сорбционной способности обращенной фазы. Компоненты пробы при этом сорбируются в верхней части патрона. Объем вводимой в патрон пробы составлял от 500 до 1000 мл. Высушенный пропусканием газообразного гелия после проведения твердофазной экстракции патрон последовательно промывали 1,5 мл ацетонитрила,

а затем 1,5 мл n-гексана, которые затем упаривали в токе газообразного гелия, при комнатной температуре до объема 600–700 мкл. Для качественного сопоставления количеств органических компонентов в различных образцах, в исследуемые пробы перед проведением твердофазной экстракции добавляли внутренний стандарт фенантрен 2 × 10<sup>-5</sup>г. Предварительно было показано его отсутствие в исходной минеральной воде.

Время проведения процесса от отбора пробы до получения масс-спектров 96 час.

Количество серы рассчитывали по формуле

$$m_{\text{серы, мкг}} = 37,666 S_{\text{серы}} \times m_{\text{фенантрена, мкг}} / S_{\text{фенантрена}}$$

Данные анализа органических компонентов нативной минеральной воды, полученные хромато-масс-спектрометрическим методом, показали, что основными продуктами перегонки являются соединения серы S<sub>6</sub>, S<sub>7</sub>, S<sub>8</sub>. Также в пробах исходной минеральной воды были обнаружены полиядерные сераорганические соединения — краун эфиры, диалкилполисульфиды. В заметных количествах присутствуют эфиры фталевой кислоты, алкил — дитрет-бутилфенолы, что свидетельствует о загрязнении проб на величину «химического шума». [1]

Обнаруженные в пробах исходной воды серосодержащие краун — эфиры и сера в модификации S<sub>6</sub> и S<sub>7</sub> можно отнести к экзотическим компонентам, т.к. при обычной температуре элементарная сера находится в орторомбической форме S<sub>8</sub>. Повышение температуры оказывает влияние на полиморфные превращения элементной серы. При температуре 95 °С сера переходит из более устойчивой орторомбической формы в моноклиналиную S<sub>6</sub> [9]. Необходимо

отметить наблюдавшееся на хроматограммах уширение пиков соответствующих молекулярной сере, что характерно для различной сольватации, либо для развала серосодержащих соединений в испарителе хроматографа. Содержание серы в пробах составляло  $S_8 = 18,6-19,2$ ,  $S_6 = 1,4-1,6$ ,  $S_7 = 0,5-0,6 \pm 0,2$  мг/дм<sup>3</sup>. Обнаруженные краун эфиры имели различное соотношение серы и метиленовых групп: 4 S 1 CH<sub>2</sub>, 4 S 4 CH<sub>2</sub>, 5 S 1 CH<sub>2</sub>, 5 S 2 CH<sub>2</sub>, 5 S и 3 CH<sub>2</sub>, 5 S и 4 CH<sub>2</sub>, 6 S 1 CH<sub>2</sub>, 6 S и 2 CH<sub>2</sub>, 6 S и 4 CH<sub>2</sub>. Содержание краун эфиров варьировалось от 10 мкг до 0,4 мг ± 0,1 мкг/дм<sup>3</sup>.

Описание свойств таких серосодержащих краун-эфиров в химической литературе мы не нашли. Присутствие краун-эфиров в пробах исходной минеральной воды позволяет предположить их либо активными веществами, либо интермедиатами, участвующими в процессе образования БАВ, определяющих бальнеологические свойства экстрактов.

Анализ состава полученных препаратов в течение двух лет показал следующие закономерности: в полученных препаратах присутствует соединения серы  $S_6, S_7, S_8$ . Содержание серы в пробах составляло  $S_8 = 13,1-14,5$ ,  $S_6 = 0,43-0,56$ ,  $S_7 = 0,25-0,31 \pm 0,2$  мг/дм. Кроме того, в пробах присутствовали серосодержащие краун — эфиры и полисульфиды: диэтилдисульфид, диэтилтрисульфид, 3,5-диметил 1,2,4-тритиолан в количестве  $0,1-0,15 \pm 0,1$  мг/дм<sup>3</sup>. Полисульфиды являются активными антиоксидантами и хорошо известны в природе.

Полученные нами результаты нашли подтверждение в работах Бехтерева с сотр. [2], которые так же предположили наличие

в экстрактах Мацестинских минеральных водах тиольных, сульфидных и тионовых фрагментов. Однако авторы не определили в масс-спектрах элементную серу. Это может объясняться уширением пиков соответствующих сере на хроматограммах, о чем было сказано выше.

Необходимо отметить, что предлагаемое этими авторами в патенте [3] введение паров экстрагента в минеральную воду, сужает возможности получения препаратов с различным содержанием спирта и соответственно с различным содержанием БАВ для соединений с низким давлением паров над жидкостью, а такими являются соединения серы, этот способ малоприменим [6,8].

Проведена доклиническая оценка раназаживляющих свойств нового фармакологического вещества (32% этанольный экстракт органических веществ из минеральной воды) — в серии опытов на модели химического ожога у кроликов. Процесс заживления оценивали по биохимическим, гематологическим и морфологическим показателям. Анализ результатов проведенных исследований показал, что препарат обладает выраженным стимулирующим эффектом на процесс заживления раны в условиях эксперимента и может быть рекомендован к клиническим исследованиям. Дальнейшие исследования могут внести определенные коррективы в существующие представления о механизме действия органической составляющей минеральных вод на организм.

Пятнадцатилетняя практика применения препарата показала, что он обладает противовоспалительным, противоаллергиче-

ским, противовирусным и анальгетическим эффектом. Применение препарата повышает устойчивость организма к инфекциям, способствует выведению из организма токсических веществ, ускоряет лечение ожогов, обморожений и травм, эффективно блокирует развитие герпеса и может применяться при длительных курсах лечения, когда срок пребывания на курорте не позволяет завершить излечение пациентов.

Возможность использования природного сырья для изготовления эффективных лекарственных средств представляется наиболее привлекательной в огромной массе синтетических препаратов, обладающих выраженными побочными эффектами от самого процесса лечения.

Достоинством препарата является: относительная простота изготовления, отсутствие синтетических добавок, возможность выбора из различных типов минеральных вод, неизменность активности при длительном хранении.

Такие технологии получения природных нативных химических соединений из возобновляемого растительного сырья, заменяющих продукцию традиционных химических производств, интенсивно разрабатываются в США, Японии, Китае и получили название технологий ««живой»» химии.

В настоящее время в патентной и научно-технической литературе отсутствует информация о подобном бальнеологическом средстве.

#### Список литературы

1. Барам Г. И., Азарова И. Н., Горшков А. Г. и др. // ЖАХ, 2000, — Т. 55. — № 8. — С. 834–839.
2. Бехтерев В. Н., Георгиади-Авдиенко К. А., Ходасевич Л. С. // Вопр. курорт. — 2008. — № 1. — С. 32–34.
3. Бехтерев В. Н., Кабина Е. А., Патент РФ № 2296716. 10.04.2007. Приоритет 02.03.2005.
4. Другов Ю. С., Родин А. А., Кашмет В. В. Пробоподготовка в экологическом анализе // Практическое руководство. Москва, «Лаб-пресс», С. 2005. — 755.
5. Шпейзер Г. М.; Минеева Л. А. Патент РФ № 2112519. 06.10.1998. Приоритет 06.29.1994.
6. Шпейзер Г. М., Хуторянский В. А., Родионова В. А. и др. Патент РФ № 2357740. 06.08.2007.
7. Шпейзер Г. М., Хуторянский В. А., Родионова В. А. и др. Положительное решение РФ № 2005114303 РФ. 20.11.2006. Приоритет 05.11.2005.
8. Шпейзер Г. М., Хуторянский В. А., Родионова В. А. и др. Положительное решение РФ № 2006128974. 2008.02.20. Приоритет 2006.08.09.
9. Roy A. B., Trudinger P. A. The biochemistry of inorganic compounds of sulphur. Cambridge University Press. — 1970. — Cambridge.
10. Wissiack R., Rosenberg E., Grasserbauer M. // Chromatogr. A., — 2000, vol. 896, № 1.2, p. 159–170.