

---

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

---

### Физико-химическая биология

УДК 615.322:615.326

#### Модификация твердой формы биопрепарата антибактериального действия, полученного из лишайника рода *Cladonia* путем механохимической активации

Д.М. Уваров\*, П.П. Васильев\*, А.В. Степанова\*,  
В.В. Аньшакова\*, Б.М. Кершенгольц\*\*

\*Северо-Восточный федеральный университет, г. Якутск

\*\*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск

*Представлены результаты по усовершенствованию биотехнологии получения двухкомпонентного композита путем совместной механоактивации талломов лишайника рода *Cladonia* и вспомогательной добавки диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ) с целью модификации технологических свойств для повышения качества продукта при хранении, возможности дальнейшего капсулирования или таблетирования. Применение вспомогательных веществ, на примере  $\text{SiO}_2$ , улучшает характеристики протекания ряда биотехнологических стадий и обосновано в случаях с мелкодисперсными (особенно ультрадисперсными) порошками из растительного сырья.*

Ключевые слова: лишайник, механоактивация, олигосахариды, порошок, сыпучесть, капсулирование.

#### Modification of Solid Form of a Biological Product of Antibacterial Action Derived from the Lichen Genus *Cladonia* by Mechanochemical

D.M. Uvarov\*, P.P. Vasilyev\*, A.V. Stepanova\*, V.V. Anshakova\*, B.M. Kershengolts\*\*,\*\*

\*North-Eastern Federal University, Yakutsk

\*\*Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk

*The article presents the results on the improvement of biotechnology of obtaining of a two-component composite by co-mechanoactivation of thalli of lichen genus *Cladonia* and auxiliary silica additives ( $\text{SiO}_2$ ) in order to modify technological properties, for improvement the quality of the product during storage, the possibility of further encapsulation or tableting. Application of auxiliary substances for example  $\text{SiO}_2$  improves the characteristics of the course of number of biotechnological stages and is justified in cases of finely dispersed (especially ultrafine) powders from vegetable raw materials.*

Key words: lichen, mechanoactivation, oligosaccharides, powder, flowability, incapsulation.

---

\*УВАРОВ Дмитрий Михайлович – инженер, uvadmi91@inbox.ru; \*ВАСИЛЬЕВ Петр Петрович – инженер, falcon.258@mail.ru; \*СТЕПАНОВА Альбина Васильевна – инженер-исследователь, stepav@inbox.ru; \*АНЬШАКОВА Вера Владимировна – д.б.н., доцент, г.н.с., anshakova\_v@mail.ru; \*\*\*КЕРШЕНГОЛЬЦ Борис Моисеевич – д.б.н., проф., зав. УНТ лаб. ИЕН, зам. директора по научной работе, kerschen@mail.ru.

### Введение

Порошки являются твердой лекарственной формой, веками применяемой человеком. Механическому измельчению подвергались высушенные плоды, листья, стебли, корни. В дальнейшем полученные порошки использовались в виде отваров, припарок, супов и др. Однако совершенствование технологий переработки привело к резкому повышению дисперсности, придавая порошкам, особенно ультрадисперсным, принципиально новые качества: способность к агрегации мелкодисперсных частиц, обусловленной избыточной поверхностной энергией, большой величиной внутреннего трения; многократным увеличением растворимости; гигроскопичностью порошков и др. [1, 2].

Актуальность работы обоснована появлением новых порошкообразных действующих веществ с повышенной активностью, что обусловлено развитием химической и фармацевтической промышленности, а также созданием дозированных форм, таких как таблетки и капсулы (совокупно занимающих более 50% рынка) [3].

Цель исследования заключается в разработке технологий дозирования порошковых форм, достигаемой путем обогащения исходного состава порошка вспомогательными агентами.

На данный момент существует более 15 добавок – антислеживателей, имеющих различный химический состав (таблица) [4]. Помимо основной задачи введение в порошки добавок может способствовать решению ряда задач по сохранению товарного вида и свойств конечных лекарственных форм при хранении товара (предупреждение слеживания, увеличение длительности хранения). Одной из наиболее широко распространенных и безопасных добавок в пищу является диоксид кремния –  $\text{SiO}_2$ .

Измельчение твердых лекарственных форм в виде ультрадисперсных порошков стало возможным благодаря механоактивационным технологиям, суть которых заключается в проведении твердофазных химических реакций между двумя и более реагентами в воздушной среде (без участия растворителей). В результате точечно-импульсных высокоэнергетических ударно-сдвиговых соударений происходит возникновение поверхностных дефектов, что вызывает протекание химических реакций и позволяет получать конечный твердофазный продукт быстрее, экономически выгоднее, эффективнее, экологичнее по сравнению с традиционной «мокрой» технологией [5].

Механохимическая переработка широко используется для активации неорганического сырья, но также применима и для природного биосырья. При этом протекает ряд физико-

химических процессов: 1) механоактивация твердых веществ; 2) механохимические реакции в твердой фазе; 3) деиммобилизация действующих веществ при переработке сырья; 4) образование механокомпозитов с повышенной реакционной способностью; 5) изменения биологической активности [6].

Ранее было показано, что полученные таким способом ультрадисперсные порошки путем механоактивации талломов лишайников рода *Cladonia* отличаются высокой растворимостью (в 8–10 раз) по сравнению с исходным образцом, повышенной сорбционной емкостью, высоким антибактериальным потенциалом [7].

В химическом плане в составе лишайников доминируют полимер-гомологи – лишенин и изолишенин, структурно состоящие из углеводных остатков ковалентно соединенных аксиальных  $\beta$ -1,4-гликозидными связями, для разрыва которых требуется значительное количество энергии, по сравнению с стереохимически несимметричными  $\alpha$ -1,2- и  $\alpha$ -1,6- гликозидными связями. Одними из минорных составляющих являются лишайниковые кислоты (2–3%), из которых в середине прошлого века были получены первые антибиотики из лишайника – препараты «Эвозин» и «Бинан» [8].

Учитывая то, что в исходном состоянии низкомолекулярные действующие вещества иммобилизованы в трехмерной матрице  $\beta$ -полигликозида и поэтому обладают низкой биологической доступностью, проводить порошкование предлагается путем совместной механоактивации талломов лишайников, вспомогательной добавки и при необходимости действующего вещества (ДВ) дополнительно вводимого лекарственного средства [8].

Результатом применения механохимического подхода являются 1) разрыв части  $\beta$ -гликозидных связей с образованием лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов; 2) образование межмолекулярных комплексов лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов «активного наполнителя» с ДВ лекарственных средств или биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений; 3) «транспорт» образующихся комплексов через стенку кишечника и клеточные мембраны. За счет этого достигается повышенная в 2–3 раза эффективность ДВ. Повышение эффективности ДВ в свою очередь позволяет снизить эффективную дозу, при которой достигается терапевтический эффект, сравнимый с традиционными лекарственными формами, что приводит к снижению вероятности формирования устойчивости бактериальных клеток к данному антибиотику и себестоимости единицы продукции. Снижение эффективной дозировки при сохра-

## МОДИФИКАЦИЯ ТВЕРДОЙ ФОРМЫ БИОПРЕПАРАТА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

### Добавки, препятствующие слеживанию и комкованию, разрешенные к применению в Российской Федерации

Е-номер	Пищевая добавка	Пищевой продукт	Максимальный уровень, г/кг
E551	Диоксид кремния аморфный и соли кремниевой кислоты	Пряности Продукты, плотно обернутые фольгой	30 30
E552 E553 E553 E553	Силикат кальция Силикат магния Трисиликат магния Тальк	Продукты сухие порошкообразные, включая сахар Продукты в форме таблеток БАД к пище	10 Согласно ТИ То же
E559	Алюмосиликат каолина	Продукты для прикорма сухие на зерновой основе	2,0
E555	Алюмосиликат калия	Сыры, нарезанные ломтиками или тертые, и аналоги сыров	10
E556	Алюмосиликат кальция	Сахаристые кондитерские изделия, кроме шоколадных (обработка поверхности)	Согласно ТИ
E554	Алюмосиликат натрия (отдельно или в комбинации)	Мармелад желевый формовой (обработка поверхности) Колбасы (обработка поверхности) Соль и заменители соли	Согласно ТИ (только E554) Согласно ТИ (только E554) Согласно ТИ (только E554)
E470	Жирные кислоты (миристиновая, олеиновая, пальмитиновая, стеариновая и их смеси), соли алюминия, аммония, калия, кальция, магния, натрия	Согласно ТИ	Согласно ТИ
E953	Изомальтит	То же	То же
E170	Карбонат кальция	»	»
E504	Карбонат магния		
E530	Оксид магния	»	»
E900	Полидиметилсилоксан	Жиры и масла фритюрные Сок ананасный Фрукты и овощи консервированные в металлических и стеклянных банках Джемы, повидло, желе, мармелад и подобные продукты на фруктовой основе для намазывания, включая низкокалорийные Сахаристые кондитерские изделия, кроме шоколада Жевательная резинка Зерновые продукты, вырабатываемые по экструзионной технологии Супы и бульоны консервированные, концентрированные Напитки безалкогольные на ароматизаторах Вина, сидр	0,01 0,01 0,01 0,01 0,01 0,01 0,01 0,01 0,01 0,01
E535 E536 E538	Ферроцианид натрия Ферроцианид калия Ферроцианид кальция (отдельно или в комбинации)	Соль поваренная, ее заменители (см также соли)	0,02 в пересчете на ферроцианид калия безводный
E341	Фосфат кальция трехзамещенный	Согласно ТИ	Согласно ТИ
E343	Фосфат магния трехзамещенный		

нении эффекта также сокращает сроки лечения, токсичность (в 3–5 раз) ДВ по сравнению с существующими лекарственными формами, уменьшает затраты здравоохранения на лечение побочных эффектов.

Вышесказанное выгодно отличает технологичность предлагаемого подхода и свойства производимых биоконплексов от аналогов, по-

лученных с использованием классических биотехнологий.

Для оценки технологичности порошкообразных веществ, а также для прогнозирования поведения сыпучих масс в условиях технологического процесса, направленного на получение готовых твердых форм, определяют их технологические характеристики. К технологическим

свойствам сыпучих материалов относят угол естественного откоса, насыпную плотность и сыпучесть. Все эти параметры описываются термином «степень сыпучести». Нарушение степени сыпучести продуктов чаще всего приводит к неточной дозировке продукции, засорению оборудования. Это отрицательно сказывается на производительности труда и на качестве конечного продукта.

Ранее нами была проведена оценка эффективности применения дополнительного компонента (ДК) при получении порошкообразной твердой лекарственной формы при помощи добавления вспомогательного агента в уже готовый механоактивированный биопрепарат из талломов лишайника путем измерения его технологических свойств [9].

### Материалы и методы исследований

Эксперимент заключается в совместной механоактивации талломов лишайника рода *Cladonia* частицами ДК в целях улучшения технологических свойств: угол естественного откоса, время истечения и насыпная плотность.

Сырье вначале подвергается грубому измельчению в течение 2–3 мин на высокоскоростном грануляторе-миксере KSM-50 (Южная Корея) при 600 об./мин. Полученный порошок и вспомогательный агент ( $\text{SiO}_2$ ) в порошковой форме смешивались на лабораторной мешалке Junior (Италия) в течение 5 ч.

Предварительно высушенные и измельченные слоевища лишайников механоактивировали совместно с  $\text{SiO}_2$  без участия растворителей в одну технологическую стадию при скорости 1200–1500 об./мин в течение 1–3 мин в воздушной среде в механохимической установке ЦЭМ 7-80 (Россия).

Для определения технологических свойств порошков (времени истечения, естественного угла откоса, насыпного объема и текучести в автоматическом режиме) был использован тестер PTG-S4 фирмы «Pharma Test Apparatebau AG» (Германия) с диаметром сопла-насадки 25 мм и основанием базы в 100 мм. В бункер аппарата помещалось 100 г порошка. Все измерения проводились в пяти повторностях. В качестве контроля был использован грубоизмельченный ягель без добавления  $\text{SiO}_2$ .

Испытания проводились по фармакопейной статье ОФС 42-0137-09 «Определение степени сыпучести порошков и гранул» в соответствии с ГФ XII (ч. 2, с.431–437).

### Результаты и обсуждение

Под влиянием добавки агента-антислеживателя –  $\text{SiO}_2$  наблюдается увеличение степени

сыпучести за счет уменьшения угла откоса более чем в 2,3 раза (рис. 1).

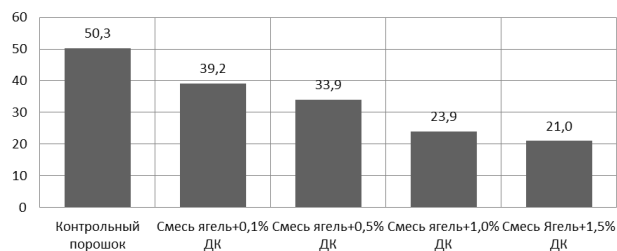


Рис. 1. Углы естественного откоса активированной смеси ягель + вспомогательный агент  $\text{SiO}_2$  (ДК), град

Значительно сокращается время истечения (примерно в 14 раз) по сравнению с контрольной группой, прежде обладавшей неудовлетворительными характеристиками (рис. 2).

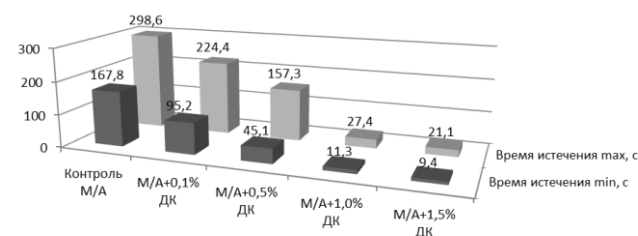


Рис. 2. Время истечения групп активированной смеси ягель + вспомогательный агент  $\text{SiO}_2$  (ДК), с

Эксперимент также показал, что добавление 0,1% вспомогательного агента практически не влияет на насыпную плотность (рис. 3).

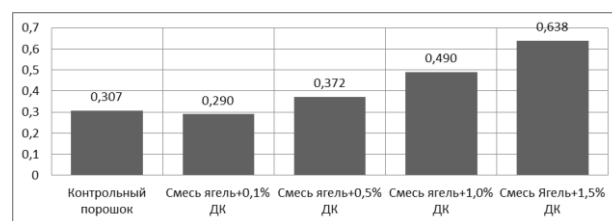


Рис. 3. Насыпная плотность групп активированной смеси ягель + вспомогательный агент  $\text{SiO}_2$  (ДК), г/см<sup>3</sup>

При введении в механоактивируемую смесь  $\text{SiO}_2$  в концентрации более 1% время истечения практически не меняется. Поэтому введение более высоких концентраций добавки агента-антислеживателя не целесообразно (рис. 2). Дальнейшее увеличение доли вспомогательного агента (до 2–3%) привело к неизмеримости результатов эксперимента по определению технологических параметров, по-видимому, за счет загрязнения датчика устройства по причине пылеобразования при открытии заслонки.

### Выводы

Разработан состав совместно активированной смеси талломов лишайника рода *Cladonia* и диоксида кремния с улучшенными технологическими свойствами, а именно с повышенной сыпучестью.

Полученные в ходе эксперимента результаты имеют практическую значимость, так как позволяют повысить степень технологичности производства твердых форм препаратов: желатиновых капсул и таблеток.

### Литература

1. Росляк А.Т., Брендаков В.Н., Романдин В.И. и др. Способ газовой центробежной классификации и измельчения порошков // Патент России № 2522674 от 20.07.2014.
2. Траутвайн А.И., Ядыкина В.В. Исследование влияния режимов измельчения на реакционную способность минеральных порошков // Вестник Харьковского национального автомобильно-дорожного университета. – 2013. № 61–62. С. 248–254.
3. Андреева Н.А., Ивченко О.Г., Кабакова Т.И. Маркетинговый анализ рынка лекарственных

препаратов седативного действия // Фундаментальные исследования. 2011. № 10 (часть 3). С. 604–607.

4. Демина Н.Б., Анурова М.Н., Асфура Т. Разработка рецептуры и технологии таблеток с экстрактом босвеллии // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. №4.

5. Гигиенические требования по применению пищевых добавок // СанПиН 2.3.2.1293-03.

6. Болдырев В.В. Механохимия и механохимическая активация твердых веществ // Успехи химии. 2006. Т. 75 (3). С. 203–216.

7. Аньшакова В.В. Биотехнологическая механохимическая переработка лишайников рода *Cladonia*. М.: Изд. дом Академии естествознания, 2013. С. 31.

8. Аньшакова В.В., Шарина А.С., Каратаева Е.В., Кершенгольц Б.М. Способ получения сорбционного материала из слоевищ лишайников // Патент России №2464997 от 27.10.2012.

9. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Способ получения высокоактивного твердофазного биопрепарата антибиотического действия «Ягель» из слоевищ лишайников // Патент России № 2467063 от 20.11.2012.

Поступила в редакцию 28.01.2016

УДК (582.663:577.19):577.121.7

## Влияние механоактивационной обработки биомассы *Amaranthus retroflexus* L. на выход лиофилизированных экстрактов растительных тканей и содержание биологически активных веществ в них

И.В. Воронов, Е.Р. Поскачина

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск

Выявлено увеличение выхода лиофилизата при предэкстракционной механоактивации надземной фитомассы *Amaranthus retroflexus* L. на 12–41% от массы исходной ткани в зависимости от условий механохимического воздействия. Максимальный выход лиофилизата наблюдался при обработке со скоростью вращения ротора 20 об./с в течение 3 мин. Установлено, что применение механоактивации не оказывает влияния на содержание суммы низкомолекулярных антиоксидантов в полученной растительной муке, кроме механоактивации при вариантах 20 и 30 об./с в течение 1 мин, при этих условиях наблюдалось снижение на 16% суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов. Показано, что предэкстракционная механоактивация исходного биосырья не оказывает влияния на содержания рутина в лиофилизатах экстрактов при обработке со скоростью вращения ротора 15 и 20 об./с. Обработка биоматериала при 30 об./с в течение 1 мин приводит к уменьшению выхода его рутин на 13%, а увеличение времени механоактивации биосырья до 2–3 мин вызывает повышение его выхода на 23–27% по сравнению с контролем. Вместе с тем содержание кверцетина снижается в 5–15 раз, а содержание низкомолекулярных антиоксидантов достоверно не изменяется.

ВОРОНОВ Иван Васильевич – к.б.н., с.н.с., e-mail: viv\_2002@mail.ru; ПОСКАЧИНА Елена Рудольфовна – к.б.н., н.с., e-mail: poskachinalena@yandex.ru.