

В. Е. Высокогорский<sup>1</sup>, А. А. Ноздрунова<sup>2</sup>, Г. В. Плаксин<sup>3</sup>, О. И. Кривонос<sup>3</sup>,  
О. З. Мкртчян<sup>4</sup>, Л. Ю. Петросян<sup>4</sup>

## АНТИОКСИДТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЖИДКИХ ПРОДУКТОВ ТЕРМИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ САПРОПЕЛЕЙ

<sup>1</sup> Омская государственная медицинская академия, Омск, Россия;

<sup>2</sup> Омский государственный аграрный университет, Омск, Россия;

<sup>3</sup> Институт проблем переработки углеводов СО РАН, Омск, Россия;

<sup>4</sup> Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии изучен химический состав жидких продуктов термической переработки сапропелей. Установлено антиоксидантное и ранозаживляющее действие образца № 3, которое по эффективности не только не уступает, но даже превосходит бальзам Шостаковского, что позволяет рекомендовать его в качестве компонента новых лекарственных средств.

**Ключевые слова:** сапропель, жидкие продукты термической переработки, антиоксидантная активность, регенерация кожи, митотическая активность.

Сапропели — ископаемые отложения, сформировавшиеся на дне пресных водоемов в результате накопления продуктов жизнедеятельности и отмерших остатков растений и животных. Наличие в составе сапропелей комплекса органических и минеральных соединений позволяет эффективно использовать донные отложения при заболеваниях опорно-двигательного аппарата, периферической и центральной нервной систем, заболеваниях желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы вне периода обострения, болезнях ЛОР-органов, кожных заболеваниях [1–4]. Для извлечения из сапропеля органических соединений, обладающих биологической активностью, используются различные методы их переработки. Одним из таких методов является термолиз в широком диапазоне температур, приводящий к образованию ряда гидрофильных органических веществ. До настоящего времени жидкие продукты термической переработки сапропелей не рассматривали и не использовали в качестве действующих компонентов в медицине, ветеринарии, фармации, бальнеологии, так как мало изучен их химический состав и биологическая активность [5, 6].

Целью настоящего исследования является идентификация жидких компонентов термолиза сапропелей и влияние их на процессы свободнорадикального окисления (СРО) и репаративной регенерации кожного эпителия.

### *Экспериментальная химическая часть*

Исследуемые жидкие продукты термической переработки сапропеля (ЖПТПС) получены в институте проблем переработки углеводов СО РАН из сапропеля озера Жилой Рям Омской области с исходным содержанием органических веществ 71,32 масс. %. Содержание углерода, водорода и серы в исходных сапропелях определяли по ГОСТ 24081–95 “Метод Либиха”, ГОСТ 25699.9–90 “Метод определения общей серы”, суммарное содержание азота и кислорода — по разности.

Состав ЖПТПС изучался методом газовой хромато-масс-спектрометрии на приборе фирмы “Agilent” с неполярной капиллярной колонкой HP-5ms длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, нанесенной неподвижной фазой (5 % фенил — 95 % диметилполисилоксан), с программированием температуры от 50 до 250 °С. Термическая переработка сапропеля проводилась в инертной среде в условиях медленного электронагрева (до 3–5 °С/мин) до 230 °С. В процессе термообработки отбирали фракции жидких продуктов с температурами выкипания: 25–100 °С (образец № 1), 100–140 °С (образец № 2), 140–230 °С (образец № 3).

Антиоксидантную активность (АОА) ЖПТПС определяли в модельной системе из желточных липопротеинов на хемилуциномере ХЛ-003 (“БИКАП”, Россия) согласно [7].

Элементный состав исходного сапропеля озера Жилой Рям, масс. %: С 52,12; Н 7,39; N 13,64; О 25,21; S 0,82, что свидетельствует о преобладании в составе сапропелей кислородсодержащих и гетероциклических соединений. В результате термического разложения органического вещества сапропеля образуются твердые, газообразные и жидкие продукты. Выход последних в температурном диапазоне до 230 °С на органическое вещество составил 32,0 масс. %, на сухое вещество — 22,5. В ЖПТПС содержание образцов следующее, масс. %: образец № 1 – 21,0; образец № 2 – 11,2; образец № 3 – 30,8.

В составе ЖПТПС методом хромато-масс-спектрометрии идентифицированы индивидуальные вещества с массовой долей каждого компонента более 0,1 % (вероятность идентификации 98 %). В табл. 1 приведены данные по содержанию индивидуальных веществ в исследуемых образцах.

Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о преобладании в составе ЖПТПС соединений фенольной природы. Известно, что фенолы обладают антиоксидантными свойствами. Вероятно, ЖПТПС также будут замедлять процессы СРО. Для подтверждения

Качественный и относительный количественный состав образцов № 1 – 3

Компонент	Брутто-формула	Молек. масса	Содержание, об. %		
			образец № 1	образец № 2	образец № 3
Ацетон	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58	9,4	2,4	3,0
Бутандион	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	86	6,1	–	–
Ацетогидроксиаминовая кислота	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	75	–	2,0	1,6
Уксусная кислота	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60	23,1	21,4	21,3
Пропионовая кислота	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	74	–	2,0	1,9
2-Метилбутаналь	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	86	3,3	–	–
Аминометилпропандинитрил	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub>	95	2,7	–	–
Пиразин	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	80	–	5,2	–
Пиррол	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N	67	–	–	4,1
Пиридин	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N	79	4,0	3,0	–
Мочевина	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	60	–	–	1,0
Метилпиридин	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>2</sub>	94	–	1,2	2,0
Метилпиразин	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	94	–	–	1,6
Ангидрид уксусной кислоты	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	102	–	2,0	–
Циклопентанон	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O	84	–	4,8	–
Аминопиридины (смесь)	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	94	4,9	1,0	–
2-Фуранкарбоксальдегид	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96	5,5	–	–
3-Метил-2-циклопентен-1-он	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	96	1,5	–	–
2-Фуранилэтанон	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	110	1,8	–	–
5-Метил-2-фуранкарбоксальдегид	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	110	4,6	–	–
Фенол	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	94	20,4	36,9	21,5
2-Метокси-4-винилфенол	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	150	–	–	2,5
2-Метокси-6-(2-пропенил)фенол	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164	–	–	4,2
Диметилциклопентенон	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	108	1,2	–	–
Монометилфенолы (смесь)	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	108	2,2	–	4,1
Метоксифенол	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	124	2,7	5,8	5,2
3,5-Диметоксифенол	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	154	–	3,8	4,1
Пиперидин-2,5-дион	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	113	–	4,1	5,2
2-Метоксибензамин	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO	123	–	2,6	–
3-Гидрокси-5-метоксифенилэтанон	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	182	–	–	4,2
Диметилфенолы (смесь)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	122	1,2	–	–
Моноэтилфенолы (смесь)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	122	2,1	–	–
4-Метил-2-метоксифенол	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	138	1,5	1,8	3,9
Этилметоксифенол (смесь)	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	152	1,8	–	2,8
Углеводороды:					
от гексадекана	C <sub>16</sub> – C <sub>25</sub>		–	–	2,5
до пентакозана					3,3

данного предположения проведены хемилюминесцентные исследования их АОА.

Добавление образцов сапропеля в модельную систему из желточных липопротеинов вызывает угнетение хемилюминесценции (на 61,5 – 82,4 %), что свидетельствует о наличии антиокислительных свойств у всех исследуемых образцов ЖПТПС и участии их в процессах замедления активации СРО.

По степени АОА исследуемые образцы ЖПТПС располагаются в следующей последовательности: образец № 3, добавление которого к модельной системе вызывает угнетение хемилюминесценции на  $82,4 \pm 0,55$  %; образец № 2 ( $65,3 \pm 0,92$  %); образец № 1 ( $61,5 \pm 0,99$  %).

Учитывая полученные результаты АОА ЖПТПС, для дальнейших исследований способности торможения процессов СРО, протекающих на уровне живого организма, на модели полнослойной плоскостной

раны был выбран образец № 3, так как одним из направлений использования антиоксидантных препаратов в медицине является лечение раневых процессов.

#### Экспериментальная биологическая часть

Ранозаживляющую активность и влияние образца № 3 на процессы СРО в полнослойной плоскостной ране изучали на 36 крысах линии Вистар, массой  $210 \pm 10$  г. Уровень процессов СРО в ране оценивали методом Fe-индуцированной хемилюминесценции согласно [8]. Препаратом сравнения служил препарат винилин (бальзам Шостаковского), обладающий АОА [9]. Исследуемый образец № 3 и бальзам Шостаковского наносили ежедневно на раневую поверхность в количестве  $0,2$  мл/см<sup>2</sup>. Показателями репаративной регенерации кожи служили динамика высоты эпителия, митотическая активность клеток росткового слоя

Показатели медленной вспышки хемилюминесценции раневого отделяемого, усл. ед.

Сутки с начала эксперимента	Группы животных								
	К			БШ			№ 3		
	L	Me	H	L	Me	H	L	Me	H
1 сут	0,88	<b>0,98</b>	1,07	0,65	<b>0,72**</b>	0,77	0,61	<b>0,72*</b>	0,90
3 сут	0,78	<b>0,90</b>	0,92	0,64	<b>0,74</b>	0,85	0,54	<b>0,65**</b>	0,71
5 сут	0,59	<b>0,66</b>	0,75	0,53	<b>0,62</b>	0,86	0,44	<b>0,62</b>	0,73
10 сут	0,64	<b>0,75</b>	0,80	0,49	<b>0,62</b>	0,67	0,53	<b>0,68</b>	0,83

**Примечание:** L — нижний квартиль, Me — медиана, H — верхний квартиль. Группа К — группа животных, рану которых не обрабатывали. Группа БШ — группа животных, рану которых ежедневно обрабатывали бальзамом Шостаковского. Группа № 3 — группа животных, рану которых ежедневно обрабатывали образцом № 3, рU — критерий Манна-Уитни.

\* рU < 0,05, \*\* рU < 0,005 — по сравнению с контролем.

Таблица 3

Показатели латентного периода хемилюминесценции раневого отделяемого, мин

Сутки с начала эксперимента	Группы животных								
	К			БШ			№ 3		
	L	Me	H	L	Me	H	L	Me	H
1 сут	295,2	<b>316,8</b>	375,6	358,9	<b>399,6*</b>	428,4	374,4	<b>462,0**</b>	524,4
3 сут	208,8	<b>230,4</b>	244,8	294,0	<b>427,2**</b>	501,6	439,2	<b>470,4**</b>	542,4
5 сут	256,8	<b>274,8</b>	436,8	328,8	<b>386,4</b>	483,6	414,0	<b>457,2*</b>	513,6
10 сут	306,3	<b>343,8</b>	382,5	360,0	<b>434,4</b>	502,8	251,0	<b>281,3</b>	428,8

**Примечание:** см. табл. 2.

эпителия кожи. Материал для гистологических исследований фиксировали в 10 % нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином.

Данные хемилюминесцентных исследований раневого экссудата представлены в табл. 2 и 3.

Установлено, что однократная обработка раневой поверхности образцом № 3 и бальзамом Шостаковского приводит к снижению способности компонентов раневого отделяемого подвергаться процессам перекисления и способствует увеличению длительности латентного периода хемилюминесценции, что свидетельствует об изменении соотношения антиоксиданты/прооксиданты в сторону повышения содержания антиокислительных факторов в раневом отделяемом.

Трехкратная обработка раневой поверхности образца № 3 способствует дальнейшему снижению амплитуды медленной вспышки по сравнению с контролем и действием бальзама Шостаковского. Латентный период хемилюминесценции достоверно увеличивается в обеих группах по сравнению с контролем. На 5 и 10 сут показатели медленной вспышки хемилюминесценции снижаются в обеих группах животных (достоверных различий между ними не обнаружено). Однако пятикратная обработка раны образцом № 3 способствует поддержанию длительности латентного периода на более высоком уровне по сравнению с контролем, вероятно, за счет усиления антирадикальной защиты в области раны.

По результатам гистологических исследований во все сроки наблюдения под влиянием образца № 3 от-

Таблица 4

Влияние образца № 3 и бальзама Шостаковского на количественные показатели высоты эпителия кожи крыс (в мкм)

Сутки с начала эксперимента	Группы животных, $M \pm m$		
	К	БШ	№ 3
0 сут	18,60 ± 0,62	18,72 ± 0,44	18,87 ± 0,35
3 сут	24,99 ± 1,14	26,69 ± 0,77	31,65 ± 1,46
7 сут	29,65 ± 1,04	25,41 ± 0,63	36,37 ± 1,46
14 сут	36,4 ± 0,95	30,27 ± 0,49	38,9 ± 0,47
21 сут	41,21 ± 1,25	37,04 ± 0,93	42,59 ± 0,49

**Примечание:**  $M \pm m$  — среднее ± статистическая ошибка среднего.

Таблица 5

Влияние образца № 3 и бальзама Шостаковского на митогенную активность клеток росткового слоя эпителия кожи

Сутки с начала эксперимента	Группы животных, $M \pm m$		
	К	БШ	№ 3
0 сут	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,02
3 сут	0,11 ± 0,06	0,13 ± 0,03	0,18 ± 0,02
7 сут	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,05	0,25 ± 0,03
14 сут	0,27 ± 0,05	0,29 ± 0,01	0,29 ± 0,03
21 сут	0,21 ± 0,08	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,06

мечается увеличение высоты эпителия в приранеовой зоне (табл. 4) и митотической активности клеток росткового слоя эпителия кожи (табл. 5).

При этом максимальное усиление процессов репаративной регенерации кожи наблюдается на 7 сут воздействия образца № 3.

Таким образом, используемые препараты ЖПТПС для обработки ран характеризуются способностью активировать процессы репаративной регенерации и замедлять процессы СРО уже после однократного применения за счет инактивации свободных радикалов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Ф. Левицкий и др., *Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкультуры*, **2**, 35 – 36 (1998).

2. Т. Г. Иванова и др., *Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкультуры*, **3**, 23 – 25 (1997).
3. Н. М. Самутин, *Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкультуры*, **5**, 25 – 26 (1997).
4. С. Е. Пашенко, В. В. Зырянова, *Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкультуры*, **4**, 45 – 48 (1991).
5. П. Ф. Шмаков, А. Г. Третьяков, В. А. Левицкий, *Кормовые ресурсы Западной Сибири и их рациональное использование*, 51 – 70 (2005).
6. Н. А. Браکش, *Сапропелевые отложения и пути их использования*, Рига, (1971).
7. Г. И. Клебанов и др., *Вестник РАМН*, **2**, 15 – 22 (1999).
8. А. Р. Ромм, М. П. Шерстнев, В. В. Волков, Ю. А. Владимиров, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **11**(10), 426 – 428 (1986).
9. З. А. Хамитова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Уфа (2007).

Поступила 27.03.08

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE LIQUID PRODUCTS OF THERMOLYSIS OF SAPROPELS

V. E. Vysokogorskii<sup>1</sup>, A. A. Nozdrunova<sup>2</sup>, G. V. Plaksin<sup>3</sup>, O. I. Krivonos<sup>3</sup>, O. Z. Mkrtchan<sup>4</sup>, L. Y. Petrosyan<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia

<sup>2</sup> Omsk State Agricultural University, Omsk, Russia

<sup>3</sup> Institute of Hydrocarbon Processing Problems, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Omsk, Russia

<sup>4</sup> Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

The method of gas chromatography with mass-spectrometric detection was used to study the chemical composition of the liquid products of thermal processing of sapropels. It is established that one fraction (sample No. 3) exhibits an antioxidant and wound-healing action, which is comparable with (or even exceeds) the efficiency of the Shostakovsky Balsam. This product can be recommended for use as a component of new medicinal preparations.

**Key words:** sapropel, liquid products of thermal processing, antioxidant activity, regeneration of skin, mitotic activity.