

Использование послеспиртовой зерновой барды в качестве фармацевтического сырья для получения бетаинов гидрохлоридов

Н. Ш. Кайшева¹✉, М. В. Ларский¹, А. Ш. Кайшев²

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, Россия, e-mail: caisheva2010@yandex.ru

²Межрегиональное управление Росалкогольрегулирования по Северо-Кавказскому федеральному округу, Ессентуки, Россия

Поступила в редакцию: 10.09.2021 г.; после доработки: 17.11.2021 г.; принята в печать: 24.11.2021 г.

Аннотация – Послеспиртовая зерновая барда, по объему производства в 12 раз превосходящая объем производства спирта, содержащая биологически активные вещества, лабильные в условиях окружающей среды, практически не утилизируемая, доступная для переработки, привлекла внимание с точки зрения ее использования в качестве фармацевтического сырья. В работе были использованы технологические, химические, физико-химические и биологические методы. Разработан способ получения лекарственных средств: субстанции и таблеток на основе бетаинов гидрохлоридов с добавлением пепсина, обладающих пищеварительным и ферментным действием. Впервые использована в качестве фармацевтического сырья послеспиртовая кукурузная барда, более богатая аминокислотами, более масштабная и доступная, чем традиционное сырье – меласса. Полусинтезом из содержащихся в барде аминокислот получены следующие бетаины гидрохлоридов: глицина, глутаминовой кислоты, аргинина, аланина, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина, серина, валина, лейцина, лизина, треонина), выход которых составил 5,70% к жидкой фазе, в отличие от известного препарата «Ацидин-пепсин», содержащего один бетаина гидрохлорид, выделенный из мелассы с выходом 1,70%. Показано, что увеличение выхода бетаинов гидрохлоридов является результатом практически полного кислотного гидролиза белков и пептидов; выделением не только бетаинов, но и полусинтезом бетаинов из аминокислот, а также специальными температурными режимами и удалением сопутствующих углеводов. Полученные бетаины гидрохлоридов имеют высокую степень чистоты 99,5–99,8%. Оптимизированы фармацевтико-технологические свойства гранулята и таблеток путем коррекции технологии получения таблеток и состава вспомогательных веществ, следствием чего явилось увеличение срока годности таблеток. Изготовленные из нового вида сырья и по модифицированной технологии таблетки на основе бетаинов гидрохлоридов практически нетоксичны и по своему гиперацидному и протеолитическому действию не уступают зарубежному аналогу – таблеткам «Ацидин-пепсин».

Ключевые слова: послеспиртовая барда, переработка барды, аминокислоты, лекарственные средства, бетаины гидрохлориды.

The use of distillery grains as a pharmaceutical raw material for the production of betaines hydrochlorides

Nelli Sh. Kaisheva¹✉, Mikhail V. LarSKIY¹, and Alexander Sh. Kaishev²

¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the federal state budgetary educational institution of higher education "Volgograd State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Pyatigorsk, Russia, e-mail: caisheva2010@yandex.ru

²Interregional Administration of Rosalkogolregulirovanie for the North Caucasian Federal District, Essentuki, Russia

Received: September 10, 2021; Revised: November 17, 2021; Accepted: November 24, 2021

Abstract – Post-alcohol grains, in terms of production volume 12 times greater than the volume of alcohol production, containing biologically active substances, labile under environmental conditions, practically not utilized, available for processing, attracted attention from the point of view of its use as a pharmaceutical raw material. Technological, chemical, physicochemical and biological methods were used in the work. A method for producing drugs was developed: substances and tablets based on betaine hydrochlorides with the addition of pepsin, which have a digestive and enzymatic effect. For the first time, post-alcohol corn grains, richer in amino acids, larger-scale and more accessible than the traditional raw material, molasses, was used as a pharmaceutical raw material. The following betaines hydrochlorides were obtained by semi-synthesis from the amino acids contained in vinasse: glycine, glutamic acid, arginine, alanine, aspartic acid, tyrosine, histidine, serine, valine, leucine, lysine, threonine), the yield of which was 5.70% to the liquid phase, in the difference from the known drug "Acidin-pepsin", containing one betaine hydrochloride, isolated from molasses with a yield of 1.70%. It has been shown that an increase in the yield of betaines hydrochlorides is the result of an almost complete acidic hydrolysis of proteins and peptides; the release of not only betaines, but also the semisynthesis of betaines from amino acids, as well as special temperature conditions and the removal of accompanying carbohydrates. The resulting betaines of hydrochlorides have a high purity of 99.5–99.8%. The pharmaceutical and technological properties of granules and tablets have been optimized by correcting the technology for producing tablets and the composition of excipients, which resulted in an increase in the shelf life of the tablets. The tablets based on betaines hydrochlorides made from a new type of raw material and using a modified technology are practically non-toxic and, in terms of their hyperacid and proteolytic action, are not inferior to their foreign counterparts – tablets "Acidin-pepsin".

Key words: distillery grains, grains processing, amino acids, medicines, betaine hydrochlorides.

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее объемным (80%) отходом спиртового производства, выбрасываемым в окружающую среду, является послеспиртовая барда: из 1 тонны зерна при получении спирта образуется более 13 м³ барды [1, 2]. Ежегодный объем барды в России составляет 10 млн. м³ в год, что в 12–13 раз превышает объем производимого спирта [1, 2]. Значительный объем выбрасываемой барды и ее способность к быстрой порче (не более 2 суток хранения) [3, 4] приводят к серьезным экологическим проблемам. Очистка 1 м³ сточных вод, содержащих барду, приравнивается к очистке 400 м³ типичных

промышленных стоков [1]. Из-за низкого содержания сухих веществ (до 8%), малого срока хранения и сезонности потребления в животноводстве, транспортировка барды экономически не выгодна, что вызывает необходимость ее очистки или слива в водоемы и на поля, где из-за легко разлагаемых и окисляемых компонентов барда загрязняет окружающую среду [3, 4]. В связи с этим, проблема переработки барды является весьма актуальной.

Используемые технологии переработки предполагают получение из твердой фазы барды одного из сухих кормовых продуктов для животноводства [1, 2]: добавок, дрожжей, витаминизированного высокобелкового продукта; жидкая фаза (более 90%) при этом не перерабатывается.

Фармацевтическое применение барды менее известно. Так, из послеспиртовой мелассной барды с технологическим выходом 1,7–1,75% выделяют глицина (Gly) бетаина гидрохлорид, после смешивания которого с пепсином и вспомогательными веществами, производят гастропротекторное лекарственное средство «Ацидин-пепсин, таблетки» (Республика Беларусь, РУ ЛС001355241011). В России имеются все предпосылки для создания подобного аналога, но с применением более доступного по объему и ценовому фактору вторичного сырья – жидкой фазы послеспиртовой зерновой барды. Известен способ выделения из данного объекта комплекса биологически активных соединений (преимущественно протеинов), как фармацевтической субстанции «Биобардин», на основе которой путем введения вспомогательных веществ (лактозы, полипластона, кальция стеарата) получают таблетки гастропротекторного действия) [5–8]. Аминокислоты барды, как предшественники азотсодержащих бетаинов, могут быть использованы для создания лекарственного средства, не уступающего по фармакологической активности белорусскому аналогу. Цель исследования: из аминокислот жидкой фазы послеспиртовой кукурузной барды полусинтезом получить комплекс азотсодержащих бетаинов гидрохлоридов, на основе которых после смешивания с пепсином и вспомогательными веществами изготовить таблетки с оптимальными фармацевтико-технологическими показателями, не уступающими по фармакологическому действию аналогу «Ацидин-пепсин».

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом получения бетаинов гидрохлоридов явилась жидкая фаза послеспиртовой кукурузной барды, более богатая протеинами, чем твердая фаза [2, 9, 10].

Нижеперечисленные методики изложены в [11]:

- Определение углеводов в барде;
- Гидролиз белков и пептидов и определение аминокислот;
- Получение бетаинов гидрохлоридов из аминокислот и их анализ;
- Получение фармацевтической субстанции и оценка ее фармацевтико-технологических свойств;
- Стабильность разработанных таблеток;
- Биологические испытания разработанных таблеток;
- Острая токсичность разработанных таблеток;

– Гиперацидное и протеолитическое действие разработанных таблеток.

Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации [12], условиями практически полного протекания гидролиза протеинов являются: гидролизующий агент – концентрированная хлористоводородная кислота (6,0 М), гидромодуль с жидкой фазой 1:1, продолжительность процесса 72 час, что мы и использовали в работе. Условия очистки полученного гидролизата активированным углем подбирали экспериментально по степени окраски растворов.

Аминокислоты в гидролизате в сравнении со СО (по 2,5 М) идентифицировали методом двумерной ТСХ на пластинках «Sorbfil ПТСХ-П-А», используя два направления и две системы растворителей: 1. *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:5), 2. этанол 95% – вода (95:5) при детекции зон адсорбции 1% спиртовым раствором нингидрина [13]. Идентификацию зон осуществляли по абсолютным (R_f) и относительным коэффициентам подвижности (R_s).

Количественное содержание аминокислот в гидролизате барды определяли методом спектрофотометрии по реакции взаимодействия с нингидрином при длине волны 566 нм и толщине рабочего слоя 10 мм [12]; для расчета содержания (в пересчете на Glu) использовали удельный показатель поглощения продукта взаимодействия СО Glu с нингидрином (0,673; [4]).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения углеводов

Значения времен удерживания углеводов на ВЭЖХ-хроматограммах приведены на рисунке 1.

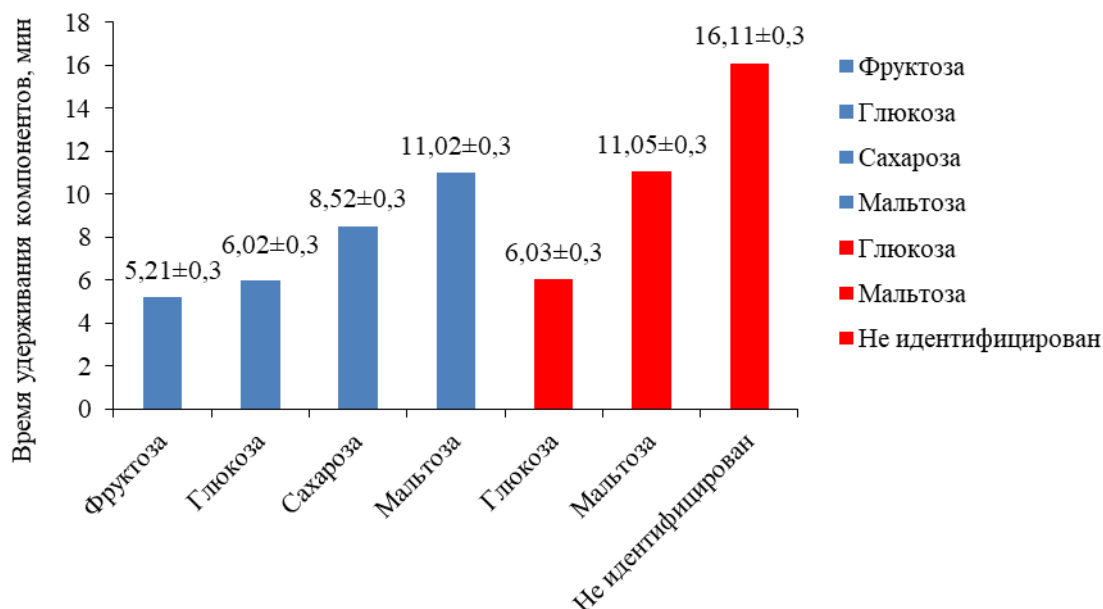


Рис. 1. Результаты обнаружения углеводов на ВЭЖХ-хроматограммах стандартного и испытуемого растворов. ■ – стандартный раствор, ■ – послеспиртовая кукурузная барда.

Fig. 1. Results of the detection of carbohydrates on HPLC-chromatograms of the standard and test solution: ■ – standard solution, ■ – post-alcohol corn grain.

Путем сравнения значений времен удерживания на ВЭЖХ-хроматограммах стандартного и испытуемого растворов в барде найдены глюкоза, мальтоза.

Экспериментальные значения для расчета количественного содержания приведены в таблице 1.

Таблица 1. Экспериментальные данные по содержанию углеводов в послеспиртовой кукурузной барде

Table 1. Experimental data on the content of carbohydrates in distilled corn grains

a_2 , г	V_2 , мл	a_1 , г	V_1 , мл	S_1 , мм ²	S_2 , мм ²	X, %
1,5000 г глюкозы	100	5,0000 г барды	100	3744±56	8017±120	14,0±0,3
0,1500 г мальтозы	100		100	2372±36	2033±30	3,5±0,1

Полученные данные свидетельствуют о содержании в жидкой фазе барды 17,5% восстанавливающих сахаров.

В связи с высокой остаточной концентрацией примесных к аминокислотам углеводов, нами предусмотрена стадия удаления восстанавливающих сахаров из сырья известным способом [14]: гидролизом мальтозы безводной уксусной кислотой (1:2, 100±2°C, 0,5 час), кристаллизацией глюкозы (0–5°C, 1 сутки). В этих условиях нет опасности потери аминокислот, поскольку они растворимы в безводной уксусной кислоте [15].

Результаты выделения и определения аминокислот

В таблице 2 приведены результаты эмпирического подбора условий очистки белкового гидролизата активированным углем.

Таблица 2. Влияние массовой доли активированного угля и продолжительности обработки активированным углем на окраску гидролизата, содержащего аминокислоты

Table 2. Influence of the mass fraction of activated carbon and the duration of treatment with activated carbon on the color of hydrolyzate containing amino acids

Массовая доля угля к объему гидролизата, %	0,1	0,2	0,3	0,4
Окраска растворов	Светло-желтая	Светло-желтая	Бесцветная	Бесцветная
Продолжительность обработки гидролизата углем, час	0,25	0,50	0,75	1,00
Окраска растворов	Светло-желтая	Бесцветная	Бесцветная	Бесцветная

Как видно из приведенных данных, оптимальной концентрацией активированного угля является 0,3% к объему гидролизата, оптимальной продолжительностью обработки гидролизата – 0,5 часа.

Результаты идентификации аминокислот в белковом гидролизате из барды в сравнении со СО α -аминокислот методом двумерной ТСХ приведены на рисунке 2.

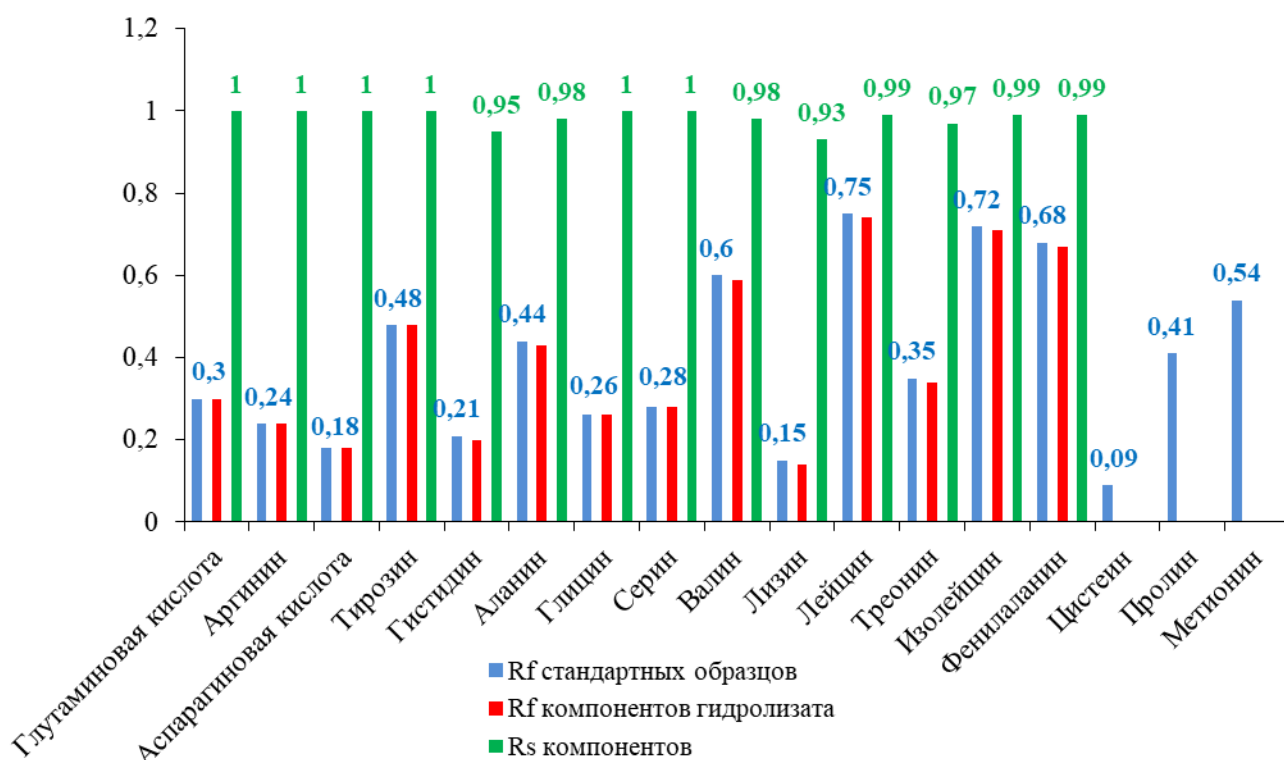


Рис.2. Результаты обнаружения аминокислот в гидролизате барды методом двумерной ТСХ.
Fig2. Results of the detection of amino acids in the hydrolyzate of grains by two-dimensional TLC.

Полученные данные свидетельствуют о наличии в гидролизате кукурузной барды 14-ти α -аминокислот.

При количественном определении аминокислот в гидролизате барды методом спектрофотометрии по реакции взаимодействия с нингидрином оптическая плотность продукта взаимодействия гидролизата (50 мл) с нингидрином составила 0,639. Учитывая удельный показатель поглощения продукта взаимодействия стандартного образца Glu с нингидрином ([4]), количественное содержание аминокислот (в пересчете на Glu) составило 1,9% к жидкой фазе барды.

Осадки веществ, образовавшихся в результате кислотного гидролиза пептидов, не дали положительных результатов реакций с нингидрином, биуретовым реактивом, что свидетельствует об отсутствии аминокислот [12, 16].

Результаты получения бетаинов гидрохлоридов из аминокислот и их анализ

Оптимизация способа последовательного получения бетаинов гидрохлоридов из аминокислот заключается в следующем [11]. Аминокислоты подвергают исчерпывающему метилированию до образования бетаинов с помощью йодметана (1:4) в присутствии натрия карбоната (2:1) ($42 \pm 2^\circ\text{C}$, 30 час). Далее к смеси добавляют концентрированную хлористоводородную кислоту (1:1), концентрируют ($55 \pm 2^\circ\text{C}$), охлаждают (до $20 \pm 2^\circ\text{C}$), фильтруют и промывают осадок (осадок А) концентрированной хлористоводородной кислотой (1:10). Объединенный с промывными водами фильтрат концентрируют ($55 \pm 2^\circ\text{C}$),

кристаллизуют ($0-5^{\circ}\text{C}$, 8 час), отделяют осадок *Б* декантацией; осадки *А* и *Б* объединяют (осадок *I*). Раствор осадка *I* очищают активированным углем ($0,3\%$, $40\pm 2^{\circ}\text{C}$, 0,5 час), фильтруют, концентрируют ($55\pm 2^{\circ}\text{C}$), кристаллизуют ($0-5^{\circ}\text{C}$, 8 час). Раствор, образовавшийся после отделения осадка *I*, осветляют активированным углем ($0,3\%$, $55\pm 2^{\circ}\text{C}$, 0,5 час), фильтруют, концентрируют ($55\pm 2^{\circ}\text{C}$), обрабатывают концентрированной хлористоводородной кислотой ($6,0\text{ M}$, 1:1), кристаллизуют ($0-5^{\circ}\text{C}$, 5 суток) и переосаждают осадок *II* [17]. Растворы после выделения осадка *II* выпаривают под вакуумом ($55\pm 2^{\circ}\text{C}$) и досушивают в вакуум-эксихаторе (осадок *III*). Технологические выходы целевых осадков составляют: $2,60\%$ осадка *I*, $2,30\%$ осадка *II*, $0,80\%$ осадка *III* к жидкой фазе барды.

Результаты идентификации целевых осадков по качественным реакциям (табл. 3) свидетельствуют о наличии четвертичного атома азота (бетаинов), хлорид ионов и отсутствии первичной, вторичной, третичной аминогрупп во всех осадках (*I*, *II*, *III*).

Установлены следующие значения температуры плавления: $227,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (с разложением) для осадка *I*, что соответствует бетаину гидрохлориду Gly [16], $134\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ для осадка *II*, что соответствует бетаину гидрохлориду Glu [16].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ

Таблица 3. Результаты испытания целевых осадков по качественным цветным, осадительным и термическим реакциям

Table 3. Results of testing target precipitates for qualitative color, precipitation and thermal reactions

Реакции	Область применения	Ожидаемый аналитический эффект	Результаты анализа осадков*		
			I	II	III
Термическое разложение	N-метилированные α-аминокислоты	Характерный запах	+	+	+
С аммония рейнекатом	Четвертичный азот	Розовый осадок	+	+	+
С фосфорновольфрамовой кислотой	Четвертичный азот	Белый осадок	+	+	+
С тетрафенилборатом	Четвертичный азот	Белый осадок	+	+	+
С йодом	Четвертичный азот	Красно-коричневый или темно-коричневый осадок	+	+	+
Нингидриновая проба	Алифатические аминокислоты	Сине-фиолетовая окраска	—	—	—
Биуретовая реакция	Белки, пептиды, белковые комплексы	Сине-фиолетовая окраска	—	—	—
С нитропруссидом натрия + ацетон	Первичная, вторичная аминогруппа	Красная окраска (первичный амин), голубая окраска (вторичный амин)	—	—	—
С нитропруссидом натрия	Вторичная аминогруппа	Голубая окраска	—	—	—
С серебра нитратом	Хлорид ионы	Белый творожистый осадок	+	+	+
С резорцином в сернокислой среде с добавлением аммиака	Аминокислоты, амины	Зелено-коричневое окрашивание, переходящее в красно-фиолетовое	—	—	—
С натрия нитритом в присутствии хлористоводородной кислоты + β-нафтол	Ароматические аминокислоты, амины	Вишнево-красное окрашивание или осадок от оранжевого до красного цвета	—	—	—

*«+» положительный результат реакции, «—» отрицательный результат реакции.

Результаты идентификации осадков I, II, III методом ВЭЖХ в сравнении со стандартными образцами бетаинов гидрохлоридов представлены на рисунке 3 (а, б).

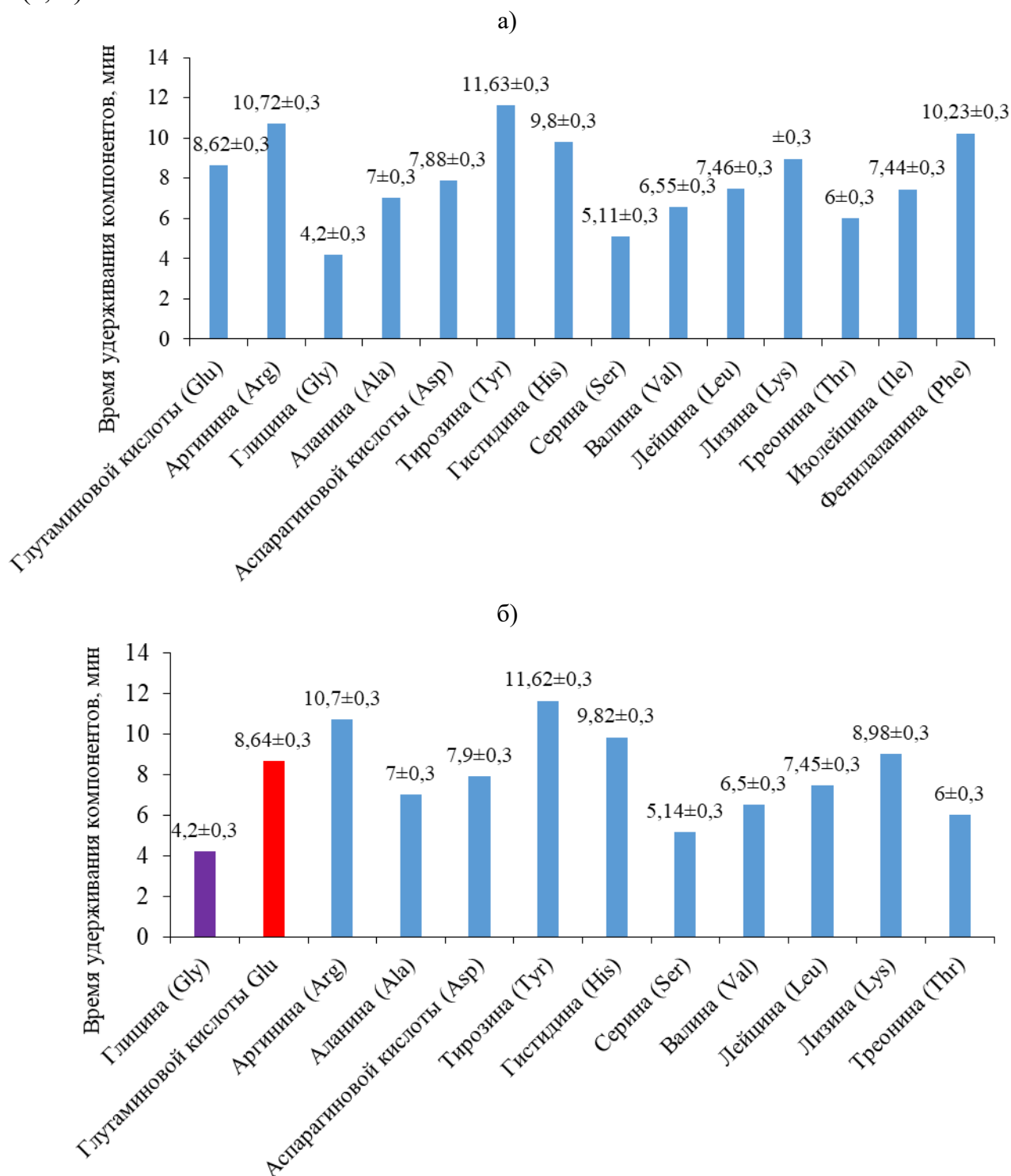


Рис. 3. Результаты идентификации бетаинов гидрохлоридов в целевых осадках методом ВЭЖХ. а) модельная смесь СО бетаинов гидрохлоридов; б) ■ – осадок I, ■ – осадок II, ■ – осадок III.

Fig 3. Results of HPLC identification of betaines of hydrochlorides in target sediments. а) model mixture of CO betaines of hydrochlorides; б) ■ – sediment I, ■ – sediment II, ■ – sediment III.

Таким образом, методом ВЭЖХ достаточно надежно осадок I идентифицирован, как гидрохлорид бетаина Gly, осадок II – гидрохлорид

бетаина Glu, осадок III – смесь гидрохлоридов бетаинов Arg, Ala, Asp, Tyr, His, Ser, Val, Leu, Lys, Thr.

Данные количественного определения целевых осадков по содержанию гидрохлоридов методом алкаиметрии с потенциометрической фиксацией точки эквивалентности приведены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты количественного определения целевых осадков по содержанию гидрохлоридов методом алкаиметрии

Table 4. Results of quantitative determination of target sediments by the content of hydrochlorides by alkalimetry

Объекты анализа	а, г	V, мл	K	T, мг/мл	P	X, %
Осадок I	0,2010	13,06	1,00	15,36	100	99,8±3,7
Осадок II	0,1998	8,82	1,00	22,56	100	99,6±3,8
Осадок III	0,2012	7,92	1,00	25,27	100	99,5±4,0

Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительном качестве осадков, как фармацевтических субстанций, по показателю «Количественное определение» [12]: одинаково высокие значения средних результатов и отклонения от средних результатов не более $\pm 5\%$.

Результаты оценки фармацевтико-технологических свойств фармацевтической субстанции

Результаты определения фармацевтико-технологических свойств полученной субстанции приведены в таблице 5.

Таблица 5. Фармацевтико-технологические свойства фармацевтической субстанции

Table 5. Pharmaceutical and technological properties of a pharmaceutical substance

Фармацевтико-технологические показатели субстанции	Значения
Органолептические свойства	Однородный белый порошок
Сыпучесть 100 г субстанции, сек	20,5±1,4
Угол естественного откоса субстанции, градус	38,0±2,5
Прессуемость субстанции:	
– коэффициент прессуемости, г/мм	0,06±0,003
– прочность таблеток на раздавливание, Н	25±2
Насыпная плотность субстанции, г/см ³	1,80±0,12
Давление выталкивания таблеток из матрицы, МПа	25,8±2,5

Полученные результаты свидетельствуют о неудовлетворительных фармацевтико-технологических показателях субстанции, что дополняется её гигроскопичностью и слёживаемостью, малой прочностью таблеток на раздавливание. Представленные данные обусловили необходимость подбора вспомогательных веществ, способных оптимизировать показатели субстанции.

Результаты оптимизации состава и технологии таблеток с оценкой фармацевтико-технологических свойств

На наш взгляд, использование в производстве таблеток «Ацидин-пепсин» повидона-К25, предназначенного для влажной грануляции [18], неприемлемо. Кроме того, для улучшения распадаемости таблеток в среде желудочно-кишечного тракта нами осуществлен подбор оптимального разрыхлителя (таблица 6).

Таблица 6. Влияние природы разрыхлителя на распадаемость изготовленных таблеток
Table 6. Influence of the nature of the disintegrant on the disintegration of the manufactured tablets

Разрыхлители	Норма [14]	Распадаемость в воде, мин
Повидон-К25	В течение 15 мин	0,08±0,004
Коповидон (повидон винилацетат)		1,15±0,06
КоллидонCL		12±0,60
Натрия альгинат		30±1,50
Желатин		27±1,35
Крахмальный клейстер		18±0,88

Полученные данные свидетельствуют об обеспечении удовлетворительной распадаемости таблеток при введении в них в качестве разрыхлителей повидона-К25, коповидона, коллидона CL. Однако применение первых двух веществ, в отличие от коллидона CL, обуславливает очень быструю распадаемость таблеток (в течение времени, недостаточного для их поступления в желудочно-кишечный тракт) и расплываемость таблеток на воздухе, поэтому в качестве оптимального разрыхлителя выбран коллидон CL.

Мы остановились на концентрации коллидона CL 5% при норме 2 – 5% [18], поскольку именно в этой концентрации коллидон CL обеспечил оптимальную распадаемость таблеток (12±0,60 мин) и удовлетворительную прочность таблеток на раздавливание (71±3,5 Н).

При предельно допустимой концентрации другого вспомогательного (скользящего) вещества аэросила 10% [12] скольжение таблетлируемой массы становится оптимальным: достигается минимальное давление выталкивания таблеток из матрицы – 12,0±1,2 МПа.

Для увлажнения гранулята, приготовленного из субстанции, способной с водой образовывать клейкую, оплывающую, плохо гранулируемую массу, обычно используют спирт этиловый 96% [18].

Технология получения предложенных на основе бетаинов гидрохлоридов таблеток подробно описана и защищена патентом РФ на изобретение [11]. Сравнительный состав импортируемых в Россию таблеток «Ацидин-пепсин» и разработанных нами отличается по содержанию как действующих (79,6 и 83,4% соответственно), так и вспомогательных (20,4 и 16,6% соответственно) веществ (табл. 7).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ

Таблица 7. Состав известных и разработанных таблеток на основе бетаинов гидрохлоридов

Table 7. Composition of known and developed tablets based on betaine hydrochlorides

Компоненты	Известные таблетки		Предложенные таблетки	
	мг	% к массе таблеток	мг	% к массе таблеток
Действующие вещества:				
Бетаины гидрохлориды	200	79,37	200,0	66,67
Пепсин	0,5	0,20	50,0	16,67
Вспомогательные вещества:				
Повидон-К25	12	4,76		
Аэросил	5,2	2,06	29,9	10,0
Коллидон CL			15,0	5,0
Кальция стеарата	2,5	0,99	3,0	1,0
Сорбитол	31,8	12,62		
Спирт этиловый 96%			1,0-1,5 мл	0,33-0,5
Средняя масса таблетки	233-271		285-315	

Фармацевтико-технологические характеристики предлагаемых таблеток приведены в таблице 8.

Таблица 8. Фармацевтико-технологические характеристики предлагаемых таблеток

Table 8. Pharmaceutical and technological characteristics of the proposed tablets

Показатели	Значения
Для гранулята:	
Сыпучесть порошка, 100 г/сек	11,5±1,1
Угол естественного откоса, градус	28,0±2,7
Насыпная плотность, г/см ³	0,95±0,10
Прессуемость таблеток:	
– коэффициент прессуемости, г/мм	0,10±0,01
– прочность на раздавливание, Н	71±7
Давление выталкивания таблеток из матрицы, МПа	11,1±1,1
Для таблеток:	
Средняя масса одной таблетки, мг	296,4-303,6
Отклонение массы таблетки от средней массы, %	≤ ±1,2
Истираемость, %	±0,7
Распадаемость в воде, мин	12
Растворение в 0,01 М растворе хлористоводородной кислоты (по содержанию бетаинов гидрохлоридов методом алкаиметрии), %	99,8
Количественное содержание бетаинов гидрохлоридов (метод алкаиметрии), мг	199,6
Количественное содержание пепсина (биохимический метод), мг	47,5
Количественное содержание вспомогательных веществ (метод гравиметрии): аэросила, % кальция стеарата, %	9,9 1,0
Срок годности при температуре хранения 10°C, лет	2

Полученные данные полностью удовлетворяют фармакопейным требованиям, предъявляемым к таблеткам без оболочек [12].

Результаты биологических испытаний разработанных таблеток**Результаты испытания острой токсичности таблеток**

За время наблюдения (14 дней) за состоянием животных их гибели не отмечено. При вскрытии животных изменений со стороны печени, почек, селезенки не обнаружено. Результаты изучения острой токсичности предложенных таблеток приведены в таблице 9.

Таблица 9. Результаты изучения острой токсичности разработанных таблеток**Table 9.** Results of the study of the acute toxicity of the developed tablets

Дозы, мг/кг	100	250	500	1000	5000
Выжило	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0
z^*	0	0	0	0	
d^{**}	150	250	500	4000	
zd	0	0	0	0	

* z среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждой двух смежных доз;

** d интервал между каждыми двумя смежными дозами.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что даже максимально введенная доза (5000 мг/кг) не вызвала токсичности, поэтому рассчитать LD_{50} не представилось возможным, очевидно, $LD_{50} > 5000$ мг/кг. Согласно классификации токсических веществ [19], испытуемые таблетки отнесены к группе практически нетоксичных веществ.

Результаты испытания гиперацидной и протеолитической активности разработанных таблеток

Полученные результаты приведены в таблице 10.

Таблица 10. Результаты изучения гиперацидной и протеолитической активности таблеток у крыс**Table 10.** Results of studying the hyperacid and proteolytic activity of tablets in rats

Показатели	Группы животных		
	№ 1 (контроль)	№ 2	№ 3
1. Концентрация соляной кислоты в желудке, мМ:			
– свободной	10,0±0	10,0±0	10,0±0
– общей	31,0±2,2	65,0±3,9 $P_1 < 0,001$	60,0±4,2 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$
– связанной с белками	21,0±1,5	55,0±3,9 $P_1 < 0,001$	50,0±3,5 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$
2. Общая кислотность, мМ	38,0±2,7	76,0±5,3 $P_1 < 0,001$	72,0±5,0 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$
3. Концентрация белков, г/л	75,1±3,4	57,5±3,2 $P_1 < 0,01$	61,5±2,9 $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$

* P_1 – достоверность различий по отношению к группе животных № 1;

** P_2 – достоверность различий по отношению к группе животных № 2.

Согласно полученным данным, оба препарата (разработанный и сравнения) в сопоставлении с контролем не вызывают изменения концентрации свободной соляной кислоты в желудке крыс, но достоверно повышают содержание общей соляной кислоты, соляной кислоты, связанной с белками, общую кислотность, снижают концентрацию белков. Достоверных различий между обоими препаратами, как по гиперацидной, так и по протеолитической активности не установлено ($P_2 > 0,05$). Научная новизна работы защищена патентом на изобретение РФ [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами разработан способ получения субстанции и таблеток на основе азотсодержащих бетаинов гидрохлоридов с добавлением пепсина, предназначенных для использования в качестве пищеварительных, ферментных лекарственных средств. Впервые использована в качестве фармацевтического сырья послеспиртовая кукурузная барда, более богатая аминокислотами (29%), более масштабная (10 млн. м³ в год в России), более доступная (практически не утилизируемая), чем традиционное сырье – мелассная барда. Из 14-ти содержащихся в кукурузной барде α -аминокислот полусинтезом получено 12 их бетаинов гидрохлоридов (Gly, Glu, Arg, Ala, Asp, Tyr, His, Ser, Val, Leu, Lys, Thr) с общим выходом 5,70% к жидкой фазе, в отличие от импортного препарата «Ацидин-пепсин», содержащего только 1 бетаин гидрохлорид, выделенный из мелассы с выходом 1,70%. Увеличение технологического выхода бетаинов гидрохлоридов обусловлено оптимизацией технологического процесса. Оптимизированы фармацевтико-технологические свойства гранулята и таблеток путем коррекции технологии таблеток и состава вспомогательных веществ, следствием чего явилось продление срока годности таблеток при температуре хранения 10°C на 0,5 года. Изготовленные из нового сырьевого источника и по модифицированной технологии таблетки на основе бетаинов гидрохлоридов практически нетоксичны, по гиперацидному и протеолитическому действию не уступают зарубежному аналогу – таблеткам «Ацидин-пепсин».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

CONFLICT OF INTERESTS:

The authors declare no conflict of interests.

Список литературы:

1. Винаров А.Ю., Ковальский Ю.В., Заикина А.И. (2004). Промышленная биотехнология переработки отходов спиртовых заводов. *Экология окружающей среды стран СНГ*, 2, 84–86.
2. Кайшев А.Ш., Кайшева Н.Ш. (2013). *Научные основы фармацевтического использования сырьевых ресурсов спиртового производства*. Волгоград: ВГМУ.

3. Кайшев А.Ш., Кайшева Н.Ш., Челомбитко В.А., Василенко Ю.К., Смоленская Г.В. (2012). Экологические аспекты переработки послеспиртовой зерновой барды. *Экология и промышленность России*, 1, 23–25.
4. Кайшев А.Ш. Дисс. ... канд. фармац. наук. Пятигорск: ПГФА, 2011.
5. Кайшев А.Ш., Кайшева Н.Ш., Василенко Ю.К., Маршалкин М.Ф. (2012). Разработка биоконпозиций антиоксидантного и гастропротекторного действия на основе спиртовых отходов. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 5–6(329–330), 52–55.
6. Кайшев А.Ш., Кайшева Н.Ш. (2014). Биологически активные вещества отходов спиртового производства. *Фармация и фармакология*, 4(5), 3–22.
7. Пат. 2404766 РФ, 2010.
8. Пат. 2662064 РФ, 2016.
9. Кайшев А.Ш., Кайшева Н.Ш., Челомбитко В.А., Василенко Ю.К. (2011). Послеспиртовая зерновая барда – перспективный источник биологически активных веществ. *Производство спирта и ликероводочных изделий*, 2, 30–33.
10. Кайшев А.Ш., Айрапетова А.Ю., Ушакова Л.С., Туховская Н.А., Кайшева Н.Ш. (2011). Изучение биологически активных веществ, содержащихся в отходах спиртового производства. *Фармация*, 7, 7–10.
11. Пат. 2736186 РФ, 2020.
12. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание, 2018.
13. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. (1985). *Аминокислоты. Пептиды. Белки*. М.: Мир.
14. Морриссон Р., Бойд Р. (1974). *Органическая химия*. М.: Мир.
15. Справочник химика 21. Химия и химическая технология. <http://www.chem21.info/info/149796> (дата обращения 09.09.2021).
16. Лазурьевский Г.В., Терентьева И.В., Шамшуринов А.А. (1966). *Практические работы по химии природных соединений*. М.: ВШ.
17. Производство глутаминовой кислоты (усилителя вкуса Е-621) и бетаина (ацидина) путем утилизации мелассной послеспиртовой барды. [http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Documents/Glutamate/Production glutamate from melasses stillage.htm](http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Documents/Glutamate/Production_glutamate_from_melasses_stillage.htm) (дата обращения 09.09.2021).
18. Егوشيная Ю.А., Поцелуева Л.А. (2009). Современные вспомогательные вещества в таблеточном производстве. *Успехи современного естествознания*, 10, 30–33.
19. Сидоров К.К. (1970). *Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия)*. М.: Медицина.

References:

1. Vinarov, A.Yu., Kovalsky, Yu.V. & Zaikina, A.I. (2004). Industrial biotechnology of distillery waste processing. *Ecology of the environment of the CIS countries*, 2, 84–86. (in Russ.).
2. Kaishev, A.Sh. & Kaisheva N.Sh. (2013). *Scientific basis for the pharmaceutical use of raw materials for alcohol production*. Volgograd: VSMU (in Russ.).
3. Kaishev, A.Sh., Kaisheva, N.Sh., Chelombitko, V.A., Vasilenko, Yu.K., Smolenskaya & G.V. (2012). Environmental aspects of post-alcohol grain stillage processing. *Ecology and Industry of Russia*, 1, 23–25. (in Russ.).
4. Kaishev, A.Sh. (2011). *Study of biologically active substances of alcohol production waste* (Ph.D. dissertation). Pyatigorsk: PGFA (in Russ.).
5. Kaishev, A.Sh., Kaisheva, N.Sh., Vasilenko, Yu.K. & Marshalkin, M.F. (2012). Development of antioxidant and gastroprotective biocompositions based on alcohol waste. *Proceedings of higher educational institutions. Food Technology*, 5-6(329–330), 52–55. (in Russ.).
6. Kaishev, A.Sh. & Kaisheva, N.Sh. (2014). Biologically active substances of alcohol production waste. *Pharmacy and Pharmacology*, 4(5), 3–22. (in Russ.).
7. Pat.2404766, Russian Federation, 2010.
8. Pat.2662064, Russian Federation, 2016.

9. Kaishev, A.Sh., Kaisheva, N.Sh., Chelombitko, V.A. & Vasilenko, Yu.K. (2011). Post-alcohol grains is a promising source of biologically active substances. *Production of alcohol and alcoholic beverages*, 2, 30–33. (in Russ.).
10. Kaishev, A.Sh., Airapetova, A.Yu., Ushakova, L.S., Tukhovskaya, N.A. & Kaisheva, N.Sh. (2011). Study of biologically active substances contained in the wastes of alcohol production. *Pharmacy*, 7, 7–10. (in Russ.).
11. Pat. 2736186, Russian Federation, 2020.
12. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition, 2018. (in Russ.).
13. Jakubke, H.-D. & Eshkite, H. (1985). *Amino acids. Peptides. Proteins*. M.: Mir (in Russ.).
14. Morrison, R., & Boyd, R. (1974). *Organic chemistry*. N.Y.: Allyn and Bacon.
15. Chemist's Handbook 21. Chemistry and Chemical Technology.
<http://www.chem21.info/info/149796> (accessed 09.09.2021). (in Russ.)
16. Lazurevsky, G.V., Terentyeva, I.V., & Shamshurin A.A. (1966). *Practical work on the chemistry of natural compounds*. M.: HSch. (in Russ.).
17. Production of glutamic acid (flavor enhancer E-621) and betaine (acidin) by recycling molasses distillery grains. [http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Documents/Glutamate/Production glutamate from melasses stillage.htm](http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Documents/Glutamate/Production_glutamate_from_melasses_stillage.htm) (accessed 09.09.2021). (in Russ.).
18. Egoshina, Yu.A. & Potselueva, L.A. (2009). Modern excipients in tablet production. *Successes of modern natural science*, 10, 30–33. (in Russ.).
19. Sidorov, K.K. (1970). *Methods for determining the acute toxicity and hazard of chemicals (toxicometry)*. M.: Medicine (in Russ.).