

Некоммерческое акционерное общество
Медицинский университет Караганды

УДК 615.32




На правах рукописи

ЖУНУСОВА МАЙРА АБЫЛОВНА


**Фармацевтическая разработка лекарственных средств из
растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.**

6D074800 – Технология фармацевтического производства
Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:


Абдуллабекова Р.М., доктор
фармацевтических наук, профессор

Ишмуратова М.Ю., кандидат
биологических наук, профессор

Зарубежный консультант:


Журавель И.А., доктор химических
наук, профессор

Республика Казахстан
Караганда, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА DIPSACACEAE	13
1.1 Современное состояние исследований растений семейства Dipsacaceae.....	13
1.2 Методы выделения компонентов из растительного сырья.....	22
1.3 Углекислотная экстракция – безальтернативный метод получения натуральных экологических продуктов.....	23
1.4 Использование безотходных технологий в фармацевтической промышленности.....	32
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	36
2.1 Материалы исследований.....	36
2.2 Методы исследований	38
3 ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВ SCABIOSA OCHROLEUCA L., SCABIOSA ISETENSIS L., ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В КАРАГАНДИНСКОЙ ОБЛАСТИ	46
3.1 Распространение и сырьевые запасы растений <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L. на территории Карагандинской области	46
3.2 Технология заготовки надземной части растений <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	47
3.3 Изучение макро- и микроскопических особенностей надземной части растений <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	49
3.4 Идентификация растительного сырья <i>Scabiosa isetensis</i> L. и <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. по химическому составу.....	57
3.5 Определение параметров качества на растительное сырье <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	63
3.6 Разработка спецификации качества на растительное сырье <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	65
3.7 Исследования по определению срока хранения растительного сырья <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	69
4 ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ SCABIOSA OCHROLEUCA L., SCABIOSA ISETENSIS L.	73
4.1 Исследование по выбору параметров углекислотной экстракции трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	73
4.2 Компонентный состав углекислотных экстрактов из трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	74
4.3 Исследование на присутствие тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь) в углекислотных экстрактах из трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L. методом инверсионной вольтамперометрии	81

4.4	Исследование термического разложения углекислотных экстрактов из трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.	89
5	РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ <i>SCABIOSA OCHROLEUCA</i> L. И <i>SCABIOSA ISETENSIS</i> L.....	95
6	ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРОКА ХРАНЕНИЯ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ <i>SCABIOSA OCHROLEUCA</i> L. И <i>SCABIOSA ISETENSIS</i> L.....	99
6.1	Разработка спецификации качества на субстанцию углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой.....	99
6.2	Разработка спецификации качества на субстанцию углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской.....	103
7	ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ <i>SCABIOSA OCHROLEUCA</i> L. И <i>SCABIOSA ISETENSIS</i> L.	107
7.1	Исследование цитотоксической активности.....	107
7.2	Исследование антимикробной и антимикотической активности CO ₂ -экстрактов из трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.	111
7.3	Исследование антирадикальной активности углекислотных экстрактов из трав <i>Scabiosa ochroleuca</i> L. и <i>Scabiosa isetensis</i> L.....	115
7.4	Исследование суммарной антиоксидантной активности экстрактов из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой методом инверсионной	117
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	127
	ПРИЛОЖЕНИЯ	140

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Указ Президента РК от 1 августа 2014 год № 874 «Государственной программы индустриально-инновационного развития Республики Казахстан на 2015-2019 года».

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 19 ноября 2009 года № 754. Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 26 ноября 2009 года № 5915 «Об утверждении Правил составления, согласования и экспертизы нормативно-технического документа по контролю за качеством и безопасностью лекарственных средств».

ГОСО РК 5.04.034-2011: Государственный общеобязательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. № 1080);

ГОСТ 53886 – 2010 (ИСО 14669 1999). Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных.

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 8.417-81. Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы физических величин.

ГОСТ 22261-94 Средства измерений электрических и магнитных величин. Общие технические условия.

ГОСТ 24027.1-80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения подлинности, зараженности амбарными вредителями, измельченности и содержания примесей.

ГОСТ 25336-82. Посуда и оборудование лабораторные, стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2008. - 592 с.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 2. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2009. – 804 с.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 3. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2014. – 872 с.

Закон Республики Казахстан «О науке» от 18.02.2011 г. № 407-IV ЗРК.

Межгосударственные стандарты: ГОСТ 7.32-2001 (изменения от 2006 г.). Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

МУ 08-47/142 (взамен МУ 08-47/118) Биологически активные добавки. Вольтамперометрический метод определения массовых концентраций цинка, кадмия, свинца, меди, селена, мышьяка и железа.

ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.

ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар.

ОФС.1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных

препаратах.

ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента.

Приказ МОН РК от 31 марта 2011 года № 127 «Правила присуждения ученых степеней».

СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов.

СТ 27658-1910-ТОО-02-2011. Растительные СО₂-экстракты из ароматических и лекарственных трав - биологически активные вещества. Экстракционные установки, промышленные и экспериментальные.

СТ РК 1617-2006. «Производство лекарственных средств. Надлежащая производственная практика. Основные положения».

ТУ 4215-001-20694097-2004. Комплекс аналитический вольтамперометрический СТА. Технические условия.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями и сокращениями:

АНД – аналитический нормативный документ

АОА – антиоксидантная активность

АС – аттестованная смесь

атм – атмосфера

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активные добавки

БПНС - бензилпенициллин натрия

ВМС – высокомолекулярные соединения

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

Вт – ватт

ВФС – временная фармакопейная статья

ВЧ – высокочастотный

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

г – грамм

ГСО – государственный стандартный образец

ГФ РК – Государственная фармакопея Республики Казахстан

ГХ – газовая хроматография

ЖСА – желточно - солевой агар

ИВ – инверсионная вольтамперометрия

ИК - спектр – инфракрасный спектр

ИСП - АЭС - атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой

К – коэффициент распределения

кг – килограмм

КГМУ – Карагандинский государственный медицинский университет

кГц – килогерц

КК – контроль качества

ЛКР₅₀ – средняя летальная кратность разбавления пробы, которая вызывает гибель 50% тестируемых организмов

ЛКР₁₀ – безвредная кратность разбавления пробы, которая вызывает гибель не более 10% тестируемых организмов

ЛРС – лекарственное растительное сырье

ЛС – лекарственное средство

Мисцелла – это соединения сжиженного углекислого газа с экстрактом

мкА – микроампер

мл – миллилитр

МПа – мегапаскаль

M_r – молекулярная масса

НД – нормативный документ

НИИ – научно-исследовательский институт

нм – нанометр

НПК – непараметрическая кинетика
о.с.ч. – особо чистый
ОФС – общая фармакопейная статья
ПДК – предельно допустимые концентрации
РС – растительное сырье
РСО – рабочий стандартный образец
СВЧ – сверхчастотный
СКФЭ - сверхкритическая флюидная экстракция
см – сантиметр
СО₂-экстракт – углекислотный экстракт
СО₂-шрот – отход углекислотной экстракции растений
СФ – сверхкритический флюид
т – тонна
ТП – технологический процесс
ТСХ – тонкослойная хроматография
УФ – спектр – ультрафиолетовый спектр
ФОУ – метод Флиппа Озавы Уолла
ФР – метод Фридмана
х.ч. – химически чистый
ЦНС – центральная нервная система
ч.д.а. – чистый для анализа
ЭВ О₂ – электровосстановление кислорода
ASE – ускоренная экстракция жидкими растворителями
ВНА – бутилгидроксианизол
DPPH – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилрадикал
DSC – метод дифференциального сканирующего калориметра
DTG – скорость потери массы
f – число степеней свободы
HF – тепловой эффект
Ph.Eur. – The European Pharmacopoeia
Ph.Int. - The International Pharmacopoeia
Q₁ – контрольный критерий идентификации грубых ошибок
S – стандартное отклонение
*S*² – дисперсия
S \bar{x} – стандартное отклонение среднего результата
S \bar{x} , % – относительное стандартное отклонение среднего результата
SB – углекислотный экстракт скабиозы бледно-желтой
SBw – отход углекислотной экстракции скабиозы бледно-желтой
SI - углекислотный экстракт скабиозы исетской
SIw – отход углекислотной экстракции скабиозы исетской
SVD – алгоритм сингулярного разложения
t – критерий Стьюдента
TGA – метод термогравиметрии
TG – термические кривые потери массы
USP – United States Pharmacopoeia

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы диссертационной работы

Важным направлением мировой фармацевтической промышленности является создание близких по структуре к природе, сравнительно безопасных, достаточно полезных для здоровья человека и доступных лекарственных средств.

Для реализации целей и задач в этом направлении необходимо проводить полномасштабные исследования по рациональному использованию местного природного сырья. В Республике Казахстан осуществляются такие государственные программы, как «Стратегия «Казахстан - 2050», «Концепция по вхождению Казахстана в число 30-ти самых развитых государств мира», «Стратегический план развития Республики Казахстан до 2020 года», «Послание Президента Республики Казахстан «Казахстанский путь - 2050: единая цель, единые интересы, единое будущее», одной из целевых задач которых является увеличение числа наименований лекарственных препаратов из отечественного растительного сырья, развитие отечественной фармацевтической промышленности, строительство новых производственных площадок, а также внесение вклада в удовлетворение потребностей государства в лекарственных препаратах, путем реорганизации имеющихся производств.

Необходимость обеспечения населения Республики Казахстан собственными лекарственными препаратами также обоснована в рамках реализации «Государственной программы индустриально-инновационного развития Республики Казахстан на 2015-2019 год». В связи с этим одной из актуальных задач современной технологии фармацевтического производства является разработка новых лекарственных препаратов на основе сырьевых ресурсов Республики Казахстан, в том числе и растительного происхождения.

В Национальном докладе по науке (2015) освещены приоритетные фундаментальные и прикладные исследования, в том числе рациональное использование природных ресурсов, переработка сырья и продукции.

Исходя из вышеизложенного, актуальность диссертационной работы заключается в разработке лекарственных средств на основе растительного сырья, как источника биологически активных веществ, которые обуславливают меньшую токсичность, биодоступность и широкий спектр биологической активности в сравнении с синтетическими лекарственными препаратами.

Флора Казахстана богата перспективными малоизученными растениями, которые применяют в народной медицине, но для их внедрения в медицинскую практику требуются дополнительные глубокие исследования, с помощью современных научных методик.

Учитывая вышеуказанное, проведение исследований полиморфных растений из семейства *Dipsacaceae*, рода *Scabiosa*, с целью их внедрения в медицинскую практику и разработки новых лекарственных средств на их основе, является актуальной задачей и соответствует требованиям современной фармацевтической науки.

Цель работы. Фармацевтическая разработка растительного сырья и

углекислотных экстрактов на основе растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1) определить сырьевые запасы растений скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* L.) на территории Карагандинской области;

2) разработать технологию заготовки растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской;

3) провести фармакогностическое исследование трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L.;

4) определить показатели и нормы качества, сроки хранения растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

5) провести исследования по выбору параметров получения углекислотного экстракта из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской;

6) исследовать углекислотные экстракты из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской: определить компонентный состав, исследовать на присутствие тяжелых металлов и изучить термическое разложение;

7) разработать технологию производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

8) определить показатели и нормы качества, сроки хранения углекислотных экстрактов, полученных из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

9) исследовать биологическую активность *in vitro* углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. и экстрактов, полученных из отхода углекислотной экстракции из этих видов сырья.

Научная новизна результатов исследования

Новизна результатов исследования заключается в том, что впервые:

1) проведена оценка сырьевых запасов растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области;

2) получены углекислотные экстракты из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

3) исследован компонентный состав углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

4) разработана технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

На основании полученных результатов действуют 2 охранных документа:

1) Патент на изобретение 33430, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01Д 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa ochroleuca* (L.) обладающего противомикробной активностью». - № 2017/0665.1; заявл. 11.08.2017 г.; опубл. 01.02.2019 г.;

2) Патент на изобретение 33431, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01Д 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa isetensis* (L.), обладающего цитотоксической активностью». - № 2017/0666.1; заявл. 11.08.2017 г.; опубл. 01.02.2019 г.

Основные положения, выносимые на защиту:

- сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области;
- фармакогностический анализ трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;
- получение углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;
- физико-химические показатели и спектральные данные углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;
- технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;
- показатели нормы и качества углекислотного экстракта и растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;
- результаты исследования цитотоксической, антимикробной, антимикотической, антирадикальной и антиоксидантной активности углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. и экстрактов из отхода углекислотной экстракции этих видов сырья.

Практическая значимость работы.

В результате проведенных исследований определены сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области.

На основании полученных результатов рекомендовано лекарственное растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. в качестве лекарственного средства.

Разработана рациональная технология углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской для дальнейшей разработки лекарственных форм.

Разработаны проекты аналитических нормативных документов (АНД): «Скабиоза бледно-желтая трава», «Скабиоза исетская трава», «Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный», «Скабиозы исетской экстракт углекислотный».

Разработаны проекты опытно-промышленных регламентов (ОПР): а) на производство CO₂-экстракта скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях; б) на производство CO₂-экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях.

Результаты научно-исследовательской работы:

а) по фармакогностическому изучению надземных органов *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L. внедрены в учебный процесс кафедры ботаники по дисциплине «Фармакогнозия» для студентов специальности 5В070100 – «Биотехнология»;

б) по подбору оптимальных условий (температура, давление) экстрагирования с достижением максимального выхода экстракта внедрены в ТОО «Фито-аромат».

Публикации

По материалам диссертации опубликована **21** печатная работа, в том числе: **3** - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (ККСОН МОН РК); **1** статья в международном научном издании, входящим в международную базу данных Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics) и Scopus (импакт-фактор 0,46); **6** - в материалах международных конференций, в том числе 4 - в материалах зарубежных конференций; **11** – в других научных изданиях, в том числе: 2 - в перечне изданий, рекомендуемых ККСОН МОН РК, 3 - в изданиях, входящие в базу данных РИНЦ.

Апробация работы

Результаты и основные положения научной работы представлены на:

1) VIII Международной научно-практической конференции «Исследование различных направлений науки», г. Москва, 29 января, 2016 г.

2) Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии» г. Самарканд, Узбекистан, 3-4 ноября, 2016 г.

3) Пятой Международной научно-практической интернет-конференции «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям», г. Полтава, 30-31 мая, 2016 г.

4) PhD medical science research group 1st annual meeting «PhD day – 2016», Kazakhstan, Karaganda, December 9, 2016 yr.

5) Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире», г. Караганда, 19 февраля, 2017 г.

6) V Научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине», г. Москва, 15 марта, 2017 г.

7) Республиканской студенческой научной конференции «Вклад молодежной науки в реализацию «Стратегии «Казахстан - 2050», г. Караганда, 13-14 апреля, 2017 г.

8) VII Всероссийской студенческой научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки в студенческих исследованиях», г. Альметьевск, 12 мая, 2017 г.

9) XIII International scientific conference «Modern science in Eastern Europe», USA, Morrisville, December 22, 2017 yr.

10) Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире», г. Караганда, 16 февраля, 2018 г.

11) Республиканской научно-практической конференции студентов, магистрантов, докторантов и молодых ученых (с международным участием) «Молодежь и глобальные проблемы современности», г. Караганда 30 марта, 2018 г.

12) XXX Международной научно-практической конференции: «Актуальные проблемы современной науки», Санкт-Петербург – Астана – Киев – Вена, 30 мая, 2018 г.

13) Апробация диссертации на научно-экспертной комиссии «Фармация» и «Технология фармацевтического производства» (Протокол № 2 от 07 июня

2019 г.).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения; обзора литературы; 7 разделов, описывающих материалы и методы исследования; основной части, содержащей результаты и обсуждение собственных исследований, выводов и практических рекомендаций; заключения; списка использованной литературы, включающий 175 литературных источников, из которых 3 на государственном языке, 103 на русском языке и 69 на иностранных языках; приложений. Диссертация иллюстрирована 47 таблицами и 63 рисунками.

1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА DIPSACACEAE

В течение тысяч лет растения играли очень важную роль в уходе и профилактике заболеваний. Использование природных источников для лечения различных заболеваний представлены в письменных источниках еще Древней цивилизации китайцев, индейцев и северных африканцев [2].

Самый ранний из них – это шумерская глиняная табличка, которой 4000 лет, где описаны средства для лечения различных заболеваний [3].

Например, мандрагору назначали для облегчения боли, куркуму от кровотечений, корни эндивного растения использовались при нарушении моторики желчного пузыря, чеснок назначали при нарушении кровообращения.

Они все еще используются в нескольких странах в качестве альтернативных лекарств.

Однако только в девятнадцатом веке ученые начали выделять активные вещества из различных лекарственных растений. Фридрих Сертюрнер выделил морфин из *Papaver somniferum* в 1806 году, и с тех пор растения стали широко применяться в лечебных целях. Атропин, полученный из *Atropa belladonna*, стрихнин - стимулятор ЦНС, таксол, полученный из коры тихоокеанского тисового дерева, представляет собой несколько примеров активных компонентов, выделенных из растений. Согласно недавним исследованиям, проведенным ВОЗ, около 80% мирового населения лечатся традиционными методами, для поддержания здоровья, а также профилактики и лечения заболеваний, особенно хронических [4].

На 2015 год в Казахстане зарегистрировано всего 4% лекарственных препаратов на растительной основе [5].

1.1 Современное состояние исследований растений семейства Dipsacaceae

Флора Казахстана насчитывает около 5850 видов растений, в том числе культивируемых и заносных. Основная доля (85%) приходится на травянистые растения, эндемиков более 730 видов, из которых 175 видов составляют растительность степных регионов, 250 видов – пустынных и полупустынных зон, 600 видов редких и исчезающих. В народной медицине применяют более 1000 видов [6-8]. Только в Мангистау насчитывается около 164 видов растений, в том числе лекарственных [9].

Во флоре Карагандинской области встречается около 850 видов цветковых, в том числе и сорных растений [10]. Первые списки, включающие растения Центрального Казахстана, были описаны в работах Лессинга. Они были составлены во время его путешествий в 1834 году и включали около двадцати растений (Christian Friedrich Lessing (1809–1862) Beitrag zur Flora des südlichen Urals un des Steppen. Linnaea, XI, 1835, 145-213) [11, 12].

К растениям семейства *Dipsacaceae* Juss. (*Dipsacales* Lindl.) относятся около 10 родов и 300 видов [13]. В Казахстане произрастает примерно 20% из семейства Ворсянковых.

В разные годы из растений семейства *Dipsacaceae* были выделены и идентифицированы БАВ, такие как: минералы, сапонины, алкалоиды, флавоноиды, фенольные гетероциклические соединения [14], аминокислоты, углеводы [15], незаменимые жирные кислоты [16], иридоиды [17], эфирные масла, основной состав которых составили трикозан, розифолиол, кариофиллен, α -гумулен [18] и др.

БАВ в составе растений семейства *Dipsacaceae* определяют широкий спектр биологической активности: антиоксидантной, антирадикальной, антимикробной [19], цитотоксической [20]. В традиционной медицине - *Scabiosa orchroleuca* L. (скабиоза бледно-желтая) и *Scabiosa songarica* Schrenk (скабиоза джунгарская), наибольшее применение нашли при лечении респираторных инфекций и бородавок [21].

Растения семейства Ворсянковые применяют в народной медицине со времен Средневековья для лечения заболеваний дыхательных путей, таких как туберкулез, астма, кашель, метаболических нарушений (ревматизм, подагра), для ускорения регенерации мест изъязвлений и удаления бородавок. Они применялись также при зубной боли, как противовоспалительное, мочегонное [22], жаропонижающее средство, а также как противотуберкулезное, при болезнях желудочно-кишечного тракта (способствуют торможению процессов перекисного окисления липидов, увеличению секреции желчи, усилению тонуса желчного пузыря) [23], для восстановления потенции и др. [24].

В перечень сосудистых растений флоры Центрального Казахстана (по состоянию на 2012 г.) из семейства *Dipsacaceae* входят: *Dipsacus gmelini* M.Bieb. (ворсянка Гмелина), *Scabiosa isetensis* L. (скабиоза исетская), *Scabiosa ochroleuca* L. (скабиоза бледно-желтая), *Dipsacus dipsacoides* (Kar. et Kir.) Botsch. (ворсянка лазоревая), *Dipsacus laciniatus* L. (ворсянка разрезная) [25-27].

Scabiosa isetensis L. произрастает также в Западном Казахстане, Южно-Казахстанской области [28].

Dipsacus gmelini M.Bieb, *Dipsacus laciniatus* L., *Scabiosa songarica* Schrenk, представлены на рисунках 1-3.

В перечень высших растений Южно-Казахстанской области (Хребет Каратау) входят *Scabiosa micrantha* Desf. (скабиоза мелкоцветковая), *Scabiosa songarica* Schrenk. (скабиоза джунгарская) [29].

Получение лекарственных средств из дикорастущих растений является актуальным на сегодняшний день, так как природные субстанции и препараты на основе лекарственных растений, обладают рядом неоспоримых преимуществ перед синтетическими лекарственными препаратами.

К некоторым преимуществам можно отнести такие как, низкая токсичность и широкий диапазон их терапевтического действия, а так же низкая вероятность возникновения побочных эффектов и осложнений, за исключением редких случаев, в результате длительного их применения [30]. Исследования химического состава, биологической активности выделенных компонентов из дикорастущих растений, обуславливают внедрение их в практическое применение в медицине и открывают новые возможности в разработке новых лекарственных средств на основе возобновляемых



Рисунок 1 – *Dipsacus gmelini* M. Bieb

Примечание – *Источник: LiveInternet.*



Рисунок 2 – *Dipsacus laciniatus* L.

Примечание – *Источник: Missouri Plants.*



Рисунок 3 – *Scabiosa songarica* Schrenk

Примечание – *Источник: Плантариум.*

растительных ресурсов.

Исследователями Мамадовым Ю.М. и др., было разработано лекарственное средство «Дипсакозид», на основе *Dipsacus azureus* Schr. (ворсянки лазоревой). «Дипсакозид» обладает желчегонным и гепатопротекторным действием [31]. Внешний вид цветущего растения, ворсянки лазоревой, представлен на рисунке 4.



Рисунок 4 – Ворсянка лазоревая

Примечание – *Источник: Плантариум.*

Ранее разработанное советскими исследователями, Абубакировым Н.К., Алимбаевой П.К., Мухамедзиевым М.М. и др., лекарственное средство сапонин «Дипсакозид», на основе *Dipsacus azureus* Schr., применяли при атеросклерозе (гиперхолестеринемии), гиперлипидемии [32]. Корни ворсянки лазоревой содержат глюкозу, лактозу, органические кислоты, тритерпеновые гликозиды, алкалоиды, фенолкарбоновые кислоты, витамин С, кумарины, флавоноиды. В традиционной медицине применяют при ревматизме, язве и раке желудка [33].

Лекарственное средство «Radix Dipsaci – Xuduan», представленное на рисунке 5, производимое в провинции Si Chuan and Hu Bei (Китай), представляет собой высушенный корень из *Dipsacus asperoides* (ворсянки гималайской). Корни содержат терпеноиды, тритерпеновые сапонины, фитостероидные соединения даукостерол, ситостерол; монотерпеноидный алкалоид венотерпин, полисахариды. Впервые растение было описано в древней фармацевтической книге, «Shen Nong Ben Tso Ching», написанной в промежутке 200-250 г.г. нашей эры и использовалось с древних времен для лечения заболеваний костей. В дальнейшем область применения препарата в традиционной китайской медицине расширилась и его стали применять при ригидности мышц затылка, для улучшения кровообращения, ускорения регенерации мест переломов, заживления язв, для улучшения работы почек и печени [34, 35]. «Radix Dipsaci – Xu Duan» входит в перечень лекарственных средств Фармакопеи Китая [36].

Род *Scabiosa* по одним источникам представляет около 80 видов в мире, по другим около 100 видов. В Иордании шесть видов этого рода, в России – 16 [37, 38].



Рисунок 5 – Radix Dipsaci – Xu Duan

Примечание – *Источник: Xu Duan Pharmacopée Chinoise.com. Pharmacopée Chinoise.*

В традиционной медицине некоторые виды скабиозы применяют при лечении многих заболеваний, таких как бронхит, бронхиальная пневмония, грипп и астма, рак, отеки, камни в почках и в качестве ингредиента в салатах [39]. Наружно, рекомендуется для лечения кожных заболеваний из группы дерматозов (стригущего лишая, герпеса и чесотки) и язвы [40].

Было обнаружено, что представители *Scabiosa* содержат противораковые агенты, такие как каротиноиды в *Scabiosa atropurpurea* [41] и гентриаконтан в *Scabiosa comosa* [42]. Внешний вид цветущих растений *Scabiosa atropurpurea* и *Scabiosa comosa* представлен в соответствии с рисунком 6-7.

Род *Scabiosa* богат флавоноидами [43-45], иридоидами [46, 47], тритерпеновыми сапонинами [48, 49].

Коричная кислота *Scabiosa arenaria* Forssk. и ее производные выступают в качестве ингибирующего агента α -глюкозидазы и может применяться как субстанция против диабетических осложнений [50].

Компоненты *Scabiosa tschiliensis* проявили сильно ингибирующее действие на панкреатическую липазу, в исследованиях *in vitro* [51].

Экстракты *Scabiosa* обладают высокой противогрибковой активностью [52].

Scabiosa ochroleuca L. (скабиоза бледно-желтая) – растение 30-130 см высотой, корневище деревянистое, ветвистое, в шейке утолщенное. Стебли простые или вверху разветвленные, в верхней и нередко в нижней части опушены курчавыми волосками. Листья бесплодных побегов на длинных черешках, цельные, зубчатые, лировидно-надрезанные, лировидно-

перисторассеченные. Стеблевые листья сидячие, почти сидячие, перисторассеченные, иногда дважды перисторассеченные на линейно-ланцетные, линейные доли, нижние нередко лировидно-надрезанные, с обеих сторон коротковолосистые. Цветочные головки 2-3.5 см в диаметре.



Рисунок 6 – *Scabiosa comosa*

Примечание – *Источник: Энциклопедия декоративных садовых растений. Фотография Вячеслава Петухина с сайта «Природа Байкала».*



Рисунок 7 – *Scabiosa atropurpurea*

Примечание – *Источник: Plants - NC State University.*

Листочки обертки линейные, заостренные. Венчик бледно-желтый, с наружной стороны опушенный. Корона оберточки (внешней чашечки) при плодах пленчатая, с 20-24 жилками. Ости собственно чашечки 4-7 мм длины.

Scabiosa ochroleuca L. (скабиоза бледно-желтая) – двулетник или многолетник семейства *Dipsacaceae*, широко распространенное в Сибири,

Средней и Восточной Европе, Кавказе (Предкавказье), северо-западе Монголии и Китая. Произрастает на лугах, в межсочных понижениях, на опушках лесов, в луговых степях. В Средней Азии встречается на севере Аралокаспийской низменности, Прибалхашье (север и юго-восток), Джунгарском Алатау, Тянь-Шане (восток, на юге включая Иссыккульскую котловину) [53-55]. На рисунке 8 представлены верхушки побегов с соцветиями в фазе цветения в Карагандинской области.

Казахстанскими исследователями, Нұрмахановой А.С. и др., были проведены исследования по изучению анатомического строения некоторых вегетативных органов скабиозы бледно-желтой, произрастающей на территории Куршимского района, Восточно-Казахстанской области [56].



Рисунок 8 – *Scabiosa ochroleuca* L.

Scabiosa ochroleuca L. в компонентном составе надземной части были ранее обнаружены флавоноиды, микроэлементы: магний, медь, железо, цинк, хром. *Scabiosa ochroleuca* L. содержит алкалоиды, кумарины [13, с. 79], дубильные вещества, аминокислоты, иридоиды, полифенольные соединения, такие как гидроксикоричные кислоты [19, с. 91; 44, с. 312].

Ранее из метанольного экстракта *Scabiosa ochroleuca* L. были выделены флавоноиды лютеолин, апигенин, кверцетин и кемпферол и их гликозиды [52, с. 101; 57-59], фенолокислоты, тритерпеновые гликозиды [60-62]. В траве скабиозы бледно-желтой обнаружены – лютеолина 7-глюкозид, гесперидин, гиперозид, рутин, виценин, робинин, дигидрокумарин, галловая, цикориевая, феруловая, кофейная кислоты, фенольные кислоты - хлорогеновая, протокатехиновая, п-кумаровая и п-гидроксibenзойная.

Из корней *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa micrantha*, *Scabiosa oliveri*, и *Dipsacus laciniatus* были выделены сапонины, гликозиды, углеводная часть которых представлена сахарами: олеаноловой кислоты и гедерагенина, и углеводная часть, в виде сахаров: D-глюкоза, D-глюкоза и L-рамноза, D-глюкоза, D-ксилоза и L-рамноза, D-глюкоза, L-арабиноза и L-рамноза [38, с. 53].

Российскими учеными Дроздовой И.Л. и др. (2018) определено наличие 15 аминокислот в водных извлечениях скабиозы бледно-желтой, 7 из которых – незаменимые [38, с. 56].

Польскими исследователями Kowalczyk A. и Krzyzanowska J. (1999) была выявлена противогрибковая активность этилацетатных экстрактов ворсянки лесной (*Dipsacus sylvestris* L.), короставника полевого (*Knautia arvensis*), скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.), сивца лугового (*Succisa pratensis*) и сукцизеллы изогнутой (*Succisella inflexa* Beck) против патогенных грибов *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra* и *Aspergillus fumigatus* [52, с. 101; 61, с. 175; 62, с. 55; 63].

В традиционной медицине *Scabiosa ochroleuca* L. (скабиоза бледно-желтая) наибольшее применение нашла при лечении респираторных инфекций и бородавок [64]. Водно-спиртовая настойка на основе скабиозы бледно-желтой эффективное средство против амеб, тритерпеноиды растения способствуют разрушению злокачественных опухолей [65].

Scabiosa isetensis L. (*Trochocephalus isetensis* (L.) A. and D. Love) (скабиоза исетская, семейство Dipsacaceae) - невысокий полукустарник до 45 см. Растение практически неизучено в химическом отношении, внешний вид цветущего растения представлен в соответствии с рисунком 9.



Рисунок 9 – *Scabiosa isetensis* L.

Примечание – *Источник: Команда Кочующие Скабиоза исетская (Scabiosa isetensis L.) заказник Склоны Коржинского.*

Корень толстый, деревянистый, многоглавый. Стебли 20–45 см высоты, в количестве 2–5, прямостоячие или в основании восходящие, курчаво коротковолосистые.

Листья в очертании эллиптические, прикорневые 5–10 см длиной на черешках 1–2 см длиной стеблевые более короткие, все листья прижатоволосистые, перисторазделённые. Цветочные головки 2–3 см в диаметре, при плодах шаровидные, 1,5–2 см в диаметре. Венчик желтовато-белый, реже розовато-белый, снаружи опушённый. Семянка яйцевидная, около 3,5 см длины, голая [66].

Встречается на юго-востоке Европейской части России, Кавказе, юге Западной Сибири и севере Средней Азии.

Произрастает единичными особями или неплотными группировками в составе сообществ каменистой степи. Цветёт в июле, плодоносит в августе. Размножается семенами, которые распространяются ветром. Встречается по степным и полупустынным территориям Центрального Казахстана, предпочитает более аридные условия: каменистые склоны сопок, сухие степи, подножия невысоких гор, реже – ксерофитные кустарниковые заросли [67].

Растения рода *Dipsacus*, широко распространены в Европе, Азии и Африке, используются в качестве лекарственных средств, применяемые при лечении ряда заболеваний, включая болезнь лайма, фибромиалгии, переломах костей, болезни Альцгеймера и рака, сифилисе, туберкулезе, а также в качестве обезболивающего и противовоспалительного [54, с. 144].

При исследовании растений рода *Dipsacus* были выявлены цитопротекторные свойства, ингибирование ВИЧ-1 обратной транскриптазы, антиноцицептивный и антимикробный эффекты и др. [68]. Для лечения остеопороза у пожилых и людей среднего возраста, применяется композиция, в состав которой входит *Dipsacus asperoids* (ворсянка гималайская) [69]. Вид цветущих растений *Dipsacus asperoids* представлен на рисунке 10.

Подземную часть растения применяют при лечении ревматоидного артрита [70] и грыжи диска [71].



Рисунок 10 – *Dipsacus asperoids*

Примечание – *Источник: Appalachian Herb Growers Consortium.*

Virga Hill = *Dipsacus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) Holub = *Dipsacus strigosus* [72] (ворсянка щетинистая) – крупное травянистое двухлетнее растение от 0,5 м до 1,5 м в высоту, растёт на чернозёмной почве, кусты зелёные разветвлённые, стебель прямой, глянцевый, щетинистый. Листья зубчатые, продолговатые, заостренные, нижние цельные, черешковые, стеблевые – в основании перистонадрезанные, с двумя-пятью боковыми долями, реснитчатые. Головки шаровидные, около 3 см в диаметре; листочки обертки ланцетные, заостренные,

короче головки; прицветные чашелистики сходны по форме с листочками обертки и вытянуты в зеленовато-черноватую длинную ость, покрытую щетининками и достигающей вместе с самой чешуей 15-20 мм длины. Произрастает в зарослях кустарников и как сорное растение. Преимущественно на южных склонах гор Северного Кавказа, также встречается на юге Украины, в Причерноморье, Крыму, нижней Волге и Дону, северном Иране, Туркменистане [73]. В Европе ворсянка щетинистая заносное растение с первой половины 19 века [74].

В соответствии с рисунком 11, представлено фото С. Беспалова «Цветущее растение. Саратовская обл., Саратовский район, опушка нагорного широколиственного леса. 14 июля 2012 г.».



Рисунок 11 – *Dipsacus strigosus* Willd.

Примечание – *Источник: Плантариум*

1.2 Методы выделения компонентов из растительного сырья

Использование природных источников при разработке лекарственных средств, в качестве альтернативы традиционным синтетическим препаратам, способствует повышению интереса к исследованиям и применению лекарственных растений. В разработке лекарственных средств на основе РС важным этапом после заготовки РС является выбор метода извлечения полезных компонентов, с сохранением в конечном продукте всех свойств и качеств, присущих им в нативном виде. Выбор метода извлечения зависит от природы лекарственного растительного сырья и от физико-химических свойств БАС, которое содержится в исследуемом сырье.

К традиционным методам извлечения относят такие методы как: прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями.

Все способы экстрагирования можно разделить на статические и динамические. В статических способах сырье периодически заливают экстрагентом и настаивают определенное время. Динамические методы предполагают постоянную смену либо экстрагента, либо экстрагента и сырья.

Применяемыми статическими способами являются мацерация,

ремацерация и перколяция, при которой растворитель проходит через слой измельченного растительного сырья и вымывает компоненты. Эти способы используются для приготовления экстрактов и настоек. На производстве густых и сухих экстрактов чаще применяются ремацерационные методы.

Достоинством способа является простота метода и оборудования. К недостаткам можно отнести неполноту экстракции действующих веществ, большую продолжительность процесса, завышенное содержание балластных веществ в извлечениях (ВМС, пектины, слизи, белки и др.), трудоемкость (двойное прессование, промывка шрота). В настоящее время прослеживается тенденция к изысканию и внедрению новых форм мацерации с максимальной динамизацией всех видов диффузии. Лимитирующей стадией экстрагирования выступает массообменный процесс, движущей силой которого является разность концентраций в растворителе и растворе веществ растительного сырья [75].

К современным методам экстракции относятся: СКФЭ, субкритическая экстракция растворителями, ASE, ультразвуковая и микроволновая экстракция, СВЧ, ВЧ и др.

Диапазон частот при ультразвуковой экстракции варьирует от 20-2000 кГц и можно извлечь достаточно большое количество известных соединений. К достоинству метода относится интенсификация процессов перемешивания «сырье-экстрагент», к недостаткам можно причислить: изменение структуры молекул и в связи с этим их биологических свойств. Возможные деструктивные процессы требуют дополнительных добавок стабилизаторов и консервантов. Кроме того возможно образование свободных радикалов при воздействии частот свыше 20 кГц.

Метод ASE требует использования органических растворителей, но в количественном отношении меньше экстрагента, чем при традиционных методах.

СКФЭ, как метод извлечения полезных компонентов, достаточно селективен, где в качестве экстрагента выступает СФ – состояние вещества, при котором он разделяет свойства, как газа, так и жидкости.

СФ сочетает такие качества как высокая растворяющая способность и высокий коэффициент диффузии. В фармацевтической промышленности СКФЭ получил развитие с начала 80-х годов прошлого столетия, и в настоящее время в качестве экстрагента используют преимущественно диоксид углерода, параметры критической точки CO_2 : $T_{\text{кр.}}=31\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P=73,8\text{ атм}$, по другим источникам 75 атм. В 1869 году Т. Эндрюс впервые обратил внимание на то, что диоксид углерода может изменять свое агрегатное состояние в зависимости от температуры и давления. Одним из недостатков метода СКФЭ является дороговизна оборудования [76-78].

1.3 Углекислотная экстракция – безальтернативный метод получения натуральных экологических продуктов

Сжиженные газы, как экстрагенты природных компонентов

Сжиженные газы, как растворители, обладают рядом интересных свойств,

которые обуславливают все возрастающий к ним интерес. В настоящее время газовые растворы интенсивно изучаются во многих странах, и появляются патенты на проведение различных технологических процессов с их использованием. Сжиженные газы в качестве экстрагентов БАВ мало изучены. Известно преимущественное их применение в пищевой и парфюмерно-косметической промышленности при получении высококачественных экстрактов из эфирномасличного и пряно-ароматического сырья.

Обработка лекарственного и эфирномасличного растительного сырья сжиженными газами с целью извлечения отдельных компонентов относится к новым технологическим процессам. Процесс экстракции сжиженными газами проводится под большим статическим давлением, что в технологическом отношении весьма важно, так как при снятии давления уже при нормальной температуре экстрагент легко и быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающаяся в какой-либо дополнительной обработке.

Каждый из сжиженных газов обладает индивидуальными физико-термодинамическими свойствами. Можно подобрать состав сжиженного газа, обладающего как гидрофильными, так и олеофильными свойствами. Это создает возможность вести экстракцию из сырья отдельных химических соединений, обладающих различной полярностью. Такое свойство сжиженных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности отдельные вещества, комплексы или классы соединений, не затрагивая сопутствующие. Выход продукта при извлечении сжиженными газами может достигать 88-98% от потенциально возможного, что как правило, гораздо выше, чем у известных способов: мацерации, перколяции, отгонки паром и др.

Характерной особенностью сжатых газов как растворителей является то, что их растворяющей способностью можно легко управлять, меняя степень сжатия газа. При изотермическом сжатии газ становится более сильным растворителем, а при изотермическом снижении его давления – более слабым. С изменением степени сжатия газа изменяются и его селективные свойства.

Так как при низких давлениях газы не являются растворителями, то их регенерация из раствора может осуществляться лишь путем снижения давления до некоторой величины. При этом из газа выделяется все, что в нем было растворено. Легкость регенерации выгодно отличает газовые от жидких растворителей. Интерес к сжиженным газам связан в первую очередь с широкими возможностями варьирования термодинамическими параметрами экстрагирования (чаще всего это давление и температура), влияющими на состав извлекаемых веществ. В 1938 г. Годлевич описала применение такого метода для разделения минеральных масел.

В 1955 г. Тодд и Элгин, изучая фазовое равновесие в системе этилен – высокомолекулярные органические соединения при температуре выше критической температуры этилена и давлениях до 100 атм., отметили, что газ в этих условиях растворял в значительных количествах относительно нелетучие

вещества. В связи с этим авторы высказывали предположение о возможности разделения смесей с использованием газа как экстрагирующего растворителя. Определяющим фактором для процесса экстрагирования является критическая точка, при которой происходит фазовый переход. В зависимости от выбранного режима различают субкритическую (околокритическую) экстракцию и сверхкритическую, одним из направлений которого является сверхкритическая флюидная экстракция. В качестве сжиженных газов чаще всего используют углеводороды, их галогенопроизводные (фреоны), азот, но наиболее популярным и изученным в качестве растворителя в настоящее время является углерода (IV) оксид.

Из всех областей применения CO_2 в народном хозяйстве наиболее проработана и готова к широкому внедрению технология производства CO_2 -экстрактов из растительного эфирномасличного и пряно-ароматического сырья. В 1953 году начались в СССР научные исследования в пищевой отрасли, где особенно востребованы натуральные компоненты, определяющие вкус и запах продуктов питания. CO_2 -экстракты явились альтернативой добавлению сухих пряностей и эфирных масел.

В Краснодарском крае было организовано опытно-промышленное производство CO_2 -экстрактов на экспериментальном заводе Краснодарского НИИ пищевой промышленности, где впервые была теоретически обоснована и экспериментально доказана практическая возможность применения сжиженных газов, в частности жидкого CO_2 в качестве экстрагента ароматических, вкусовых и БАВ из натурального растительного и других видов сырья. Разработаны методика и аппаратура для исследования экстракции в лабораторных условиях, а также аппаратное оформление процесса экстракции в опытно-промышленных и промышленных условиях. Проведены исследования по разработке новых способов подготовки растительного сырья и его аппаратное оформление. Исследованы параметры процесса экстракции и влияние их на количественный и качественный выход CO_2 -экстракта, в зависимости от вида растворителя, температуры, степени и характера измельчения, перемешивания сырья, продолжительности процесса, соотношение сырья и растворителя.

Дальнейшее изучение биологической активности CO_2 -экстрактов расширило их применение в качестве лекарственных средств в косметологии, курортологии, бальнеологии, а при менее выраженной фармакологической активности в качестве БАД [79].

Сербский ученый Milan N. Sovilj (Milan N. Sovilj, 2010), в своей работе описал параметры получения, выход, компонентный состав, возможности применения в фармацевтической и пищевой промышленности, масел из масличных культур: миндаля, семени огуречника, зародышей кукурузы, виноградных косточек, ослинника двулетнего, фундука, льняного, тыквенного семени, грецкого ореха [80].

Испанские исследователи (Enma Conde, Andrés Moure, Herminia Domínguez, 2015) получили из бурых водорослей сверхкритический углекислотный экстракт, содержащий фенольные соединения, фукоксантин,

жирные кислоты. В сравнении с экстрактами, полученными органическими растворителями, в CO₂-экстракте было высокое содержание омега-3-полиненасыщенных жирных кислот [81].

Китайские исследователи Zhang Yu-hong и др. (Zhang Yu-hong, 2003), методом сверхкритической углекислотной экстракцией, получили тритерпен бетулин из коры березы плосколистной (*Betula platyphylla*), для дальнейшего получения бетулиновой кислоты. Установлено, что бетулиновая кислота убивает клетки меланомы, минуя здоровые клетки, а также замедляет прогрессирование ВИЧ-инфекции [82].

Ученые из Перми (Россия) (Пономарева Е.И. и Молохова Е.И., 2017) выделили эфирное масло из пеларгонии душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) методом сверхкритической углекислотной экстракции. Компонентный состав полученного эфирного масла отличался высокими концентрациями целевых компонентов, терпенов цитронеллола, гераниола, чем при паровой дистилляции [83].

При выборе экстрагентов для растительного сырья руководствуются требованиями:

- высокая селективность и растворяющая способность;
- химическая индифферентность по отношению к извлекаемым веществам и производственной аппаратуре;
- легко отгоняться и температура выпаривания растворителя не должна превышать 50 °С для сохранения термолабильных веществ;
- негорючесть и отсутствие взрывчатой смеси с воздухом;
- безвредность для обслуживающего персонала;
- дешевизна и доступность.

Для экстракции БАВ из растительного сырья, в основном, используются следующие сжиженные газы: оксид углерода (IV) (CO₂), пропан (C₃H₈), бутан (C₄H₁₀), хлор - и фторсодержащие углеводороды (например, хладоны). Указанные сжиженные газы, находящиеся под избыточным давлением, представляют собой бесцветные подвижные жидкости, растворимые в органических растворителях и практически нерастворимые в воде. При нормальных условиях они находятся в газообразном состоянии. Вязкость сжиженных газов значительно меньше вязкости обычных органических растворителей, что характеризует их как экстрагенты с наилучшими диффузионными свойствами.

По сравнению с другими газами CO₂ растворяется в воде, а также реагирует со многими химическими веществами. Чистый CO₂ не реагирует с металлами и не имеет склонности к реакциям восстановления и окисления. CO₂ – не токсичный и не раздражающий дыхательные пути газ, он нашел применение в качестве пропеллента в косметических, фармацевтических и пищевых аэрозолях. Жидкий CO₂ не огнеопасен, не дает в смеси с воздухом взрывоопасных смесей, относительно дешёв и доступен [79, с. 21-22]. В химическом отношении диоксид углерода считается инертным веществом по отношению к извлекаемым составляющим сырья.

Углекислотная экстракция получила признание как безальтернативный,

экологически чистый процесс извлечения экстрактов, которые исключают обсеменение бактериями полученный на выходе продукт, что доказывает стерильность CO_2 -экстрактов.

Исследования в области углекислотной экстракции показали, что CO_2 обладает высоким коэффициентом диффузии по сравнению с такими растворителями как, н-гептан, хлороформ, циклогексан, толуол [84, 85].

Температура кипения сжиженного диоксида углерода в зависимости от давления насыщения паров лежит в пределах от $-56,6$ до $+31$ $^{\circ}\text{C}$, что создает широкий диапазон регулирования низкотемпературной отгонки CO_2 из экстрактов практически без остатка. Это свойство позволяет быстро удалять экстрагент из вытяжек уже при незначительном температурном воздействии и сохранять извлекаемые вещества в нативном состоянии. Малые значения теплоты парообразования (конденсации) указывают на сравнительно малые энергозатраты, требуемые на испарение и конденсацию растворителя при использовании его в технологическом цикле. Сжиженный CO_2 при низких концентрациях (до 40%) оказывает сильное гомогенизирующее действие почти на любую пару частично смешивающихся жидкостей. При высоких концентрациях (70-80%) он уменьшает растворимость веществ. Указанные свойства в зависимости от концентрации растворителя позволяют вести экстракцию самых разнообразных химических групп БАВ. Применение сжиженного CO_2 в качестве растворителя позволяет проводить процесс экстракции и дистилляции мисцеллы в зоне температур от -40 до $+31$ $^{\circ}\text{C}$.

Наибольший выход экстрактивных веществ отмечается в диапазоне температур от -10 до $+25$ $^{\circ}\text{C}$.

Важный показатель жидкой CO_2 , определяющий ее свойства как экстрагента, – диэлектрическая постоянная, отражающая силу взаимодействия между молекулами вещества. Известно, что чем ближе по величине силы взаимодействия между молекулами различных веществ, тем легче смешиваются эти вещества. Растворители для извлечения различных веществ подбирают исходя из этого правила.

Кроме диэлектрической постоянной экстрагента большое влияние на растворимость и скорость диффузии веществ в нем оказывают и другие физико-химические свойства, наиболее важные из которых – вязкость и поверхностное натяжение.

Для жидкого CO_2 диэлектрическая постоянная при температуре 10 $^{\circ}\text{C}$ равна 2,60, что указывает на возможность извлечения жидким CO_2 неполярных или слабополярных веществ. К ним относятся эфирные и жирные масла; карбонильные соединения; жирорастворимые витамины (А, D, К, Е, F); стерины; алкалоиды в виде оснований; фурукумарины; фуранохромоны и др.

Экстракция и отгонка растворителя при невысоких температурах (до 30 $^{\circ}\text{C}$) дают возможность извлекать эфирные масла, сохраняющие аромат исходного сырья, и биологически активные компоненты в нативном состоянии. Жидкий CO_2 не поддерживает жизнедеятельность микроорганизмов и плесневых грибов, что позволяет получать стерильные экстракты даже при использовании ее для сырья, обсемененного микроорганизмами. Жидкий CO_2 термически

устойчива при обычных температурах, химически инертна, что также позволяет сохранять нативные свойства у извлекаемых ею продуктов.

Экстракция в среде жидкого CO_2 исключает полностью окисление за счет отсутствия аэрации. Физико-химические особенности растворителя способствуют извлечению веществ из растительного сырья практически без изменения их свойств. Варьирование основных параметров экстракции – температуры, давления, продолжительности процесса, характера и степени измельчения сырья – позволяет вести экстракционный процесс так, чтобы получать продукт необходимого состава [79, с. 29-30].

Двуокись углерода выпускается трех марок (в зависимости от области применения): сварочная, пищевая и техническая. Для экстракции можно применять только пищевую или сварочную двуокись углерода первого сорта. Техническая двуокись углерода для этих целей не пригодна, так как может обладать неприятным запахом и вкусом, содержать окись углерода [79, с. 32].

Диоксид углерода является не токсичным из сжиженных газов, применение которого как экстрагента исключает удаление остатков растворителя и необходимость контроля готового продукта на содержание растворителя. Кроме того, некоторая примесь двуокиси углерода в готовых продуктах оказывает консервирующее действие на лабильные вещества, препятствует прогорканию жиров, повышает срок хранения готовых экстрактов. Практически было замечено, что увеличение срока хранения CO_2 -экстрактов до 4-5 лет не влияет на их качественные показатели.

Основными факторами, влияющими на экстракцию растительного сырья сжиженными газами, являются: температура и давление, вязкость экстрагента, степень измельчения и влажность сырья, время настаивания, длительность и гидродинамика процесса и др. [79, с. 26-32].

Установки для проведения экстракции сжиженным газом

Углекислотная экстракция широко применяемый метод получения экстрактов, обладающих ценными качествами. Высокие потребительские характеристики, стерильность, обуславливают их применение в разных сферах промышленности.

Современное оборудование для извлечения БАВ должны обеспечивать интенсификацию процесса извлечения, обеспечивая высокую скорость экстракции, высокую эффективность, направленную на полную экстракцию активных компонентов.

Температура экстракции не должна быть слишком высокой, особенно при извлечении термолабильных веществ. Оборудование должно быть пригодным для современного крупномасштабного непрерывного производства; с низкими эксплуатационными расходами, энергосберегающим, безопасным и надежным, простой в конструкции и эксплуатации, и в большей степени автоматизированное.

Способы повышения эффективности экстракции связаны с такими факторами, как соотношение экстрагент – твердое вещество, перемешивание, температура, время и давление при экстракции, и другие факторы.

Преимущества углекислотной экстракции:

- применима для получения веществ, чувствительных к нагреванию;
- сохраняет натуральный характер экстрактов;
- селективность;
- используется инертная растворяющая среда при температурах окружающей среды, что уменьшает вероятность окисления;
- CO₂ легко удаляется из раствора благодаря его чрезвычайной летучести (вода или другие растворители требуют применения нагревания или вакуумной обработки для их испарения);
- CO₂ обладает низкой вязкостью и высокой проникающей способностью;
- CO₂ не наносит вред окружающей среде;
- CO₂ не воспламеняется;
- CO₂ недорог [86].

Для получения CO₂-экстрактов были разработаны и запатентованы различные углекислотные реакторы [87-90], работающие в разных режимах: докритическом режиме с параметрами процесса $P \leq 7,9$ Мпа, $T \leq 31,1$ °С, либо сверхкритическом режиме $P > 7,9$ Мпа; $T > 31,1$ °С, в зависимости от используемого реактора, поставленных целей и выполняемых задач.

В 2006 году китайские ученые представили новую высокоэффективную экологически чистую технологию для извлечения активных ингредиентов из натуральных продуктов, сочетав докритическую технологию извлечения и технологию ультразвуковой экстракции для увеличения скорости извлечения и сокращения времени экстракции. Мощность ультразвуковой экстракции 50-2500 Вт, ультразвуковая частота 20-50 кГц, время воздействия 5-180 мин [91-92].

Установки для проведения экстракции сжиженным газом можно разделить на 4 группы:

1) установки для экстракции растительного сырья сжиженными газами при докритических параметрах;

2) установки для экстракции растительного сырья сжиженными газами при сверхкритических параметрах;

3) установки для экстракции растительного сырья сжатыми газами при сверхкритических параметрах. Установка состоит из одного или нескольких экстракторов (каскадные), одного или нескольких конденсаторов, системы циркуляции экстрагента, теплообменника, одного или нескольких сепараторов (испарителей);

4) сложные процессы и установки, которые подразделяются на:

а) установки многоступенчатого фракционирования посредством изменения параметров экстракции и изменения параметров осаждения (установка для разделения восков, а также двухстадийного экстрагирования и многостадийного фракционирования);

б) установки для фракционирования посредством последовательной экстракции различными газами;

в) установки с использованием газов с соразтворителями;

г) установки с использованием последовательно сжиженных, а затем сжатых газов, т.е. сжиженных газов сверхкритических параметров;

д) специализированные установки (например, для отделения солей из водных растворов) [79, с. 34-47].

Докритическая углекислотная экстракция – метод получения универсальных CO₂-экстрактов

По данным МГУ и группы компании «ГОРО», изучен спектр природных компонентов, которые можно извлечь экстракцией диоксидом углерода в режиме сверхкритики и некоторыми органическими растворителями. Достоинства метода в режиме сверхкритической углекислотной экстракции - это высокая экстракционная способность экстрагента, скорость извлечения, избирательность.

Сверхкритическая углекислотная экстракция, несмотря на более широкий спектр извлечения БАВ по сравнению с докритической углекислотной экстракцией имеет ряд недостатков, которые определили нас в выборе метода для собственных исследований.

При проведении сверхкритической углекислотной экстракции происходит распад некоторых групп веществ, чувствительных к воздействию повышенных температур, некоторые из этих компонентов отвечают за антиоксидантную активность экстракта, данный фактор определяет в дальнейшем сохранность продукта; протекание побочных реакций, полная или частичная потеря ряда свойств у определенных компонентов, окислительные процессы, вымывание высокомолекулярных соединений, кроме того по наблюдениям исследователей МГУ и группы компании «ГОРО», масляные растворы сверхкритических экстрактов расслаиваются из-за наличия в них полярных соединений, содержание которых в докритических экстрактах незначительно.

Докритическая углекислотная экстракция начала свое развитие в Советском Союзе в конце 50-х годов 20 - го столетия. Целевыми компонентами при экстракции в основном являются слабополярные и жирорастворимые вещества и не включают в себя умеренно полярные и сильно полярные целевые компоненты.

Стерильность экстрактов, малые энергозатраты, относительная дешевизна аппаратного оформления в наше время делает преимущества докритической углекислотной экстракции перед традиционными методами извлечения веществ. Параметры процесса извлечения обеспечивают более мягкое и щадящее извлечения БАВ из растительного сырья, позволяющем получить на выходе вещества в нативном виде [93].

Субкритическая технология экстракции применялась в исследованиях для уменьшения содержания смолы и вредных компонентов в листьях табака для дальнейшего использования их в производстве сигарет. В результате был уменьшен пагубный коэффициент на 3,87 раз, уменьшено высвобождение фенола, аммиака, синильной кислоты, угарного газа с табачным дымом [94].

Углекислотная экстракция как метод извлечения БАВ из растений позволяет выделять компоненты, сохраняя запах и вкус исходного растительного сырья.

Состав CO₂-экстрактов разнообразен: он включает и водорастворимые компоненты, а также эфирные и жирные масла, воска, фитостеролы,

терпеновые и фенольные соединения, алкалоиды, фитостерины [95].

Многие из них обладают антиоксидантной активностью, т.к. в составе углекислотного экстракта часто присутствуют терпеноиды (камфора, борнеол, изотуйон, кариофоллен, эпиманоол), стероиды, токоферол. Например, CO₂-экстракт розмарина содержит фенольные кислоты, производные карнозола и флавоноиды.

Антиокислительные свойства CO₂-экстрактов обуславливают их применение в пищевой промышленности для предотвращения окисления липидов в продукции, способностью связывать свободные радикалы, снижая скорость цепных реакций окисления жирных кислот. Дитерпеновые соединения в составе многих CO₂-экстрактов обеспечивают 90% антиокислительных свойств экстрактов [96].

Жирорастворимые антиоксиданты экстрактов снижают скорость гидролитических и окислительных процессов при хранении продукта [97].

Восстановление α -токоферола, компонента многих углекислотных экстрактов растений, оказывает синергетический эффект, снабжая атомом водорода токоферольные радикалы [98].

Много работ проводятся для увеличения выхода, сокращению времени при извлечении CO₂-экстрактов. Были проведены исследования и доказана перспективность сочетания методов молекулярной дистилляции и докритической CO₂-экстракции, с целью увеличения скорости экстракции и увеличения выхода индивидуальных компонентов [99].

Известно, что α - линоленовая кислота положительно воздействует на сердечно-сосудистую систему, уменьшая риск сердечно-сосудистых заболеваний и других болезней, таких как диабет 2 типа и рак, болезнь Альцгеймера.

Традиционные способы выделения таких компонентов могут привести к разложению БАВ, таких как фитостеролы, токоферолы, α - линоленовая кислота и др.

Углекислотная экстракция – это альтернативный способ экстракции липидов.

Исследователями Zangui Ana B. и др. (Zangui Ana B., 2015) проведены исследования экстракта, полученного в субкритическом режиме, стабильность изучали с помощью DSC. В результате экстракт показал высокую чистоту, богатый компонентный состав и стабильность в сравнении с экстрактами, полученными традиционными методами [100].

Малазийскими исследователями Chia S. L. и др. (Chia S. L., 2015) было получено масло из рисовых отрубей методом углекислотной экстракции в докритическом режиме, авторы отмечают перспективность метода докритической углекислотной экстракции в получении высококачественных масел из рисовых отрубей. Масло содержало, примерно в 10 раз больше соединений оризанола и токола и имело более низкие уровни свободной жирной кислоты и пероксидные значения в сравнении с экстрактами, полученными элюированием гексаном [101].

Исследователи из Сербии и Хорватии (Vidović S., Mujić I., Zeković Z., Lerojević Ž., Milošević S. и Jokić S., 2011) изучили суммарный выход жирных кислот из грибов рода Боровик (*Boletus edulis*), полученных методом суб- и сверхкритической экстракции. Наибольший выход жирных кислот был получен при субкритической углекислотной экстракции [102].

В докритическом CO₂-экстракте из аира обыкновенного (*Acorus calamus*) было обнаружено около 40 химических соединений, терпеновые углеводороды и кислородсодержащие соединения (каротиноиды, стерины, токоферолы, жирные кислоты). Основными компонентами были камфора, камфен и β-пинен.

В соответствии с рисунком 12, CO₂-экстракты, обладают ценными качествами в сравнении с полученными традиционными методами, что обуславливает их применение в разных отраслях производства [103, 104].

В Казахстане, в ТОО «Фитоаромат» работает лабораторная УУПЭ 5л и промышленная УУПЭ-5п установки в докритическом режиме, в соответствии со стандартом предприятия СТ 27658-1910 -ТОО-02-2011. Установка УУПЭ 5л предназначена для проведения научно-исследовательских работ для получения небольших объёмов растительных экстрактов липофильного характера, посредством экстракции жидкой двуокисью углерода.

Субкритическая углекислотная экстракция позволяет получить максимально БАВ, в том виде, в котором они находятся в растении и на основе полученного продукта в дальнейшем разрабатывать лекарственные средства для применения не только в медицине, но и в других сферах жизнедеятельности человека.

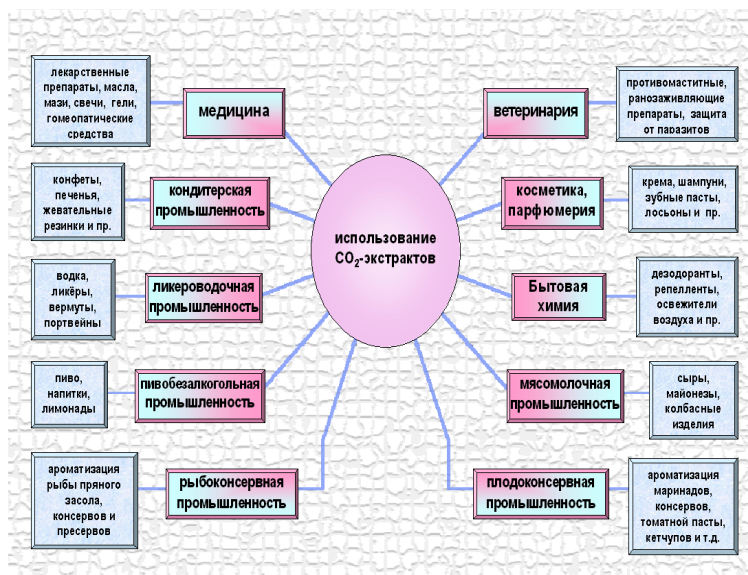


Рисунок 12 – Концепция развития производства и использования CO₂-экстрактов в Казахстане

Примечание – *Источник: Экстракт бизнеса - ExpertOnline.kz. Эксперт Казахстан.*

1.4 Использование безотходных технологий в фармацевтической

промышленности

К безотходной технологии фармацевтической промышленности относятся продукты переработки как растительного, так и животного происхождения (продукты переработки пантов изюбра, марала, пятнистого и северного оленей и т.д.). Например, исследователь Ярцев В.Г. и др. разработали лекарственный препарат "Пантолизат", относящийся к группе тканевых препаратов. В качестве сырья используют отходы фармацевтического производства пантокринантарина [105]. Пантолизат рекомендован в качестве иммуномодулятора и в качестве лекарственного средства, способствующего регенерации раневой поверхности [106, 107].

Препарат, содержащий пектиназу, получают из отходов производства лимонной кислоты – мицелия *Aspergillus niger* [108].

Студенческое творческое объединение (СТО) «Биохимия растительного сырья» при кафедре химии и пищевой технологии ИрГТУ занимается разработкой технологии выделения и очистки стероидов из отходов жироперерабатывающей промышленности (соапстоков), для получения стероидных лекарственных препаратов.

Всё большую популярность получают продукты питания функционального назначения, обогащенные витаминами, пищевыми волокнами, минеральными веществами. Как правило, такие продукты получают путем внесения функциональных добавок в традиционные продукты питания. Наиболее перспективными являются функциональные добавки, получаемые из натурального растительного сырья.

Среди перспективного растительного сырья для получения биологически активных добавок практический интерес представляют отходы производства СО₂-экстрактов различного растительного сырья. Изучение отходов углекислотной экстракции – новое, чрезвычайно бурно развивающееся направление в науке.

Экстракция диоксидом углерода может явиться основой для создания и внедрения безотходных, экологически чистых технологий производств [109], так как в процессе экстрагирования из растительного сырья извлекается липофильная (жирорастворимая) часть и некоторая часть гидрофильной (водорастворимой) части, в шроте же почти полностью сохраняется гидрофильная часть, компонентами которой являются витамины, аминокислоты. Также полностью сохраняется растительная клетчатка, белки и микроэлементы. СО₂-шрот используется в качестве пищевых добавок для обогащения продуктов. Исследуются возможности их применения в терапевтической и профилактической медицинской практике [110].

Отходы углекислотной экстракции – это измельченное сырье, прошедшее обработку сжиженным углекислым газом и является отходом углекислотной экстракции.

Разорванная клеточная структура шрота облегчает выход экстрагируемых веществ в разы, что способствует универсальному применению шрота для последующих (после экстракции сжиженным углекислым газом) типов экстракции, а также и прекрасным ингредиентом для множества других

применений.

Отход производства CO₂-экстракта долго сохраняют естественный аромат, передают естественный вкус и содержат комплекс витаминов, провитаминов и биологически активных веществ, находящихся в растении на момент экстракции. Кроме этого, под действием жидкой двуокиси углерода, отходы углекислотной экстракции длительное время сохраняют свои полезные свойства, так как сами они являются консервантами и антиоксидантами.

Отход, как и сам продукт углекислотной экстракции стерилен. Он в меньшей степени подвержен окислительным процессам. Все содержащиеся в исходном растительном сырье полезные вещества (исключение составляют выделенные при экстракции вещества) сохраняются в нем в нативном, неповрежденном виде. Разорванная клеточная структура растения облегчает и увеличивает выход полезных веществ, которые в дальнейшем применяются в зависимости от поставленных задач. Рыхлая и пористая фактура облегчает впитывание любых ингредиентов, при использовании отходов производства CO₂-экстракта в качестве компонента смесей. При этом отходы углекислотной экстракции гораздо дешевле исходного сырья.

В компонентный состав отходов производства CO₂-экстрактов, согласно проведенным исследованиям входят липиды, большое количество белковых веществ и клетчатки, углеводы, пектины, витамины, применяемые в медицинской практике – это витамины группы Р, В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), С (аскорбиновая кислота), макро- и микроэлементы, такие как натрий, кальций, фосфор, магний, калий, железо.

Отход из шишек хмеля, полученный после углекислотной экстракции, содержит полифенольные соединения, минеральные вещества, органические кислоты, а также часть горьких кислот, эфирных масел и аминокислот.

Содержание белков и клетчатки придают отходам адсорбционные свойства, а нерастворимые волокна в составе отходов CO₂-экстракции связывают свободную влагу, что позволяет придавать нужную форму конечного продукта. Органолептические показатели отходов производства CO₂-экстрактов из лекарственных и эфиромасличных растений, придают готовой продукции приятный вкус и запах.

Применяемый в качестве добавок в хлебопекарских дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, отходы CO₂ - экстракции увеличивают подъемные силы дрожжей [111].

Наличие в отходах углекислотной экстракции некоторых растений большого количества целлюлозы, дает основание для использования их в целлюлозно-бумажной промышленности для изготовления упаковочных материалов [112]. Отходы производства углекислотных экстрактов, в зависимости от исходного сырья и компонентного состава, имеют разные оттенки цвета, и формально являясь отходами производства в реальности, представляет собой ценное сырье для множества применений, а в целом ряде случаев даже более ценное, чем исходное.

Область применения отходов производства углекислотных экстрактов достаточно широка и получила свое использование:

- в качестве носителя для различных ингредиентов в функциональных сухих смесях;
- как наполнитель пряностей более низкой сортности;
- в качестве заварки для чаев, особенно травяных, т.к. в составе после углекислотной экстракции остается основная часть водорастворимых компонентов;
- в качестве недорогой декоративной обсыпки или присыпки традиционной пищевой продукции;
- в качестве начинок для полуфабрикатов, улучшая его пищевую ценность в качестве функционального питания;
- в качестве носителя для БАДов.

Наличие природных компонентов в шроте предотвращают окислительные процессы в конечном продукте [112, с. 104].

Углекислотная экстракция – это возрождающийся в Казахстане метод выделения биологически активных веществ, который способен обеспечить своей продукцией многие производства других отраслей. Сырьевая база для экстракции обширна, что способствует дальнейшему развитию производства качественных и безопасных продуктов и средств.

Растения семейства *Dipsacaceae* применяют в народной медицине со времен Средневековья для лечения заболеваний дыхательных путей, доброкачественных опухолей, нарушений функций пищеварения, кожных заболеваний, для регенерации мест переломов костей и др.

Анализ литературных данных по исследованию условий произрастания, изучению компонентного состава и биологической активности выделенных веществ из растений семейства *Dipsacaceae*, показал, что разработка лекарственных средств из растений семейства *Dipsacaceae* является перспективным направлением фармацевтической технологии.

Это позволит расширить номенклатуру лекарственных препаратов экспортоориентированными отечественными лекарственными средствами и препаратами на основе возобновляемого растительного сырья.

В качестве объектов исследования, на основании проведенного обзора литературных источников, патентных данных, Internet-ресурсов, наше внимание привлекли растения семейства Ворсянковые (лат. *Dipsacaceae*) (каз. *Қожакенділер*), и широко применяемое в народной медицине скабиоза бледно-желтая (лат. *Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love) (каз. *Бозсары қотыром*) [113], малоизученное растение скабиоза исетская (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love) (*Исет қотыром*) [114], произрастающие в Карагандинской области и широко применяемое в народной медицине.

При выборе метода извлечения БАВ из растительного сырья наше внимание привлекла экстракция сжиженным газом, пищевой жидкой углекислотой, в режиме докритической экстракции. Существует мнение, что суммарное растительное средство обеспечивает более выраженный лечебный эффект, в сравнении с выделенными индивидуальными растительными компонентами [115].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалы и методы, использованные для проведения научных исследований, соответствуют требованиям Государственной Фармакопеи Республики Казахстан, International Pharmacopeia, European Pharmacopeia, United States Pharmacopeia, British Pharmacopeia, Государственной Фармакопеи СССР XI, АНД и других нормативных документов, действующих на территории Республики Казахстан.

2.1 Материалы исследований

Надземные части *Scabiosa ochroleuca* L. сбор 2016 года, июль, фаза полного цветения, территория Корнеевских лесов (Казахстан, Карагандинская область). Растение 80-100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины – обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой – кудрявая и пушистая, цвет стебля – зеленый.

Надземные части *Scabiosa isetensis* L., собранные в горах Улытау (Казахстан, Карагандинская область), фаза цветения – плодоношения, июль-август 2016 года. Растение 35-40 см высотой, стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая – грубая, кудрявая и волосистая, в верхней части с более плотным опушением, с примесью редких и длинных волос.

Углекислотные экстракты, полученные из травы скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской.

Спиртовый и водный экстракты из CO₂-шрота углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой.

Препараты сравнения:

Коллекционный материал гербария биолого-географического факультета Карагандинского государственного университета имени академика Е.А. Букетова. Гербарный код *Scabiosa isetensis* L. - 2013.07.20.06.04 (сбор: горы Буйратау); *Scabiosa ochroleuca* L. - 2010.06.11.01.14 (сбор горы Каркаралы).

Нистатин. C₄₇H₇₅NO₁₇. (Mr 926) [1400-61-9]. (ГФ РК т.3, с.513). Диски индикаторные с нистатином 80 ЕД, 100 шт. Только для in vitro диагностики. ДИ-ПЛС-50-01. ТУ 9398-001-39484474-2000. РУ № ФСР 2009/06472. Ф БУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, отдел новых технологий.

Бензилпенициллин натрия. C₁₆H₁₇N₂NaO₄S. (Mr 356,4). 1011000 [6957-8]. (ГФ РК т.2, с.133). Диски индикаторные с бензилпенициллином, 10 ЕД, 100 шт. ТУ 9398-001-39484474-2000. РУ № ФСР 2009/06472. НИЦФ, СПб.

РСО α-сантонин. C₁₅H₁₈O₃. (Mr 246,30). [481-06-1]. 10 мг. Аналитический стандарт. Порошок или кристаллы бесцветного или белого цвета. Тпл.=172-173 °С. ВЭЖХ ≥ 95%, влажность ≤ 5%. Производитель фирма Sigma-Aldrich GmbH (Германия). Официальный диллер: ТОО "ЛаборФарма", г. Алматы.

ГСО с относительной погрешностью не более 1% при $P=0,95$.
Концентрация элемента в ГСО - не менее $0,1 \text{ мг/см}^3$ и не более 10 мг/см^3 :

- медь ГСО 7255-96;
- свинец ГСО 7252-96;
- кадмий ГСО 7472-98;
- цинк ГСО 7256-96.

Бутилгидроксианизол. $C_{11}H_{16}O_2$. (M_r 180,3). 144233 [25013-16-5] (Ph.Eur., 7.0, 2010, Vol. 2, p.1531).

Дактиномицин. *Актиномицин D*. $C_{62}H_{86}N_{12}O_{16}$. (M_r 1255,42) [50-76-0]. (USP 35, Official Monographs, 2012, p.2803).

Тест-объекты

Эвригалинный рачок вида Artemia salina L. (Branchiopoda, Crustacea). Односуточные науплии, на стадии перехода ортонауплиуса в метанауплиус. Артемии на этой стадии развития используются как тест-объект в экспериментах при разработке ПДК веществ (ГОСТ 53886 – 2010 (ИСО 14669: 1999) [116]).

Saccharomyces cerevisiae. Активные сухие дрожжи «Yuva», 80 г. Производство: Турция.

Грамположительные штаммы *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* грамотрицательный штамм *Escherichia coli* и дрожжевой грибок *Candida albicans* из Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения "Республиканская коллекция микроорганизмов" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (Приложение П, Р, С).

Растворители

В экспериментальных исследованиях использованы химические реактивы и растворители квалификации «о.с.ч.», «х.ч.», «ч.д.а.».

Ацетонитрил. C_2H_3N . (M_r 41.05). 1000700. [75-05-]. (ГФ РК т.1, с. 339).

Вода дистиллированная. 1095504. [7732-18-5]. (ГФ РК, т. 1, с. 347).

Вода очищенная. H_2O . (M_r 18.02).1095504. [7732-18-5]. (ГФ РК, т.2, с. 168).

Хлороформ. $CHCl_3$. (M_r 1.49). 1018600. [67-66-3]. (ГФ РК т. 1, с. 440).

Этанол (96%). C_2H_6O . (M_r 46.07). 102500. [64-17-5]. (ГФ РК т. 2, с. 581).

Этилацетат. $C_4H_8O_2$. (M_r 88.1). 1035300. [141-78-6]. (ГФ РК т.1, с. 448).

Реактивы

Азотная кислота. HNO_3 . (M_r 63,01). 1058400. [7697-37-2]. (ГФ РК т. 1, с. 328).

Ванилин. $C_8H_8O_3$ (M_r 152,1). 1095300. [121-35-5]. (ГФ РК, т. 2, с. 155).

Водорода пероксида раствор (3%). H_2O_2 . (M_r 34,01). 1043800. [7722-84-1]. (ГФ РК, т. 1, с. 347).

Гелий для хроматографии. He. (A_r 4,003). 1041800. [7440-59-7]. (ГФ РК, т. 1, с. 348).

Глицерин. $C_3H_8O_3$. (M_r 92,1). 1040600. [56-81-5]. (ГФ РК т. 2, с. 192).

Глюкоза безводная $C_6H_{12}O_6$. (M_r 180,2). 1025700. [50-99-7]. (ГФ РК т. 2, с.

203).

Диоксид углерода, жидкий. CO₂. (M_r 40,01). [124-38-9]. Пищевая жидкая углекислота. ГОСТ 8050-85.

Железа (III) аммония сульфат. FeNH₄(SO₄)₂ * 12H₂O. (M_r 482.2). 1037700. [7783-83-7]. (ГФ РК, т. 2, с. 364).

Калия бромид. KBr. (M_r 119, 01). 1068800. [7758-02-3]. (ГФ РК т. 2, с. 250).

Калия гидроксид. KOH. (M_r 56,1056). 1070300. [1310-58-3]. (ГФ РК, т. 2, с. 369). (ГФ РК т. 2, с. 251).

Муравьиная кислота безводная. CH₂O₂. (M_r 46,02538). 1039300. [64-18-6]. (ГФ РК, т. 2, с. 392).

Силикагель для хроматографии. 1076900. (ГФ РК, т. 2, с. 416).

Фосфатный буферный раствор с pH 6.6. 4003100. (ГФ РК т. 1, с. 460).

Хлороводородная кислота концентрированная. HCl. (M_r 36.46). 1043500. [7647-01-0]. (ГФ РК, т. 2, с. 535).

2.2 Методы исследований

Оценку сырьевых запасов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Центрального Казахстана проводили методом учетных площадок, согласно методическим указаниям по изучению запасов дикорастущих лекарственных растений [117].

Идентификацию растительного сырья проводили по макроскопическим и микроскопическим признакам в соответствии требованиям ГФ РК [118].

Анатомическое исследование растений проводили согласно методическим указаниям [119-121]. Воздушно-сухое сырье размачивали в смеси 70% спирт : глицерин : вода дистиллированная в соотношении 1 : 1 : 1 (раствор Страуса-Флеминга). При определении анатомических особенностей листовой пластинки изучаемых видов отбирали неповрежденные максимально развитые листья в средней части побегов; анализировали фрагменты (поверхностные препараты и поперечные срезы).

Изготовление временных препаратов (поверхностные и давленные препараты, поперечные срезы) производили по общепринятым методикам. Осветление препаратов проводили при помощи глицерина. Для получения поверхностных препаратов листья кипятили в 10% растворе гидроксида калия. При описании анатомического строения использовалась терминология, предложенная К. Эзау, Н.А. Анели, Л.И. Лотовой.

Морфологический анализ проводили в соответствии со стандартными методами. На образцах растений анализируется форма и структура стеблей, листьев, чашелистиков и нимбов цветка. В случае описания диагностических признаков уделено внимание структуре поверхности, наличию стеблей, степени опушения и доступности трихом [122-127].

Минеральный состав определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на базе региональной университетской лаборатории инженерного профиля «ИРГЕТАС»,

Восточно-Казахстанского государственного технического университета им. Д. Серикбаева [128].

Докритическую углекислотную экстракцию трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской проводили на лабораторной установке УУПЭ-5л, в соответствии со стандартом предприятия СТ 27658-1910 – ТОО-02-2011, ТОО «Фитоаромат», г. Алматы [129]. Измельчение сырья проводили на минидробилке марки КДУ-84МУ2.

Спиртовый и водный экстракты из отхода углекислотной экстракции получали настаиванием в спирте этиловом 70%-ном и дисстиллированной воде, для этого брали 350 г воздушно – сухой массы CO₂-шрота скабиозы бледно-желтой и помещали в контейнер из нержавеющей стали. Добавляли спирт этиловый 70%-ный и настаивали в течение 3-х дней. Затем отфильтровывали в круглодонную колбу со шлифом объемом 250 мл и отгоняли растворитель на роторном испарителе.

Концентрирование экстрактов из отхода углекислотной экстракции проводили на роторном испарителе IKARV 10 Digital при температуре 40-45 °С, на базе НИИ «Новые материалы», КарГТУ.

Определение компонентного состава углекислотных экстрактов проводили на газовом хроматографе Clarus 580 (PerkinElmer) с масс-спектрометрическим детектором Clarus-SQ 8, в лаборатории Института прикладной химии при Евразийском Национальном университете им. Л.Н. Гумилева. К CO₂-экстрактам массой 0,1 г. добавляли 10-кратное количество этилового спирта и глубоко охлаждали до – 20 °С в течение 1 часа, затем отфильтровывали от выпавших воскообразных неполярных веществ. Полученный фильтрат анализировали на хроматомасс-спектрометре.

Количественный и качественный анализ на содержание α-сантонина в растительном сырье и CO₂-экстракте скабиозы бледно-жёлтой (*Scabiosa ochroleuca* L.); растительном сырье и CO₂-экстракте скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* L.) проводили методом ВЭЖХ (ГФ РК, т. 1, 2.2.29, с.71).

Тест проверки пригодности хроматографической системы проводили согласно методики ГФ XI, т. 1, 2.2.29, с.110.

Обработка результатов была выполнена с применением программного обеспечения Agilent Lab Advisor.

Качественное определение α-сантонина проводили методом тонкослойной хроматографии (ГФ РК т. 1, 2.2.27) и проведением качественной реакции.

Качественная реакция на терпеноиды – К 1 мл испытуемого раствора, прибавляют 1 каплю 1% раствора ванилина Р в кислоте серной Р, через 3-5 мин появляется красно-фиолетовое окрашивание (терпеноиды).

Исследование на присутствие тяжелых металлов в углекислотных экстрактах и отходе углекислотной экстракции проводили вольтамперометрическим методом (Ph.Int., 7.0, R 2.1.2) на базе НИИ «Новые материалы», КарГТУ (МУ 08-47/142 (взамен МУ 08-47/118) Биологически активные добавки. Вольтамперометрический метод определения массовых концентраций цинка, кадмия, свинца, меди, селена, мышьяка и железа).

Пробы готовили методом «мокрого озоления», на комплексе

пробоподготовки «Темос-экспресс» ТЭ-1, с диапазоном рабочих температур от 50-650 °С с погрешностью измерений ±15 °С.

В качестве рабочего электрода использовали ртутно-пленочный электрод, хлорсеребряный электрод в качестве вспомогательного. Измерение проводили в условиях ультрафиолетового облучения. Пробы перемешивали магнитными мешалками. Определение содержания тяжелых металлов проводили одновременно из одного раствора, методом добавок аттестованных смесей определяемых элементов (Zn, Cd, Pb, Cu), приготовленных из государственных стандартных образцов. Для анализа использовали реактивы и растворители квалификации: «о.с.ч.», «х.ч.», «ч.д.а.».

Для исследования приготовили три пробы: две параллельные и одна резервная. Навеску CO₂-экстракта из травы скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской в количестве 0.1 г, вносили в кварцевые стаканчики, приливали по 2 мл концентрированной азотной кислоты и помещали в термокамеру. Выпаривали при температуре 156 - 350 °С. По истечении 30 мин изымали из термокамеры, слегка остудив, добавляли 30% - раствор перекиси водорода, помещали кварцевые стаканчики с образцами в термокамеру, закрывали металлической крышкой и выдерживали при температуре 650 °С до получения золы, без угольных включений.

К полученной золе (белого цвета), приливали 2 мл 6М HCl и выпаривали до влажного осадка при температуре 150-200 °С. Непосредственно перед проведением анализа на вольтамперметрическом анализаторе, в кварцевые стаканчики наливали 9.8 мл бидистиллированной воды, затем добавляем 0.2 мл раствора концентрированной муравьиной кислоты (фоновый раствор).

Исследование термических свойств (Ph.Eur., 7.0, 2.2.34, P. 54) углекислотных экстрактов из трав Scabiosa ochroleuca L. и Scabiosa isetensis L. проводили на базе лаборатории инженерного профиля «Физико-химические методы исследования», КарГУ им. Е.А. Букетова.

Исследование осуществляли на дифференциальном сканирующем калориметре Labsys Evolution DTA/DSC фирмы «Setaram» (Франция) в динамическом режиме в интервале температур 30-500 °С при нагревании со скоростью от 5 до 25 град/мин в атмосфере воздуха в тигле Al₂O₃.

Данные полученные из различных экспериментальных данных (TG/DTG/НF) были обработаны в соответствии со следующими кинетическими моделями: Фридмана, Флинна-Озавы-Уолла [130, 131] и методом непараметрической кинетики (НПК) [132], с тем чтобы получить кинетические параметры.

Исследование цитотоксичности на тест-объекте Artemia Salina L. (Branchiopoda, Crustacea). Определение цитотоксической активности углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской, скабиозы бледно-желтой, проводили в лаборатории Института прикладной химии при Евразийском Национальном университете им. Л.Н. Гумилева, по методике, основанной на установлении различия между количеством погибших личинок артемий в анализируемой пробе (опыт) и воде, которая не содержит токсических веществ (контроль). Критерием острой летальной токсичности раствора вещества

является гибель 50% личинок и более в опыте по сравнению с контролем.

Разведение производили из расчета 1 мг вещества на 1 мл растворителя. Каждый образец испытывали в трех параллельных опытах. Проводили при температуре 20 ± 2 °С, в естественном световом периоде. Соленность контрольной искусственной воды равна 8,0-8,5 (рН). Во время биотестирования личинки артемий были в возрасте до 1 суток. Плотность посадки личинок – 20-40 экземпляров на одну пробирку.

Проводили 3 параллели опытов, в каждом из них использовали по 20-40 личинок.

Делительную воронку на 55 мл заполняли искусственной морской водой и добавляли 200 мг яиц *Artemia salina*. Выдерживали в течение 3-х дней при мягкой подаче воздуха, пока рачки не вывелись из яиц. Одну сторону трубы покрывали алюминиевой фольгой, и 5 мин спустя, личинок, которые собирались на яркой стороне делительной воронки, вынимали пипеткой Пастера. 20-40 личинок помещали в 990 мл морской воды в каждой из 24 микроплошек. Подсчет мертвых личинок проводили под микроскопом.

Добавляли по 10 мл раствора диметилсульфоксида на 10 мг/мл образца. В качестве препарата сравнения использовали актиномицин Д.

Для отрицательного контроля добавляли только 10 мл диметилсульфоксида. После 24 ч инкубации и дальнейшем выдерживании микроплошки в течение 24 ч (для обеспечения неподвижности) посчитывали мертвые личинки под микроскопом.

Образцы с высокой цитотоксической эффективностью (менее 5% выживших личинок) проверяли снова с концентрациями 10, 5 и 1 мг/мл. Смертность (P) определяли по следующей формуле:

$$P = (A - N - B) / Z * 100, \quad (1)$$

где A – количество мертвых личинок после 24 ч;

N – количество мертвых личинок до проведения теста;

B – среднее количество мертвых личинок в отрицательном контроле;

Z – общее количество личинок [133-136].

Исследование цитотоксичности углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой на тест-объекте Saccharomyces cerevisiae проводили на базе учебной микробиологической лаборатории кафедры микробиологии КГМУ.

Для определения цитотоксичности использовался тест-объект *Saccharomyces cerevisiae*.

Снижение скорости подъема пены рассматривали как ингибирующий, а повышение как — стимулирующий эффект. Контролем служила суспензия дрожжей, приготовленная на основе водопроводной воды, дехлорированной путем отстаивания. Эксперименты проводили в 5-и независимых опытах с 3 параллельными измерениями.

Тест-объектом являлись дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (препарат сушеных пекарских дрожжей «Yuva»). Из углекислотного экстракта (спирт

этиловый 96%) приготовили разведения 1:10, 1:20, 1:40, 1:80.

В 20 мл анализируемой пробы были внесены 1,36 г сушеных дрожжей, полученная смесь суспензировалась, было добавлено 0,4 г глюкозы. Полученную смесь разлили по 3 мл в мерные пробирки и инкубировали в течение 15 мин, при 30 °С. По истечении заданного времени определяли объем образовавшейся пены.

Снижение скорости подъема пены рассматривали как ингибирующий, а повышение как – стимулирующий эффект.

Нистатин растирали в ступке до получения гомогенной массы и приготовили растворы с концентрацией 0,1; 0,3 и 0,5 мг/мл.

Затем в полученные растворы добавляли суспензию дрожжей и глюкозу (1,36 г дрожжей и 0,4 г глюкозы на 20 мл раствора) и проводили тестирование по вышеуказанной схеме [137].

Исследование токсичности углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой по выживаемости эвригалинного рачка вида Artemia salina L. (Branchiopoda, Crustacea) проводили на базе учебной микробиологической лаборатории кафедры микробиологии КГМУ (ГОСТ 53886 – 2010 (ИСО 146669:1999). Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных.

Изучение антимикробной и противогрибковой активности CO₂-экстрактов и экстрактов из CO₂-шрота трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской проводилось в отношении грамположительных штаммов, *Staphylococcus aureus* (0586), *Bacillus subtilis* (6633), грамотрицательных штаммов *Escherichia coli* (0524), и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1) на базе учебной микробиологической лаборатории кафедры микробиологии КГМУ, методом диффузии на агаровых дисках, пропитанных раствором исследуемого вещества (ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар) [138].

Препаратами сравнения выступали диски индикаторные с бензилпенициллином, для бактерий и диски индикаторные с нистатином для дрожжевого грибка.

При контроле использовали спирт этиловый 96%, 60% и 40%. Посевы инкубировали в термостате суховоздушном при 36,5– 37, 4 °С (грибки – при 28 °С), учет растущих культур проводили через 18-24 часа.

Антирадикальную активность CO₂-экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской сравнивали с антирадикальной активностью ВНА. Исследования проводились в лаборатории Института прикладной химии при Евразийском Национальном университете им. Л.Н. Гумилева по известной методике калориметрии свободных радикалов, основанной на реакции 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилрадикала (DPPH) с образцом антиоксиданта [139].

Для определения ингибирования DPPH, готовили спиртовые растворы углекислотных экстрактов трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской в диапазоне концентраций 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 и 1,0 мг/мл. Для этого к 0,1 мл спиртового раствора углекислотного экстракта добавляли 3 мл 6 x 10⁻⁵ М

раствора радикала. Пробирки находились в штативе, завернутого в черный полиэтилен.

После интенсивного перемешивания растворы оставались в темноте в течение 30 минут, далее измеряли оптическую плотность исследуемых растворов на спектрофотометре, при длине волны 520 нм.

Значения величины антирадикальной активности (АРА) исследуемых объектов определяли по формуле (2):

$$АРА (\%) = A_0 - \frac{A_t}{A_0} * 100, \quad (2)$$

где A_0 – оптическая плотность контрольного образца;

A_t – оптическая плотность рабочего образца.

Исследование АОА спиртового и водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой проводили методом инверсионной вольтамперометрии.

Используя метод катодной вольтамперометрии, для проведения одного опыта, брали навеску экстракта весом 0,3 г.

Использовался постоянноточковый режим катодной вольтамперометрии, скорость развертки потенциала $W = 40$ мВ/с, рабочий диапазон потенциалов от 0,0 до -1 В. Электрохимическая ячейка представляла собой стеклянный стаканчик с раствором фонового электролита и опущенными в него индикаторным ртутно-пленочным электродом, хлорид-серебряным электродом сравнения и хлорид-серебряным электродом. В качестве фонового раствора – фосфатный буфер с рН 6,6 [140].

Степень изменения тока ЭВ O_2 являлась показателем активности исследуемого образца [141].

Определение срока хранения растительного сырья и углекислотных экстрактов трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской проводили в лаборатории коллективного пользования КГМУ.

Для проведения физико-химических и фармацевтических исследований использованы следующие приборы:

Физико-химические методы

Для осуществления физико-химических методов анализа использованы следующие приборы и аппараты: Agilent 1260 Infinity, хроматограф «Кристаллюкс 4000М» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором, инфракрасный Фурье-спектрометр ФСМ 1201, Agilent Cary 60 UV-Vis, газовый хроматограф Clarus 580 (Perkin Elmer) с масс-спектрометрическим детектором Clarus-SQ 8, ICP-AES, комплекс вольтамперометрический СТА-1, дифференциальный сканирующий калориметр Labsys Evolution DTA/DSC фирмы «Setaram» (Франция), спектрофотометр Agilent Cary 60 UV-Vis(USA), сканирующий микроскоп «МТ 4310 L» Melji-Techno, камера BisionCamV 500B, цифровая камера Sony Cyber Short DSC – WX60, хроматограф LC-20 Prominence Shimadzu, роторный испаритель IKARV 10 Digital, ICP-AES Optima 7300 DV Perkin Elmer (USA), Инфракрасный Фурье-спектрометр ФСМ 1201.

Препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография

Качественный и количественный анализ исследуемых образцов проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на приборе Agilent 1260 Infinity в изократическом режиме в следующих условиях:

- аналитическая колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C₁₈, 4,6 x 150 мм, с размером частиц 5 мкм;
- состав подвижной фазы: ацетонитрил – вода в соотношении 2:3;
- детектирование при длине волны 240 нм;
- температура колонки – комнатная;
- скорость подвижной фазы 0,5 мл/мин;
- объем вводимой пробы 10 мкл.

ИК-спектроскопия

ИК-спектры регистрировали на Инфракрасном Фурье-спектрометре ФСМ 1201 в таблетках с калия бромидом, в области от 4000 см⁻¹ до 500 см⁻¹.

УФ-спектрофотометрия

УФ-спектры снимали на приборе Agilent Cary 60 UV-Vis, в области от 190 до 400 нм.

Хромато-масс-спектроскопия

Хроматографические условия: колонка капиллярная RestekRxi®-1 ms 0,25 мм x 30м x 0,25 мкм; объем пробы: 1,0 мкл; газ-носитель He; скорость газ-носителя: 1 мл/мин; деление потока 1:25; t колонки: 45 °С (2 мин), подъем 1,5 °С/мин до 200 °С, далее 15 °С / мин до 280 °С, изотермический режим при 280 °С в течение 10 мин; t испарителя – 280 °С, масс-спектрометрический детектор: t – 240 °С, EI+ = 70 eV; время сканирования с 4 по 120 мин; режим сканирования ионов 39-500 m/z. Процентное содержание компонентов вычисляли автоматически, исходя из площадей пиков общей хроматограммы ионов. Компоненты идентифицировали по масс-спектрам и временам удерживания, с использованием библиотеки NIST. Время удерживания компонентов пересчитывали относительно предельных углеводов.

Минеральный состав

Содержание элементов в составе золы определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, на приборе ICP-AES Optima 7300 DV Perkin Elmer (USA).

Инверсионная вольтамперометрия

Исследование на присутствие тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь) определяли на комплексе вольтамперометрическом СТА-1.

Термогравиметрия

Исследование термических свойств CO₂-экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской осуществляли на дифференциальном сканирующем калориметре Labsys Evolution DTA/DSC фирмы «Setaram» (Франция) в динамическом режиме в интервале температур 30-500 °С при нагревании со скоростью от 5 до 25 град/мин в атмосфере воздуха в тигле Al₂O₃.

Оптическая плотность

Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Cary 60 UV-Vis при

длине волны 520 нм, в диапазоне концентраций 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 и 1,0 мг/мл.

Фармакопейные методы анализа:

- микроскопию препаратов проводили в соответствии с ГФ РК I, Т. 1, с.563;
- количественное определение содержание α -сантонина проводили по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 79;
- определение потери в массе при высушивании проводили по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 91, способ *д*), с. 249;
- определение общей золы проводили по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 129;
- определение золы, нерастворимой в кислоте хлороводородной проводили по методике, изложенной ГФ РК, Т. 1, с. 226;
- определение микробиологической чистоты проводили по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 176, с. 479; ГФ РК, Т. 2, с. 181;
- определение посторонних примесей в растительном сырье определяли согласно методике, изложенной в ГФ РК Т.1, с. 226;
- определение тяжелых металлов в растительном сырье, ГФ РК Т.1, с.62;
- определение растворимости CO_2 -экстракта проводили по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 24;
- кислотное число определяли по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 155;
- сухой остаток определяли согласно методике, описанной в ГФ РК Т. 1, с. 235;
- тест пригодность хроматографической системы проводили согласно методики ГФ XI, Т. 1, с. 110;
- качественное определение α -сантонина методом тонкослойной хроматографии, проводили согласно методике, описанной в ГФ РК Т. 1, с. 71.

Статистическая обработка результатов

При обработке полученных результатов исследований применен метод вариационно-статистического анализа с использованием критерия достоверности по Стьюденту ($P=95\%$; $P=99\%$) (ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента).

Статистическую обработку результатов исследований биологической активности проводили методами параметрической статистики с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки, а также использовали пакет программ Microsoft Excel.

Фотографии обрабатывали в программе Paint 10.5.

3 ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВ *SCABIOSA OCHROLEUCA* L., *SCABIOSA ISETENSIS* L., ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В КАРАГАНДИНСКОЙ ОБЛАСТИ

3.1 Распространение и сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области

Скабиоза исетская и скабиозы бледно-желтая широко распространены на территории Карагандинской области, образуя заросли, пригодные для заготовки сырья.

Заросли скабиозы бледно-желтой отмечены на территории Корнеевских лесов, в горах Улытау и в горах Буйратау, входя в состав злаково-разнотравного, скабиозово-разнотравного и разнотравно-кустарникового сообщества. Общее проективное покрытие составило от 80 до 90 %.

В злаково-разнотравном сообществе (Корнеевские леса) доминирует *Calamagrostis epigeios*, субдоминант – *Scabiosa ochroleuca* L. Видовой состав сообщества оценен в 20-25 видов. Урожайность надземных органов составила 250 кг сухого сырья на 1 га (таблица 1). Площадь зарослей оценена в 12,5 га. Эксплуатационный запас скабиозы бледно-желтой составил 31,25 ц, а объем возможного сбора – 18,75 ц.

Таблица 1 – Урожайность и сырьевые запасы растения скабиозы бледно-желтой на территории Центрального Казахстана

Сообщество	Место обитания	Урожайность, кг/га	Площадь, га	Эксплуатационный запас, ц	Объем ежегодного возможного сбора сырья, ц
Злаково - разнотравное	Корнеевские леса	250±5	12,5	31,25	18,75
Скабиозово - разнотравное	Горы Улытау	312±11	22,4	69,89	41,93
Разнотравно - кустарниковое	Горы Буйратау	350±15	20,8	72,80	43,68
ИТОГО:			55,7	173,94	104,36

Скабиозово-разнотравные сообщества описаны на территории гор Улытау, подгорные равнины с остепненными лугами. Доминирует в сообществе скабиоза бледно-желтая. Видовой состав оценен в 25-27 видов. Совокупная площадь сообществ составила 22,4 га при средней урожайности 312 кг/га воздушно-сухого сырья. Эксплуатационный запас сырья надземных органов составил 69,89 ц при объеме возможного сбора – 41,93 ц (таблица 2).

Разнотравно-кустарниковые сообщества выявлены на территории гор Буйратау на равнинных и предгорных участках на площади 20,8 га. Доминантом в сообществе является таволга зверобоелистная, содоминант – солонечник татарский. Урожайность сырья в данной точке оказалась

максимальной – 350 кг/га. Эксплуатационный запас составил 72,80 ц, а объем возможного сбора – 43,68 ц (таблица 1).

Таким образом, общая площадь выявленных зарослей с участием скабиозы бледно-желтой составила 55,7 га при эксплуатационном запасе 173,94 ц. объем возможного сбора сырья – 104,36 ц.

Для скабиозы исетской значительные заросли отмечены в горах Улытау и Буйратау на сухих каменистых участках и склонах мелкосопочника. Иногда места произрастания обоих видов могут пересекаться.

Отмечены скабиозово-типчаково-разнотравные и злаково-разнотравные сообщества с участием *Scabiosa isetensis* L. Общее проективное покрытие варьировало от 60 до 75%, видовой состав 18-20 видов.

В скабиозово-типчаково-разнотравном сообществе на территории гор Улытау доминирует *Festuca valesiaca*, содоминант – *Scabiosa isetensis* L. Площадь зарослей оценена в 18,2 га при урожайности 285 кг/га воздушно-сухого сырья (таблица 2).

Эксплуатационный запас сырья определен в 51,87 ц при объеме возможного сбора сырья 31,12 ц.

Таблица 2 – Урожайность и сырьевые запасы растения скабиозы исетской на территории Карагандинской области

Сообщество	Место обитания	Урожайность, кг/га	Площадь, га	Эксплуатационный запас, ц	Объем ежегодного возможного сбора сырья, ц
Скабиозово-типчаково-разнотравное	Горы Улытау	285±12	18,2	51,87	31,12
Злаково-разнотравное	Горы Буйратау	310±15	11,6	35,96	21,58
ИТОГО:			29,8	87,83	52,70

В горах Буйратау скабиоза исетская обитает в составе злаково-разнотравного сообщества. Доминируют в сообществе ковыль перистый и житняк гребенчатый, содоминант – скабиоза исетская. Урожайность сырья составила 310 кг/га, эксплуатационный запас оценен в 35,96 ц при объеме возможного сбора сырья 21,58 ц.

Таким образом, совокупная площадь зарослей скабиозы исетской составила 87,83 ц, а объем возможного сбора сырья рассчитан на уровне 52,70 ц (Приложение В).

3.2 Технология заготовки надземной части растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Сбор надземной части сырья *Scabiosa ochroleuca* L. проводили в июле 2016 года в фазу полного цветения на территории Корнеевских лесов

(Казахстан, Карагандинская область, Бухар-Жырауский район).

Scabiosa isetensis L. собирали в августе 2016 года в горах Улытау (Казахстан, Карагандинская область, Улытауский район) в фазу цветения – плодоношения.

Идентификацию видов растений проводили сравнением их с коллекционным материалом гербарного фонда биолого-географического факультета Карагандинского государственного университета имени академика Е.А. Букетова. Гербарный код *Scabiosa isetensis* L. – 2013.07.20.06.04 (сбор: горы Буйратау); *Scabiosa ochroleuca* L. – 2010.06.11.01.14 (сбор горы Каркаралы). Видовая принадлежность была подтверждена профессором биологического факультета Томского государственного университета Эбелем А. (Приложение Т) и заведующим кафедрой ботаники КарГУ им. академика Е.А. Букетова, к.б.н. Ауельбековой А.К. (Приложение У).

В соответствии с рисунком 13 приведена технологическая схема заготовки сырья скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой.



Рисунок 13 – Технологическая схема заготовки сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Сбор сырья для исследования проводили ручным способом. Сырье собирали путем срезания на 7-10 см от поверхности почвы. Сушили на

открытом воздухе в тени при температуре окружающей среды (при температуре 23-25 °С тепла), раскладывали на стеллажи с марлей слоями 5-8 см, периодически переворачивая (не менее 2-х раз за сутки). Готовность высушенного сырья определялась по треску при изломе стеблей и растиранию листьев в порошок.

Сырье упаковывали в бумажные крафт-пакеты по 5 кг, наклеивая этикетку с указанием наименования сырья, места и времени сбора, массы нетто. Хранение вели в прохладном помещении на стеллажах.

3.3 Изучение макро- и микроскопических особенностей надземной части растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Основополагающим этапом стандартизации цельного и измельченного сырья является определение подлинности по внешним (макроскопическим) и внутренним (микроскопическим) характеристикам.

Проведено сравнительное изучение морфологических особенностей надземной части растений скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой.

Внешний вид цветущих растений представлен в соответствии с рисунком 14 и 15.



Рисунок 14 – Внешний вид цветущих растений *Scabiosa isetensis* L. в горах Улытау (Карагандинская область)

Внешние признаки. Цельное сырье скабиозы исетской. Цельные или частично измельченные верхние части стеблей с цветками и листьями. Растение 35-40 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая – грубая, непонятная, кудрявая и волосатая, в верхней части с более плотным опушением с примесью редких и длинных волос.

Диагностические признаки сырья скабиозы исетской: в качестве морфологических показателей растения учитывали форму стебля, листа, степень опушенности, цвет отдельных элементов (таблица 3).



Рисунок 15 – Внешний вид цветущих растений *Scabiosa ochroleuca* L.
(Карагандинская область, Корневские леса)

Внешние признаки. Цельное сырье скабиозы травы бледно-желтой. Цельные или измельченные верхние части стеблей с цветками и листьями. Растение 80 - 100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины – обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой – кудрявая и пушистая, цвет стебля – зеленый (таблица 3).

Таким образом, сырье обоих видов скабиозы хорошо идентифицируется по ряду морфологических показателей: форма и размер соцветий, цвет и тип ветвления стеблей, форма и цвет листьев, форма чашелистников, форма, цвет и размер цветков.

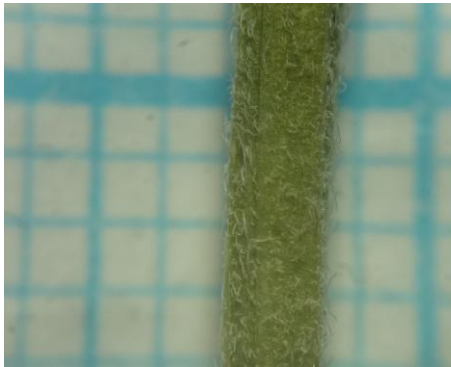





Идентификация. Микроскопию надземных органов скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой проводили в соответствии с ГФ РК, т. 1, «Методы испытаний лекарственного растительного сырья», «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья».

На поверхностном препарате лист скабиозы исетской плоский, светового типа.

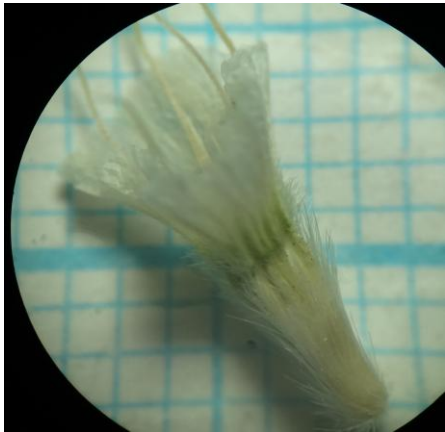
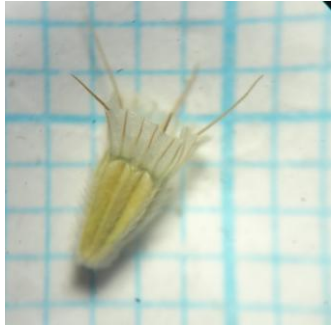
Таблица 3 – Морфологические показатели надземных органов *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L.

Показатели	<i>Scabiosa isetensis</i> L.	<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.
1	2	3
<i>Стебли</i>		
Форма стебля	Стебли прямостоящие, на поперечном срезе округлые, не ветвящиеся	Стебли прямостоящие, на поперечном срезе округлые, от середины – ветвящиеся
Структура поверхности стебля	Поверхность стебля курчаво-коротковолосистая, в верхней части с более густым опушением, иногда с	Поверхность стебля голая, лишь в самой нижней части и под цветочными головками несколько

Продолжение таблицы 3

1	2	3
	<p>примесь редких длинных волосков</p> 	<p>курчаво-пушистая</p> 
Цвет стебля	Серебристо-зеленый	Зеленый
Форма листа	<p>Все листья эллиптические, перисто-раздельные на линейные, реже ланцетные доли, 3-10 мм длиной и около 1-1,5 мм шириной. Конечные дольки в свою очередь часто надрезанные. Прикорневые листья 5-10 см длиной на черешках 1-2 см длиной. Стеблевые листья сидячие, более короткие</p>	<p>Прикорневые листья черешковые, длинно-эллиптические, цельные, зубчатые или лировидно-надрезанные. Стеблевые сидячие, форма от лировидных до перисто-рассеченных, края зубчатые, 10-12 см длиной и 3-5 см шириной</p>
Структура поверхности листа	<p>Поверхность листа с обеих сторон прижато-волосистая из мелких простых трихом</p> 	<p>Листья с обеих сторон коротковолосистые, с длинными белыми волосками по жилкам листа</p> 
Цвет листа	Желто-зеленый, серебристо-зеленый	Светло-зеленый
<i>Соцветия</i>		
Тип соцветия	<p>Соцветие сферическое, 1,5-2 см в диаметре</p> 	<p>Соцветие головчатое, 2-3 см в диаметре</p> 

Продолжение таблицы 3

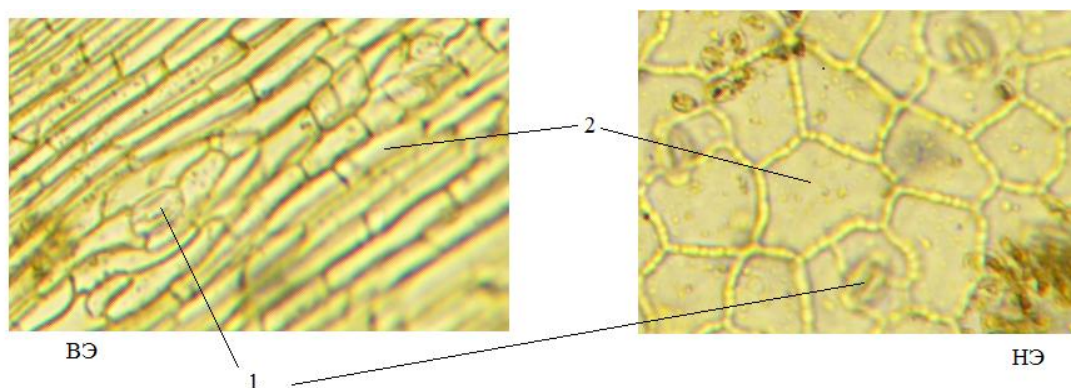
1	2	3
Структура поверхности листочков обертки	Поверхность густо, почти войлочно-коротко-волосистая	Поверхность обычно коротко-опушенная
Цвет листочков обертки	Серебристо-зеленый	Зеленый
Форма чашелистников	Узко - ланцетные, густо-волосистые, в верхней части килеватые, внизу нитевидные, прижато-белощетинистые, мягкие, 3-8 мм длиной; иногда с пленчатым окрашенным краем	Ланцетовидные, вверху волосистые, книзу суженные, голые
<i>Цветки</i>		
Форма цветка	Краевые цветки 10-15 мм длиной, срединные 6-8 мм длиной. Форма колокольчатая, со слабо выраженными гранями. Коронка пленчатая, по длине почти равна основанию, щетинки длинные, загнутые внутрь. 	Срединные цветки 5-7 мм длиной, краевые до 10-12 мм длиной, лучевые. Форма конусовидная, 8-гранная, с хорошо заметными продольными и окрашенными жилками, коронка пленчатая, с 20-24 жилками, по краю волнистая, щетинки чашечки 5-8 мм длиной, отклоненные. 
Структура поверхности цветка	Поверхность венчика снаружи сильно опушенная длинными беловатыми триомами, внутренняя – почти голая	Поверхность венчика снаружи опушенная, по граням волосистая, внутренняя поверхность морщинистая, голая.
Цвет венчика	Желтовато-белый, реже розовато-белый	Бледно-желтый

Как видно из таблицы 3, сырье обоих видов скабиозы хорошо идентифицируется по ряду морфологических показателей: форма и размер соцветий, цвет и тип ветвления стеблей, форма и цвет листьев, форма чашелистников, форма, цвет и размер цветков.

Идентификация. Микроскопию надземных органов скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой проводили в соответствии с ГФ РК, т. 1, «Методы

испытаний лекарственного растительного сырья», «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья».

На поверхностном препарате лист скабиозы исетской плоский, светового типа. Клетки верхнего эпидермиса, в соответствии с рисунком 16, мелкие, прозенхимного типа, с тонкими стенками. Клетки нижнего эпидермиса крупные, изодиаметрической формы с извилистыми и более утолщенными стенками. Устьица многочисленные, встречаются преимущественно с нижней стороны листа, диацитного типа. Обе поверхности листа покрыты слоем кутикулы.



ВЭ – верхний эпидермис; НЭ – нижний эпидермис; 1 – основные клетки эпидермиса; 2 – устьица

Рисунок 16 – Анатомическое строение листа скабиозы исетской. Препарат с поверхности. Ув. 10x10

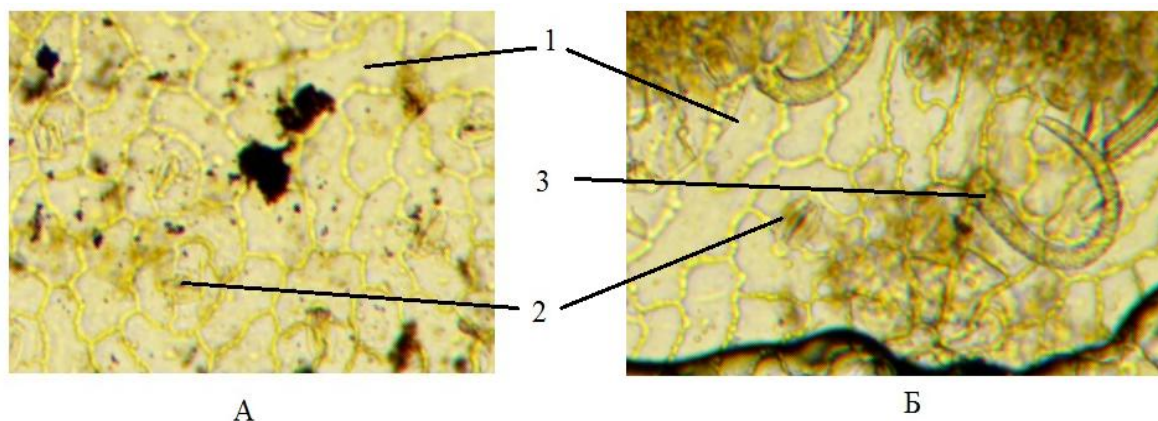
На поперечном срезе, в соответствии с рисунком 17, лист дорзо-вентрального строения, мезофилл четко дифференцирован на столбчатую и губчатую ткани.



1 – эпидермис; 2 – проводящий пучок; 3 – столбчатый мезофилл; 4 – устьица; 5 – губчатый мезофилл

Рисунок 17 – Поперечный срез листа скабиозы исетской. Ув. 4x10

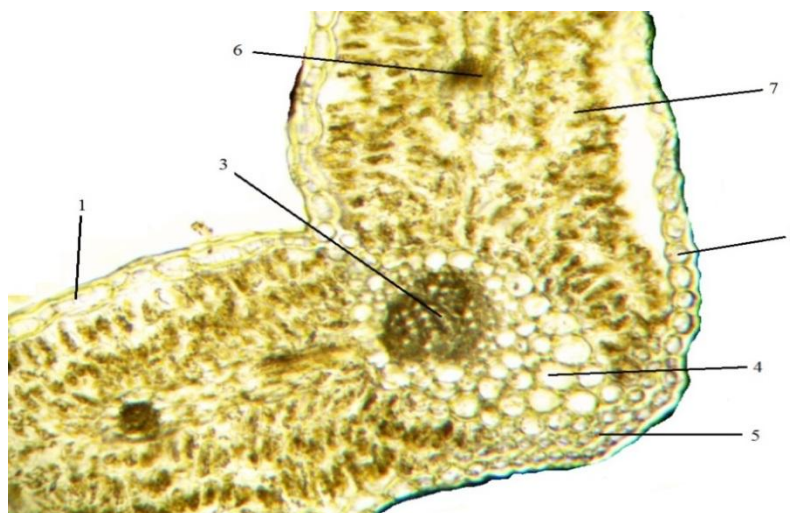
При рассмотрении препаратов листа скабиозы бледно-желтой с поверхности в соответствии с рисунком 18, клетки верхнего и нижнего эпидермиса овальной формы с сильно - извилистыми и толстыми стенками. Поверхность покрыта кутикулой, образующей складки вокруг устьиц. Устьица многочисленные, особенно с нижней стороны, диацитного типа. С нижней стороны листа отмечены редкие 1-клеточные бичевидные трихомы.



1 – основные клетки эпидермиса; 2 – устьица; 3 – простые трихомы

Рисунок 18 – Препарат верхнего (А) и нижнего (Б) эпидермиса листа скабиозы бледно-желтой. Ув. 10x10

На поперечном срезе лист плоский, изолатерально-палисадного типа, основная масса мезофилла представлена столбчатой тканью, губчатая ткань образует небольшой участок вокруг центрального проводящего пучка, в соответствии с рисунком 19.



1 – верхний эпидермис; 2 – нижний эпидермис; 3 – ксилема; 4 – губчатый мезофилл; 5 – колленхима; 6 – боковой проводящий пучок; 7 – столбчатый мезофилл

Рисунок 19 – Поперечный срез листа скабиозы бледно-желтой. Ув. 4x10

Проводящие пучки коллатеральные, закрытого типа. С нижней стороны пучок армирован 2-слойной пластинчатой колленхимой. По периферии листа расположены овальные на срезе клетки эпидермиса с толстым слоем кутикулы. Столбчатый мезофилл состоит из 2 слоев клеток, губчатый – из 2-3 слоев. Проводящие пучки коллатеральные, закрытого типа. В мякоти листа отмечены темноокрашенные вместилища схизогенного типа.

Таким образом, проведено изучение анатомического строения листа скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой, выявлены особенности строения эпидермиса и поперечного среза [142-145] (таблица 4).

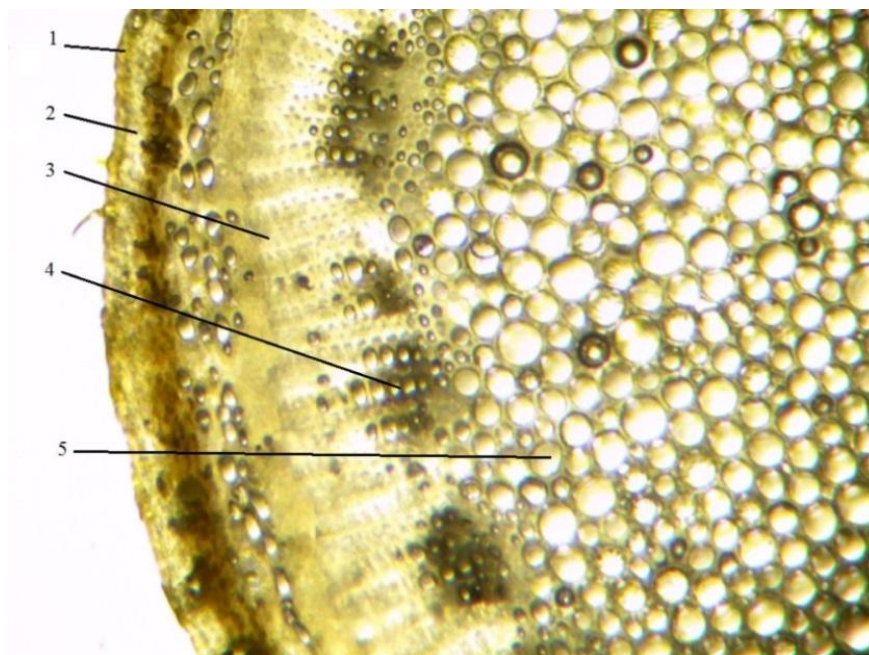
Таблица 4 – Элементы анатомического строения скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой

Признаки	Скабиоза исетская	Скабиоза бледно-желтая
Верхний эпидермис листа	Клетки мелкие, прозенхимного типа, с тонкими стенками	Клетки крупные, вытянутой формы с толстыми и извилистыми стенками
Нижний эпидермис листа	Клетки крупные, изодиаметрические, с утолщенными и извилистыми стенками	Клетки крупные, округлой формы со слабо - извилистыми стенками
Устьица	Диацитного типа	Диацитного типа
Трихомы	Отсутствуют	Редкие простые 1 -клеточные трихомы
Наличие кутикулы	Есть	Есть
Тип листа	Дорзо-вентральный	Изолатерально-палисадный
Столбчатый мезофилл	2-слойный	Расположен в несколько слоев с обеих сторон листа
Губчатый мезофилл	2-3-слойный	Небольшой участок вокруг центрального проводящего пучка
Вместилища	Вытянутые, темно-окрашенные	Отсутствуют
Наличие колленхимы	Отсутствует	Пластинчатого типа над центральным проводящим пучком

В качестве отличительных элементов в микроскопическом строении листа можно определить формы и размер клеток эпидермиса, наличие трихом и вместилищ, тип мезофила, наличие колленхимы.

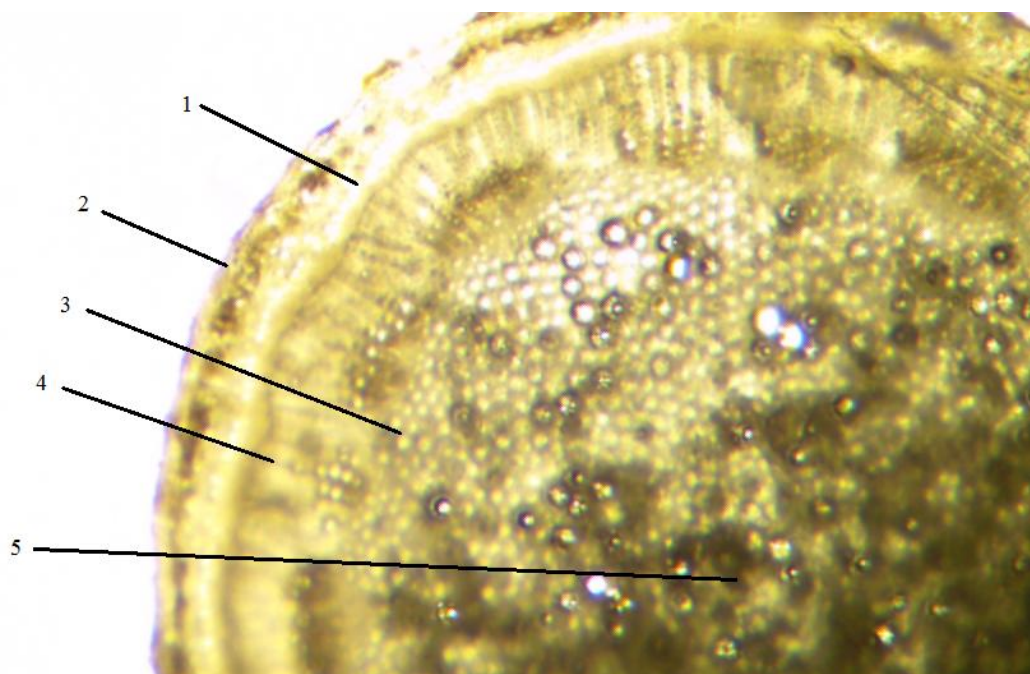
Стебель скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской имеет идентичное строение. Стебель на поперечном срезе округлый, наблюдается переход от пучкового к непучковому типу строения. По периферии располагается 1-слойный эпидермис с округлыми клетками на поперечном срез в соответствии с

рисунками 20-21.



1 – эпидермис; 2 – хлоренхима; 3 – склеренхима; 4 – ксилема; 5 – центральная паренхима

Рисунок 20 – Участок поперечного среза стебля скабиозы бледно-желтой.
Ув. 4x10



1 – эндодерма; 2 – эпидермис; 3 – ксилема; 4 – склеренхима; 5 – сердцевинная паренхима

Рисунок 21 – Участок поперечного среза стебля скабиозы исетской. Ув. 4x10

Местами у скабиозы бледно-желтой отмечены редкие простые трихомы, у скабиозы исетской – трихомы не выявлены. Под эпидермисом залегает 2-3 слоя хлоренхимы. Проводящая зона – непучкового типа, армирована толстым слоем склеренхимы, расположенной над сливающимися проводящими пучками. Центральная часть сильно паренхиматизирована.

Таким образом, на микроскопическом строении стебля отличительными признаками между двумя видами скабиозы является наличие трихом на эпидермисе.

На основе полученных результатов определены диагностические признаки исследуемых видов сырья.

В качестве диагностических признаков можно рассматривать форму клеток эпидермиса, тип устьичного аппарата, бичевидные трихомы, строение мезофилла и наличие колленхимы.

Диагностические признаки сырья скабиозы бледно-желтой. Клетки верхнего эпидермиса листа крупные, вытянутой формы с толстыми и извилистыми стенками; клетки нижнего эпидермиса листа крупные, округлой формы со слабо-извилистыми стенками; устьица диацитного типа; трихомы редкие простые 1-клеточные; кутикулы есть; тип листа изолатерально-палисадный; столбчатый мезофилл расположен в несколько слоев с обеих сторон листа; губчатый мезофилл – небольшой участок вокруг центрального проводящего пучка; колленхимы пластинчатого типа над центральным проводящим пучком.

Диагностические признаки сырья скабиозы исетской. Клетки верхнего эпидермиса листа мелкие, прозенхимного типа, с тонкими стенками. Клетки нижнего эпидермиса листа крупные, изодиаметрические, с утолщенными и извилистыми стенками. Устьица диацитного типа. Есть кутикулы. Дорзовентральный тип листа. Столбчатый мезофилл 2-слойный. Губчатый мезофилл 2-3-слойный. Вместилища вытянутые, темноокрашенные.

Таким образом, на основании изучения макро- и микроскопических особенностей растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L., определены внешние и диагностические признаки скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской для идентификации данных видов сырья.

3.4 Идентификация растительного сырья *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L. по химическому составу

Идентификацию исследуемых видов сырья также подтверждали, исходя из химического состава скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой, реакцией на наличие в них терпеноидов. Сумму БАВ выделяли из растительного материала 3-х кратной экстракцией хлороформом.

2,000 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, приливают 100 мл хлороформа и взвешивают. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы хлороформом. Извлечения фильтруют через бумажный

фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (*испытуемый раствор*).

Качественная реакция на терпеноиды. К 1 мл испытуемых растворов, прибавляли 1 каплю 1% раствора ванилина *P* в кислоте серной *P*, через 3-5 мин появляется красно-фиолетовое окрашивание.

Полученные экстракты показали положительную реакцию на наличие терпеноидов, при прибавлении раствора ванилина в серной кислоте к экстрактам, смеси окрашивались в фиолетовый цвет (терпеноиды).

Наличие сесквитерпенового лактона α -сантонина в двух видах сырья устанавливали методом тонкослойной хроматографии (ГФ РК т. 1, 2.2.27).

На линию старта хроматографических пластинок «Silufol» или «Сорбфил» размером 5x15 см наносили в виде полосок по 10 мкг испытуемых растворов и раствора сравнения. Пластины помещали в камеру с системой растворителей петролейный эфир – этилацетат (2:1). Когда фронт растворителей прошел около 15 см от линии старта, пластины вынимали из камеры и сушили на воздухе, погружали на 10 секунд в насыщенный раствор калия перманганата, промывали водой очищенной, сушили на воздухе и просматривали при дневном свете.

На хроматограммах испытуемых растворов скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой обнаружены темно-коричневые пятна на уровне пятна раствора сравнения α -сантонина (R_f около 0,60).

Приготовление раствора сравнения. 10 мг α -сантонина (PCO) растворяют в 10 мл 96 % этанола.

Количественное определение. Определение количественного содержания α -сантонина проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГФ РК, т. 1, 2.2.29).

Около 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья (2.9.12), помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл *хлороформа P*, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при температуре 50-60 °С в течение 10 мин, охлаждали. Экстракцию повторяли еще 2 раза. Извлечения объединяли, растворитель упаривали на ротационном испарителе. Остаток количественно переносили раствором подвижной фазы в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали (*испытуемый раствор*). Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

По 20 мкл полученного фильтрата, раствора рабочего стандартного образца α -сантонина попеременно хроматографировали на жидкостном хроматографе с УФ-детектором, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов в следующих условиях:

- колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C18, 4,6x150 мм с размером частиц 5 мкм;
- подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 2:3;
- детектирование при длине волн 254 нм;
- скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин;
- температура колонки – 20 °С.

Количественное содержание α -сантонина в исследуемых образцах в

процентах определяли методом сравнения с внешним стандартом по формуле:

$$X = \frac{S \cdot m_o \cdot P \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{S_o \cdot m \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \quad (3)$$

где, S – площадь пика α -сантонина на хроматограмме исследуемого раствора экстракта;

S_o – площадь пика на хроматограмме раствора рабочего стандартного образца α -сантонина;

m – навеска сырья, г;

m_o – навеска рабочего стандартного образца α -сантонина, г;

P – процентное содержание α -сантонина в рабочем стандартном образце α -сантонина;

25; 25 – разведения, мл.

W – влажность сырья, в %;

Для проверки пригодности хроматографической системы перед анализом испытуемых растворов, 10 мкл фильтрата рабочего стандартного образца α -сантонина хроматографировали, получали 5 хроматограмм в условиях, описанных выше.

По результатам теста:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанной для пика α -сантонина на хроматограммах рабочего стандартного образца α -сантонина составила 15525 теоретических тарелок (не менее 2000 т.т., ГФ XI, т. 1);

- коэффициент симметрии пика, рассчитанный для пика α -сантонина на хроматограммах раствора рабочего стандартного образца α -сантонина – 0,85 (не более 2,0, ГФ XI т. 1);

- относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика α -сантонина на хроматограммах рабочего стандартного образца α -сантонина – 0,94% (не более 2,0%, ГФ XI, т. 1).

Полученные хроматограммы определения количественного содержания α -сантонина в сырье скабиозы исетской (рисунок 22) и в сырье скабиозы бледно-желтой (рисунок 23), также рабочего стандартного образца α -сантонина (рисунок 24). Время удерживания α -сантонина составило $12,00 \pm 0,3$ мин.

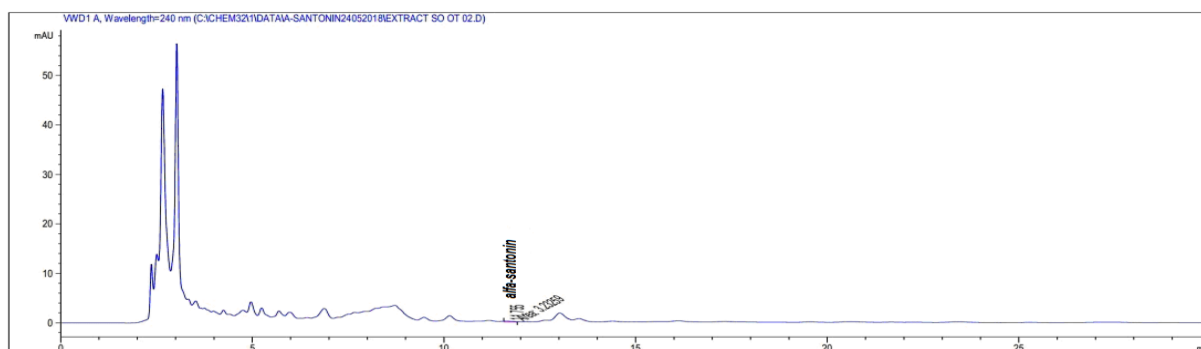


Рисунок 22 - Хроматограмма определения количественного содержания α -сантонина в траве скабиозы исетской

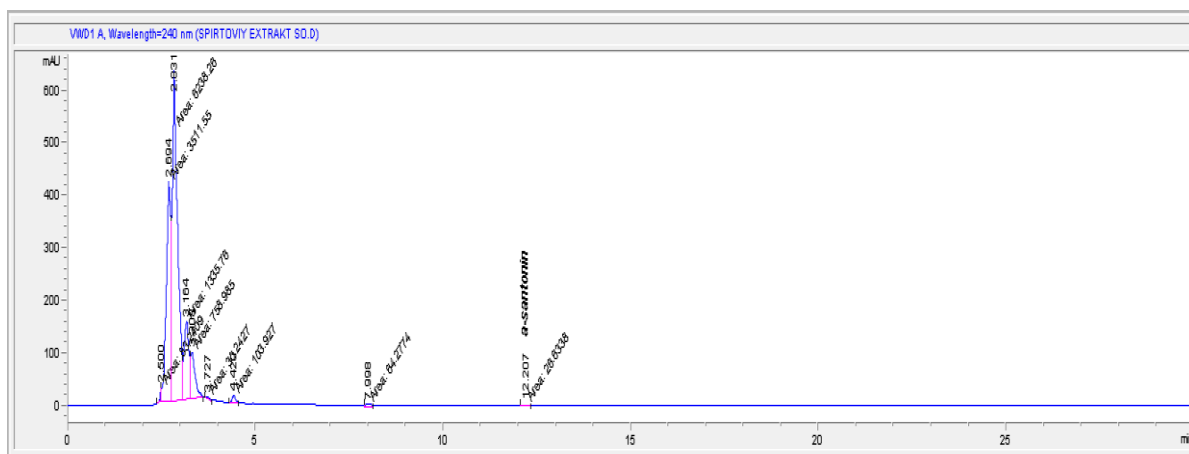


Рисунок 23 - Хроматограмма определения количественного содержания α -сантонина в траве скабиозы бледно-желтой

В результате проведенного анализа установлено наличие α -сантонина в двух видах исследуемого сырья, при этом количественное содержание α -сантонина в траве скабиозы бледно-желтой – 0,076%, а в траве скабиозы исетской составило 0,172%.

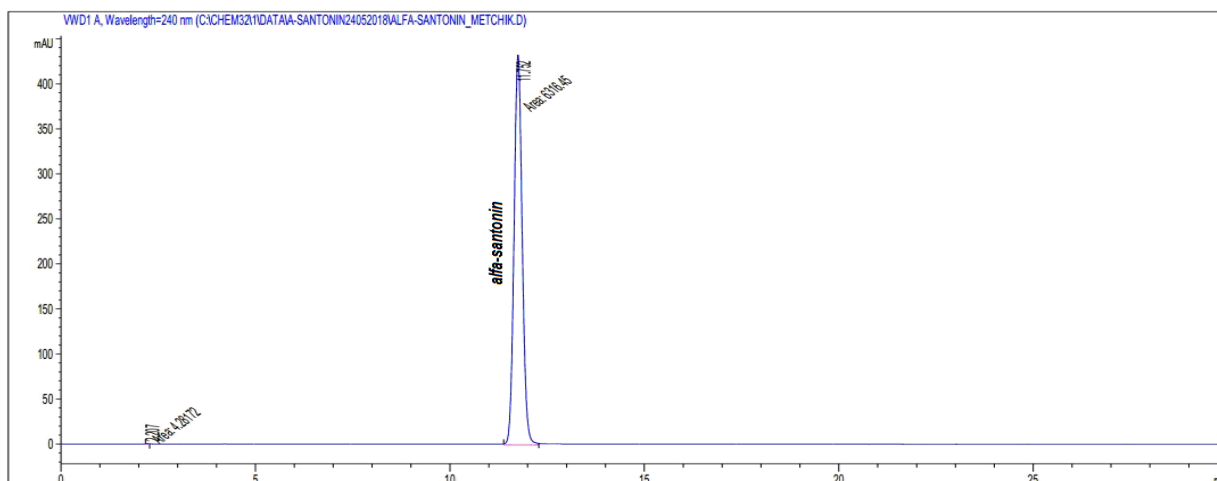


Рисунок 24 – Хроматограмма рабочего стандартного образца α -сантонина

Определение минерального состава трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской

Минеральные вещества входят в состав тканей организма человека, ферментов, гормонов. В организме человека можно найти значительную часть элементов периодической таблицы Менделеева Д.И.

Минеральные вещества играют важную роль в различных обменных процессах организма: выполняют пластическую функцию, участвуют в построении костной ткани, регуляции водно-солевого и кислотно-щелочного равновесия, входят в состав ферментных систем. Исходя из вышеизложенного, мы проводили изучение минерального состава исследуемых растений. и получены количественные данные [146].

Общее количество макро-, микро-, ультрамикроэлементов в скабиозе бледно-желтой, скабиозе исетской составило 59 элементов (таблица 5).

Таблица 5 – Количество макро-, микро-, ультрамикроэлементов в скабиозе бледно-желтой, скабиозе исетской

Элементы	Скабиоза бледно-желтая	Скабиоза исетская
Макроэлементы	9	9
Микроэлементы	27	31
Ультрамикроэлементы	23	19

В таблице 6, представлены сравнительные числовые показатели содержания макро-, микро-, ультрамикроэлементов в исследованных растениях. Богатое содержание минералов в исследуемом растительном сырье полезно для организма человека, так как минералы содержатся во внутриклеточной жидкости, регулируя ее состав, участвуют в формировании клеток крови, костей, участвуют в процессах функционирования нервной системы, регуляции мышечного тонуса, включая тонус мышц сердечно-сосудистой системы. Подобно витаминам, минералы функционируют как коэнзимы, участвуя в процессах образования энергии, роста и восстановления организма.

Таблица 6 – Минеральный состав золы трав *Scabiosa isetensis* L., *Scabiosa ochroleuca* L.

№	Элемент	Символ	Содержание (мг/кг)	
			<i>Scabiosa isetensis</i> L.	<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.
1	2	3	4	5
1	Литий	Li	6,842	8,049
2	Бериллий	Be	0,121	0,143
3	Бор	B	32,23	19,61
4	Натрий	Na	2276	1059
5	Магний	Mg	7673	5846
6	Алюминий	Al	827,5	6151
7	Фосфор	P	3122	11865
8	Калий	K	31820	58410
9	Кальций	Ca	62780	28630
10	Скандий	Sc	0,7488	0,71
11	Ванадий	V	1,068	1,309
12	Хром	Cr	24,9	23,98
13	Марганец	Mn	73,95	75,62
14	Железо	Fe	1054	1049
15	Кобальт	Co	0,53	0,64
16	Никель	Ni	5,867	6,303
17	Медь	Cu	25,85	19,26
18	Цинк	Zn	17,07	32,74
19	Галий	Ga	1,244	1,244
20	Германий	Ge	0,05013	0,03213

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5
22	Селен	Se	0,7238	0,3809
23	Рубидий	Rb	11	48,20
24	Стронций	Sr	225	255,9
25	Иттрий	Y	1,398	0,3737
26	Цирконий	Zr	5,513	4,046
27	Ниобий	Nb	0,3317	0,1815
28	Молибден	Mo	1,12	3,597
29	Серебро	Ag	0,7274	0,3066
30	Кадмий	Cd	<0,01	0,01607
31	Индий	In	0,003218	0,01287
32	Олово	Sn	1,933	2,285
33	Сурьма	Sb	0,02922	0,1023
34	Цезий	Cs	0,02418	0,15
35	Барий	Ba	228,7	180,4
36	Лантан	La	0,265	0,306
37	Церий	Ce	0,6546	0,3907
38	Празеодим	Pr	0,2686	0,04918
39	Неодим	Nd	1,048	0,08222
40	Самарий	Sm	0,3424	0,00
41	Европий	Eu	0,64	0,1822
42	Галолиний	Gd	0,1435	0,02051
43	Тербий	Tb	0,03217	0,00715
44	Диспрозий	Dy	0,04437	0,05916
45	Гольмий	Ho	0,01496	0,007478
46	Эрбий	Er	0,04339	0,0217
47	Тулий	Tm	0,0198	0,00
48	Иттербий	Yb	0,04742	0,01581
49	Лютеций	Lu	<0,01	<0,01
50	Гафний	Hf	0,07482	<0,01
51	Тантал	Ta	0,02255	0,04933
52	Вольфрам	W	0,2649	0,3574
53	Рений	Re	0,003731	<0,001
54	Ртуть	Hg	0,003053	0,003053
55	Титан	Ti	0,008772	0,008772
56	Свинец	Pb	1,33	1,053
57	Висмут	Bi	0,00953	0,02859
58	Торий	Th	0,03181	0,02828
59	Уран	U	0,1394	0,0602

Как видно из таблицы 6, в траве скабиозы исетской установлены в значительных количествах кальций (62780 мг/кг), калий (31820 мг/кг), натрий (2276 мг/кг), железо (1054 мг/кг), фосфор (3122 мг/кг) и алюминий (827,5 мг/кг), а трава скабиозы бледно-желтой, содержит кальция и натрия меньше в 2 раза (28630 мг/кг и 1053 мг/кг), фосфора почти в три раза (11865 мг/кг) и алюминия в 7 раз больше (397,40 мг/кг).

Содержание радионуклидов (Cs-137 Бк/кг, Sr-90 Бк/кг) в двух исследуемых образцах растительного сырья соответствует требованиям ГФ РК.

Таким образом, в результате качественного анализа в исследуемых видах растительного сырья установлено наличие терпеноидов и сесквитерпенового лактона α -сантонина, при этом количественное содержание α -сантонина в РС скабиозы исетской в 2,2 раза больше, чем в РС скабиозы бледно-желтой. Изучен минеральный состав РС скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой.

3.5 Определение параметров качества на растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Для определения параметров качества на растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. нами проведен товароведческий анализ растительного сырья.

Товароведческий анализ травы скабиозы бледно-желтой проводился по следующим показателям:

Посторонние примеси. 1,60 % (ГФ РК, т. 1, 2.8.2).

Потеря в массе при высушивании. 5,4%. 1.0 г измельченного сырья (2.9.12), сушат при температуре 100 -105 °С в течение 2 ч. (ГФ РК, т. 1, 2.2.32).

Общая зола. 7,84 % (ГФ РК, т. 1, 2.4.16).

Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной. 0,87 % (ГФ РК, т.1, 2.8.1).

Микробиологическая чистота. Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК, т. 2, 2.6.13.

Сырье соответствует требованиям ГФ РК, т. 1, 5.1.4, категория 4А. Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10^2 бактерий, грибов и *Escherichia coli* в 1.0 г сырья не обнаружено (Приложение У).

Тяжелые металлы. Кадмия - 0,01607 мг/кг, свинца – 1,053 мг/кг, ртути – 0,003053 мг/кг (ГФ РК, т. 3, 2.4.27).

Мышьяк. 0,36 мг/кг (ГФ РК, т. 3, 2.4.2).

Радионуклиды. Cs-137, <4,8 Бк/кг; Sr-90, <6 Бк/кг (НД на методы испытаний Cs-KZ 07.00.03126-2015; Sr- KZ 07.00.03125-2015) (Приложение Ф).

Метрологические характеристики результатов товароведческого анализа травы скабиозы бледно-желтой представлены в таблице 8.

Таблица 7 – Результаты товароведческого анализа травы скабиозы бледно-желтой

Серия	Посторонние примеси, %	Потеря в массе при высушивании, %	Общая зола, %	Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной, %	Микробиологическая чистота	Радионуклиды
1	2	3	4	5	6	7

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6	7
200916	1,60	5,4	7,84	0,87	соответствует	соответствует
210916	1,58	5,6	7,85	0,89	соответствует	соответствует
220916	1,62	5,2	7,83	0,85	соответствует	соответствует

Таблица 8 - Метрологические характеристики результатов товароведческого анализа травы скабиозы бледно-желтой

Серия	Потеря в массе при высушивании, %	Метрологические характеристики	Общая зола, %	Метрологические характеристики	Зола, нерастворимая в HCl 10 %, %	Метрологические характеристики
200916	5,4	$\bar{X} = 5,4$ $f = 2$	7,84	$\bar{X} = 7,84$ $f = 2$	0,87	$\bar{X} = 0,87$ $f = 2$
210916	5,6	$S^2 = 0,04$ $S = 0,2$	7,85	$S^2 = 0,0001$ $S = 0,01$	0,89	$S^2 = 0,0004$ $S = 0,02$
220916	5,2	$S\bar{x} = 0,1155$ $S\bar{x} = 0,02 \%$ $Q_1 = 1$	7,83	$S\bar{x} = 0,0058$ $S\bar{x} = 0 \%$ $Q_1 = 1$	0,85	$S\bar{x} = 0,0115$ $S\bar{x} = 0,0178 \%$ $Q_1 = 1$
		P=95% $\Delta X = 0,8600$ $\Delta \bar{X} = 0,4985$		P=95% $\Delta X = 0,0430$ $\Delta \bar{X} = 0,0025$		P=95% $\Delta X = 0,086$ $\Delta \bar{X} = 0,0497$
		P=99% $\Delta X = 1,9860$ $\Delta \bar{X} = 1,1466$		P=99% $\Delta X = 0,0993$ $\Delta \bar{X} = 0,0573$		P=99% $\Delta X = 0,1986$ $\Delta \bar{X} = 0,1147$

Товароведческий анализ травы скабиозы исетской проводился по следующим показателям (таблица 9):

Посторонние примеси. Не более 1,45% (ГФ РК, т. 1, 2.8.2).

Потеря в массе при высушивании. Не более 9,0%. (ГФ РК, т. 1, 2.2.32). 1,0 г измельченного сырья (2.9.12), сушат при температуре 100-105 °С в течение 2 часов.

Общая зола. Не более 9,02% (ГФ РК, т. 1, 2.4.16).

Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной. Не более 0,65% (ГФ РК, т. 1, 2.8.1).

Микробиологическая чистота. Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК, т. 2, 2.6.13.

Сырье соответствует требованиям ГФ РК, т. 1, 5.1.4, категория 4А.

Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10² бактерий, грибов и *Escherichia coli* в 1.0 г сырья не обнаружено.

Тяжелые металлы. Кадмия – <0,01 мг/кг, свинца – 1,33 мг/кг, ртути –

0,003053 мг/кг (ГФ РК, т. 3, 2.4.27).

Мышьяк. Не более 0,58 мг/кг (ГФ РК, т. 3, 2.4.2).

Радионуклиды. Cs-137, <7 Бк/кг; Sr-90, <13 Бк/кг (Приложение X).

Метрологические характеристики результатов товароведческого анализа травы скабиозы исетской представлены в таблице 10. Результаты товароведческого анализа показали соответствие растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской требованиям ГФ РК.

Таблица 9 – Результаты товароведческого анализа травы скабиозы исетской

Серия	Посторонние примеси, %	Потеря в массе при высушивании, %	Общая зола, %	Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной, %	Микробиологическая чистота	Радионуклиды
230916	1,45	8,0	9,02	0,63	соответствует	соответствует
240916	1,47	7,8	8,94	0,65	соответствует	соответствует
250916	1,43	8,2	9,10	0,67	соответствует	соответствует

Таблица 10 - Метрологические характеристики результатов товароведческого анализа травы скабиозы исетской

Серия	Потеря в массе при высушивании, %	Метрологические характеристики	Общая зола, %	Метрологические характеристики	Зола, нерастворимая в HCl 10 %, %	Метрологические характеристики
230916	8,0	$\bar{X} = 8,0$ $f = 2$ $S^2 = 0,04$ $S = 0,2$	9,02	$\bar{X} = 9,02$ $f = 2$ $S^2 = 0,0064$ $S = 0,08$	0,87	$\bar{X} = 0,65$ $f = 2$ $S^2 = 0,0004$ $S = 0,02$
240916	7,8	$S\bar{x} = 0,1155$ $S\bar{x} = 0,01 \%$ $Q_1 = 1$	8,94	$S\bar{x} = 0,0462$ $S\bar{x} = 0,005 \%$ $Q_1 = 1$	0,89	$S\bar{x} = 0,0115$ $S\bar{x} = 0,02 \%$ $Q_1 = 1$
250916	8,2	P=95% $\Delta X = 0,8600$ $\Delta \bar{X} = 0,4965$	9,10	P=95% $\Delta X = 0,344$ $\Delta \bar{X} = 0,1986$	0,85	P=95% $\Delta X = 0,3440$ $\Delta \bar{X} = 0,1986$
		P=99% $\Delta X = 1,9860$ $\Delta \bar{X} = 1,1466$		P=99% $\Delta X = 0,4586$ $\Delta \bar{X} = 0,7944$		P=99% $\Delta X = 0,1986$ $\Delta \bar{X} = 0,1146$

3.6 Разработка спецификации качества на растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Разработку спецификации качества на ЛРС скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской проводили на основании «Правил составления, согласования

и экспертизы нормативно-технического документа по контролю качества и безопасности лекарственных средств». На основании результатов анализов 3 серий опытной партии, в соответствии с требованиями ГФ РК, разработан проект АНД, регламентирующий качество лекарственного растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской (Приложение Г, Д).

Спецификация качества трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской включает в себя показатели представленные в таблице 11-12.

Таблица 11 – Спецификация качества травы *Scabiosa ochroleuca* L.

Показатели качества	Нормируемые отклонения	Методы испытаний
1	2	3
Идентификация: А. Макроскопия В. Микроскопия С. терпеноиды Д. α-сантонин	<p>А. Соответствие морфологическим признакам при просмотре невооруженным глазом и под лупой с увеличением (10х) <i>Цельное сырье.</i> Цельные или частично измельченные верхние части стеблей с цветками и листьями. Растение 80 -100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины – обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой – кудрявая и пушистая, цвет стебля – зеленый.</p> <p>В. Клетки верхнего эпидермиса листа крупные, вытянутой формы с толстыми и извилистыми стенками; клетки нижнего эпидермиса листа крупные, округлой формы со слабо-извилистыми стенками; устьица диацидного типа; трихомы редкие простые 1-клеточные; кутикулы есть; тип листа изолатерально-палисадный; столбчатый мезофилл расположен в несколько слоев с обеих сторон листа; губчатый мезофилл – небольшой участок вокруг центрального проводящего пучка; колленхимы пластинчатого типа над центральным проводящим пучком.</p> <p>С. Реакция с раствором ванилина в серной кислоте, наблюдается красно – фиолетовое окрашивание.</p> <p>Д. R_f около 0,60 (петролейный эфир – этилацетат, 2:1)</p>	<p>А. Визуально ГФ РК, т. 1, 2.8.3, с. 226</p> <p>С. Качественная реакция Д. ТСХ</p>
Посторонние примеси: - части сырья, утратившие окраску, присущую данному виду (побуревшие, почерневшие, выцветшие и т.д.); - другие части этого растения не	<p>не более 2,0 %</p> <p>- не более 10 %;</p>	ГФ РК, т. 1, 2.8.2, с. 226

Продолжение таблицы 11

1	2	3
соответствующие установленному описанию сырья; - минеральную примесь (земля, песок, камешки)	- не более 1 %; - не более 1 %	
Потеря в массе при высушивании	не более 7,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.2.32, с. 235
Общая зола	не более 9,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.4.16, с. 129
Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной	не более 2,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.8.1, с. 226
Микробиологическая чистота	общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10^7 бактерий и не более 10^5 грибов в 1.0 г. Не более 10^2 <i>Escherichia coli</i> в 1.0 г сырья.	ГФ РК, т. 1, 5.1.4 и МУ РК «Методы микробиологического контроля лекарственных средств», категория 4А
Количественное определение α -сантонина	не менее 0,1 %	ВЭЖХ ГФ РК, т. 1, с. 79
Радионуклиды	не должно превышать по цезию ^{137}Cs -137, 200 Бк/кг; по стронцию ^{90}Sr -90, 100 Бк/кг	СанПиН РК. 2015г
Тяжелые металлы	кадмия не более 1.0 мг/кг, свинца – не более 5.0 мг/кг, ртути – не более 0.1 мг/кг	ГФ РК т.3, 2.4.27, с. 145
Мышьяк	не более 1,0 мг/кг	ГФ РК т.3, 2.4.2 с.167
Упаковка	сырье упаковывают по 5 кг в мешки по ГОСТ 30090-93	АНД
Маркировка	на этикетке на государственном и русском языках указывают название страны-производителя, предприятия-изготовителя, его товарный знак и адрес, название субстанции массу нетто, условия хранения, дату изготовления и срок годности.	АНД
Транспортирование	в соответствии с ГОСТ 17768-90Е.	ГОСТ 17768-90Е
Хранение	при температуре не выше 18 °С, в сухом, защищенном от света помещении	АНД
Срок хранения	18 месяцев (время наблюдения)	АНД
Фармакологическое действие	Антимикробное	

Таблица 12 – Спецификация качества травы *Scabiosa isetensis* L.

Показатели качества	Нормируемые отклонения	Методы испытаний
1	2	3
<p>Идентификация:</p> <p>А. Макроскопия</p> <p>В. Микроскопия</p> <p>С. терпеноиды</p> <p>Д. α-сантонин</p>	<p>А. Соответствие морфологическим признакам при просмотре невооруженным глазом и под лупой с увеличением (10х) <i>Цельное сырье.</i> Растение 35 - 40 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая - грубая, непонятная и кудрявая и волосатая, в верхней части с более плотным опушением с примесью редких и длинных волос.</p> <p>В. Клетки верхнего эпидермиса листа мелкие, прозенхимного типа, с тонкими стенками. Клетки нижнего эпидермиса листа крупные, изодиаметрические, с утолщенными и извилистыми стенками. Устьица диацитного типа. Есть кутикулы. Дорзо-вентральный тип листа. Столбчатый мезофилл 2-слойный. Губчатый мезофилл 2-3-слойный. Вместилища вытянутые, темно-окрашенные.</p> <p>С. Реакция с раствором ванилина в серной кислоте, наблюдается красно – фиолетовое окрашивание</p> <p>Д. R_f около 0,60 (петролейный эфир – этилацетат, 2:1)</p>	<p>А. Визуально</p> <p>В. ГФ РК, т. 1, 2.8.3, с. 226</p> <p>С. Качественная реакция</p> <p>Д. ТСХ</p>
<p>Посторонние примеси:</p> <p>- части сырья, утратившие окраску, присущую данному виду (побуревшие, почерневшие, выцветшие и т.д.);</p> <p>- другие части этого растения не соответствующие установленному описанию сырья;</p> <p>- минеральную примесь (земля, песок, камешки)</p>	<p>Не более 2,0%:</p> <p>- не более 9%;</p> <p>- не более 1%;</p> <p>- не более 1%</p>	<p>ГФ РК, т. 1, 2.8.2, с. 226</p>
Потеря в массе при высушивании	не более 9,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.2.32, с. 235
Зола общей	не более 10,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.4.16, с. 129
Зола, нерастворимой в кислоте хлороводородной	не более 2,0 %	ГФ РК, т. 1, 2.8.1, с. 226

Продолжение таблицы 12

1	2	3
Микробиологическая чистота	общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10^7 бактерий и не более 10^5 грибов в 1.0 г. Не более 10^2 <i>Escherichia coli</i> в 1.0 г сырья.	ГФ РК, т. 1, 5.1.4 и МУ РК «Методы микробиологического контроля лекарственных средств», категория 4А
Количественное определение содержания α -сантонина	не менее 0,2%	ВЭЖХ ГФ РК, т. 1, с. 79
Тяжелые металлы	кадмия не более 1.0 мг/кг, свинца – не более 5.0 мг/кг, ртути – не более 0.1 мг/кг	ГФ РК т. 3, 2.4.27, с. 145
Мышьяк	не более 1,0 мг/кг	ГФ РК т. 3, 2.4.2 с. 167
Радионуклиды	не должно превышать по стронцию 90 – 100 Бк/кг, по цезию 137 - 200 Бк/кг	СанПиН РК 2015г.
Упаковка	сырье упаковывают по 5 кг в мешки по ГОСТ 30090-93	АНД
Маркировка	на этикетке на государственном и русском языках указывают название страны-производителя, предприятия-изготовителя, его товарный знак и адрес, название субстанции массу нетто, условия хранения, дату изготовления и срок годности.	АНД
Транспортирование	в соответствии с ГОСТ 17768-90.	ГОСТ 17768-90
Хранение	при температуре не выше 18 °С, в сухом, защищенном от света помещении	АНД
Срок хранения	18 месяцев (время наблюдения)	АНД
Фармакологическое действие	Цитотоксическое	

3.7 Исследования по определению срока хранения растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Исследования по определению срока хранения растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской проводили методом долгосрочных испытаний на трех сериях сырья.

Образцы сырья подвергались проверке по показателям качества в соответствии с АНД на сырье, в следующие сроки: 3, 6, 9, 12, 18. Условия хранения: температура = 18 ± 2 °С; влажность = $60 \pm 5\%$; период исследования: 20.10.2016 г. - 20.04.2018 г. (таблица 13-14).

Таблица 13 – Результаты определения сроков хранения растительного сырья скабиозы бледно-желтой

№ Серии	Дата Анализа	Идентификация	Посторонние примеси, %	Потеря в массе при высушивании, %	Зола общая, %	Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной, %	Микробиологическая чистота	Количественное определение
Нормы отклонений по проекту АНД								
200916	20.10.16	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,076
	20.01.17	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,072
	20.04.17	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,065
	20.07.17	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,060
	20.10.17	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,054
	20.04.18	соотв.	1,60	5,4	7,84	0,87	соотв.	0,050
210916	20.10.16	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,069
	20.01.17	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,064
	20.04.17	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,055
	20.07.17	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,052
	20.10.17	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,046
	20.04.18	соотв.	1,58	5,6	7,85	0,89	соотв.	0,042
220916	20.10.16	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,074
	20.01.17	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,068
	20.04.17	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,062
	20.07.17	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,060
	20.10.17	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,055
	20.04.18	соотв.	1,62	5,2	7,83	0,85	соотв.	0,048

Таблица 14 – Результаты определения сроков хранения растительного сырья скабиозы исетской

№ серии	Дата Анализа	Идентификация	Посторонние примеси, %	Потеря в массе при высушивании, %	Зола общая, %	Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной, %	Микробиологическая чистота	Количественное определение
Нормы отклонений по проекту АНД								
230916	20.10.16	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,172
	20.01.17	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,16
	20.04.17	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,16
	20.07.17	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,142
	20.10.17	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,133
	20.04.18	соотв.	1,45	8,0	9,02	0,63	соотв.	0,130
240916	20.10.16	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,176
	20.01.17	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,17
	20.04.17	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,163
	20.07.17	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,154
	20.10.17	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,147
	20.04.18	соотв.	1,45	7,8	8,94	0,65	соотв.	0,143
250916	20.10.16	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,168
	20.01.17	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,155
	20.04.17	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,142
	20.07.17	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,134
	20.10.17	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,130
	20.04.18	соотв.	1,45	8,2	9,10	0,67	соотв.	0,128

Результаты исследования сроков хранения РС скабиозы бледно-желтой и

скабиозы исетской показали, что в течение 18 месяцев (время наблюдения) параметры качества изменились в пределах нормы.

Таким образом, представители рода *Scabiosa*, скабиоза бледно-желтая и скабиоза исетская широко распространены в большей части территории Карагандинской области, в результате нами были установлены основные районы их произрастания.

Общая площадь выявленных зарослей с участием скабиозы бледно-желтой составила 55,7 га при эксплуатационном запасе 173,94 ц. Объем возможного сбора сырья – 104,36 ц.

Совокупная площадь зарослей скабиозы исетской составила 87,83 ц, а объем возможного сбора сырья рассчитан на уровне 52,70 ц.

На основании фармакогностического изучения надземной части скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской разработана инструкция заготовки и сушки РС скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской.

Рекомендовано сушить сырье на открытом воздухе в тени при температуре окружающей среды $T = 23-25^{\circ}\text{C}$, раскладывая на стелажы с марлей слоями 12-15 см, периодически переворачивая (период ворошения составляет не менее 2 раз в сутки)

Сырье упаковывают в бумажные крафт-пакеты по 5 кг, наклеивают этикетку с указанием наименования сырья, места заготовки, времени сбора и массы нетто.

Хранить сырье скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской рекомендовано в соответствии с АНД.

Разработана технологическая схема заготовки сырья скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой для опытно-промышленных партий на производстве.

Определены макроскопические особенности растения *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: растение 80-100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины - обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой - кудрявая и пушистая, цвет стебля - зеленый.

б) *Scabiosa isetensis* L.: растение 35-40 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая, грубая, непонятная, кудрявая и волосатая, в верхней части с более плотным опушением с примесью редких и длинных волос.

Определены микроскопические особенности растения *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Установлены следующие диагностические признаки:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: сильно-извилистостенные клетки эпидермиса, устьица диацитного типа, с нижней стороны листа отмечены немногочисленные бичевидные трихомы.

б) клетки верхнего эпидермиса мелкие, прозенхимного типа, нижнего – изодиаметрические с извилистыми стенками, устьица диацитного типа, трихомы отсутствуют, на поперечном срезе листа отмечены вытянутые вместилища схизогенного типа.

Определены некоторые фармакопейные показатели качества, такие как: посторонние примеси, потеря в массе при высушивании, зола общая, зола, нерастворимая в 10% кислоте хлороводородной, микробиологическая чистота, содержание тяжелых металлов, мышьяка, содержание радионуклидов.

Проведены исследования качественного и количественного содержания α -сантонина.

Скабиоза бледно-желтая и скабиоза исетская являются перспективными возобновляемыми источниками биологически активных веществ.

Определен срок хранения растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской – 18 месяцев (время наблюдения).

Таким образом, идентификация растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской проведена по совокупности основополагающих факторов: внешних и микроскопических характеристик, качественного и количественного содержания биологически активных веществ.

На основании спецификации качества разработан проект АНД на ЛРС «Скабиоза бледно-желтая трава» и «Скабиоза исетская трава» (Приложение Г, Д).

4 ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ *SCABIOSA OCHROLEUCA L.*, *SCABIOSA ISETENSIS L.*

4.1 Исследование по выбору параметров углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca L.* и *Scabiosa isetensis L.*

Докритическую углекислотную экстракцию, с получением на выходе углекислотных экстрактов, проводили в ТОО «Фитоаромат» на лабораторной установке УУПЭ5л, в соответствии со стандартом предприятия СТ 27658-1910 – ТОО-02-2011. Внешний вид установки и технические характеристики представлены в соответствии с рисунком 25 и таблицей 15.



Рисунок 25 – Внешний вид лабораторной установки УУПЭ5л

Таблица 15 – Технические характеристики установки УУПЭ5л

Физическая величина	Единицы измерения	Параметры
Длина	Мм	1000
Высота	Мм	2000
Ширина	Мм	1000
Масса	Кг	216
Мощность	Квт/ч	<1,5
Напряжение электрического тока	В	220
Масса (СО ₂)/цикл	Кг	4
Давление рабочее в системе	Мпа	6.3
Объем углекислоты/цикл	Кг	4
Объем углекислоты в системе	Кг	26

Лабораторная установка УУПЭ5л состоит из экстрактора, испарителя, конденсатора, накопителя, запорной и контролирующей аппаратуры. Все составляющие монтируются на вертикальной монтажной стойке и соединяются

между собой системой трубопроводов. Работает установка при $T = 18-26$ °С, давлении 58-65 атм, максимальная масса загрузки сырья 5 кг.

Воздушно-сухое сырье надземной части растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L., измельчали на минидробилке марки КДУ-84МУ2 до 1-2 мм.

В результате изменения параметров процесса, таких как температура, давление, время экстракции, получены углекислотные экстракты из трав скабиозы исетской, скабиозы бледно-желтой (таблица 16), (Приложение Ц).

Таблица 16 – Параметры процесса углекислотной экстракции трав *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L.

Вид сырья	№ Экстракции	Рабочее давление, Па	Температура экстракции, °С	Время экстракции, ч	Выход экстракта, %
<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	1-я	6,991-7,295 *10⁶	18-21	18	0,46
	2-я	7,701*10 ⁶	22	16	0,38
<i>Scabiosa isetensis</i> L.	1-я	7,295 *10⁶	21	18	0,57
	2-я	7,701*10 ⁶	22	16	0,11

На основании проведенных исследований по выбору параметров получения углекислотного экстракта из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской, максимальный процентный выход на воздушно-сухое сырье мы получили при следующих параметрах: рабочее давление – 6,991-7,295 *10⁶ Па, температура – 18-21 °С, время экстракции - 18 ч, при этом общий выход составил для *Scabiosa isetensis* L. составил – 0,57%, *Scabiosa ochroleuca* L. – 0,85% [147].

Полученные углекислотные экстракты характеризуются мазеподобной густой консистенцией.

Цвет углекислотных экстрактов варьирует для скабиозы бледно-желтой от желтого до оранжевого с коричневым оттенком; для скабиозы исетской от желтого до желтого с зеленым оттенком. Углекислотные экстракты имеют своеобразный приятный запах, характерный для исследуемого вида растения.

4.2 Компонентный состав углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L.

Хромато-масс-спектрометрическое изучение химического состава углекислотных экстрактов

Исследование компонентного состава углекислотных экстрактов с помощью хромато-масс-спектрометрического анализа показало присутствие карбоновых кислот и эфиров, терпеноидов, спиртов.

На хроматограмме испытуемых образцов углекислотных экстрактов трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской на 101.694, 101.489 минуте появляется пик с M/z 246, что соответствует молекулярному иону сесквитерпенового лактона α -сантонина в соответствии с рисунками 26-27.

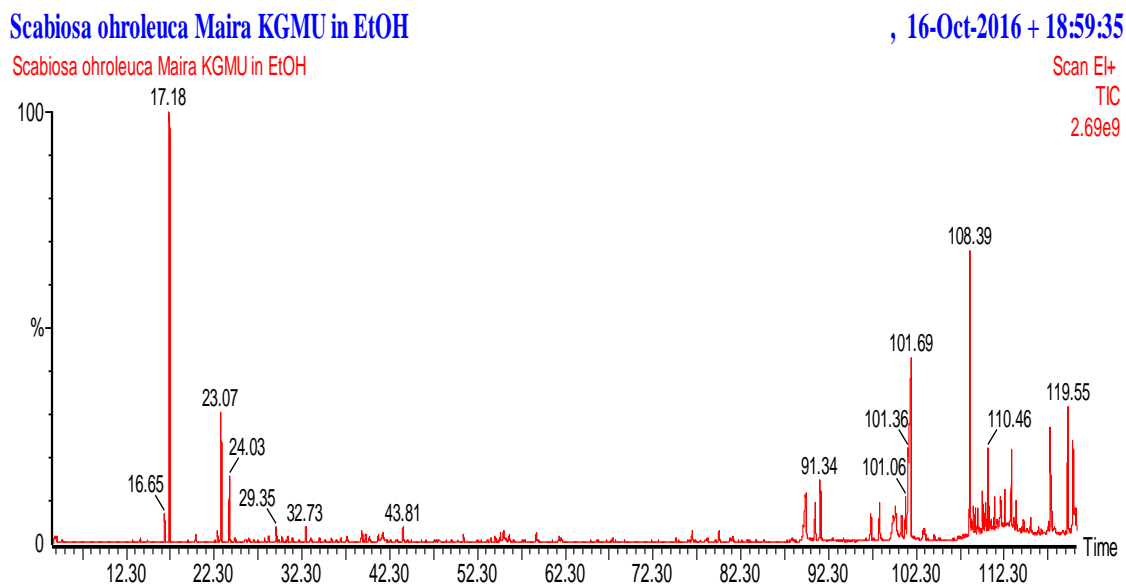


Рисунок 26 – Хроматограмма углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

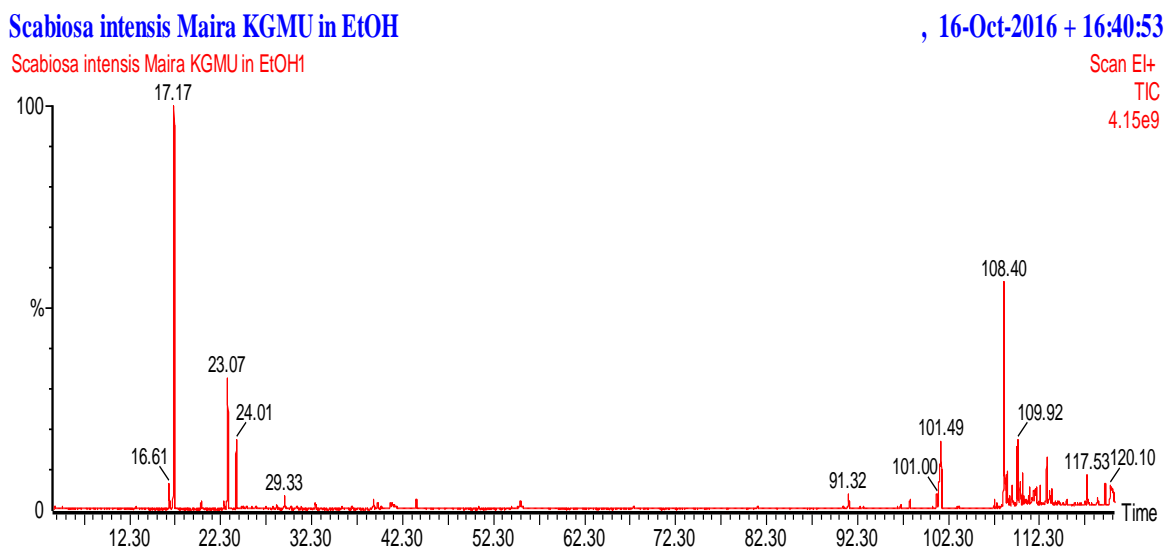
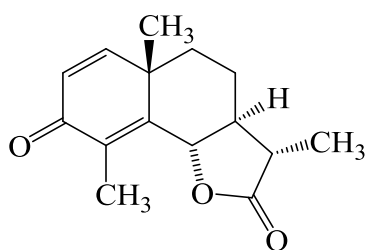


Рисунок 27 – Хроматограмма углекислотного экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L.

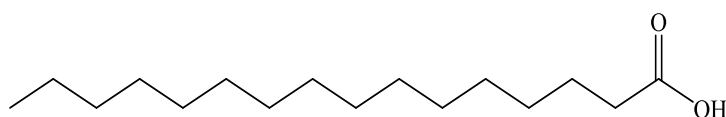
В качестве основных компонентов углекислотных экстрактов установлено:
 - для *Scabiosa ochroleuca* L.: α -сантонин (1) – 21.8%, 1,8-цинеол (2) – 14.9%, *n*-гексадекановая кислота (3) – 5.6%, кампестерол (4) – 5.0, α -туйон (5) – 4.8%, а также неидентифицированный компонент – 7.3%;
 - для *Scabiosa isetensis* L.: 1,8-цинеол - 29.1%, α -сантонин – 10.6%, α -туйон – 9.8%, β -туйон (6) – 5.0%, кампестерол – 1,8%, а также

неидентифицированный компонент – 16.4% [148-150].

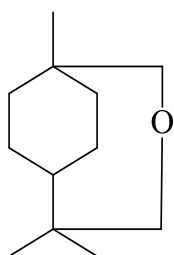
Кроме мажорных компонентов, сесквитерпенового лактона α -сантонина, 1.8-цинеола, монотерпеновых кетонов в виде стереоизомеров α -туйона и β -туйона, *n*-гексадекановой кислоты и кампестерола, в составе изученных углекислотных экстрактов идентифицированы монотерпеновый циклический спирт, *цис*- и *транс*-сабиненгидрат; терпинен-4-ол; также в составе обнаружены антиоксиданты, α -токоферол и сквален; насыщенные, полиненасыщенные и незаменимые кислоты, такие как, стеариновая, линоленовая и их эфиры; эфир ароматических карбоновых кислот, диоктилфталат, (таблица 17 – 18).



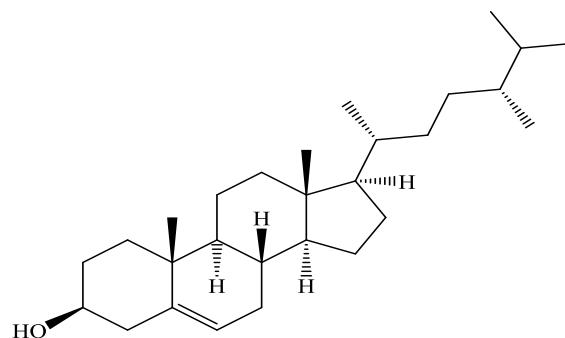
(1)
246,3
 $C_{15}H_{18}O_3$



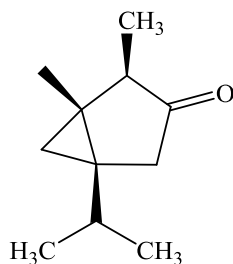
(3)
256,43
 $C_{16}H_{32}O_2$



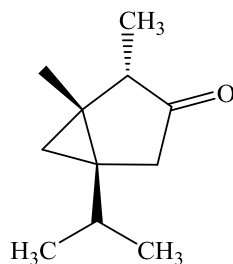
(2)
154,249
 $C_{10}H_{18}O$



(4)
400,69
 $C_{28}H_{48}O$



(5)
152,23
 $C_{10}H_{16}O$



(6)
152,23
 $C_{10}H_{16}O$

Таблица 17 – Компонентный состав углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

RT	Название компонента	Содержание, %
16.653	<i>o</i> -Цимен	1.0
17.178	1.8-Цинеол	14.9
22.673	<i>цис</i> - Сабиненгидрат	0.4
23.066	α-Туйон	4.8
24.027	β- Туйон	2.5
29.347	Терпинен-4-ол	0.6
32.726	4-Терпиненил ацетат	0.7
39.128	Изотуйилацетат	0.7
43.809	α –Терпенилацетат	0.7
89.704	<i>n</i>-Гексадекановая кислота	5.6
97.126	Неидентиф. 1	1.5
98.08	Фитол	1.9
99.933	(<i>Z,Z,Z</i>)-9,12,15- Октадекатриеновая кислота	2.9
100.597	Неидентиф. 2	1.4
101.056	Этиловый эфир линолевой кислоты	1.7
101.694	α-Сантонин	21.8
103.257	Этиловый эфир октадекановой кислоты	0.6
108.389	Неидентиф. 3	7.3
108.826	Неидентиф. 5	0.4
110.462	Диоктилфталат	0.8
113.104	Сквален	1.5
117.55	α -Токоферол	2.8
119.553	Кампестерол	5.0
120.14	Неидентиф. 7	4.5
Итого		86

Примечание - основной состав - полужирный шрифт.

Таблица 18 – Компонентный состав углекислотного экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L.

RT	Название компонента	Содержание, %
1	2	3
16.613	<i>o</i> -Цимен	1.6
17.167	1.8-Цинеол	29.1
20.161	<i>транс</i> -Сабиненгидрат	0.5
22.656	<i>цис</i> - Сабиненгидрат	0.5
23.067	α-Туйон	9.8
24.006	β- Туйон	5.0
26.222	Камфора	0.4
28.474	Изотуйол	0.4
29.326	Терпинен-4-ол	0.9
32.704	4-Терпенилацетат	0.5
39.117	Изотуйилацетат	0.9

Продолжение таблицы 18

1	2	3
39.532	3-Метил-6-(1-метилэтил)-2-циклогексена-1-ола ацетат	0.5
43.78	α -Терпенилацетат	0.8
91.316	Этиловый эфир гексадекановой кислоты	1.2
97.065	Неидентиф. 1	0.4
98.059	Фитол	0.8
99.597	Неидентиф. 2	0.8
101.005	Этиловый эфир линолевой кислоты	1.1
101.489	α-Сантонин	10.6
107.33	Этиловый эфир октадекановой кислоты	1.1
108.405	Неидентиф. 3	16.4
109.847	Неидентиф. 5	1.2
109.916	Неидентиф. 6	1.5
110.463	Диоктилфталат	0.9
113.093	Сквален	1.6
117.533	α -Токоферол	1.6
119.521	Кампестрол	1.8
120.101	Неидентиф. 7	2.0
Итого		93.9
Примечание - основной состав - полужирный шрифт.		

Диоктилфталат предположительно диффундировал в углекислотный экстракт из полимерного контейнера, в котором CO₂-экстракт хранился [151]. Количественные показатели диоктилфталата в экстрактах не превышают предел допустимых концентраций, которые значатся в пределах 0,008 – 3,0 мг/л ГН 2.1.5.1315-03.

ИК-спектроскопическое изучение экстрактов из растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской

Исследования углекислотных экстрактов методом ИК-спектроскопии в дисках с калия бромидом, в области от 4000 см⁻¹ до 500 см⁻¹.

На ИК-спектрограммах, в соответствии с рисунками 28-29, обнаружены следующие полосы поглощения:

а) углекислотный экстракт из травы скабиозы бледно-желтой. ИК-спектр (KBr, ν , см⁻¹): 2920.24, 62.81 (C-H); 1751.37, 88.64 (C=O), 1465.91, 94.33 (экзоциклическая метиленовая группа, сопряженная с карбонилем γ -лактона);

б) углекислотный экстракт из травы скабиозы исетской. ИК-спектр (KBr, ν , см⁻¹): 2927.95, 45.54 (C-H); 1735.94, 73.84 (C=O γ -лактона), 1465.91, 82.32 (экзоциклическая метиленовая группа, сопряженная с карбонилем γ -лактона), 1172.72, 87.63 (C-H).

Наличие полос поглощения 2920.24, 62.81 см⁻¹; 2927.95, 45.54; характерны для валентных колебаний простых C-H связей. Наличие полосы поглощения в области 1751.37, 88.64 см⁻¹; 1735.94, 73.84 см⁻¹ свидетельствует о присутствии карбонила лактонного кольца (C=O γ -лактона), и в области 1465.91, 94.33 см⁻¹; 1465.91, 82.32 см⁻¹ экзоциклической метиленовой группы, сопряженной с карбонилем γ -лактона.

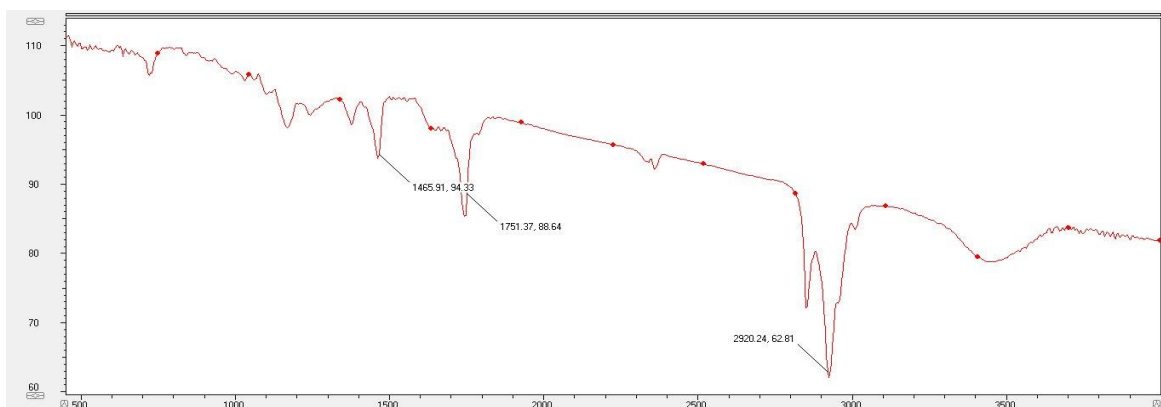


Рисунок 28 – ИК-спектр углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

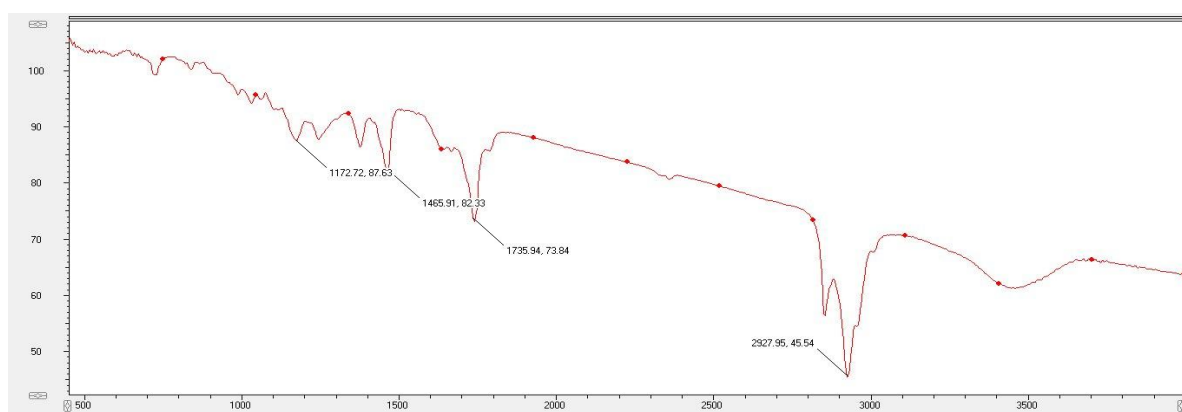


Рисунок 29 – ИК-спектр углекислотного экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L.

Ультрафиолетовый спектр 0,01% раствора образца углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. в спирте этиловом 96%, в области 190 до 400 нм, в соответствии с рисунком 30, имеет максимум поглощения при длине волны 202.0 ± 2 нм, характерный для экзоциклической метиленовой группы, сопряженной с карбонилем γ -лактона [152].

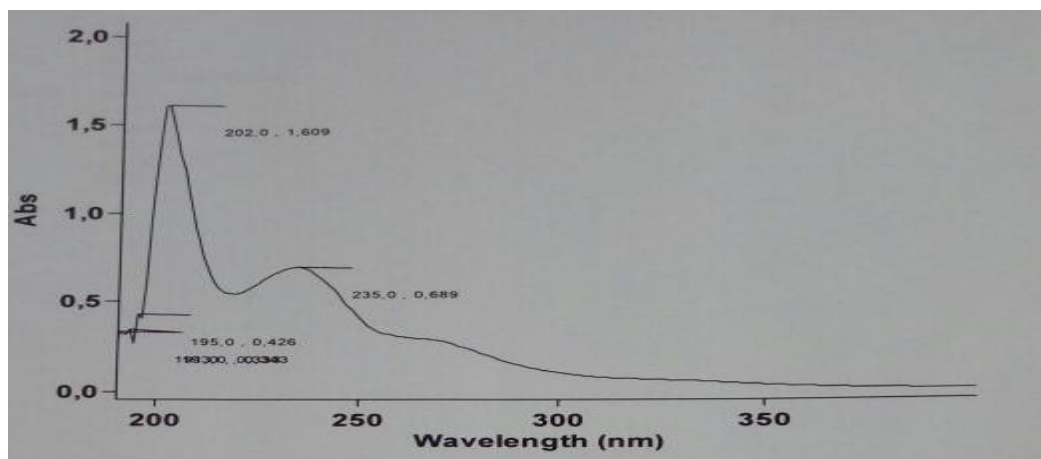


Рисунок 30 – УФ-спектр углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

Исследования спиртового и водного экстрактов из отхода углекислотной экстракции травы Scabiosa ochroleuca L. методом ИК-спектроскопии

На ИК-спектрограммах обнаружены следующие полосы поглощения:

а) спиртовой экстракт из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой. ИК-спектр (KBr, ν , см^{-1}): 3372 (сильно уширенная полоса ассоциированных валентных колебаний O-H); 2971; 2926 (валентные колебания C-H); 1688 (валентные колебания C=O); 1626 (валентные колебания ароматических связей C=C); 1447 (валентные колебания C-H метильной группы); 1379; 1271 (деформационные колебания C-O); 1046; 926; 880; 607;

б) водный экстракт из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой. ИК-спектр (KBr, ν , см^{-1}): 3351.14 (сильно уширенная полоса ассоциированных валентных колебаний O-H); 2928 (валентные колебания C-H); 1604 (валентные колебания ароматических связей C=C); 1404; 1264; 1075.64; 889.24; 817.84; 776.87; 613.00.

В изучаемых спектрах интенсивные полосы поглощения около 926 см^{-1} ; 889 см^{-1} ; 880 см^{-1} ; 817 см^{-1} ; 776 см^{-1} ; 613 см^{-1} ; 607 см^{-1} соответствуют валентным колебаниям углеродного скелета (C-H), и неплоскими деформационными ($-\text{CH}$) колебаниями ($=\text{CH}-$) и ($-\text{CH}_2-$) групп. Интенсивные полосы при 1447.19 см^{-1} и 1404.66 см^{-1} , объясняется присутствием экзоциклической метиленовой группой, сопряженной с карбонилем γ -лактона, а также близко расположенные полосы поглощения 1688.61 см^{-1} ; 1626.19 см^{-1} ; 1604.43 см^{-1} обусловленные сложноэфирной (C=O), и карбоксильной группами. Сложноэфирные группировки, помимо полосы (C=O), дают полосы 1264.54 см^{-1} ; 1271.30 см^{-1} ; 1046.08 см^{-1} (C-O), положение которых сильно зависит от соседних в молекуле групп и связей, и могут варьировать от 1040 до 1280 см^{-1} . Высокоинтенсивная полоса валентных колебаний в области 3372.35 см^{-1} , 3351.14 см^{-1} соответствует группе ($-\text{OH}$).

ВЭЖХ-хроматограммы спиртового и водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой представлены в соответствии с рисунками 31-33, на основании которых установлено наличие α -сantonина сравнением времени удерживания пика α -сantonина на хроматограммах экстрактов и стандартного образца.

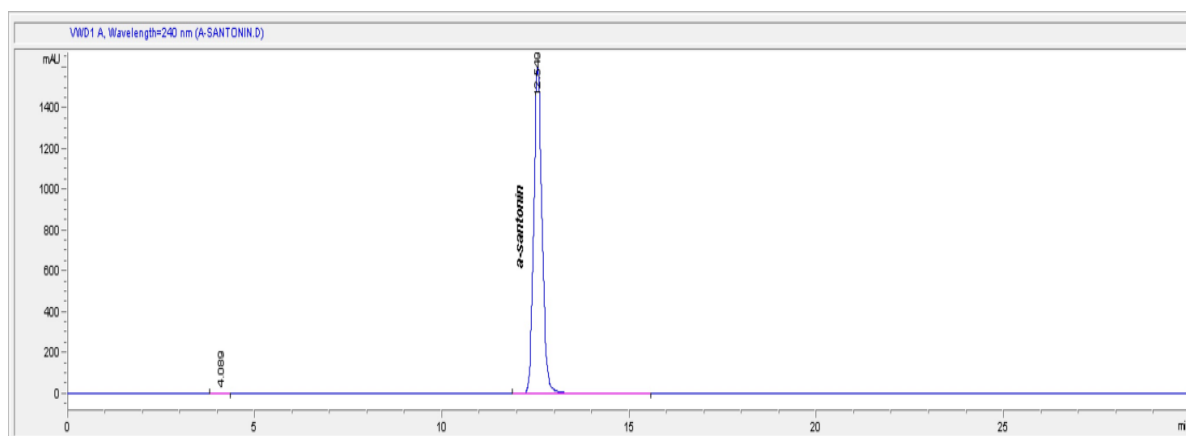


Рисунок 31 – Хроматограмма рабочего стандартного образца α -сantonина

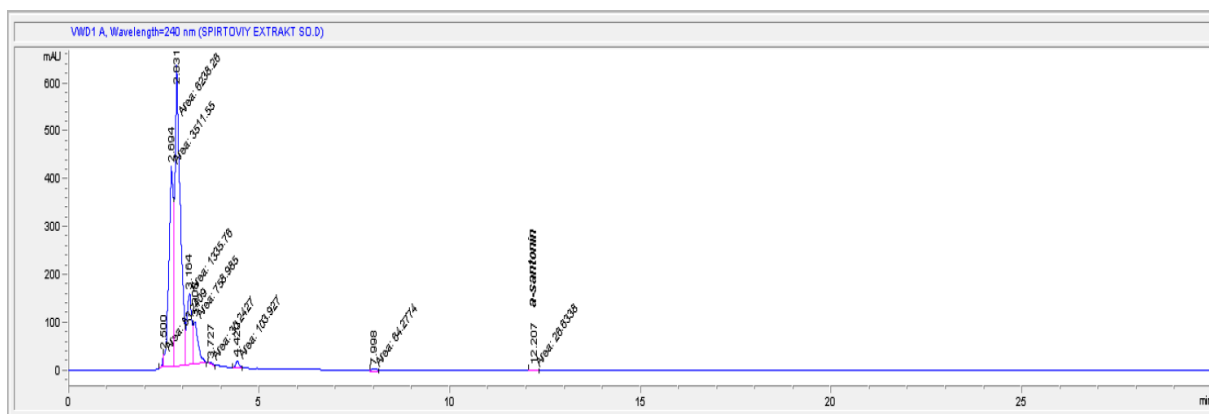


Рисунок 32 – Хроматограмма спиртового экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-жёлтой

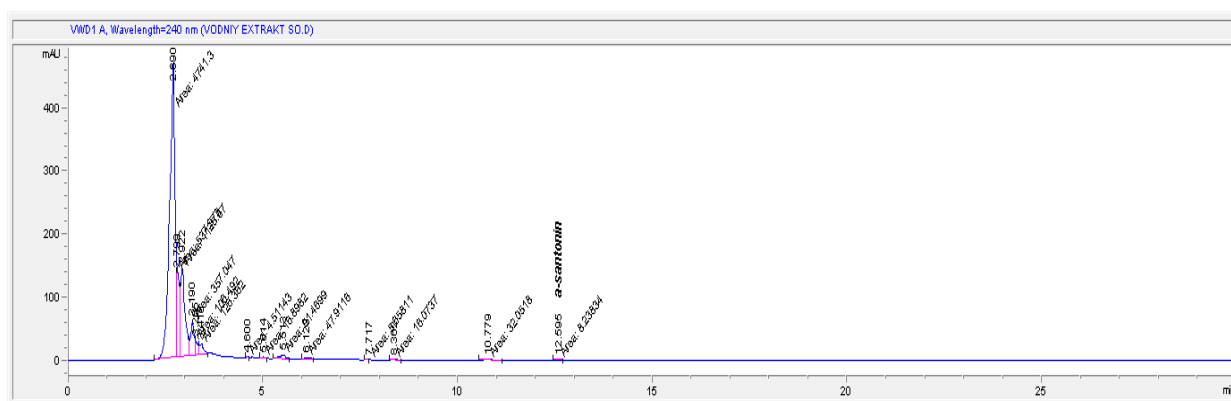


Рисунок 33 – Хроматограмма водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-жёлтой

Сесквитерпеновый лактон эвдесманового типа, α -сантонин, ранее выделяли из полыни цитварной *Artemisia cina* Berg, ex Poljak. [153-154] и применяли в качестве противогельминтного средства. Полынь цитварная включена в Красную книгу СССР с 1978 г. и в настоящее время имеет статус: «Вид с сокращающейся численностью» [155].

4.3 Исследование на присутствие тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь) в углекислотных экстрактах трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. методом инверсионной вольтамперометрии

При разработке спецификации качества на лекарственные средства из растительного сырья обязательным пунктом является исследование на содержание тяжелых металлов. Влияние токсичных металлов на качество ЛРС освещено в трудах исследователей [156-157]. Загрязнение окружающей среды способствует кумуляции тяжелых металлов в растительной клетке, что неизбежно будет оказывать негативное влияние на биологические системы, потребляющие их.

Для выявления количественного перехода тяжелых металлов из растительного сырья в углекислотный экстракт (таблица 19), мы привели

числовые показатели содержания тяжелых металлов в надземной части растений скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской, а также допустимые нормы для ЛРС согласно нормативной документации.

По результатам, приведенным в таблице 19, содержание тяжелых металлов в надземной части растений скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской не превышает допустимые нормы. В работе С.Е. Келимхановой и др. (2011), Карагандинская область отмечается как регион, где ЛРС содержат кадмий, свинец, медь, цинк и др. в количестве, превышающем ПДК [157, с. 220], что не подтверждается в отношении растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской.

Для гигиенической оценки растительного сырья были использованы показатели, принятые для БАД к пище на растительной основе СанПиН 2.3.2.1078-01 (2002), также в ЛРС и субстанциях для фармацевтического применения ГФ РК т. 3, в лекарственных растительных препаратах, ОФС.1.5.3.0009.15.

Содержание тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь) определяли на комплексе вольтамперометрическом СТА-1 (анализатор снабжен магнитными мешалками и лампой ультрафиолетового облучения).

Общая схема процесса анализа углекислотного экстракта на присутствие тяжелых металлов методом ИВ представлена в соответствии с рисунком 34.

Таблица 19 – Содержания тяжелых металлов в надземной части скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской

№п/п	Нормируемый показатель	Металлы			
		Pb	Cd	Hg	As
1	Допустимые нормы для ЛРС, мг/кг, не более	5,0	1,0	0,1	1,0
2	РС скабиоза бледно-желтая, мг/кг	1,05	0,02	0,0031	0,36
3	РС скабиоза исетская, мг/кг	1,33	<0,01	0,0031	0,58



Рисунок 34 – Схема определения содержания фоновых концентраций тяжелых металлов в углекислотных экстрактах из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской методом инверсионной вольтамперометрии

Проводили регистрацию вольтамперограмм: 1 – Фонового раствора; 2. Добавляли 0,5 мл пробы; 3. Пробы с добавкой аттестованной смеси в объеме 0,04 мл (цинк, медь) и 0,02 мл (кадмий, свинец).

Вольтамперограммы представлены в соответствии с рисунками 35-38.

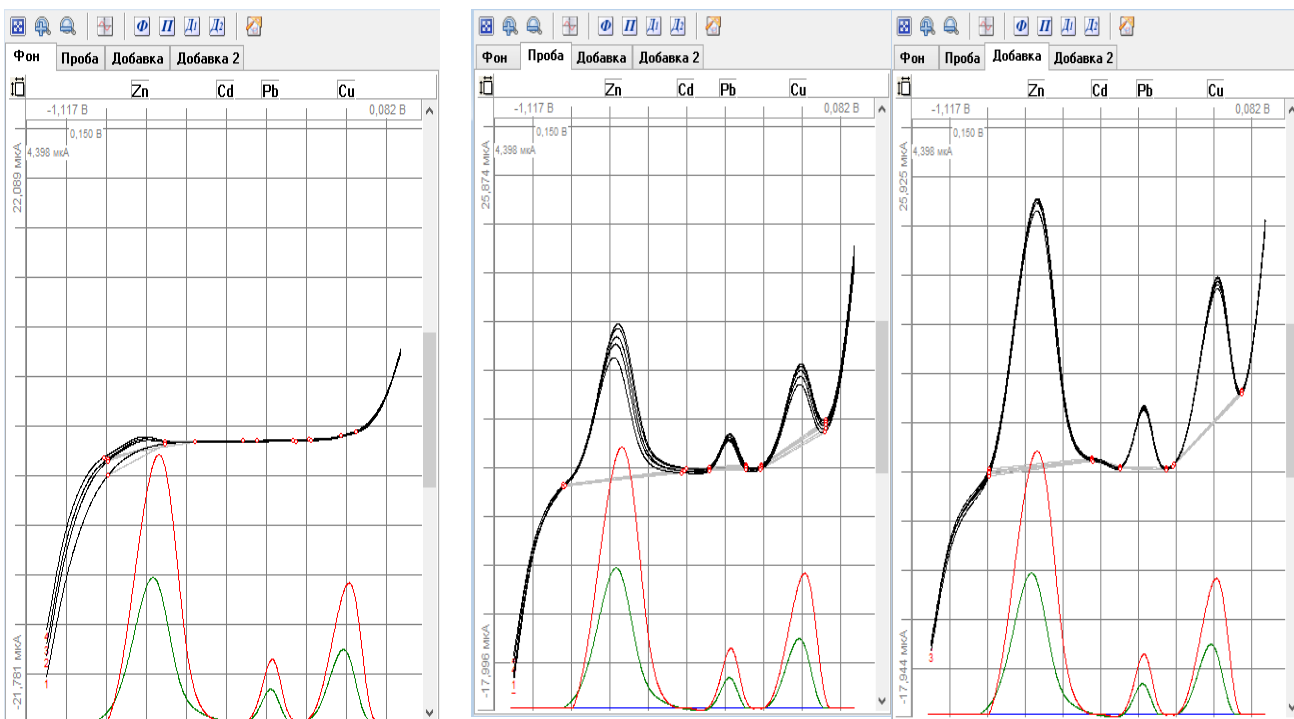


Рисунок 35 – Вольтамперограмма CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. Ячейка №1

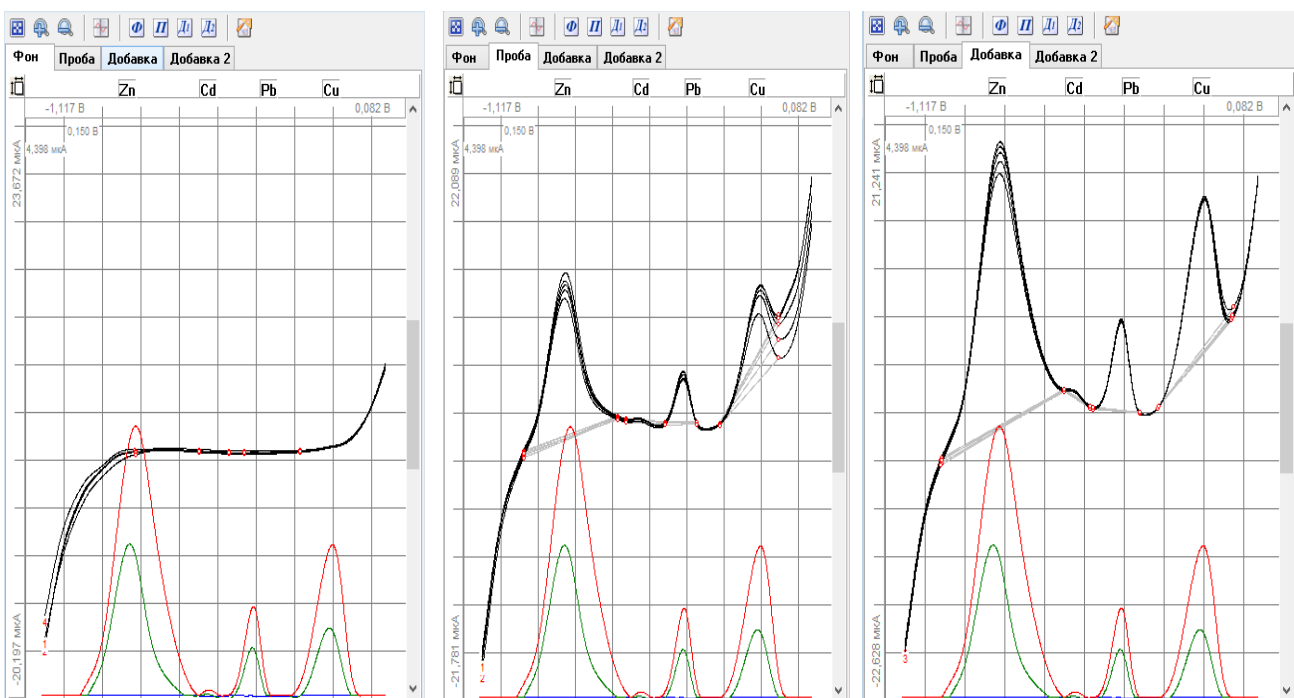


Рисунок 36 – Вольтамперограмма CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. Ячейка №2

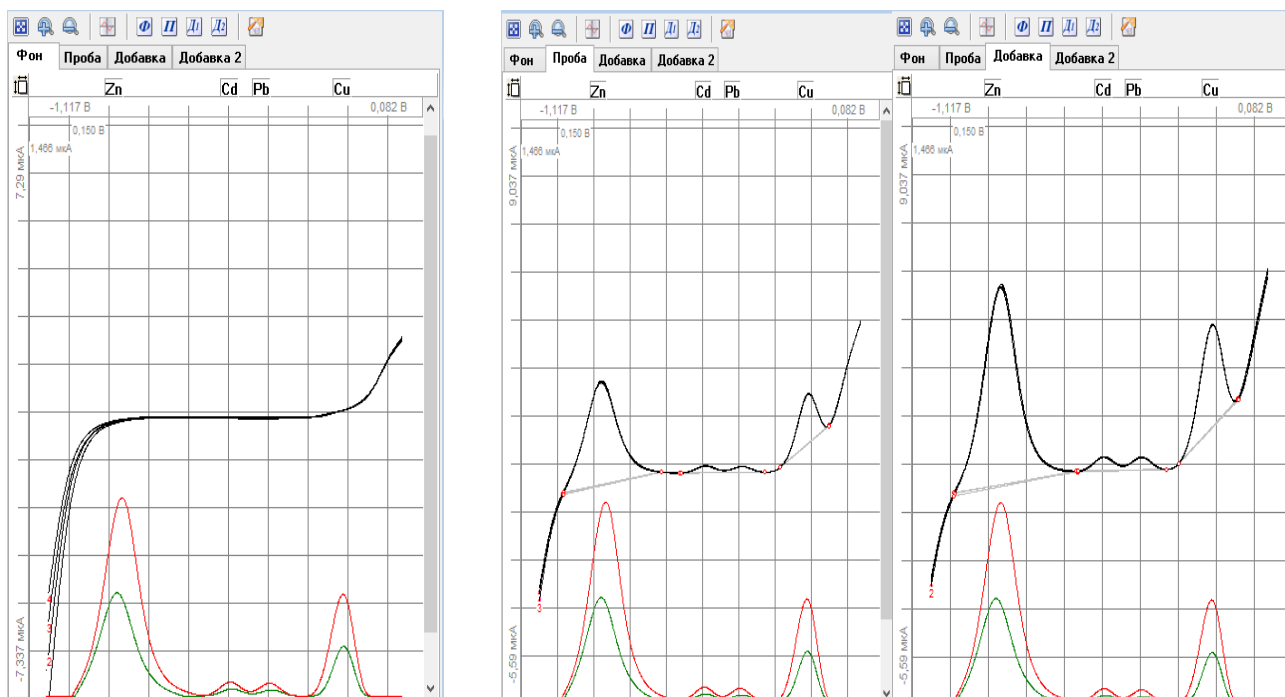


Рисунок 37 – Вольтамперограмма CO₂-экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L. Ячейка №1

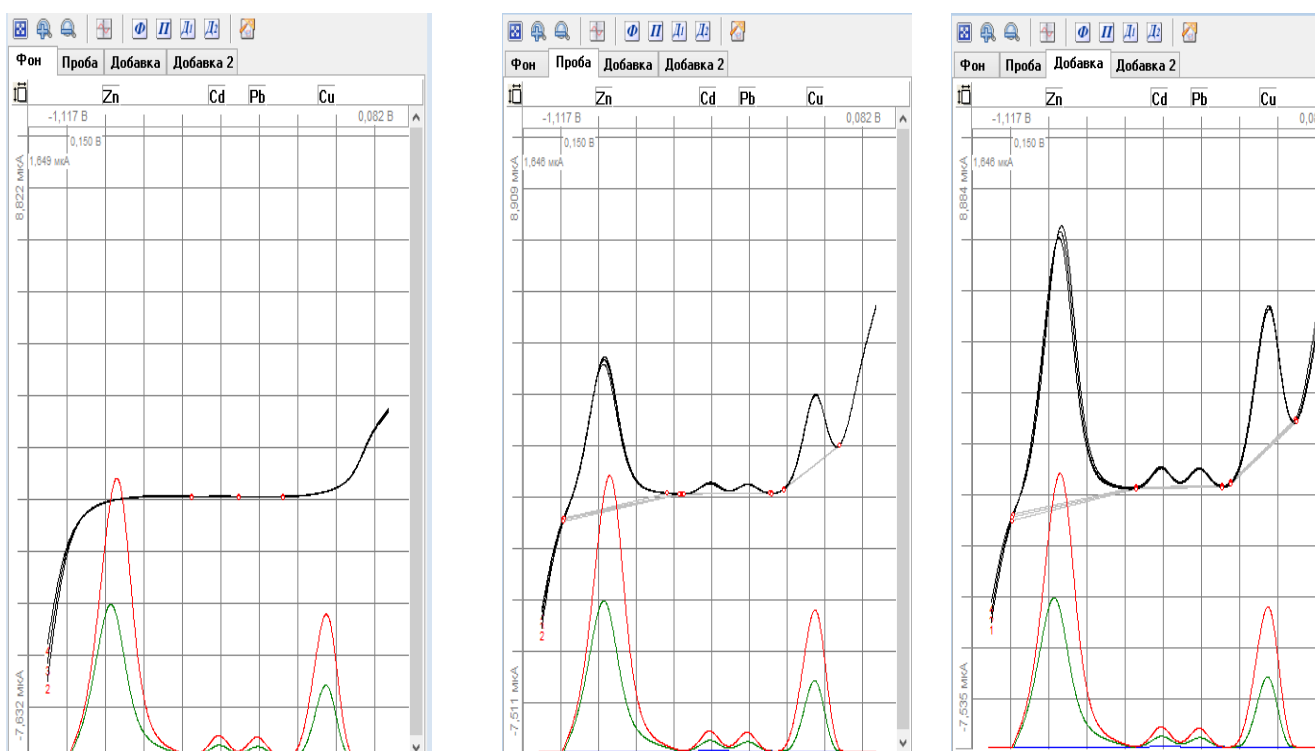


Рисунок 38 – Вольтамперограмма CO₂-экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L. Ячейка №2

Параметры условий измерения и количественные данные концентрации элементов в углекислотных экстрактах трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской и представлены в таблице 20-21 [158]. Объем аликвоты (минерализат, добавленный в каждый стаканчик) - 0,5 мл; объем минерализата

на растворение озоленной пробы - 0,1 мл; масса навески CO₂-экстракта - 0,1 г; объем пробы - 0,1 мл.

Расчет массовых концентраций производился программой автоматически по параметрам ячеек №1 и №2 [159], по формуле:

$$X = \frac{I_1 * C_{AC} * V_{AC} * V_{пр}}{(I_2 - I_1) * V_{ал} * m}, \quad (4)$$

где, X_i – содержание элемента в анализируемой пробе, мг/кг;

C_{AC} – концентрация аттестованной смеси элемента, из которой делается добавка к анализируемой пробе, мг/дм³;

V_{AC} – объем добавки АС элемента, см³;

I_1 – величина максимального анодного (катодного) тока элемента, в анализируемой пробе;

I_2 – величина максимального анодного (катодного) тока элемента, в анализируемой пробе с добавкой АС, А или мА;

m – масса анализируемой пробы, г;

$V_{пр}$ – объем растворенной пробы, см³;

$V_{ал}$ – объем аликвоты раствора пробы, см³.

Таблица 20 – Параметры измерения концентраций элементов Zn, Cd, Pb, Cu углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

Элемент	№ ячейки	Zn	Cd	Pb	Cu
Величина тока в пробе, мкА	1	12,668	0,009	2,768	6,299
	2	13,991	0,129	4,420	6,244
Величина тока с добавкой АС, мкА	1	23,562	0,062	5,424	12,207
	2	24,868	0,528	8,237	13,916
Концентрация АС, мг/мл	1, 2	1	0,05	0,01	1
Объем АС, мл	1, 2	0,04	0,02	0,02	0,04
Концентрация, мг/кг	1	0,093030	0,000331	0,004167	0,085280
	2	0,102900	0,000644	0,004631	0,065110
Контроль сходимости, мг/кг	$\bar{X} \pm r,$ $P=0,95$	0,097970 ± 0,024490	0,000488 ± 0,0000122	0,004399 ± 0,001100	0,062780 ± 0,015700
	$ X_1 - X_2 $	0,00987	0,000313	0,000464	0,02017

Таблица 21 – Параметры измерения концентраций элементов Zn, Cd, Pb, Cu углекислотного экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L.

Элемент	№ ячейки	Zn	Cd	Pb	Cu
1	2	3	4	5	6
Величина тока в пробе, мкА	1	3,161	0,214	0,183	1,519
	2	4,812	0,338	0,292	2,247

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4	5	6
Величина тока с добавкой АС, мкА	1	6,076	0,421	0,387	3,118
	2	8,825	0,642	0,597	4,512
Концентрация АС, мг/мл	1, 2	1	0,05	0,01	1
Объем АС, мл	1, 2	0,04	0,02	0,02	0,04
Концентрация, мг/кг	1	0,086720	0,000207	0,000358	0,075960
	2	0,095920	0,000218	0,000383	0,079350
Контроль сходимости, мг/кг	$\bar{X} \pm r,$	0,092990 \pm	0,000221 \pm	0,000375 \pm	0,082130 \pm
	$P=0,95$	0,027900	0,000066	0,000112	0,024640
$ X_1 - X_2 $		0,0092	0,000011	0,000025	0,00339

Проводим проверку приемлемости полученных результатов параллельных измерений. Расхождение между полученными результатами двух параллельных анализируемых проб не должно превышать предела повторяемости r , который вычисляется по формулам:

$$r = 0,25 * \bar{X}, \quad (5)$$

Абсолютное значение предела повторяемости рассчитывали для среднеарифметического значения результатов двух параллельных измерений

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (6)$$

где, \bar{X} – среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации элемента

Результаты считают приемлимыми при выполнении условия:

$$|X_1 - X_2| \leq r \quad (7)$$

Доверительная вероятность $P=0,95$.

Разность значений концентраций двух ячеек ($|X_1 - X_2|$) удовлетворяет условию: $|X_1 - X_2| \leq r$, при котором результаты считают приемлемыми.

Расхождение между полученными результатами двух параллельно анализируемых ячеек не превышает предела повторяемости (r).

Полученные результаты определения тяжелых металлов в отходе углекислотной экстракции из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской в виде вольтамперограммы представлены в соответствии с рисунками 39 - для скабиозы бледно-желтой и рисунком 40 - для скабиозы исетской.

Параметры условий измерения и количественные данные концентрации элементов в экстрактах из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой представлены в таблицах 22-23.

Объем аликвоты (минерализат, добавленный в каждый стаканчик) - 0,1 мл;

объем минерализата на растворение озоленной пробы - 0,1 мл; масса навески CO_2 -экстракта - 0,1 г; объем пробы - 0,1 мл.

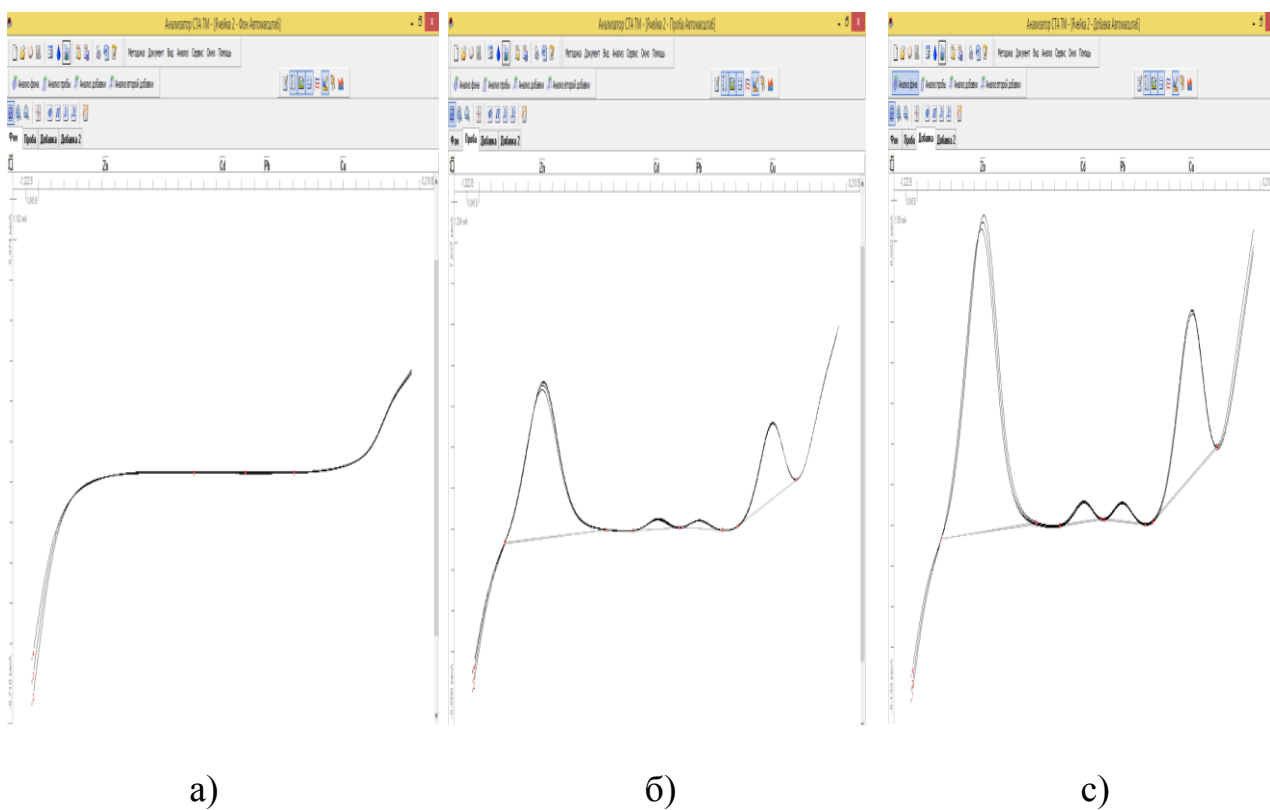


Рисунок 39 – Вольтамперограмма а) фона, б) пробы, в) с добавкой

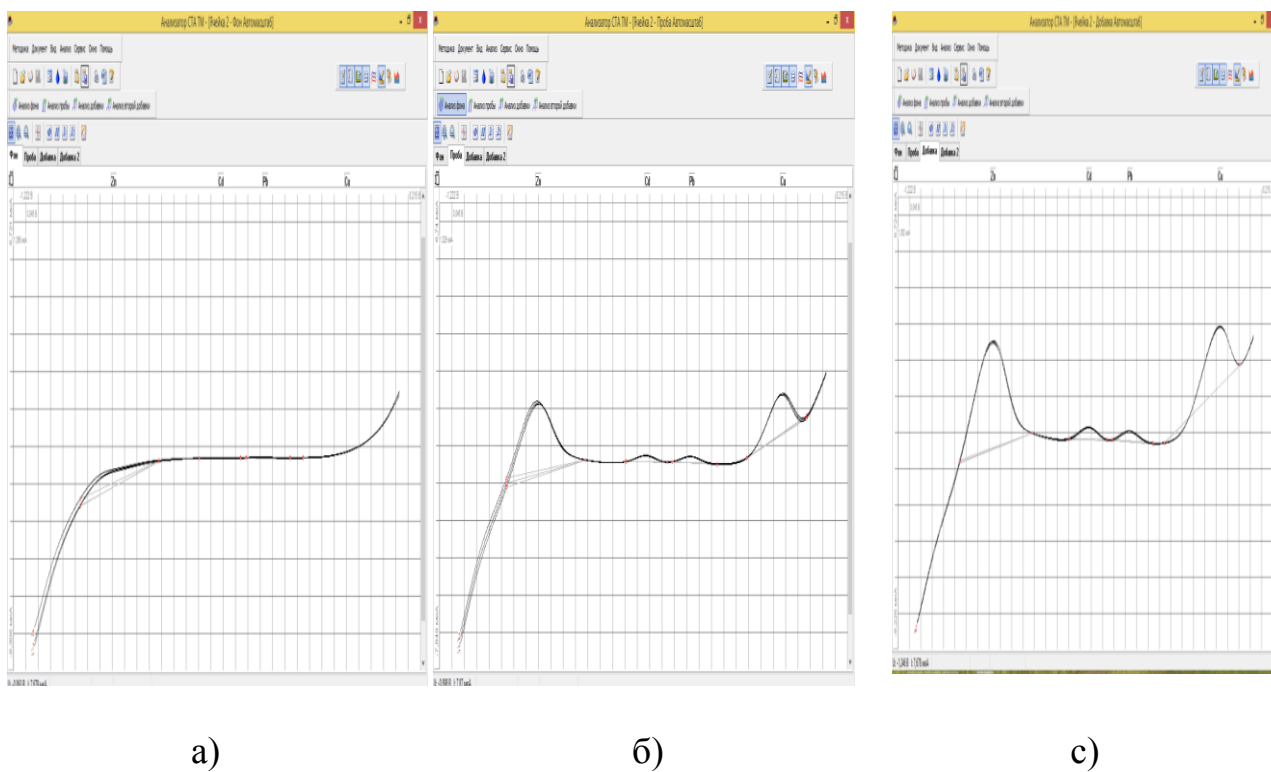


Рисунок 40 – Вольтамперограмма а) фона, б) пробы, в) с добавкой

Таблица 22 – Параметры измерения концентраций элементов Zn, Cd, Pb, Cu в спиртовом экстракте из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой

Элемент	№ ячейки	Zn	Cd	Pb	Cu
Величина тока в пробе, мкА	1	2,661	0,178	0,128	1,503
	2	4,512	0,286	0,234	2,242
Величина тока с добавкой АС, мкА	1	5,374	0,344	0,306	3,110
	2	8,411	0,541	0,507	4,485
Концентрация АС, мг/мл	1, 2	1	0,05	0,1	1
Объем АС, мл	1, 2	0,02	0,02	0,02	0,02
Концентрация, мг/кг	1	0,535000	0,001959	0,002618	1,701000
	2	0,631100	0,002003	0,003124	1,817000
Контроль сходимости, мг/кг	$\bar{X} \pm r$, P = 0,95	0,613600 ± 0,184100	0,001999 ± 0,000600	0,002992 ± 0,000898	1,868000 ± 0,560300
$ X_1 - X_2 $		0,0961	0,000044	0,000506	0,116

Таблица 23 – Параметры измерения концентраций элементов Zn, Cd, Pb, Cu в водном экстракте из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой

Элемент	№ ячейки	Zn	Cd	Pb	Cu
Величина тока в пробе, мкА	1	1,848	0,215	0,287	1,156
	2	2,519	0,223	0,218	1,426
Величина тока с добавкой АС, мкА	1	2,938	0,401	0,469	1,811
	2	4,022	0,448	0,379	2,265
Концентрация АС, мг/мл	1, 2	1	0,05	0,1	1
Объем АС, мл	1, 2	0,02	0,02	0,02	0,02
Концентрация, мг/кг	1	0,244000	0,009815	0,022590	0,321100
	2	0,256800	0,019710	0,02325 0	0,339700
Контроль сходимости, мг/кг	$\bar{X} \pm r$, P = 0,95	0,247100 ± 0,074140	0,019190 ± 0,005756	0,023210 ± 0,006963	0,330400 ± 0,099130
$ X_1 - X_2 $		0,0128	0,009895	0,00066	0,0186

Переход тяжелых металлов в цепи РС – CO₂-экстракт – спиртовый и

водный экстракты из отхода углекислотной экстракции исследуемых трав представлен в таблице 24. Результаты определения тяжелых металлов в цепи: РС - углекислотный экстракт – отход углекислотной экстракции показали, что в изучаемом растительном сырье содержание тяжелых металлов не превышает нормы показателя качества (по ГФ РК т. 3).

Таблица 24 – Сравнительный анализ содержания тяжелых металлов в цепи РС – CO₂-экстракт – спиртовой и водный экстракт из отхода углекислотной экстракции трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исеткой

Тяжелые металлы	РС, мг/кг		Углекислотный экстракт мг/кг		Отход углекислотной экстракции <i>Scabiosa ochroleuca</i> L., мг/кг		Нормы показателя качества мг/кг РС и субстанция для фармацевтического применения
	<i>Scabiosa isetensis</i> L.	<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	<i>Scabiosa isetensis</i> L.	<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	спиртовой экстракт	водный экстракт	
Кадмий (Cd)	<0,01	0,02	0,00022 1	0,00048 8	0,001999	0,02	1,0
Свинец (Pb)	1,33	1,053	0,00037 5	0,00439 9	0,002992	0,023210	5,0
Ртуть (Hg)	0,00305 3	0,003053	-	-	-	-	0,1
Мышьяк (As)	0,58	0,36	-	-	-	-	1,0

В цепи РС - CO₂-экстракт травы скабиозы исетской, переход кадмия составил ≤ 2,2%; свинца - 0,03%.

В скабиозе бледно-желтой, в цепи РС - CO₂-экстракт - CO₂-шрот, переход кадмия из растительного сырья в углекислотный экстракт составил 3%, в спиртовой экстракт CO₂-шрота - 12%; в водный экстракт CO₂-шрота – 100%; переход свинца в углекислотный экстракт составил 0,42%, в отход углекислотной экстракции: в спиртовой экстракт CO₂-шрота - 0,28%; водный экстракт CO₂-шрота – 2,2%.

4.4 Исследование термического разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Нами был проведен анализ термического разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. методом термогравиметрии (TGA) и дифференциального сканирующего калориметра (DSC) в области температур 30-500 °С, с целью изучения определения стабильности углекислотных экстрактов. Метод позволяет изучить температурный интервал от начальных деструктивных изменений до полного выгорания образца и включает фазовые, температурные переходы, удельную теплоемкость, изменение энтальпии [160].

В соответствии с рисунком 43 представлены сравнительные TG, DTG и HF

(тепловой поток) разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. с постоянной скоростью нагрева 10 град/мин в потоке воздуха (β).

Процесс разложения углекислотного экстракта скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской начинается при температуре 52 °С. В интервале температур 52-100 °С образцы углекислотного экстракта теряют 15% массы (кривая TG). Анализ DTG кривых показал, что десорбция связанной воды происходит до температуры 128 °С.

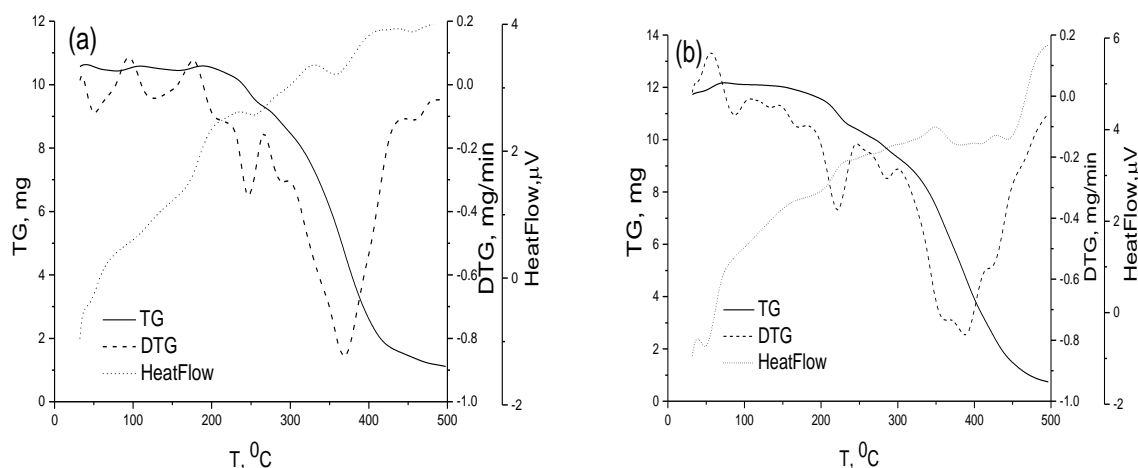


Рисунок 43 - TG, DTG/HF кривые для углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. (a), *Scabiosa isetensis* L. (b) в атмосфере воздуха

Этот факт можно объяснить затрудненностью разрыва водородных связей между молекулами воды и полярными функциональными группами CO₂ – экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Затем процесс разложения ускоряется и при температуре 128–247 °С потеря массы составляет 7%.

На кривой HF при температуре 245–369 °С наблюдается слабо выраженный эндотермический процесс, который свидетельствует о выгорании образца.

Из рисунка 43 видно, что термодеструкция углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. происходит в четыре этапа. На первом и втором этапах происходит удаление летучих веществ и воды, на третьем терморазложение образца, на четвертом этапе удаление продуктов термодеструкции (таблица 25).

Процесс термического разложения очень сложный и включает в себя деструкцию углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., что стало причиной проведения кинетического анализа с использованием изоконверсионных методов Фридмана и Флинна-Озавы-Уолла [161, 162], графические виды кинетической модели одного из изученных образцов углекислотного экстракта *Scabiosa ochroleuca* L. представлен в соответствии с рисунком 44.

Для объективной оценки сложных процессов, протекающих параллельно

термической деструкции, использовали метод непараметрической кинетики. Применение вышеперечисленных моделей позволило графически установить термодинамические параметры термического разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. при различных скоростях нагрева и степенях конверсии.

Таблица 25 – Термоаналитические данные углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

$\beta, ^\circ\text{C}/\text{мин}$	Процесс	$T_i (^{\circ}\text{C})$	$T_f (^{\circ}\text{C})$	$T_{\max \text{ DTG}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\max \text{ HF}} (^{\circ}\text{C})$
<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.					
10	I	35	94	52	43
	II	96	175	128	171
	III	226	266	245	256
	IV	302	432	367	359
<i>Scabiosa isetensis</i> L.					
10	I	59	103	86	48
	II	191	244	222	206
	III	246	302	284	288
	IV	301	415	389	401

Полученные величины энергии активации от степени конверсии, соответствует четвертому процессу разложения и показаны в таблице 26.

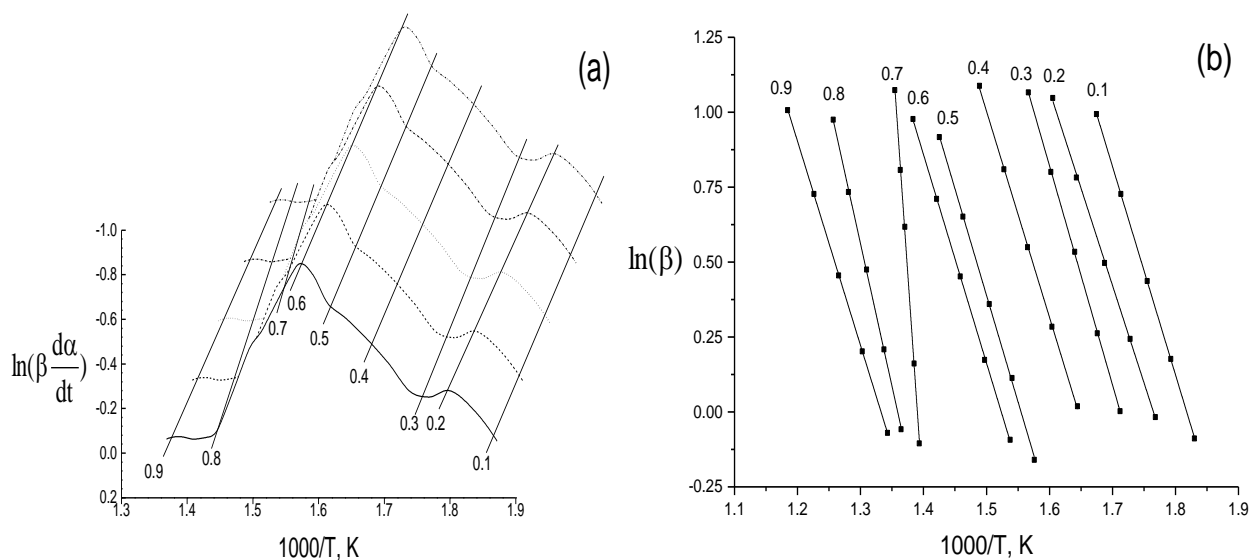


Рисунок 44 - Графические результаты анализа, определенные методами Фридмана (а), Флинна-Озавы-Уолла (б) для CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. при скоростях нагревания 5-25 град/мин

Следует отметить значительное изменение энергии активации от степени деструкции образцов. Данный факт указывает, что процесс разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

происходит более чем по одному процессу. В данном случае необходимо использовать другой кинетический метод исследования, более совершенный в попытке определить и отделить эти процессы, как неизвестные числа.

Таблица 26 – Кинетические параметры по Фридману и Озава-Флинн-Уоллу при различных скоростях нагревания

(a) CO ₂ -экстракт из травы <i>Scabiosa ochroleuca</i> L.								
α	Фридман метод				Озава-Флинн-Уолл метод			
	E_a , кДж/ моль	$\delta_{(E)}$	$\ln A \times 10^3$, мин ⁻¹	r	E_a , кДж/ моль	$\delta_{(E)}$	$\ln A \times 10^3$, мин ⁻¹	r
0.1	42.89	0.02	14.62	0.99	40.25	0.02	15.11	0.99
0.2	53.31	0.26	12.20	0.96	50.75	0.22	12.47	0.96
0.3	57.25	0.02	10.08	0.98	54.85	0.02	10.45	0.98
0.4	68.65	0.27	8.97	0.97	65.57	0.24	9.24	0.97
0.5	70.83	0.02	6.94	0.99	68.17	0.02	7.41	0.99
0.6	81.47	0.15	5.00	0.98	79.30	0.14	5.54	0.98
0.7	91.23	0.02	3.92	0.99	88.69	0.02	4.47	0.99
0.8	101.24	0.16	2.31	0.98	98.58	0.11	2.84	0.98
0.9	104.87	0.02	1.30	0.99	101.99	0.02	1.88	0.99
(b) CO ₂ -экстракт из травы <i>Scabiosa isetensis</i> L.								
α	Фридман метод				Озава-Флинн-Уолл метод			
	E_a , кДж/ моль	$\delta_{(E)}$	$\ln A \times 10^3$, мин ⁻¹	r	E_a , кДж/ моль	$\delta_{(E)}$	$\ln A \times 10^3$, мин ⁻¹	r
0.1	41.32	0.02	15.83	0.99	40.97	0.02	16.71	0.99
0.2	51.22	0.16	13.21	0.96	50.47	0.22	14.29	0.96
0.3	55.72	0.02	11.27	0.98	54.17	0.02	12.17	0.98
0.4	66.71	0.17	10.43	0.97	65.27	0.14	11.12	0.97
0.5	69.36	0.02	8.23	0.99	67.69	0.12	9.10	0.99
0.6	80.31	0.90	6.19	0.98	81.12	0.01	7.09	0.98
0.7	89.87	0.02	5.11	0.99	88.34	0.02	6.11	0.99
0.8	99.23	0.10	3.22	0.98	99.31	0.10	4.23	0.98
0.9	103.06	0.02	2.56	0.99	102.71	0.07	3.41	0.99

Для кинетического анализа процесса термической деструкции исследуемых образцов также использовали метод непараметрической кинетики. Метод непараметрической кинетики [163] представляет собой особый подход для обработки кинетических данных.

Метод представляет новую точку зрения на кинетический анализ, который основан на округлении результатов кинетики стадийного процесса. Экспериментальные значения скорости реакций расположены в матрице, которая выражается как произведение двух векторов, содержащих информацию по $k(T)$ и $g(a)$. По факту, эта математическая модель является следствием уравнения:

$$r = g(a) * k(T) \quad (8)$$

Метод НПК использует алгоритм сингулярного разложения для разложения матрицы M на два вектора. Матрица M анализируется следующим уравнением:

$$M = U * (diag * S) * V^T \quad (9)$$

Наиболее важной особенностью данного метода является то, что он способен разложить подматрицу в отношении температуры (V) и функции преобразования (U), без необходимости каких-либо предположений относительно их функциональности. Данные были получены в ходе анализа вектора U (первая колонка U) в отношении кинетической модели предложенной Шестаком и Бергреном.

Соответственно, вектор V (первая колонка V) – температурная зависимость T в уравнении Аррениуса. Значение объясняемой вариации λ , выражает вклад каждого из одновременных шагов для всего процесса термического разложения, таким образом, $\sum \lambda_i = 100\%$.

Результаты метода НПК систематизированы (таблица 27), зависимости скорости реакции $\left(\frac{d\alpha}{dT}\right)$ от температуры (T) и степени превращения (α) были интерполированы как поверхность в 3D пространстве и представлены в соответствии с рисунком 45.

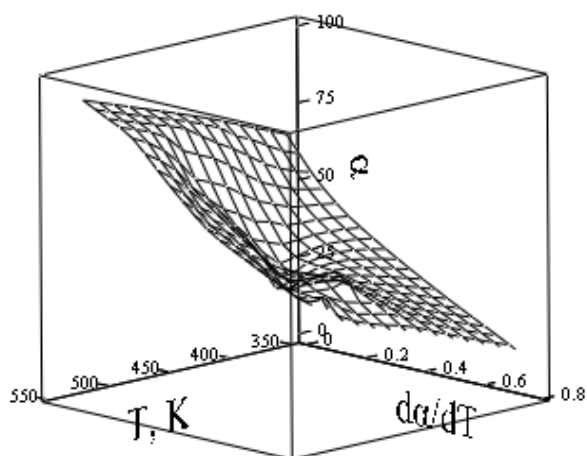


Рисунок 45 – Поверхность углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. в трехмерном пространстве: зависимость скорости реакции $\left(\frac{d\alpha}{dT}\right)$ от температуры (T) и степени превращения (α) в атмосфере воздуха

Таблица 27 – Кинетические параметры термического разложения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., рассчитанные методом НПК

Образец	λ , %	E_a , кДж/моль	A , с ⁻¹	n	M	Шестако-Бергрена $g(\alpha) = \alpha^m (1 - \alpha)^n$	$\sum \lambda \cdot E_a$, кДж/моль
1	2	3	4	5	6	7	8

Продолжение таблицы 27

1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	1	57.1	30.41	$1.23 \cdot 10^7$	1	–	$(1-\alpha)$	107.51±1.8
	2	27.0	51.87	$1.03 \cdot 10^{14}$	–	1/3	$\alpha^{1/3}$	
	3	11.3	77.93	$1.37 \cdot 10^{22}$	2	1	$\alpha (1-\alpha)^2$	
	4	4.6	99.52	$1.71 \cdot 10^{28}$	4/5	1/3	$(1-\alpha)^{4/5} \alpha^{1/3}$	
<i>Scabiosa isetensis</i> L.	1	59.7	34.64	$2.04 \cdot 10^{11}$	0.1	–	$(1-\alpha)^{0.1}$	108.04±2.2
	2	22.5	68.05	$1.40 \cdot 10^{18}$	–	0.1	$\alpha^{0.1}$	
	3	13.3	87.54	$0.70 \cdot 10^{21}$	2	1	$\alpha (1-\alpha)^2$	
	4	4.5	101.43	$1.95 \cdot 10^{23}$	1/3	2/4	$\alpha^{1/3} (1-\alpha)^{2/4}$	

На основании проведенных исследований по изучению стабильности углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой к воздействию повышенных температур, можно сделать вывод, что температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов соответствует 52–369 °С [164].

Результаты испытаний определяет возможность хранения углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой в нормальных условиях и дальнейшей разработки на их основе лекарственных форм.

5 РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ *SCABIOSA OCHROLEUCA* L. И *SCABIOSA ISETENSIS* L.

Одной из основных баз по Республике Казахстан, где получают углекислотные экстракты в докритическом режиме, является ТОО «Фитоаромат». Установка УУПЭ-5п, представленная в соответствии с рисунком 46, предназначена для получения докритических углекислотных экстрактов из растительного сырья в промышленных масштабах.



Рисунок 46 – Внешний вид промышленной установки УУПЭ 5п

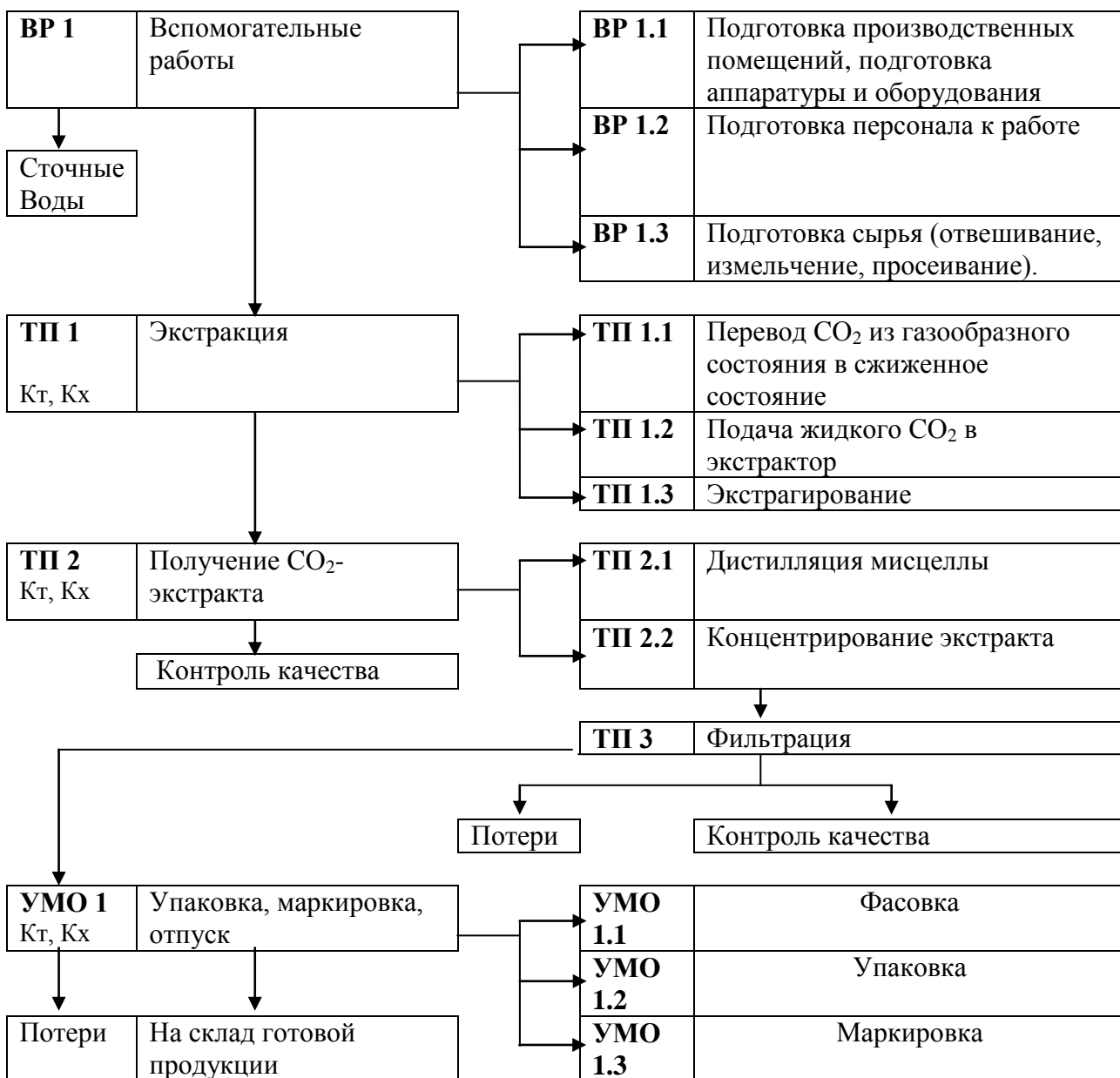
Технические характеристики установки представлены в соответствии с таблицей 28. Режим работы – периодический. Цикл экстрагирования сырья жидкой углекислотой – замкнутый самотек.

Таблица 28 – Техническая характеристика установки УУПЭ 5п

Физическая величина	Единицы измерения	Параметры
Длина	Мм	1800
Высота	Мм	5060
Ширина	Мм	2400
Масса	Кг	216
Мощность	Квт	<5,0 квт/ч
Напряжение электрического тока	В	220
Масса (CO ₂)/цикл	Кг	4
Давление рабочее в системе	Мпа/(кгс/см ²)	6.3/63
Температура рабочая в экстракторе	°С	16-27
Время экстрагирования сырья	Ч	Согласно ТИ на экстракт
Количество самостоятельных замкнутых систем экстрагирования	Шт.	2
Количество экстракторов в модуле	Шт.	2
Общая емкость экстракторов	Л	96
Объем накопителей углекислоты в системе	Л	320
Объем углекислоты/цикл	Кг	4
Объем углекислоты в системе	Кг	26

Технологический процесс производства углекислотных экстрактов разработан согласно СТ РК 1617-2006. «Производство лекарственных средств. Надлежащая производственная практика. Основные положения».

Технологическая и аппаратурная схемы производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L. представлены на рисунках 47 и 48.



Кх – контроль химический;
Кт – контроль технологический.

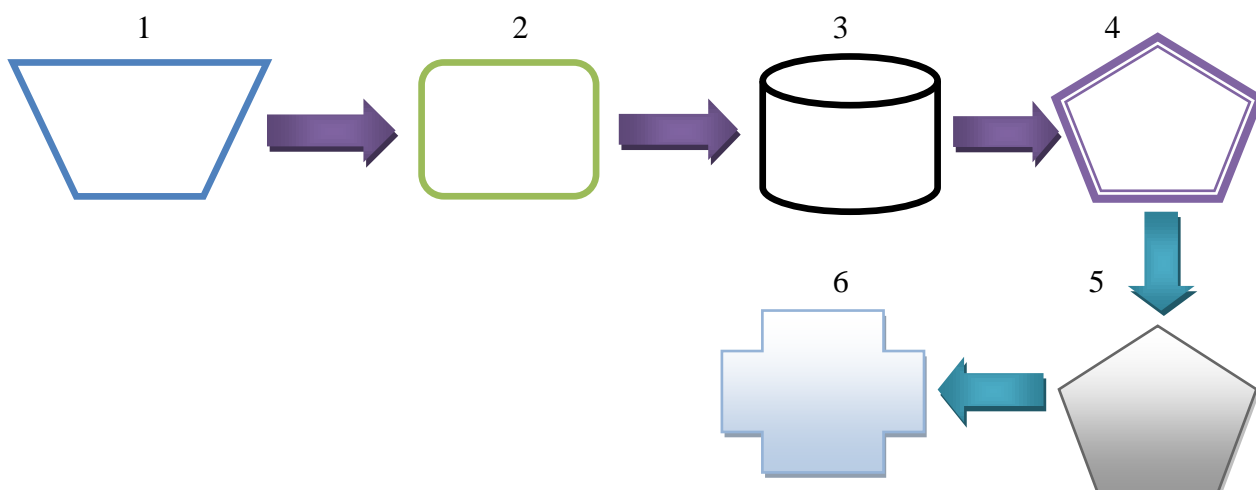
Рисунок 47 – Технологическая схема производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L.

BP 1 Вспомогательные работы.

BP 1.1 Подготовка производственных помещений. Подготовка

аппаратуры и оборудования: Для предупреждения микробной обсемененности продукции ведение технологического процесса проводится в условиях максимально ограничивающих возможность загрязнения продукции микрофлорой.

ВР 1.2 Подготовка персонала к работе: Подготовка персонала к работе осуществляется в соответствии с ГОСТ Р 52249-2004 и МУ 42–1–11–93 «Подготовка персонала к работе» В гардеробе персонал снимает верхнюю одежду надевает технологическую одежду и обувь и переходит к месту работы.



1 – весы; 2 – мельница; 3 – вибросита; 4 – экстрактор; 5 – накопитель; 6 – фильтрация; 7 - упаковка

Рисунок 48 – Аппаратурная блок-схема производства углекислотного экстракта из трав *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L.

Подготовка технологической одежды: Технологическую одежду меняют по мере загрязнения, но не реже чем один раз в неделю. Перед стиркой технологическую одежду осматривают с целью установления необходимости ремонта и степени износа. Подготовка технологической одежды проводят в соответствии с ГОСТ Р 52249-2004 и МУ 42-1-12-93. Стирку одежды осуществляют в изолированном помещении. Перевозят ее в закрытых крышками емкостях. Стирают одежду в автоматической стиральной машине, после стирки одежду прополаскивают сначала в теплой, затем в холодной воде. Высушенную одежду проглаживают горячим утюгом.

ВР 1.3 Подготовка сырья (отвешивание, измельчение, просеивание).

Подготовка сырья: При необходимости растительное сырье просеивают на вибросите или размалывают на мельнице. При просеве (размоле) используют герметичные системы, с вакуумной загрузкой исходного сырья и выгрузкой в приемную тару. В процессе транспорта исходного и просеянного (размолотого) сырья используются силиконовые манжеты, которые обеспечивают беспылевое ведение процессов. Подготовленное сырье загружается в экстрактор.

ТП 1. Экстракция.

ТП 1.1 Перевод CO₂ из газообразного состояния в сжиженное состояние.

После загрузки сырья подается давление, а затем сжиженный CO_2 .

ТП 1.2 Подача жидкого CO_2 в экстрактор.

ТП 1.3 Экстрагирование. Подача CO_2 в экстрактор с сырьем продолжительность 1 цикла экстракции от 1 до 3 часа.

ТП 2. Получение CO_2 -экстракта

ТП 2.1 Дистилляция мисцеллы. В процессе экстракции в испарителе, при температуре 20-24 °С, идёт постоянная дисциляция - переход CO_2 из сжиженного в газообразное состояние.

ТП 2.2 Концентрирование экстракта . В испарителе остается чистый экстракт без экстрагента. По окончании цикла экстракции давление в испарителе сбрасывается до 0, а концентрированный экстракт сливается в приёмную посуду для фильтрации и упаковки.

ТП 3 Фильтрация.

УМО 1 Упаковка и маркировка, отпуск.

УМО 1.1 Фасовка. Экстракт переносят в полимерную плотную банку вместимостью 0.6, 0.9 кг.

УМО 1.2 Упаковка. В плотной полимерной банке, круглого сечения в соответствии с СТ РК ГОСТ Р 51958-2010, и наклеиваемой этикеткой выполненной типографическим способом в соответствии с СР РК 226-2000. Воздушное пространство не менее 3% от всей емкости. Групповая и транспортная упаковка в соответствии с ГОСТ 17768-90.

УМО 1.3 Маркировка. На этикетке банки на государственном и на русском языке указывают страну-производитель, товарный знак, торговое название, лекарственная форма, масса содержимого упаковки, условия хранения, «Продукция прошла радиационный контроль», номер серии, дату выпуска и срок годности. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.

Транспортировка. В соответствии с ГОСТ 17768-90.

Хранение. В воздухонепроницаемых контейнерах, в защищенном от света месте, при температуре не выше 18 °С. Срок годности 18 месяцев (время наблюдения).

Таким образом, на основании технологического процесса производства углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской, полученного в докритических условиях разработан проект опытно-промышленного регламента на производство CO_2 -экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях (Приложение И) и на производство CO_2 -экстракта скабиозы бледно исеткой (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях (Приложение К).

6 ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРОКА ХРАНЕНИЯ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ *SCABIOSA OCHROLEUCA L.* И *SCABIOSA ISETENSIS L.*

6.1 Разработка спецификации качества на субстанцию углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой

Разработку спецификации качества на субстанцию углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой проводили на трех опытно-промышленных сериях образцов экстрактов (таблица 29). При выборе параметров показателей качества руководствовались ГФ РК т. 1 «Общие статьи на лекарственные формы и субстанции», «Густые экстракты».

В спецификацию качества включены следующие показатели:

Описание. Экстракт концентрированный густой консистенции, от желтого до оранжевого цвета с коричневым оттенком цвета, с характерным специфическим ароматным запахом.

Растворимость. Частично растворим в спирте этиловом 95 % Р (1:10), смешивается с подсолнечным маслом во всех соотношениях.

Идентификация:

А. Раствор ванилина в кислоте серной. 0.1 г ванилина Р растворяют в 10 мл кислоты серной Р. Раствор используют свежеприготовленным.

Испытуемый раствор. 50 мг субстанции растворяли в 10 мл этанола Р. При прибавлении раствора ванилина в серной кислоте к испытуемому раствору, смесь окрашивается в фиолетовый цвет (терпеноиды). Следовательно, полученный экстракт показал положительную реакцию на наличие терпеноидов.

В. Наличие сесквитерпенового лактона α -сантонина в углекислотном экстракте из травы скабиозы бледно-желтой устанавливали методом тонкослойной хроматографии (ГФ РК т. 1, 2.2.27).

Раствор сравнения. 10 мг α -сантонина (РСО) растворяют в 10 мл этанола Р.

На линию старта хроматографических пластинок «*Silufol*» или «*Сорбфил*» размером 5x15 см наносили в виде полосок по 10 мкг испытуемого раствора и раствора сравнения. Пластины помещали в камеру с системой растворителей *петролейный эфир Р – этилацетат Р* (2:1). Когда фронт растворителей прошел около 15 см от линии старта, пластины вынимали из камеры и сушили на воздухе, погружали на 10 секунд в насыщенный раствор *калия перманганата Р*, промывали *водой очищенной Р*, сушили на воздухе и просматривали при дневном свете. На хроматограмме испытуемого раствора углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой обнаружено темно-коричневое пятно на уровне пятна раствора сравнения α -сантонина (R_f около 0,60).

Микробиологическая чистота. Субстанция должна соответствовать требованиям ГФ РК, т. 1, 5.1.4, категория 4А.

Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10^2 бактерий, грибов и *Escherichia coli* в 1.0 г сырья не обнаружено (Приложение Ш).

Сухой остаток. Сухой остаток для углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой составил 95,0%. Высокий процент сухого остатка связан с отсутствием остаточных количеств растворителя и воды, в виду того что экстрагентом являлся диоксид углерода, а вода, присутствующая во всех частях растений, удалена в процессе получения экстракта, на стадии фильтрации.

Кислотное число. Кислотное число CO₂-экстракта из травы скабиозы бледно-желтой составляет 28,05 мг КОН/г, что свидетельствует о наличие органических кислот,

Тяжёлые металлы. Субстанция должна соответствовать требованиям ГФ РК, т. 3, 2.4.27. В CO₂-экстракте из травы скабиозы бледно-желтой установлено наличие кадмия - 0,000488 мг/кг, свинца – 0,004399 мг/кг, цинка – 0,097970 мг/кг, меди – 0,062780 мг/кг. Содержание тяжелых металлов кадмия, свинца, цинка и меди не превышает нормы ПДК.

Количественное определение. Определение количественного содержания α-сантонина в субстанции проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГФ РК I, т. 1, 2.2.29).

Приготовление раствора рабочего стандартного образца α-сантонина: 0,011 г (точная навеска) рабочего стандартного образца α-сантонина помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и растворяли в смеси ацетонитрил : вода (2:3). Доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали.

Испытуемый раствор. 0,033 г (точная навеска) CO₂-экстракта из травы скабиозы бледно-желтой помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и растворяли в 10 мл смеси ацетонитрил : вода (2:3) при нагревании на водяной бане. Охлаждали, доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

По 20 мкл полученного фильтрата и раствора рабочего стандартного образца α-сантонина попеременно хроматографируют на жидкостном хроматографе с УФ-детектором, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов в следующих условиях:

- аналитическая колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C₁₈, 4,6 x 150 мм, с размером частиц 5 мкм;
- состав подвижной фазы: ацетонитрил – вода в соотношении 2:3;
- детектирование при длине волны 240 нм;
- температура колонки - комнатная;
- скорость подвижной фазы 0,500 мл/мин;
- объем вводимой пробы 20 мкл.

Обсчет данных производили с использованием программного обеспечения ChemStation.

Содержание α-сантонина в образцах определяли методом сравнения с внешним стандартом.

Полученные хроматограммы представлены на рисунках 49, 50.

Количественное содержание α-сантонина в исследуемых образцах в

процентах определяли методом сравнения с внешним стандартом по формуле:

$$X = \frac{S \cdot m_o \cdot 25 \cdot 100 \cdot P}{S_o \cdot m \cdot 25 \cdot 100}, \quad (10)$$

где, S – площадь пика α -сантинина на хроматограмме исследуемого CO_2 -экстракта;

S_o – площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца α -сантинина;

m – навеска экстракта, г;

m_o – навеска стандартного образца α -сантинина, г;

P – процентное содержание α -сантинина в стандартном образце α -сантинина;

25; 25 – разведения, мл.

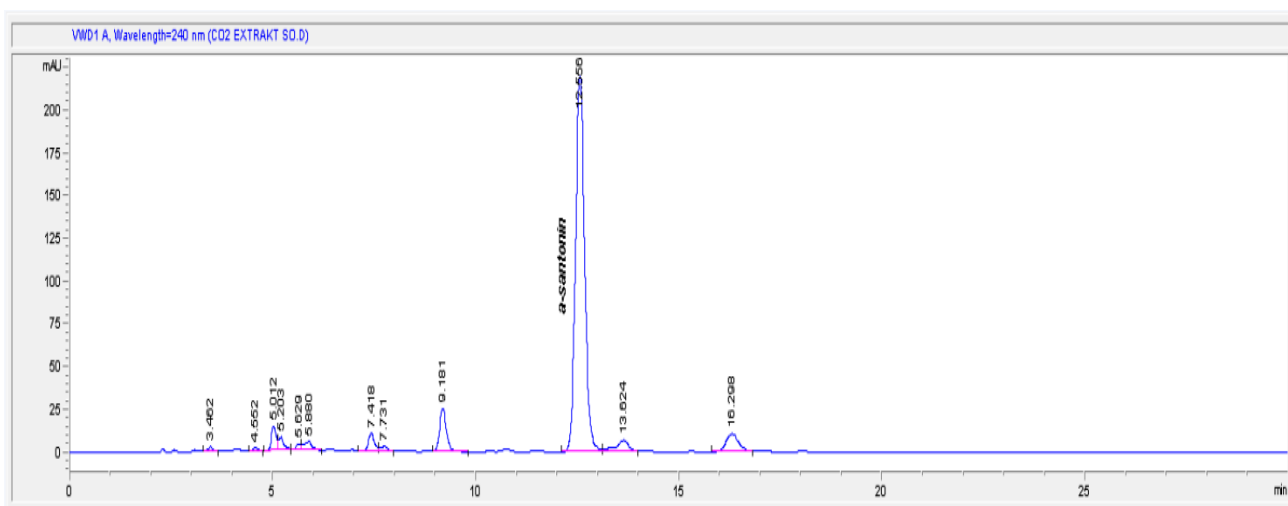


Рисунок 49 – Хроматограмма субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-жёлтой

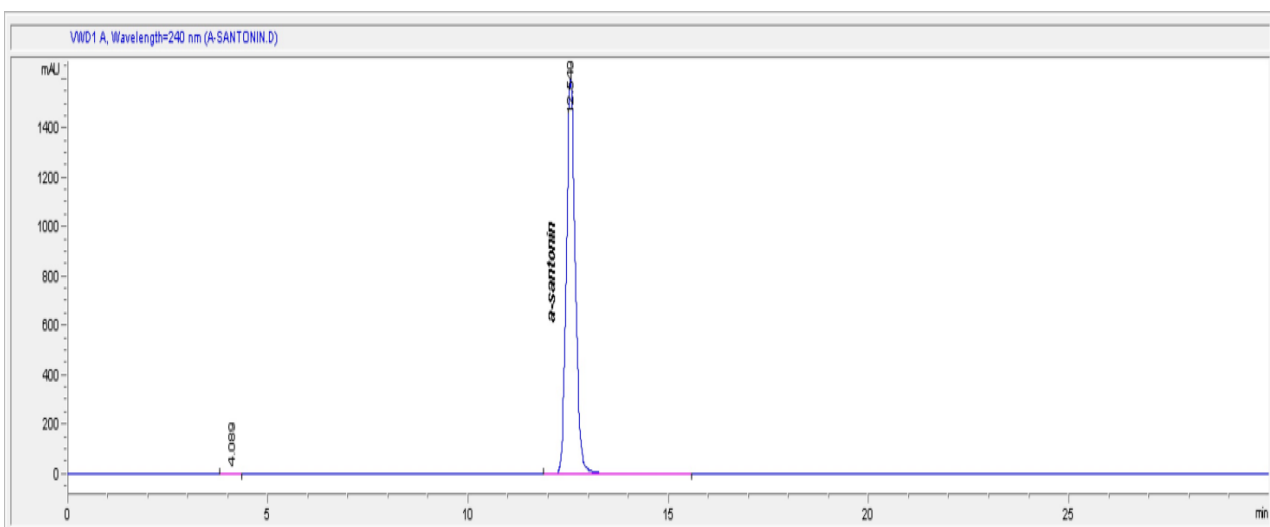


Рисунок 50 – Хроматограмма стандартного образца α -сантинина

Таблица 29 - Спецификация качества субстанции СО₂-экстракт из травы скабиозы бледно - желтой

Показатели качества	Нормируемые отклонения	Методы испытаний
1	2	3
Описание	Экстракт концентрированный густой консистенции, от желтого до оранжевого цвета с коричневым оттенком цвета, с характерным специфическим ароматным запахом.	Визуально
Растворимость	Частично растворим в спирте этиловом 95% Р (1:10), смешивается с подсолнечным маслом во всех соотношениях	ГФ РК I, т. 1, 1.4, с. 25
Идентификация: - терпеноиды – α-сантонин	Реакция с раствором ванилина в серной кислоте, наблюдается красно-фиолетовое окрашивание (терпеноиды) R _f около 0,60 (петролейный эфир – этилацетат, 2:1).	Качественная реакция. ТСХ ГФ РК, т. 1, 2.2.27, с. 71.
Микробиологическая чистота	Субстанция должна соответствовать требованиям ГФ РК, т. 1, 5.1.4, категория 4А. Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 1,0 * 10 ² бактерий, рост грибов и <i>Escherichia coli</i> в 1.0 г. не допускается.	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12, 2.6.13, с. 479-480
Сухой остаток	Не более 96,0%	ГФ РК, т. 1, 2.8.16, с. 235
Кислотное число	Не более 29,0 мг КОН/г	ГФ РК, т. 1, 2.5.1, с. 155
Тяжёлые металлы	Не более 0,01 %	ГФ РК т. 3, 2.4.8, с. 167
Количественное определение содержания α-сантонина	Не менее 3,0%	ВЭЖХ ГФ РК, т. 1, 2.2.29, с. 79
Упаковка	По 25 и 50 г в полимерные контейнеры, круглого сечения с наклеиваемыми этикетками, выполненными типографическим способом в соответствии с СТ РК ГОСТ Р 51958-2010, и наклеиваемой этикеткой выполненной типографическим способом в соответствии с СТ РК 226-2000. Воздушное пространство не менее 3 % от всей емкости. Групповая и транспортная упаковка в соответствии с ГОСТ 17768-90.	В соответствии с ГФ РК т. 1, 3.2.2, с. 313
Маркировка	На этикетке банки на государственном и на русском языке указывают страну-производитель, товарный знак, торговое название, лекарственная форма, масса содержимого упаковки, условия хранения, «Продукция прошла радиационный контроль», номер серии, дату выпуска и срок годности. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.	АНД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90.	ГОСТ 17768-90
Хранение	В воздухонепроницаемых контейнерах, в защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С	АНД
Срок хранения	18 месяцев (время наблюдения)	АНД

Продолжение таблицы 29

1	2	3
Основное фармакологическое действие	Антимикробное средство	

Срок хранения. Изучение стабильности углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой проводили методом долгосрочных испытаний на трех сериях: начало исследования: 15.10.2016 г., конец исследования: 15.04.2018 г. Условия хранения: $T=18\pm 2^{\circ}\text{C}$ при влажности $60\pm 5\%$ (таблица 30).

Таблица 30 - Результаты определения срока хранения углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L.

Номер серии	Дата Анализа	Описание	Идентификация	Сухой остаток	Кислотное число	Микробиологическая чистота	Количественное определение
Серия 120916	15.10.16	соотв.	соотв.	94,60	28,0	соотв.	4,60
	15.01.17	соотв.	соотв.	94,82	28,05	соотв.	4,52
	15.04.17	соотв.	соотв.	94,40	28,3	соотв.	4,27
	15.10.17	соотв.	соотв.	95,00	28,47	соотв.	4,13
	15.04.18	соотв.	соотв.	95,00	28,5	соотв.	4,10
Серия 130916	15.10.16	соотв.	соотв.	94,60	28,0	соотв.	4,74
	15.01.17	соотв.	соотв.	94,82	28,05	соотв.	4,62
	15.04.17	соотв.	соотв.	94,40	28,3	соотв.	4,37
	15.10.17	соотв.	соотв.	95,00	28,47	соотв.	4,24
	15.04.18	соотв.	соотв.	95,00	28,5	соотв.	4,15
Серия 140916	15.10.16	соотв.	соотв.	94,60	28,0	соотв.	4,76
	15.01.17	соотв.	соотв.	94,82	28,05	соотв.	4,68
	15.04.17	соотв.	соотв.	94,40	28,3	соотв.	4,54
	15.10.17	соотв.	соотв.	95,00	28,47	соотв.	4,42
	15.04.18	соотв.	соотв.	95,00	28,5	соотв.	4,12

Примечание - Начало исследования: 15.10.2016 г., конец исследования: 15.04.2018 г.
Условия хранения: $T=18\pm 2^{\circ}\text{C}$ при влажности $60\pm 5\%$.

По результатам исследования установлен срок хранения 18 месяцев.

Таким образом, разработан проект АНД CO_2 -экстракт скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях (Приложение Г).

6.2 Разработка спецификации качества субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской

Проведена разработка нормативного документа, регламентирующего качество субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской, а именно, проект АНД, который составлен на основании результатов анализов 3 серий опытной партии, в соответствии с требованиями ГФ РК.

Показатели качества субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской приведены в таблице 31.

На рисунке 51 представлена хроматограмма определения количественного

содержания α -сantonина в субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской.

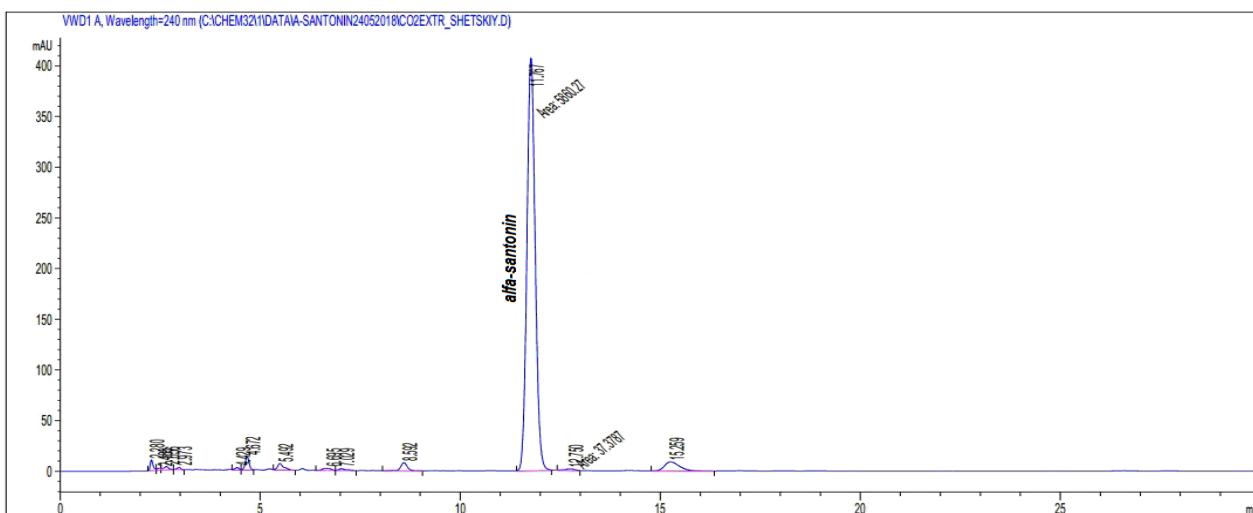


Рисунок 51 – Хроматограмма субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской

Три серии опытной партии субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской подвергали проверке по показателям качества, в соответствии с АНД в следующие сроки: 3, 6, 9, 12, 18 месяцев (таблицы 32).

Изучение стабильности субстанции углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской проводили методом долгосрочных испытаний: начало исследования: 15.10.2016 г., конец исследования: 15.04.2018 г. Условия хранения: $T=18\pm 2$ °С при влажности $60\pm 5\%$.

Таблица 31 - Спецификация качества субстанции CO₂-экстракт из травы скабиозы исетской

Показатели качества	Нормируемые отклонения	Методы испытаний
1	2	3
Описание	Экстракт концентрированный густой консистенции, от желтого до желтого с зеленым оттенком цвета, с характерным специфическим ароматным запахом.	Визуально
Растворимость	Частично растворим в спирте этиловом 95% P (1:10), смешивается с подсолнечным маслом во всех соотношениях.	ГФ РК, т. 1, 1.4, с. 25
Идентификация: - терпеноиды – α -сantonин	Реакция с раствором ванилина в серной кислоте, наблюдается красно – фиолетовое окрашивание (терпеноиды) R _f около 0,60 (петролейный эфир – этилацетат, 2:1).	Качественная реакция. ТСХ ГФ РК, т. 1, 2.2.27, с. 71.
Микробиологическая чистота	Субстанция должна соответствовать требованиям ГФ РК, т. 1, 5.1.4, категория 4A. Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более $1,0 \cdot 10^2$	ГФ РК, т. 1, 2.6.12, 2.6.13

Продолжение таблицы 31

1	2	3
	бактерий, рост грибов и <i>Escherichia coli</i> не допускается.	
Сухой остаток	Не более 86%.	ГФ РК, т. 1, 2.8.16, с. 235
Кислотное число	Не более 33,00 мг КОН/г.	ГФ РК, т. 1, 2.5.1, с. 155
Тяжёлые металлы	Не более 0,01%.	ГФ РК т. 3, 2.4.8, с. 167
Количественное определение содержания α -сантонина	Не менее 9,0%.	ВЭЖХ ГФ РК, т. 1, 2.2.29, с. 79
Упаковка	По 25 и 50 г в полимерные контейнеры, круглого сечения с наклеиваемыми этикетками, выполненными типографическим способом в соответствии с СТ РК ГОСТ Р 51958-2010, и наклеиваемой этикеткой выполненной типографическим способом в соответствии с СТ РК 226-2000. Воздушное пространство не менее 3% от всей емкости. Групповая и транспортная упаковка в соответствии с ГОСТ 17768-90.	ГФ РК, т.1, 3.2.2, с. 313
Маркировка	Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.	АНД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90.	ГОСТ 17768-90
Хранение	В воздухонепроницаемых контейнерах, в защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С	АНД
Срок хранения	18 месяцев (время наблюдения)	АНД
Основное фармакологическое действие	Цитотоксическое	

Таблица 32 - Результаты определения срока хранения субстанции CO₂-экстракта из травы скабиозы исетской

Номер серии	Дата Анализа	Описание	Идентификация	Сухой остаток	Кислотное число	Микробиологическая чистота	Количественное определение
Серия 150916	15.10.16	соотв.	соотв.	86,00	32,0	соотв.	10,44
	15.01.17	соотв.	соотв.	86,00	32,3	соотв.	10,12
	15.04.17	соотв.	соотв.	86,00	32,8	соотв.	9,86
	15.10.17	соотв.	соотв.	86,00	32,84	соотв.	9,70
	15.04.18	соотв.	соотв.	86,00	33,0	соотв.	9,52
Серия 160916	15.10.16	соотв.	соотв.	86,00	31,76	соотв.	10,36
	15.01.17	соотв.	соотв.	86,00	32,07	соотв.	10,28
	15.04.17	соотв.	соотв.	86,00	32,15	соотв.	9,94
	15.10.17	соотв.	соотв.	86,00	32,3	соотв.	9,80
	15.04.18	соотв.	соотв.	86,00	32,77	соотв.	9,44
Серия 170916	15.10.16	соотв.	соотв.	86,00	32,0	соотв.	10,44
	15.01.17	соотв.	соотв.	86,00	32,18	соотв.	10,12
	15.04.17	соотв.	соотв.	86,00	32,24	соотв.	9,78
	15.10.17	соотв.	соотв.	86,00	32,26	соотв.	9,66
	15.04.18	соотв.	соотв.	86,00	32,5	соотв.	9,53

Примечание - Начало исследования: 15.10.2016 г., конец исследования: 15.04.2018 г.
Условия хранения: T = 18±2 °С при влажности 60±5%.

Исследования показали изменения стабильности параметров качества СО₂-экстракта из травы скабиозы исетской в течение 18 месяцев (время наблюдения) в пределах нормы.

Таким образом, на основании спецификации качества разработан проект АНД на СО₂-экстракт скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях (Приложение Д).

7 ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТРАВ *SCABIOSA OCHROLEUCA* *L.* И *SCABIOSA ISETENSIS L.*

7.1 Исследование цитотоксической активности

Исследование цитотоксичности углекислотных экстрактов из трав Scabiosa ochroleuca L. и Scabiosa isetensis L. тест-объекте Artemia Salina

По данным ВОЗ ежегодно выявляется около 7 миллионов онкологических больных. В связи с этой статистикой перспективными природными малотоксичными источниками для разработки противораковых средств являются сырье растительного происхождения. БАВ растений, в частности сесквитерпеновые лактоны, обуславливают токсическое влияние растительных компонентов на опухолевые клетки.

Цитотоксичность связана не только наличием α -метиленовой группы лактонного цикла, которая играет большую роль в химических превращениях, вызывая гибель опухолевых клеток на пути апоптоза, но также присутствием α , β – ненасыщенного циклопентенового фрагмента, но источники свидетельствуют, что точный механизм ингибирования опухолевых клеток основательно не исследован [165-166].

В исследуемых CO_2 -экстрактах содержится комплекс БАВ, в том числе сесквитерпеновый лактон эвдесманового типа, α -сантонин, в связи с чем было проведено исследование цитотоксической активности углекислотного экстракта, как суммарной липофильной фракции (таблица 33-35).

Таблица 33 – Цитотоксическая активность CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa isetensis L.*, 10 мг/мл

Парал- лель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А, %	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб.	Выж	погиб.	пар.				
1	24	0	5	21	0	96	8	88	0
2	28	1	0	27	0				
3	27	2	1	24	0				
Ср	26	1	2	24	0				

Таблица 34 – Цитотоксическая активность CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa isetensis L.*, 5 мг/мл

Парал Лель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А, %	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб.	Выж	погиб.	пар.				
1	24	0	5	16	0	96	18	78	0
2	28	1	2	24	0				
3	27	2	6	15	0				
Ср	26	1	4	18	0				

Таблица 35 – Цитотоксическая активность CO₂-экстракта из травы *Scabiosa isetensis* L., 1 мг/мл

Параллель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А,%	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб	выж	погиб	пар.				
1	24	0	22	3	0	96	84	12	0
2	28	1	20	4	0				
3	27	2	22	6	0				
Ср	26	1	21	4	0				

Результаты испытаний на цитотоксическую активность углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. представлены в таблицах 36-38.

Таблица 36 – Цитотоксическая активность CO₂-экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L., 10 мг/мл

Параллель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А,%	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб.	выж	погиб.	пар.				
1	24	0	8	15	0	96	42	54	0
2	28	1	15	14	0				
3	27	2	10	15	0				
Ср	26	1	11	15	0				

Таблица 37 – Цитотоксическая активность CO₂-экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L., 5 мг/мл

Параллель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А,%	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб.	выж	погиб.	пар.				
1	24	0	18	5	0	96	80	16	0
2	28	1	21	4	0				
3	27	2	20	5	0				
Ср	26	1	20	5	0				

Таблица 38 – Цитотоксическая активность CO₂-экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L., 1 мг/мл

Параллель	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А,%	Наличие нейротоксичности, %
	выж.	погиб.	выж	погиб.	пар.				
1	24	0	27	1	0	96	96	0	0
2	28	1	22	1	0				
3	27	2	30	1	0				
Ср	26	1	26	1	0				

В соответствии с рисунком 52 представлена диаграмма, построенная на основании усредненных показателей цитотоксичности углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской.

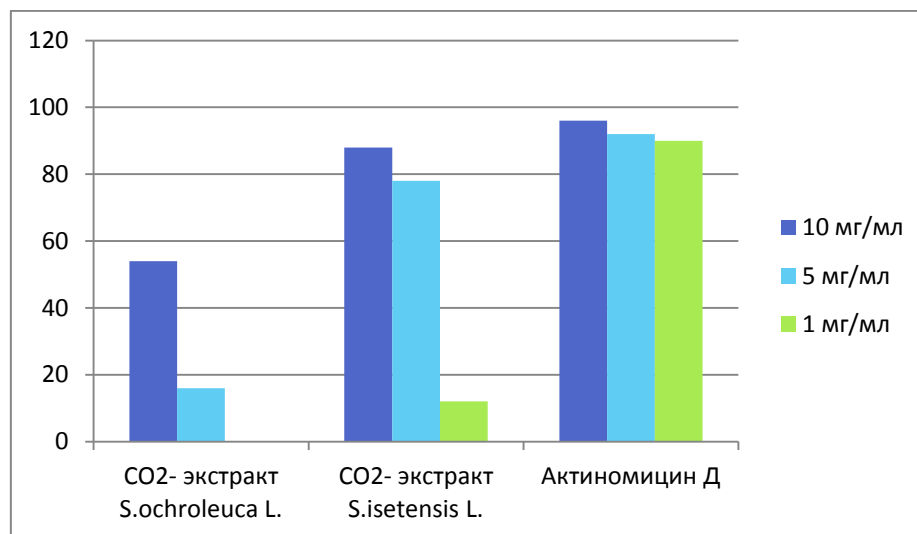


Рисунок 52 – Исследование цитотоксичности CO₂-экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на тест-объекте *Artemia Salina* L.

На основании проведенного эксперимента установлено, что углекислотный экстракт из травы скабиозы бледно-желтой в концентрациях 5 и 1 мг/мл не проявляет цитотоксичность, а в концентрации 10 мг/мл цитотоксичен, смертность личинок составляет 54%. Углекислотный экстракт из травы скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет цитотоксичность, смертность личинок составляет 78-88%, а в концентрации 1 мг/мл не токсичен [167].

Цитотоксичность CO₂-экстракта из травы скабиозы исетской дает предпосылки для дальнейших исследований в плане разработки лекарственных форм на основе углекислотного экстракта скабиозы исетской и применения в комплексной терапии онкологических заболеваний.

Исследование цитотоксичности углекислотного экстракта из травы Scabiosa ochroleuca L. на тест-объекте Saccharomyces cerevisiae

Экспресс-исследование на сахаромикетах применяют для оценки биологической активности лекарственных средств растительного происхождения и антимикотических препаратов. Ждановой Г.О. и др. была разработана методика, в которой в качестве тест-отклика была использована скорость подъема пены в суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Он отличается скоростью проведения, в течение 15 мин и дешевизной.

Объем образовавшейся пены определяли и вычисляли на основании скорости ее подъема по формуле:

$$V = \frac{v}{t}, \quad (11)$$

где, v – скорость подъема пены (мл/мин),

V — объем пены, мл,

t — время, мин [136, с. 105].

Согласно диаграмме, представленной в соответствии с рисунком 53, можно сделать вывод, что в сравнении с контролем, CO_2 -экстракт из травы скабиозы бледно-желтой, оказывает ингибирующий эффект на тест-объект *Saccharomyces cerevisiae*.

В разведении 1/20 образец CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. (этанол Р) показал наивысшую цитотоксическую активность, в сравнении с разведениями: 1/10, 1/40, 1/80 этого же образца.

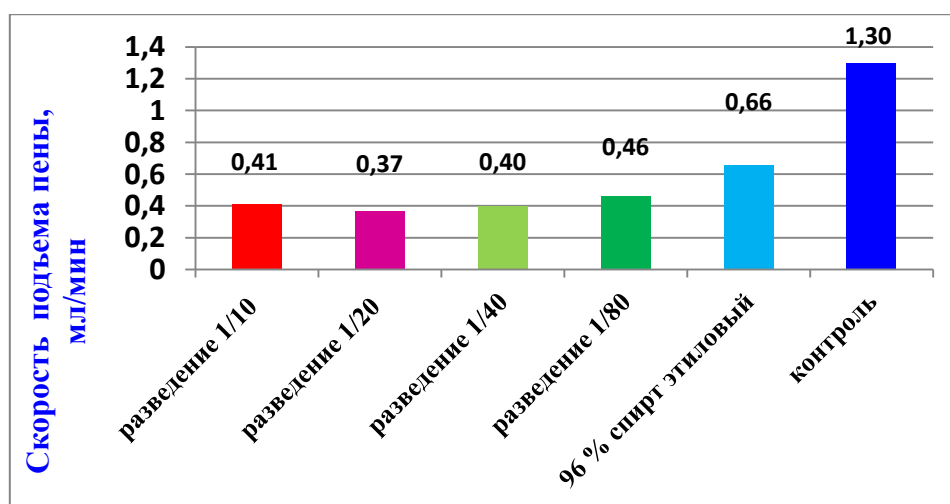


Рисунок 53 – Исследование цитотоксичности CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. на тест-объекте *Saccharomyces cerevisiae*

Экспресс-исследование показало, что в присутствии компонентов CO_2 -экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. происходит ингибирование процесса ферментации, в начальной фазе клеточного цикла, когда происходит синтез ферментов необходимых для дальнейшего роста и размножения микроорганизма. На процесс пенообразования в дрожжевой суспензии с глюкозой могут также влиять тяжелые металлы, содержащиеся в экстракте, даже в незначительном количестве, т.к. метод чувствителен к солям кадмия, меди, ртути в концентрациях от 0,00001% [168-169].

Исследование токсичности углекислотного экстракта из травы скабиозы бледно-желтой по выживаемости эвригалинного рачка, вида *Artemia salina* L. (Branchiopoda, Crustacea)

Метод применяют для определения токсичности растворимых веществ. Сущность метода заключается в регистрации гибели науплиев эвригалинного рачка вида *Artemia salina* L. (Branchiopoda, Crustacea), в анализируемой пробе CO_2 -экстракта из травы скабиозы бледно-желтой и позволяет определить токсичность исследуемого объекта и следующие токсикологические показатели:

- среднюю летальную кратность разбавления (ЛКР_{50}) пробы, вызывающую

гибель 50% морских ракообразных;

- безвредную кратность разбавления пробы (ЛКР₁₀), вызывающую гибель не более 10% тест-организмов за 36 ч. тестирования.

Жизненный цикл *Artemia salina* L. состоит из науппильных стадий (от ортонауплиуса до метанауплиуса — 72 ч.; молоди, взрослых особей — 21 сут). По состоянию на начало тестирования, жизненный цикл тест - организмов составлял односуточные науплии, в возрасте до 24 часов, полученные в лаборатории из покоящихся яиц.

Выращивание культуры науплий. Для инкубации цист использовали чистую стеклянную емкость, объемом 2 литра.

В 1 л. чистой дехлорированной воды растворяли 28 г. поваренной соли, и в полученный солевой раствор помещали сухие цисты артемий в объеме 3 г. К конденсатору присоединили трубку с распылителем, распылитель установили на дне емкости, чтобы все цисты находились во взвешенном состоянии, вспенивание не допустимо. Температура во время инкубации должна быть не ниже 25 °С и не выше 28 °С. Освещение боковое или над поверхностью емкости, не менее 4 часов от начала инкубации, рН = 8,0-8,3.

Время выведения при благоприятных условиях – 24-48 часов. При неблагоприятных условиях время выведения увеличивается до 6-7 суток.

Полученные науплиусы имели положительный фототаксис (движение по направлению к источнику света), поэтому отбор облегчали, подсвечивая фонариком в одном месте емкости, куда были концентрированы науплиусы. Забор производили пастеровской пипеткой. Далее односуточные науплиусы *Artemia salina* L. использовали в эксперименте.

Эксперименты проводили в 5-и независимых опытах с 3 параллельными измерениями, при солености 28%. Использовали разведения 1/10, 1/40, 1/80, 1/160, а также контроль (этанол *P*) в том же разведении и контроль без добавления исследуемых веществ. В каждой из пробирок находилось по 10 науплиев. При выявлении уровня токсичности установили:

- среднюю летальную кратность разбавления (ЛКР₅₀) пробы, (вызывающая смертность 50% тест-объектов) углекислотного экстракта *Scabiosa ochroleuca* L., составляет соотношение исследуемого вещества в пробе, равное 1/40, за время экспозиции в 36 часов;

- безвредную кратность разбавления пробы (ЛКР₁₀), (не вызывающая эффекта острой токсичности и вызывающую гибель не более 10% тест-объектов), концентрация которой составляет соотношение вещества в пробе равное 1/80, за время экспозиции в 36 часов (Приложение III).

7.2 Исследование антимикробной и антимикотической активности CO₂-экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Суммарное действие экстракта не ограничивается компонентами, преобладающими в основном составе, следы компонентов, содержащиеся в незначительных количествах, также влияют на биологическую активность, ингибируя или наоборот усиливая действие отдельных веществ. Это утверждение доказывает результат исследования антимикробной и

антимикотической активности углекислотных экстрактов, где CO₂-экстракт из травы скабиозы бледно-желтой, показывают высокую антимикробную активность относительно *Staphylococcus aureus* и умеренно выраженную активность в отношении *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* [170].

Диско – диффузионный метод основан на ингибировании антимикробным веществом поверхностного, видимого роста штаммов на плотной питательной среде. Перепады концентрации исследуемого вещества в плотной питательной среде (агаровой) достигается в результате диффузии из вносимого бумажного диска (носителя).

Данный носитель, пропитанный исследуемым веществом, мы помещали непосредственно на поверхность питательной среды сразу же после инокуляции культуры, методом «газона».

Этапы проводимого исследования:

- приготовление и состав питательной среды;
- приготовление суспензии исследуемого микроорганизма заданной концентрации;
- минимизация интервала времени между инокуляцией микроорганизма и нанесения на поверхность среды дисков;
- соблюдение температурного и временного режима инкубации.

Приготовление материала для инокуляции и посева:

а) углекислотные экстракты и спиртовые экстракты из отхода производства углекислотных экстрактов растворяли в 96%, 60% и 40% этиловом спирте, стерильной дистиллированной воде (соотношение 0,1 г на 3 мл растворителя);

б) использовали 18-20 часовую агаровую или 5-6-часовая бульонную культуру исследуемого микроорганизма. Суспензию готовили из стерильного раствора хлорида натрия изотонического, в котором разводили культуру до стандарта мутности 0.5 McFarland, а затем довели до конечной концентрации $1 - 2 \times 10^7$ КОЕ/мл (разводили еще 10 раз изотоническим раствором);

в) готовый инокулят вносили в чашку Петри с питательной средой в количестве 1-2 мл, равномерно распределяли стерильным шпателем или покачиванием. Удалили избыток жидкости пипеткой. Подсушивали приоткрытые чашки при комнатной температуре в течение 10-15 минут.

Проводили аппликацию дисков и размещали их на расстоянии не менее 15 мм от края чашки и не менее 30 мм между дисками.

Инкубировали на протяжении 18-24 часов при температуре 37 °С (для грибов рода *Candida* при температуре 28 °С).

Антимикробную активность определяли по диаметру зон задержки роста (d) тест – штаммов (мм).

При $d \leq 10$ мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антибактериальной активности, 10-15 – слабая активность, 15-20 мм – умеренно выраженная активность, при $d > 20$ – выраженная активность. Образцы испытывали в трех параллельных опытах.

Диаметры задержки роста тест - штаммов представлены в таблицах 39-42,

где исследуемые вещества: CO₂-экстракт из травы скабиозы исетской значится как **SI**, из травы скабиозы бледно-желтой - **SB**, экстракты из отхода углекислотной экстракции, обозначены соответственно **SBw**, **SIw**; диск с бензилпенициллин натрия – **БПНС**.

Таблица 39 – Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - спирт этиловый 96%

№	Исследуемые вещества	B.subtilis 6633	C.albicans НИЦ 1	S.aureus 0586	E.coli 0524	C.albicans 0475
1	SB	14±1,0	12±1,0	21±1,0	14±1,0	17,5±1,0
2	SI	12,5±1,0	11,5±1,0	15±1,0	13±1,0	11±1,0
3	SBw	10±1,0	13±1,0	12,5±1,0	11±1,0	11,3±1,0
4	SIw	10±1,0	11±1,0	10±1,0	10±1,0	11±1,0
5	Спирт этиловый 96%	11±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Бензилпенициллин натрия	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
7	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 40 – Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - спирт этиловый 60%

№	Исследуемые вещества	B.subtilis 6633	C.albicans НИЦ 1	S.aureus 0586	E.coli 0524	C.albicans 0475
1	SB	11,5±1,0	11±1,0	17±1,0	12±1,0	14±1,0
2	SI	12,5±1,0	11±1,0	14,5±1,0	13±1,0	10±1,0
3	SBw	10±1,0	12±1,0	11±1,0	10±1,0	10,5±1,0
4	SIw	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
5	Спирт этиловый 60%	10,5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Бензилпенициллин натрия	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
7	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 41 – Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - спирт этиловый 40%

№	Исследуемые вещества	B.subtilis 6633	C.albicans НИЦ 1	S.aureus 0586	E.coli 0524	C.albicans 0475
1	2	3	4	5	6	7
1	SB	10±1,0	10,2±1,0	12±1,0	11±1,0	11,5±1,0
2	SI	12±1,0	10±1,0	12,5±1,0	11±1,0	10±1,0
3	SBw	10±1,0	11±1,0	10,5±1,0	10±1,0	10,3±1,0
4	SIw	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
5	Спирт этиловый 40%	10,5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Бензилпенициллин натрия	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-

Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5	6	7
7	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 42 – Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - дистиллированная вода

№	Исследуемые вещества	B.subtilis 6633	C.albicans НИЦ 1	S.aureus 0586	E.coli 0524	C.albicans 0475
1	SB	10±1,0	10,2±1,0	12±1,0	11±1,0	11,5±1,0
2	SI	12±1,0	10±1,0	12,5±1,0	11±1,0	10±1,0
3	SBw	10±1,0	11±1,0	10,5±1,0	10±1,0	10,3±1,0
4	SIw	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
5	Вода дистиллированная	10.5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Бензилпенициллин натрия	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
7	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

На основании показателей диаметра задержки роста тест-штаммов, в соответствии с рисунком 54, представлена динамика антимикробной активности углекислотных экстрактов (спирт этиловый 96% *P*) из трав скабиозы исетской, скабиозы бледно-желтой.

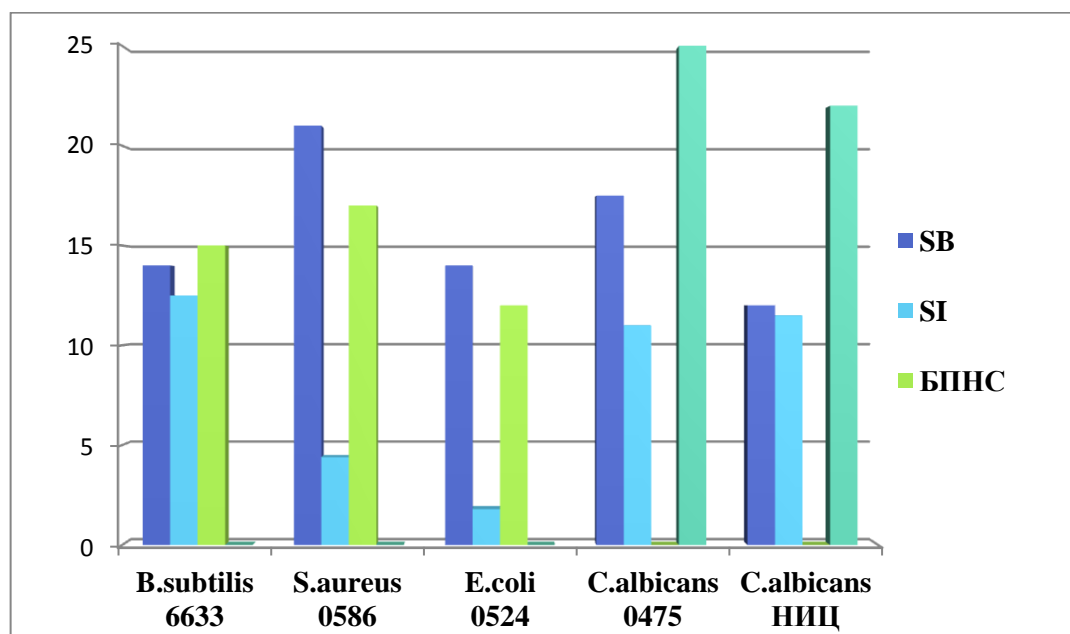


Рисунок 54 – Динамика антимикробной активности углекислотных экстрактов (растворитель – спирт этиловый 96%)

Углекислотный экстракт из травы скабиозы бледно-желтой, показывают высокую антимикробную активность относительно *Staphylococcus aureus* и

умеренно выраженную активность в отношении *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475) и *Escherichia coli* (0524).

Образец углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской имеет умеренно-выраженную антибактериальную активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* (0586) и слабую антибактериальную активность по отношению к штаммам *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1) (Приложение Ц).

7.3 Исследование антирадикальной активности углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

БАВ, обладающие антирадикальной активностью, защищают организм от свободных радикалов. Свободные радикалы и реакции с их участием играют важную роль в причинах возникновения многих заболеваний человека, а также в старении организма в целом.

Антиоксиданты участвуют в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому антиоксиданты и исследование антирадикальных свойств соединений в последнее время получили широкое распространение.

α -токоферол, будучи чрезвычайно активным перехватчиком пероксорадикалов при окислении липидов в малых концентрациях проявляет высокую противooksидлительную активность, а в больших – является прооксидантом вследствие накопления малостабильных α -токоферильных радикалов [171]. Многие терпены обладают АО и антирадикальной активностью; причем активность циклических монотерпеновых углеводов с двумя двойными связями сопоставима с активностью полифенолов и α -токоферола [172].

Известно, что лекарственные свойства многих препаратов растительного происхождения, используемых в народной медицине, обусловлены наличием в них органических и неорганических соединений с различными видами биологической активности, в том числе с антиоксидантными свойствами. К таким соединениям относятся каротиноиды, флавоноиды, 20 антоцианы, фенольные кислоты, кумарины, танины, а также некоторые металлы Mn, Cu, Zn [173].

По результатам исследования оптические плотности исследуемых растворов бутилгидроксианизола (ВНА) и образцов углекислотных экстрактов из исследуемых трав указаны в таблице 43.

Таблица 43 - Изменение оптической плотности исследуемых растворов с изменением концентрации

№	Исследуемые вещества	Значения оптической плотности по концентрациям (мг/мл)				
		0,1	0,25	0,5	0,75	1,0
1	2	3	4	5	6	7
1	Бутилгидроксианизол (ВНА)	0,1362	0,1333	0,1257	0,1202	0,1145

Продолжение таблицы 43

1	2	3	4	5	6	7
2	SI	0,6418	0,6628	0,6460	0,6333	0,6125
3	SB	0,6544	0,6098	0,5913	0,5634	0,5291

Значения антирадикального эффекта исследуемых углекислотных экстрактов, рассчитанные по формуле (2), приведены в таблице 44.

Таблица 44 - Антирадикальная активность CO₂-экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. при разных концентрациях

№	Исследуемые вещества	Концентрация экстрактов (мг/мл)				
		0,1	0,25	0,5	0,75	1,0
1	Бутилгидроксианизол (ВНА)	80,82	81,23	82,30	83,08	83,88
2	SI	15,90	13,15	15,35	17,01	19,74
3	SB	14,56	20,40	22,81	26,44	30,93

Влияние изменения концентрации веществ на динамику антирадикальной активности наблюдаем в соответствии с рисунком 55.

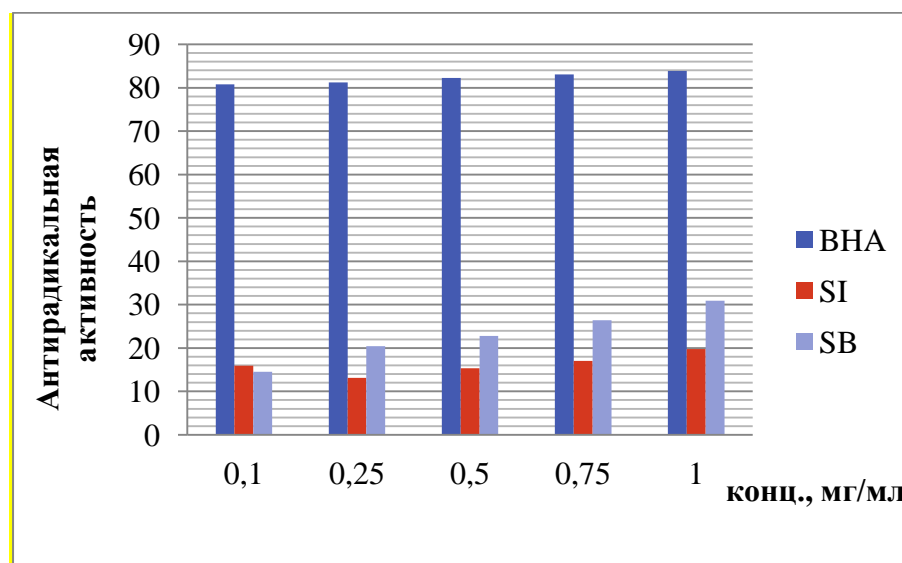


Рисунок 56 – Динамика антирадикальной активности при изменении концентрации веществ

На основании анализа данных таблицы и графика видно, что антирадикальная активность CO₂-экстракта из травы скабиозы исетской низкая по сравнению с ВНА. Антирадикальная активность CO₂-экстракта из травы скабиозы бледно-желтой в концентрации 1 мг/мл средняя, а в остальных концентрациях 0,1-0,75 мг/мл низкая по сравнению с ВНА (Приложение Э) [167, с. 659].

7.4 Исследование суммарной антиоксидантной активности экстрактов из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой методом инверсионной вольтамперометрии

Суммарная антиоксидантная активность определяется по снижению модельного сигнала в присутствии всех компонентов, мажорных, неизвестных и минорных. Метод обладает хорошей чувствительностью (10^{-5} - 10^{-7} г/л) и позволяет определить суммарную антиоксидантную активность на основании электровосстановления кислорода в отсутствие и присутствии антиоксиданта растительного происхождения, с кумуляцией активных форм кислорода на поверхности электрода. Диффузия кислорода к поверхности электрода идет из глубины раствора. Кислород берет электрон от электрода и образуется супероксид, который мгновенно взаимодействует с протоном, вследствие чего образуется более стабильный активный радикал кислорода. На третьей стадии активный радикал кислорода вступает в реакцию с протоном, образуя перекись водорода, которая химически неустойчива и при избытке водорода превращается в воду.

Для оценки антиоксидантной активности существуют общепринятые критерии. Разработанный исследователями Коротковой Е.И. и др. (2009) новый метод для оценки АОА, названный «*кинетический критерий*» позволяет определять АОА суммы БАВ растительного происхождения. *Кинетический критерий* отражает количество кислорода и активных кислородных радикалов, прореагировавших с суммарным содержанием антиоксидантов в экстракте [174].

Для оценки антиоксидантной активности водного и спиртового экстракта из отхода углекислотной экстракции, готовили по три образца каждого объекта:

- а) 0,3 г водного извлечения растворяли в 10 мл воды очищенной;
- в) 0,3 г спиртового экстракта растворяли в 10 мл спирта этилового 70%.

Для исследуемых веществ были получены однотипные вольтамперограммы, представленные в соответствии с рисунками 56-59 для спиртового экстракта и рисунками 60-62 для водного экстракта.

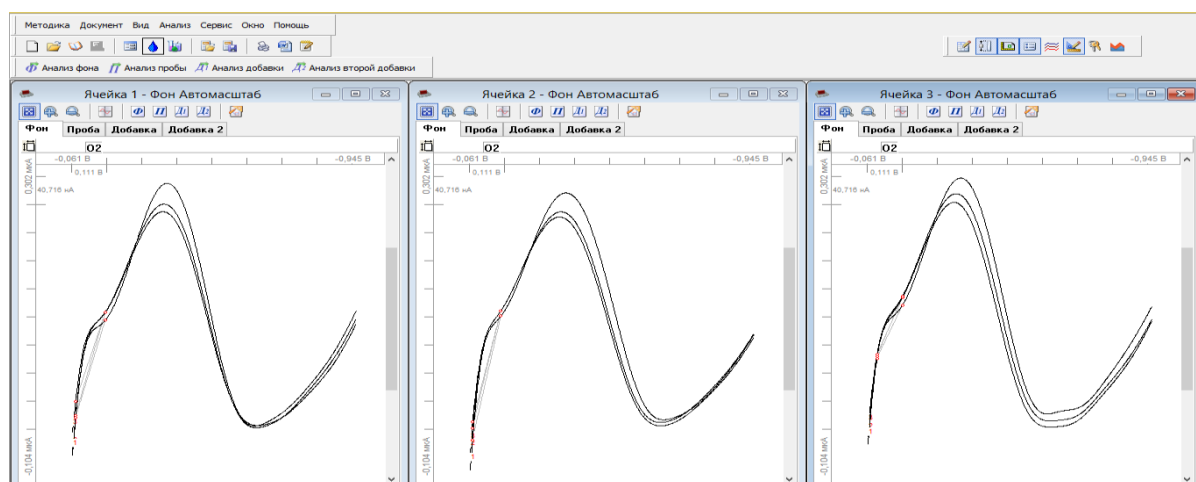


Рисунок 56 – Вольтамперограмма фона

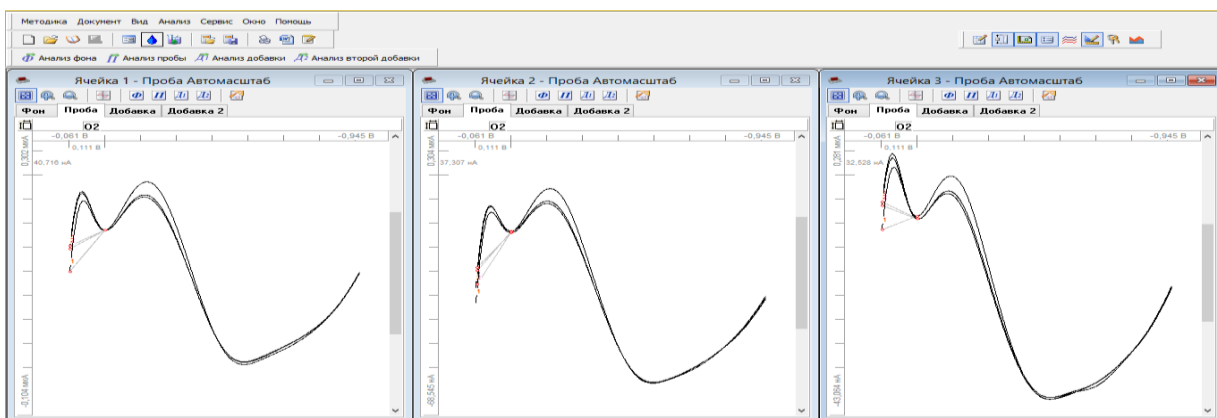


Рисунок 57 – Вольтамперограмма пробы

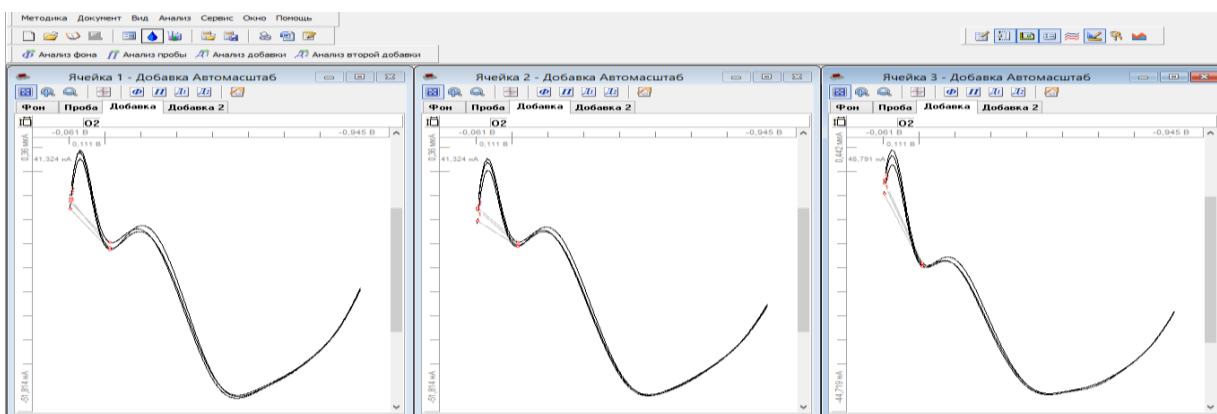


Рисунок 58 – Вольтамперограмма добавки 1

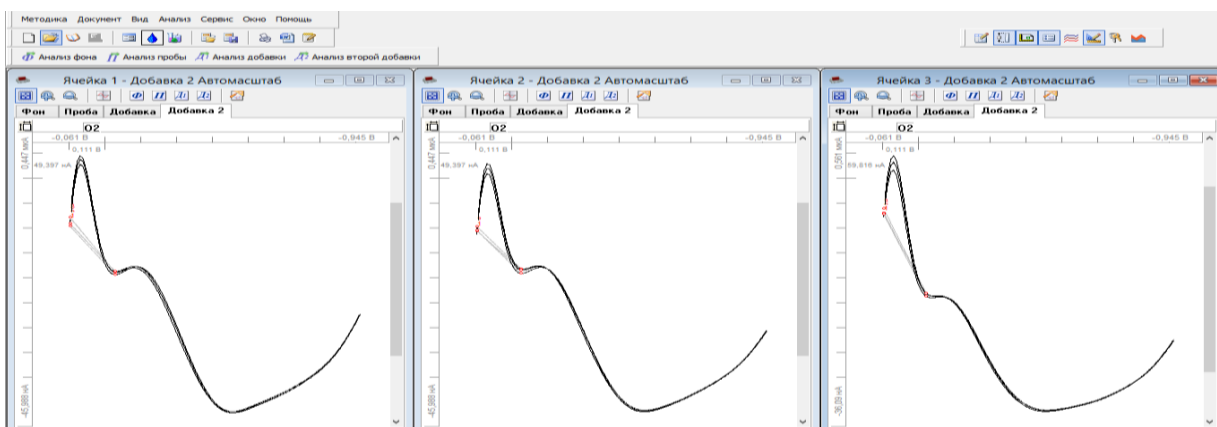


Рисунок 59 – Вольтамперограмма добавки 2

Вольтамперограммы фона характеризуют фоновый ток в отсутствие экстракта в растворе, регистрируются катодные волны кислорода и пероксида водорода [175]. Добавки экстракта приводят к снижению катодного тока кислорода, зависящий от времени протекания реакции между кислородными формами и экстрактом в растворе, и сдвиг в положительную сторону потенциала.

В таблице 45, представлены параметры процесса и результаты

исследования антиоксидантной активности спиртового экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой.

Таблица 45 – Параметры процесса и результаты исследования антиоксидантной активности спиртового экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой

Ячейка, №	Ячейка – 1	Ячейка – 2
Номер пробы	1	2
Токи пиков	I	I
Фон	0,035 мкА	0,036 мкА
Проба	0,047 мкА	0,048 мкА
1-я Добавка	0,053 мкА	0,051 мкА
2-я Добавка	0,086 мкА	0,084 мкА
Концентрация, г/л	0.0003906	0,0003954
	0,000393	

Вольтамперограммы водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой представлены в соответствии с рисунками 60-62.

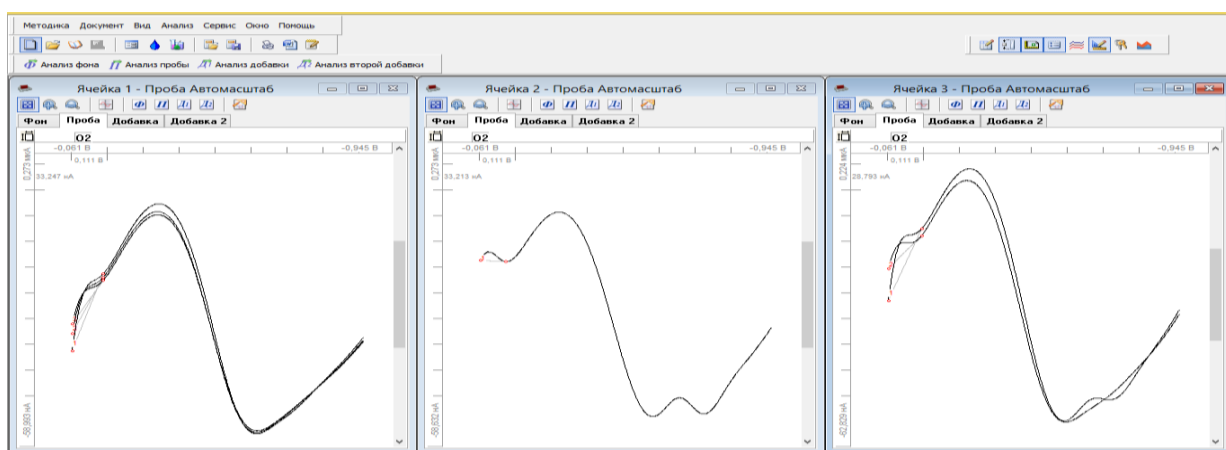


Рисунок 60 – Вольтамперограмма пробы

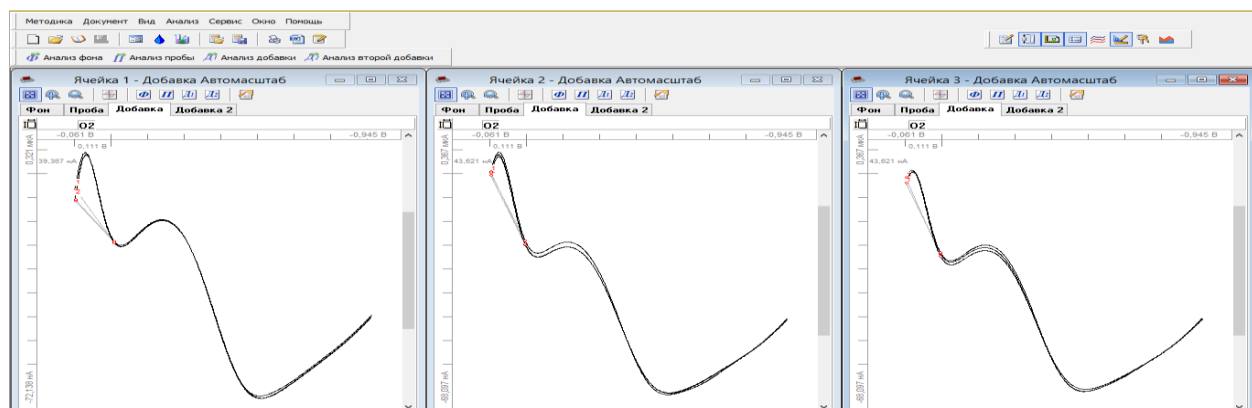


Рисунок 61 – Вольтамперограмма добавки 1

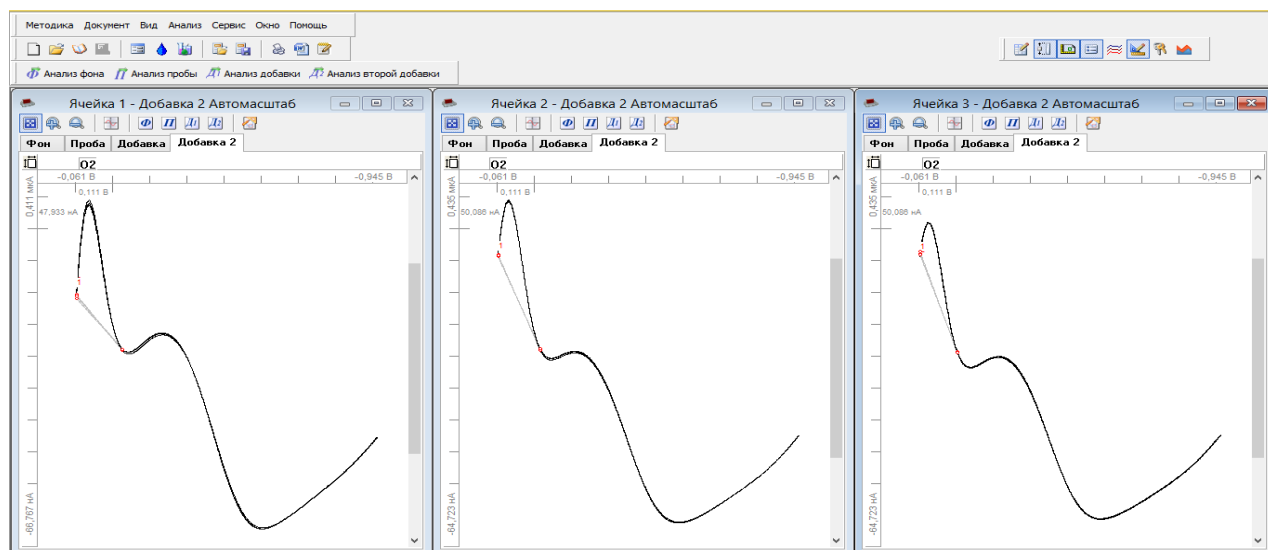


Рисунок 62 – Вольтамперограмма добавки 2

В таблице 46 представлены параметры процесса и количественные данные результатов исследования водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой.

Таблица 46 – Параметры процесса и результаты исследования антиоксидантной активности водного экстракта из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой

Ячейка, №	Ячейка – 1	Ячейка – 2
Номер пробы	1	2
Токи пиков	I	I
Фон	0,003 мкА	0,003 мкА
Проба	0,027 мкА	0,002 мкА
1-я Добавка	0,092 мкА	0,009 мкА
2-я Добавка	0,160 мкА	0,013 мкА
Концентрация, г/л	0,0003515	0,0003306
	0,00034105	

На основании полученных данных определяли кинетический критерий по формуле:

$$K = \frac{c_0}{t} * \left(1 - \frac{I}{I_0}\right), \quad (12)$$

где I — предельный ток электровосстановления кислорода в присутствии антиоксиданта в растворе, мкА, I_0 — предельный ток электровосстановления кислорода в отсутствии антиоксиданта в растворе, мкА, C_0 — исходная концентрация кислорода в растворе, мкмоль/л (приравнивается к растворимости кислорода в исследуемом электролите при н.у.), t — время экспозиции рабочего электрода при постоянном потенциале предельного тока

кислорода, характеризующее протекания реакции взаимодействия антиоксиданта с активными кислородными радикалами, мин [174, с. 24].

Результаты по определению АОА исследуемых экстрактов представлены в таблице 47.

Числовые показатели кинетических критериев подтверждают влияние ряда факторов, таких как природа растворителя применяемого при извлечении компонентов из сырья растительного происхождения, совместимость компонентов в полученных экстрактах на антиоксидантные свойства объектов [174, с. 24].

Таблица 47 – Результаты оценки АОА спиртового и водного экстрактов из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой

№	Фоновый раствор	Антиоксидант	Кинетический критерий, мкмоль/л * мин	Рабочий диапазон потенциалов, В	C_0 , г/моль	t , мин
1	Фосфатный буфер, рН 6.6	Спиртовый раствор	0.0008	-0.061 ÷ -0.945	0,01	3
2		Водный раствор	0.003			

Проведено исследование влияния спиртового и водного экстрактов из отхода углекислотной экстракции скабиозы бледно-желтой на процесс электровосстановления кислорода в различных концентрациях. В качестве метода оценки применена катодная вольтамперометрия на ртутно-пленочном электроде. В данном подходе определение антиоксидантной активности отражало количество активных форм кислорода, нейтрализованных антиоксидантом в определенное время. Наблюдалось уменьшение катодного тока ЭВ O_2 , что свидетельствует о проявлении ими антиоксидантной активности по отношению к данному процессу. Кроме того, наблюдался сдвиг потенциала катодного тока ЭВ O_2 в положительную область потенциалов. Все вышесказанное предполагает наличие механизма ЕС (электрохимическая – химическая стадии), который включает последующую химическую реакцию взаимодействия антиоксидантов с активными кислородными радикалами. Результаты исследований показали, что водный и спиртовой экстракты CO_2 – шрота травы скабиозы бледно-желтой проявляют антиоксидантную активность.

Результаты расчетов кинетического критерия, отражающего количество кислорода и активных кислородных радикалов, прореагировавших с суммарным содержанием антиоксидантов в экстрактах, также доказывает наличие антиоксидантной активности спиртового и водного экстракта отхода углекислотной экстракции, обусловленное предположительно присутствием в гидрофильной фракции отхода углекислотной экстракции ОН - групп фенольных соединений, а также полисахаридов.

На основании проведенных экспериментов по исследованию биологической активности *in vitro* можно предположить, что углекислотный экстракт из травы скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет

цитотоксичность, смертность личинок составляет 78-88%, а концентрация 1 мг/мл не токсичен.

Углекислотный экстракт из травы скабиозы бледно-желтой в концентрациях 5 и 1 мг/мл не проявляет цитотоксичность, а в концентрации 10 мг/мл цитотоксичен, смертность личинок составляет 54%.

При выявлении уровня токсичности установили, что:

- средняя летальная концентрация (вызывающая смертность 50% тест-объекта) углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L., составляет соотношение исследуемого вещества в пробе, равное 1/40, за время экспозиции в 36 часов;

- безвредная (не вызывающая эффекта острой токсичности) концентрация, составляет соотношение вещества в пробе, равное 1/80, за время экспозиции в 36 часов.

Углекислотный экстракт *Scabiosa ochroleuca* L. (спирт этиловый 96% P) имеет высокую антибактериальную активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* (0586) и умеренно выраженную антибактериальную активность по отношению к штаммам *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1).

Антирадикальная активность углекислотного экстракта из травы скабиозы исетской низкая по сравнению с ВНА.

Антирадикальная активность CO₂-экстракта из травы скабиозы бледно-желтой в концентрации 1 мг/мл средняя, а в остальных концентрациях 0,1-0,75 мг/мл низкая по сравнению с ВНА (Приложение Э).

Углекислотный экстракт из травы *Scabiosa isetensis* L. показал умеренную антимицробную активность в отношении штамма *Staphylococcus aureus*.

Экстракты из отхода углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love, *Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* (0586), *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1) проявили слабо выраженную активность эквивалентную активности спирта этилового 96% P.

Исследования антиоксидантной активности методом ИВ показали, что водный и спиртовой экстракты из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой проявляют антиоксидантную активность, это обусловлено предположительно присутствием в гидрофильной фракции отхода углекислотной экстракции ОН-групп фенольных соединений, а также полисахаридов.

Все результаты по исследованию биологической активности углекислотных экстрактов дают основания предположить, что активность экстрактов не связана с каким-либо индивидуальным веществом, она обусловлена синергетическим эффектом, где можно провести связь «состав – биологическая активность».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1) Исследованы сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Центрального Казахстана. Заросли скабиозы бледно-желтой отмечены на территории Корнеевских лесов и скабиозы исетской – в горах Улытау. Эксплуатационный запас скабиозы бледно-желтой составил 31,25 ц, а объем возможного сбора – 18,75 ц. Эксплуатационный запас скабиозы исетской составил 87,83 ц, объем возможного сбора сырья рассчитан на уровне 52,70 ц.

2) Разработана технология заготовки растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Растительное сырье собирали путем срезания на 7-10 см от поверхности почвы, сушили на открытом воздухе в тени при температуре окружающей среды (при температуре 23-25 °С тепла), раскладывали на стелажы с марлей слоями 5-8 см, периодически переворачивая (не менее 2-х раз за сутки).

3) Проведена идентификация растительного сырья скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* L.) по совокупности основополагающих факторов: внешних и микроскопических характеристик, качественного и количественного содержания α -сantonина.

Установлены макроскопические особенности:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: растение 80-100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины - обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой - кудрявая и пушистая, цвет стебля – зеленый;

б) *Scabiosa isetensis* L.: растение 35-40 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая - грубая, непонятная и кудрявая и волосатая, в верхней части с более плотным опушением с примесью редких и длинных волос.

Определены микроскопические особенности растения *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Установлены следующие диагностические признаки:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: сильно-извилистостенные клетки эпидермиса, устьица диацитного типа, с нижней стороны листа отмечены немногочисленные бичевидные трихомы;

б) *Scabiosa isetensis* L.: клетки верхнего эпидермиса мелкие, прозенхимного типа, нижнего – изодиаметрические с извилистыми стенками, устьица диацитного типа, трихомы отсутствуют, на поперечном срезе листа отмечены вытянутые вместилища схизогенного типа.

При изучении минерального состава исследуемых растений получены количественные данные о 59 элементах.

4) Установлены параметры и нормы качества растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

По результатам проведенных исследований по определению параметров качества растительного сырья, полученные данные включены в проекты

аналитического нормативного документа (АНД) на лекарственное растительное сырье «Скабиоза бледно-желтая трава» и «Скабиоза исетская трава». Определен срок хранения РС скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской – 18 месяцев (время наблюдения).

5) Установлены параметры получения углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской: рабочее давление – 69-72 атмосфер, температура – 18-21 °С, время экстракции 18 часов. Выход составил для *Scabiosa isetensis* L. – 0,57%, *Scabiosa ochroleuca* L. – 0,46%.

6) Определен компонентный состав углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской. Основные компоненты α -сантонин, 1.8-цинеол, монотерпеновые кетоны в виде стереоизомеров α - и β -туйона, *n*-гексадекановая кислота, кампестерол, стигмастерол, гексадекановой кислоты этиловый эфир, линоленовой кислоты этиловый эфир, также идентифицированы терпены и их производные: ароматический монотерпен о-Цимен, моноциклический монотерпен 4-терпиненил ацетат, α -терпенилацетат, монотерпеновый циклический спирт, цис-сабиненгидрат; терпинен-4-ол; кроме того обнаружены антиоксиданты α -токоферол и сквален, насыщенная, полиненасыщенные и незаменимые жирные кислоты; компонент хлорофиллов зеленых и красных водорослей, дитерпеновый спирт, фитол.

Результаты определения тяжелых металлов показали, что в изучаемом растительном сырье содержание тяжелых металлов не превышает пределы допустимых значений.

В цепи растительное сырье - углекислотный экстракт из травы скабиозы исетской, переход кадмия составил $\leq 2,2\%$; свинца - 0,03%.

В цепи растительное сырье – углекислотный экстракт – экстракты из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой, переход кадмия в углекислотный экстракт составил 3%; в спиртовой экстракт из отхода углекислотной экстракции - 12%; в водный экстракт из отхода углекислотной экстракции – 100%; переход свинца в углекислотный экстракт составил 0,42%, в спиртовой экстракт из отхода углекислотной экстракции - 0,28%; в водный экстракт из отхода углекислотной экстракции – 2,2%.

Результатами исследований по изучению стабильности углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой к воздействию повышенных температур установлен температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов, соответствующий 52-369 °С, что определяет возможность хранения углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой в нормальных условиях и возможности применения высоких температур при изготовлении лекарственных форм.

7) Разработана технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Предложены технологическая и аппаратурная схемы производства. На основании полученных результатов разработаны проекты опытно-промышленных регламентов (ОПР) на производство углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

8) Установлены показатели и нормы качества углекислотных экстрактов на

основании ИК-, УФ-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ, минерального анализа золы, качественных реакций. Описаны физико-химические и спектральные показатели α -сантонина, определенного в этих экстрактах, которые будут использованы для идентификации и количественного определения α -сантонина в лекарственных средствах углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Разработаны проекты АНД на лекарственные средства: «Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный» и «Скабиозы исетской экстракт углекислотный». Определен срок хранения углекислотных экстрактов скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской – 18 месяцев (время наблюдения).

9) На основании проведенных экспериментов по исследованию биологической активности *in vitro* углекислотный экстракт травы скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет цитотоксичность, смертность личинок составляет 78-88%, а в концентрации 1 мг/мл не токсичен. Углекислотный экстракт травы *Scabiosa ochroleuca* L. имеет высокую антимикробную активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* (0586), и умеренную антимикробную активность по отношению к штаммам *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1). Экстракты из отхода углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* (0586), *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1) проявили слабо выраженную активность эквивалентную активности спирта этилового 96% P.

В исследованиях биологической активности методом инверсионной вольтамперометрии, результаты расчетов кинетического критерия, отражающего количество кислорода и активных кислородных радикалов, прореагировавших с суммарным содержанием антиоксидантов в спиртовом и водном экстракте из отхода углекислотной экстракции травы *Scabiosa ochroleuca* L., также доказывает наличие антиоксидантной активности. Все результаты по исследованию биологической активности углекислотных экстрактов дают основания предположить, что активность экстрактов не связана с каким-либо индивидуальным веществом, она обусловлена синергетическим эффектом, где можно провести связь «состав – биологическая активность».

Оценка полноты решения поставленных задач. Поставленные задачи по определению сырьевых запасов растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области и фармакогностическому изучению растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской; разработке технологии получения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L.; исследованию физических и физико-химических показателей, регламентирующих идентификацию и качество лекарственного растительного сырья, углекислотных экстрактов, отходов производства углекислотного экстракта; по исследованию биологической активности углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., и отхода производства углекислотного экстракта; по разработке

технологии производства углекислотного экстракта из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.; по исследованию показателей и нормы качества углекислотного экстракта и растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.; по разработке проекта нормативного документа на виды лекарственного растительного сырья и лекарственные средства скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской, выполнены полностью.

Рекомендации и исходные данные по конкретному использованию результатов. Разработана технология производства углекислотного экстракта из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Полученный углекислотный экстракт может быть использован как субстанция, так и готовое лекарственное средство; отходы углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. могут быть предложены в качестве наполнителей, добавок в производстве функционального питания и лекарственных средств. Установленный температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов соответствует 52-369 °С и определяет возможность хранения углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой в нормальных условиях. Эти результаты могут быть рекомендованы при определении качества хранения изучаемых углекислотных экстрактов в процессе хранения и возможности применения высоких температур при изготовлении лекарственных форм. Результаты данной диссертационной работы могут быть использованы в фармации и технологии лекарств.

Оценка технико-экономической эффективности внедрения. Полученные результаты имеют высокую технико-экономическую эффективность, поскольку, разработана технология получения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., характеризующаяся безопасностью и качеством полученных продуктов. Внедрение в производство лекарственных средств из травы скабиозы бледно-желтой, обладающего антимикробным действием и скабиозы исетской, обладающего цитотоксическим действием расширит номенклатуру лекарственных средств на основе отечественного сырья растительного происхождения.

Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области. На основании полученных результатов действуют 2 охранных документа, опубликованы 3 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, 1 статья в зарубежном научном издании, входящем в международную базу данных Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics) и Scopus, 6 статей в материалах международных конференций, в том числе 3 в материалах зарубежных конференций, 1 в материалах дальнего зарубежья.

В целом, научно-методический уровень представленной диссертационной работы соответствует современным аналогам, опубликованным в открытой научной печати.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Национальный доклад по науке: МОН РК – Астана, 2015. – 217 с.
- 2 Phillipson J.D. Phytochemistry and medicinal plants // *Phytochemistry*. – 2001. – Vol. 56. – P. 237-243.
- 3 Kong J.M., Goh N.K., Chia L. S., Chia T.F. Recent advances in traditional plant drugs and orchids // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2003. – Vol. 24. – P. 7-21.
- 4 Стратегия ВОЗ в области народной медицины 2014-2023. – 75 с.
- 5 Омарова Б.А., Сермухамедова О.В., Сакипова З.Б., Кесикова А.А., Евтушенко Е.Н., Датхаев У.М. Обзор казахстанского рынка лекарственных средств растительного происхождения // *Фармация Казахстана*. – 2015. – №6 (169). – С. 7-12.
- 6 Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г. Список лекарственных растений Казахстана (Справочное издание). – Алматы: Издательство, 2012 // *kaz.docdat.com*. 14.10.2018.
- 7 Pavlov N.V. The Flora of Kazakhstan. – Alma-Ata, 1956-1966. – Vol. 1-9. – 470 p.
- 8 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана: Список сосудистых растений Казахстана / под ред. Р.В. Камелин. – Алматы: Изд-во: Жэне фитоинтродукция институты, 1998. – 187 с.
- 9 Иманбаева А., Туякова А., Сагындыкова М., Копбаева Г., Толембетова А. Опыт интродукции лекарственных растений природной флоры Мангистау // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. – 2015. – №11. – С. 41-44.
- 10 Гаврилькова Е.А., Анапиев И.М., Тлеукунова С.У. Сорные растения окрестностей г. Караганды // *Известия НАН РК. Серия «Биологическая»*. – 2009. – №5. – С. 3-9.
- 11 Mauricio Bonifacino J., Harold Robinson, Vicki A. Funk, Hans Walter Lack, Gerhard Wagenitz, Christian Feuillet and Nicholas Hind D.J. Chapter 1: A history of research in Compositae: early beginnings to the Reading Meeting. – 1975. – P. 14-17.
- 12 Павлов Н.В. Флора Центрального Казахстана. Часть 3. Двудольные. Спайнолепестные. – М.: АН СССР, 1938. – 429 с.
- 13 Дроздова И.Л., Денисова Н.Н. Короставник полевой как потенциальный источник отечественного лекарственного растительного сырья. Исследования в области лекарственного растительного сырья, Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации // *Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию Пермской государственной фармацевтической академии*. – Пермь, 7-9 декабря 2011. – 349 с.
- 14 Ильина Л.П., Ендонова Г.Б. Анцупова Т.П. Сравнительное изучение химического состава лекарственных растений Западного Забайкалья // *Вестник БГСХА им В.Р. Филиппова* – 2011. – № 3 (24). – 134 с.
- 15 Мовсумов И.С., Гараев Э.А. Изучение химических компонентов некоторых растений из флоры Азербайджана с целью получения биологически активных веществ // *Химия растительного сырья*. – 2010. – №3. – С. 5-10.

16 Kirmizigul Suheyla, Boke Nazli, Sumbul Huseyin, Gokturk, R. Suleyman, Arda Nazli. Essential fatty acid components and antioxidant activities of eight *Cephalaria* species from southwestern Anatolia // *Pure Appl. Chem.* – 2007. – Vol. 79(12). – P. 2297-2304.

17 Mustafaeva Kh., Elias R., Balansard G., Suleimanov T., Mayu-Lede V., Kerimov Yu. Iridoid Glycosides from *Cephalaria kotschy* roots // *Chem. Nat. Compd.* – 2008. – Vol. 44 (1). – P. 132-133.

18 Javidnia K., Miri R., Javidnia A. Constituents of the essential oil of *Scabiosa flavida* from Iran // *Chem. Nat. Compd.* – 2006. – Vol. 42 (5). – P. 529-530.

19 Крупенникова В.Г., Федосеева Г.М. Фенолкарбоновые кислоты скабиозы венечной и скабиозы бледно-желтой // *Сиб. мед. журн.* – Иркутск, 2007. – №4. – С. 90-92.

20 Kukuła J., Witkowska-Banaszczak E. Rośliny lecznicze z rodziny *Dipsacaceae* // *Medicinal plants of the Dipsacaceae. Postępy fitoterapii.* – 2014. – №4. – С. 232-238.

21 Попов П.Л. Виды растений, применявшиеся при вирусных болезнях человека и животных: закономерности распределения в филогенетической классификационной системе // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* – 2008. – Т. 4, № 3. – С. 17-64.

22 Крупенникова В.Г., Федосеева Г.М. Фитохимическое исследование скабиозы венечной // *Сиб. мед. журн.* – Иркутск, 2006. – Т. 62, № 4. – С. 65-67.

23 Ильина Л. П., Ендонова Г. Б., Анцупова Т. П. Сравнительное изучение химического состава лекарственных растений Западного Забайкалья // *Вестник БГСХА им В.Р. Филиппова – Изд-во.: ФГОУ ВПО «Бурятская ГСХА им. В.Р. Филиппова».* – Июль-Сентябрь, 2011. – №3 (24). – С. 75-80.

24 Пат. 2187324 РФ. Средство для лечения импотенции и аспермии / Сайфутдинова Р.Г., Бельтюкова Э.Д., Соловьева Л.Д.; опубл. 20.08.2002. – 2 с.

25 Ишмуратова М.Ю., Тлеукенова С.У. О сосудистых растениях флоры Центрального Казахстана // *Вестник Карагандинского университета. Серия: «Биология. Медицина. География».* – 2009. – № 4 (56). – 14 с.

26 Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г. Список лекарственных растений Казахстана (Справочное издание). – Алматы, 2012 // *kaz.docdat.com.* 16.12.2015.

27 Бекишев К.Б., Капитонов В.И., Айтуганов К.А. и др. Флора и фауна Улытауского зоологического заказника, расположенного в зоне влияния комплекса «Байконур» // *Вестник Карагандинского университета.* – 2001. – №1 (21). – С. 75-78.

28 Айпеисова С.А. К истории формирования флоры Актюбинского флористического округа и обзор реликтов // *Известия НАН РК. Серия «Биологическая и медицинская».* – Алматы, январь-февраль, 2012 г. – №1 (295). – С. 3-9.

29 Яценко Р.В. Заповедники Средней Азии и Казахстана. Список высших растений Каратауского заповедника Материалы проекта МСОП «Оценка эффективности управления заповедниками Средней Азии и Казахстана». – Алматы, 2006. – 47 с.

30 Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. Создание противоопухолевых

фитопрепаратов на основе лекарственных растений Казахстана // Матер. XI междунар. симпозиума 15-19 июня 2015 года Пушино «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – М.: РУДН, 2015. – С. 470-472.

31 Пат. 2029554 РФ. Вещество, обладающее желчегонной и гепатопротекторной активностями / Мамадов Ю.М.; опубл. 27.06.1991. – 2 с.

32 А.с. 1130348 СССР. Способ получения сапонина "Дипсакозид", обладающего гипополидемической активностью / Н.К. Абубакиров, П.К. Алимбаева, М.М. Мухамедзиев, Ю.М. Мамадов, Н.Г. Александров, С.Г. Нагай и З.З. Хакимов; опубл. 1984, Бюл. № 47. – 2 с.

33 Eisenman S.W., Zaurov D.E., Struwe L. *Dipsacus dipsacoides* (Kar. et Kir.) Botsch // *Dipsacaceae. Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan*. – Springer Science & Business Media, 2012. – 95 p.

34 Wagner H. et al (Eds.). *Radix Dipsaci – Xuduan*. «Chromatographic fingerprint analysis of herbal medicines». Evidence and rational based research on Chinese drugs. – Springer Verlag Wien, 2011. – P. 677-689.

35 Yue Wu, De Ji, Yunfei Liu, Zhonglin Yang. Industrial-Scale Preparation of Akebia Saponin D by a two-step macroporous resin column separation // *Molecules*. – 2012. – № 17. – P. 7798-7809.

36 Pharmacopoeia of People is Republic of China, English Edition. – 2005. – Vol. 1. – P. 227-228.

37 Mahmoud A. Al-Qudaha, Noor K. Otooma, Hala I. Al-Jaber, Hasan I. Tashtousha, Abdulraouf S. Mayyasc, Ibrahim N. Trawenhd, Jamil N. Lahhame and Sultan T. Abu Orabif. Chemical composition of essential oil of Jordanian *Scabiosa prolifera* at different flowering stages // *JCS*. – 2016. – Vol. 11, № 2. – P. 99-107.

38 Дроздова И.Л., Минакова Е.И. Изучение аминокислотного состава травы скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) методом ВЭЖХ // Научный журнал «Сорбционные и хроматографические процессы». – 27 февраля, 2018. – Т. 18, № 1. – С. 52-57.

39 Christopoulou C., Graikou K. and Chinou I. Chemosystematic value of chemical constituents from *Scabiosa hymettia* (*Dipsacaceae*) // *Chem. Biodivers.* – 2008. – Vol. 5. – P. 318-323.

40 Girre L. Connatre et Reconnatre Les Plantes Medicinales // *Ouest France*. – 1980. – №25 (7). – P. 332-334.

41 El-Banna, A., Abd El-Razek A., El-Mahdy A. Isolation, identification and screening of carotenoid-producing strains of *Rhodotorula glutinis* // *Food Nutr. Sci.* – 2012. – № 3 (5). – P. 627-633.

42 Dargaeva T., Brutko L. Coumarins of the epigeal part of *Scabiosa comosa* // *Chem. Nat. Compd.* – 1976. – № 12 (14). – 471 p.

43 Calderon-Montano J., Burgos-Moron E., Perez-Guerrero C., Lopez-Lazaro M.A. Review on the Dietary flavonoid kaempferol // *Mini-Rev. Med. Chem.* – 2011. – № 11 (4). – P. 298-344.

44 Elhawary S.S., Eltantawy M.E., Sleem A.A., Abdallah H.M., Mohamed N.M. Investigation of phenolic content and biological activities of *Scabiosa atropurpurea* L. // *World Appl Sci J.* – 2011. – №15 (3). – P. 311-317.

- 45 Garaev E., Movsumov I., Isaev M. Flavonoids and Oleanolic acid from *Scabiosa caucasica* // Chem. Nat. Compd. – 2008. – № 44 (4). – 44 p.
- 46 Polat E., Alankus-Caliskan O., Karayildirim T., Bedir E. Iridoids from *Scabiosa atropurpurea* L. subsp. *maritima* Arc. (L.) // Biochem. Syst. Ecol. – 2010. – № 38 (2). – P. 253-255.
- 47 Papalexandrou A., Magiatis P., Perdetzoglou D. and etc. Iridoids from *Scabiosa variifolia* (*Dipsacaceae*) growing in Greece // Biochem. Syst. Ecol. – 2003. – Vol. 31 (1). – P. 91-93.
- 48 Baykal T., Panayir T., Tasdemir D., Sticher O., Calis I. Triterpene saponins from *Scabiosa rotata* // Phytochemistry. – 1997. – № 48 (5). – P. 867-873.
- 49 Malek Besbes Hlila, Habib Mosbah, Kamel Mssada and etc. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk // Ind. Crops Prod. – 2015. – Vol. 67. – P. 62-69.
- 50 Malek Besbes Hlila, Habib Mosbah, Kawther Majouli. α -Glucosidase inhibition by Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. extracts // Int. J. Biol. Macromol. – 2015. – № 77. – P. 383-389.
- 51 Quan Zheng, Kazuo Koike, Li-Kun Han, Hiromichi Okuda and Tamotsu Nikaido. New biologically active triterpenoid saponins from *Scabiosa tschiliensis* // J. Nat. Prod. – 2004. – № 67 (4). – P. 604-613.
- 52 Kowalczyk A., Krzyzanowska J. Preliminary antifungal activity of some *Dipsacaceae* family plants // Herba Polonica. – 1999. – № 45 (2). – P. 101-107.
- 53 Бобров Е.Г., Васильченко И.Т., Горшкова С.Г., Федоров А.А. Флора СССР: в 30 т. – М., 1957. – Т. 24. – С. 75-76.
- 54 Курбатский В.И. Флора Сибири: в 12 т. – Новосибирск: Наука, 1996. – Т. 12. – 144 с.
- 55 Павлов Н.В. Флора Казахстана: в 9 т. – Алма-Ата: АН КазССР, 1965. – Т.8 – 271 с.
- 56 Нұрмаханова А.С., Айдосова С.С., Айдарбаева Д.Қ. Оңтүстік Алтай тауының күршім жотасында өсетін *Scabiosa ochroleuca* L дәрілік өсімдігінің анатомиялық құрылыс ерешектелері // ҚазҰУ Хабаршысы, биология сериясы, 2010. - № 1 (43). – Б. 22-24.
- 57 Анцупова Т.П., Ендонова Г.Б., Мазур Л.В., Павлова Е.П. Проблемы изучения лекарственных растений Забайкалья // Ученые записки ЗабГУ. – 2014. – № 1 (54). – С. 8-11.
- 58 Мовсумов И.С., Юсифова Д.Ю. Компонентный состав и биологические свойства растений семейства *Dipsacaceae* (Ворсянковые) // Журнал «Хеберлер НАНА (биологические и медицинские науки)». – 2015. – № 70 (2). – С. 115-122.
- 59 Zemtsova G.N., Bandyukova V.A., Shinkarenko A.L. Quercetin diglucoside from the yellow scabiosa // Pharm. Chem. J. – 1968. – Vol. 2 (12). – P. 678-680.
- 60 Земцова Г.Н. Фенолокислоты скабиозы бледно-желтой // Актуальные проблемы Фармации. – 1994. – № 2. – С. 82-83.
- 61 Kowalczyk A., Matysik G., Rzedkowska-Bodalska H., Cisowski W. Thin-layer chromatography and densitometry of caffeic acid in some *Dipsacaceae* family plants // JPC-J. Planar Chromat. – 2001. – № 14 (3). – P. 175-177.

62 Земцова Г.Н., Шинкаренко А.Л. Тритерпеновые гликозиды из скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) // Тез. докл. 2-го Всерос. съезда фармацевтов. – М.: 1969. – 55 с.

63 Alimbaeva P.K., Akimaliev A., Mukhamedziev M.M. Triterpene glycosides of some representatives of the *Dipsacaceae* family // Institute of the Physiology and Experimental Pathology of High-Mountain Regions, Academy of Sciences of the Kirgiz SSR, Frunze.: Plenum Publishing Corporation. – 1978. – Part 13. – 593 p.

64 Попов П.Л. Виды растений, применявшиеся при вирусных болезнях человека и животных: закономерности распределения в филогенетической классификационной системе // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2008. – Т. 4, № 3. – С. 17-64.

65 Ендонова Г.Б., Анцупова Т.П. Определение флавоноидов в видах *Scabiosa* L. из Забайкалья // Бутлеровские сообщения. – 2009. – Т. 18, № 7. – С. 51-59.

66 Czerepanov S.K. Vascular Plants of Russia and Adjacent States (the Former USSR) / Cambridge University Pres. – 3 декабря, 2007. – P. 216-532.

67 Бобров Е.Г., Васильченко И.Т., Горшкова С.Г., Федоров А.А. Флора СССР: в 30 т. – М., 1957. – Т. 24. – 503 с.

68 Zhao Y.M., Shi Y.P. Phytochemicals and biological activities of *Dipsacus* species // Chem. Biodivers. – 2011. – №8 (3) – P. 414-430.

69 Patent CN104510914, A61K 36/8984, A61P 19/10, A61K 35/618. Traditional Chinese medicine composition for treating osteoporosis in middle-aged and elder people / Zhang Xiaolei.; Application Number: 201310464111.3 Application Date: 02.10.2013, Publication Date: 15.04.2015. – 2 p.

70 Patent CN104491009, A61K 36/66, A61P 29/00, A61P 19/02, A61K 36/646, A61K 35/64. Use of traditional Chinese medicine composition in preparation of drug for treating rheumatoid arthritis / Applicants: Guangdong Juzhicheng Technology CO., LTD.; Inventors: Deng Fenggui, Application Number: 201410771915.2, Application Date: 16.12.2014, Publication Number: 104491009, Publication Date: 08.04.2015. – 2 p.

71 Pat. CN104491200A, A61P19 / 08, A61K36 / 85. External traditional Chinese medicine composition for treating lumbar disc herniation / Applicants: Niu Guijun; Inventors: Niu Guijun, Application Number: CN 201410825686, Application Date: 28.12.2014, Publication Date: 08.04.2015. – 2 p.

72 Czerepanov S. K. Vascular plants of Russia and Adjacent States (the Former USSR). – Cambridge University Press. – 3 December, 2007. – 216 p.

73 Бобров Е.Г., Васильченко И.Т., Горшкова С.Г., Федоров А.А. Флора СССР: в 30 т. – М.: Изд-во АН СССР, 1957. – Т. 24. – 503 с.

74 Ahrens W. *Dipsacus strigosus* Willdenow ex Roemer et Schultes 1818 Eine neue Sippe in Niedersachsen // Braunschweiger Geobotanische Arbeiten. – März 2008. – № 9. – P. 21-41.

75 Жматова Г.В., Нефёдов А.Н., Гордеев А.С., Килимник А.Б. Методы интенсификации технологических процессов экстрагирования биологически активных веществ из растительного сырья // Вестник ТГТУ. – 2005. – Т.11, № 3. – С. 701-707.

75 Кони́чев А.С., Баури́н П.В., Фе́доровский Н.Н., Мара́хова А.И., Яку́бович Л.М., Черни́кова М.А. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки». – 2011. – № 3. – С. 49-54.

77 Грабовский Р.И. Курс физики. Учеб. пособие для с/х ин-тов. – Изд. 4-е, перераб. и доп. – М.: «Высш. школа», 1974. – 552 с.

78 Azwanida N.N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation // Med. Aromat. Plants. – 2015. – № 4. – 196 p.

79 Зилфикаров И.Н., Челомбитько В.А., Алиев А.М. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами / под ред. В.А. Челомбитько. – Пятигорск, 2007. – 244 с.

80 Milan N. Sovilj. Critical review of supercritical carbon dioxide extraction of selected oil seeds // Acta Period. Technol. - 2010. – № 41. – P. 105-120.

81 Enma Conde, Andrés Moure, Herminia Domínguez. Supercritical CO₂ extraction of fatty acids, phenolics and fucoxanthin from freeze-dried *Sargassum muticum* // J. Appl. Phycol. – 2015. – № 27 (2). – P. 957-964.

82 Zhang Yu-hong, Yu Tao, Wang Yang. Extraction of betulin from bark of *Betula platyphylla* by supercritical carbon dioxide extraction // J.F. R. – 2003. – № 14(3). – P. 202-204.

83 Ponomareva E. I., Molohova E. I. Evaluation of the efficiency of supercritical carbon dioxide extraction for *Pelargonium graveolens* L'Her essential oil production // Russ. J. Phys. Chem. B+. – 2017. – № 11(8). – P. 1270-1275.

84 Nam Hung, Фахреев А.К., Билалов Т.Р., Шарафутдинов И.Р., Гумеров Ф.М., Габитов Ф.Р., Яруллин Р.С. Сверхкритический диоксид углерода в задаче улучшения потребительских свойств и экономических показателей производства и потребления зеленого вьетнамского чая // Вестник Казанского технологического университета. – 2008. – № 1. – С. 82-89.

85 Яруллин Л.Ю., Hung Truong Nam, Сагдеев А.А., Габитов Ф.Р., Каюмова В.А. Суб- и сверхкритические флюидные среды в пищевой, парфюмерной и фармацевтической отраслях промышленности // Вестник Казанского технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 8. – С. 30-35.

86 Устенова Г.О. Экстрагирование сжиженными газами: Учебное пособие / под ред. Г.О. Устенова. – Алматы: ТОО «Издательство «Экономика»», 2010. – 66 с.

87 Пат. 2017436 Российская Федерация, МКИ А 23 L 1/ 222, С 11 В 1/10. Способ получения экстракта из пряно-ароматического сырья / Касьянов Г.И., Квасенков О.И., Володзько Г.В.; заявитель и патентообладатель Всерос. науч.-исслед. ин-т консервной и овощесушильной промышленности. - № 4864343/13; заявл. 10.09.90; опуб. 15.08.94, Бюл. № 15 – 2 с.

88 Пат. 20003263 Российская Федерация, МКИ А 23 L 1/ 222. Способ получения экстракта из пряно-ароматического сырья / Касьянов Г.И.; заявитель и патентообладатель Всерос. науч.-исслед. ин-т консервной и овощесушильной промышленности. - № 5065633/13; заявл. 13.10.92; опубл. 30.11.93, Бюл. № 43 –

44. – 2 с.

89 Касьянов Г.И., Пехов А.В., Бессарабов В.И., Жидкая двуокись углерода как экстрагент душистых и биологически активных веществ растительного сырья. – Краснодар: Изд-во Краснодарское краевое правление НТО пищевой промышленности, 1980. – С. 26-30.

90 Рубчевская Л.П., Ушанова В.М. Журавлева Л.Н. Биологически активные вещества углекислотных и пропан-бутановых экстрактов древесной зелени // Журнал рос. хим. об-ва им. Д.И.Менделеева. – Москва, 2004. – Т. 48, № 3. – С. 80-83.

91 Patent CN206051975 (U) China, C11B1/10. Subcritical continuous extraction exsolution equipment / Qi Kun; applicant and patent holder Henan Yalinjie Biological Tech Co Ltd. - № CN201621095819U 20160930; 30.09.2016; Bibliographic data 29.03.2017. – 2 p.

92 Patent CN101642632 (A) China, B01D11/02 . Subcritical liquid extraction device and subcritical liquid extraction method of active ingredients of natural products / Ren Xiaofeng, Juan Feng, Song Jiang, Bin Xu, Zhu Xinliang, Ying Dong, Cai Jianrong; applicant and patent holder Jiangsu University; Anyang Mantian Snow Food Manufacturing Co., Ltd. - № CN2009134263 20090903; 03.09.2009; Bibliographic data 10.02.2010. – 2 p.

93 Букеева А.Б., Кудайбергенова С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений // Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2012. – №2. – С. 192-197.

94 Tyan Khayin, Chen Vey, Dong Yanjuan, Li Gozhen Khao Khuey, extraction technology in reducing tar and harmful components of tobacco leaf // Journal of Zhengzhou University of Light Industry, Natural Science Edition. – 2015. – Vol. 30(5/6). – P. 43-46.

95 Попова И.Ю. О применении сверхкритических углекислотных экстрактов из растительного сырья в качестве антиоксидантных добавок / И.Ю. Попова, Н.В. Сизова, А.Р. Водяник // Рынок БАД. – 2003. – № 4(12). – С. 20-22.

96 del Baño MJ, Lorente J, Castillo J, Benavente-García O, del Río JA, Ortuño A, Quirin KW, Gerard D. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity // J Agric Food Chem. – 2003. – Vol. 51 (15). – P. 4247-4253.

97 Байдалинова Л.С., Андропова С.В. Полиненасыщенные жирные кислоты рыбного сырья в технологии функциональных продуктов // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2014. – №3. – С. 11-20.

98 Талаб А.Р.С. Влияние добавок. Влияние добавок экстракта розмарина на сохраняемость рыбной колбасы / А.Р.С. Талаб, Е.Г. Хала // Естественные науки. – 2010. – №1 (30). – С. 48-58.

99 Van Pin, Yuy Shitao, Yan Yunpeng, Van Shan, Xiong Guo Xi. Optimization on extracting linalool from coriander Seed subcritical oil separated by molecular distillation // Journal of southern agriculture. – 2017. – Vol. 48(8). – P. 1483-1487.

100 Zangui, Ana B. At al. Subcritical extraction of *Salvia hispanical* oil with n-

propane. Composition, purity and oxidation. Stability as compared to the oils obtained by conventional solvent extraction methods // J.Braz. Chem. Soc. – 2015. – Vol. 26 (2) – P. 282-289.

101 Chia S.L., Boo H.C., Muhammad K., Sulaiman R., Umanan F., Chong G.H. Erratum to: effect of subcritical carbon dioxide extraction and bran stabilization methods on Rice Bran Oil // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2015. – Vol. 92 (7). – P. 1073-1073.

102 Vidović S., Mujić I., Zeković Z., Lepojević Ž., Milošević S., Jokić S. Extraction of fatty acids from *Boletus edulis* by subcritical and supercritical carbon dioxide // J. Am. Oil Chem. Soc., August 2011. – Vol. 88 (8). – P. 1189-1196.

103 Ibadullaeva G. S., Pichkhadze G. M., Ustenova G.O. Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus Calamus* obtained under subcritical conditions // Pharm. Chem. J. – 2015. – Vol. 49 (6). – P. 388-392.

104 Ермакова Ю.А., Бессмертная И.А. Использование СО₂-экстрактов из растительного сырья в технологии сушено-вяленой рыбной продукции // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2014. – № 1. – С. 1-8.

105 Пат. 2078574 Российская Федерация, МПК А61К35/32 Применение отходов фармацевтической переработки пантов в качестве сырья для производства гистолизата / Ярцев В.Г.; заявитель и патентообладатель Благовещенский сельскохозяйственный институт. - № 93025553/14; заявл. 27.04.1993; опубл. 10.05.1997. – 2 с.

106 Пат. 2248802 Российская Федерация, МПК 7А61 К35/32 Способ изготовления геля из пантов и отходов их фармацевтической переработки / Кулешов Р.С., Ярцев В.Г., Кулешов С.М.; заявитель и патентообладатель Дальневосточный государственный аграрный университет. - №2003113507/15; заявл. 07.05.2003; опубл. 20.11.2004, Бюл. № 9. – 2 с.

107 Землянская Н.И., Литвинова З.А. Влияние препарата пантолизат на иммунитет вакцинированных против сальмонеллёза телят // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – №7. – С. 51-53.

108 Беккер М.Е. Введение в биотехнологию. – Москва.: Изд-во «Пищевая промышленность», 1978. – 194 с.

109 Шелдон. Р.А. Каталитические превращения в воде и сверхкритическом диоксиде углерода с позиций концепции устойчивого развития // Российский химический журнал. – 2004. – № 6 (48). – С. 74-83.

110 Плотникова Л.В., Нечипоренко У.Ю. Плотникова Н.А., Успенская М.В., Ишевский А.Л. Оптические методы в исследовании масляных экстрактов и шротов растительного сырья // Науч. журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2017. – № 3. – С. 33-42.

111 Матвеева Т.В. Физиологически функциональные пищевые ингредиенты для хлебобулочных и кондитерских изделий: монография / Т.В. Матвеева, С.Я. Корячкина. – Орел: ФГБОУ ВПО «Госуниверситет – УНПК», 2012. – 947 с.

112 Барштейн В.Ю., Шульга С.М., Мельникова Н.В. Разработка безотходной технологии углекислотной экстракции // Тез. докл. 2-й Междунар.

конф. «Сотрудничество для решения проблемы отходов» (9-10 февраля, 2005) – Х.: ИД «ИНЖЭК», 2005. – С. 347-348.

113 Силыбаева Б.М., Байгана Ж.К., Карипбаева Н.Ш., Полевик П.П. Жоғары сатыдағы өсімдіктер систематикасы: оқу куралы. – Алматы: Print-S, 2012. – 615 б.

114 Дарбаева Т.Е. Өсімдіктер систематикасы: Жоғарғы оқу орнына арналған оқу құралы. – Орал: М.Өтемісов атындағы БҚМУ БАК және баспа орталығы, 2007. – 121 б.

115 Мурашкина И.А., Миревич В.М., Барданва В.И. Разработка методики количественного определения антиоксидантной активности суммарных фитопрепаратов // Инновационные технологии в фармации. Сб. науч. тр. / под ред. Е. Г. Горячкиной. – Иркутск: ИГМУ, 2016. – Вып. 3. – С. 164-167.

116 Кокорин А.М. Исследование тест реакций растительных и животных организмов для оценки степени загрязненности воды // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – М.: НИ «Институт стратегических исследований», 2016. – №12 (1). – С. 41-44.

117 Крылова И.Л., Шретер А.И. Методические указания по изучению запасов дикорастущих лекарственных растений. – М.: ВИЛАР, 1971. – 31 с.

118 Государственная Фармакопея Республики Казахстан. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2008. – Т. 1. – 592 с.

119 Государственная Фармакопея Республики Казахстан. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2009. – Т. 2. – 804 с.

120 Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. – М.: Изд-во Высшая школа, 1960. – 206 с.

121 Долгова А.А., Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. – М.: Изд-во Медицина, 1977. – 256 с.

122 Вехов В.Н., Лотова Л.И., Филин В.Р. Практикум по анатомии и морфологии высших растений. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 560 с.

123 Эзау К. Анатомия семенных растений. – М.: Изд-во Мир, 1980. – Т. 1. – 580 с.

124 Эзау К. Анатомия семенных растений. – М.: Изд-во Мир, 1980. – Т. 2. – 350 с.

125 Анели Н.А. Атлас эпидермы листа. – Тбилиси, 1975. – 108 с.

126 Лотова Л.И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений. – М., 2007. – 512 с.

127 Пермяков А.И. Микротехника. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 120 с.

128 Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений содержания металлов в твердых объектах методом спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. – Москва, 1998. – ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98.

129 Министерство по инвестициям и развитию Республики Казахстан «Экспортная продукция Казахстана». АО «Национальное агентство по экспорту и инвестициям «Kaznex invest», 2016. – С. 108-109.

130 Friedman H.L. Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry. Application to a phenolic plastic // J. Polym. Sci. Part C – 1964. – № 6. – P. 183-195.

131 Flynn Joseph H., Wall Leo A. A quick, direct method for the determination of activation energy from thermogravimetric data // J. Polym. Sci. Part B: Polymer Letters. – 1966. – № 4 (5). – P. 323-328.

132 Sempere J., Nomen R., Serra R. Progress in Non-parametric Kinetics // J. Therm. Anal. Calorim. – 1999. – № 56 (2). – P. 843-849.

133 Suleimenov E.M. Components of *Peucedanum morisonii* and their antimicrobial and cytotoxic activity // Chem. Nat. Compd. – 2009. – № 45 (5). – P. 710-711.

134 Durackova Z., Betina V., Hornikova B., Nemes P. Toxicity of mycotoxins and other fungal metabolites to *Artemia salina* larvae // Zentralbl. Bakteriол. Parasitnekd. Infektionskr. Hyg. Erste. Abt. Orig. Reihe. B. Hyg. Praev. Med. – 1977. – Vol. 132. – P. 294-299.

135 Reiss, J. Comparing investigations on the toxicity of some mycotoxins to the larvae of the brine shrimp (*Artemia salina* L.) // Zentralbl. Bakteriол. Parasitnekd. Infektionskr. Hyg. Erste. Abt. Orig. Reihe. B. Hyg. Praev. Med. – 1972. – Vol. 155. – P. 531-533.

136 Sisengalieva G.G., Suleimen E.M., Ishmuratova I.Yu., Iskakova Zh.B., Van Hecke K. Constituents of *Artemisia tschernieviana* and their biological activity // Chem. Nat. Compd. – 2015. – № 51 (3). – 544 p.

137 Жданова Г.О., Вятчина О.Ф., Бабин В.А., Стом Д.И., Федосеева Г.М. Использование *Saccharomyces cerevisiae* для оценки биологической активности лекарственных препаратов // Сиб. мед. журн. – 2013. – № 4. – С. 104-106.

138 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.12.1890 – 04: утв. 4 марта 2004 г. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.Г.Онищенко // <http://docs.cntd.ru/document/1200038583>.

139 Sawant O., Kadam V.J., Ghosh R. In vitro free radical scavenging and antioxidant activity of *Adiantum lunulatum* // Journal of Herbal Medicine and Toxicology. – 2009. – № 3 (2). – 39 p.

140 Korotkova E.I., Avramchik O.A., Angelov T.M. et al. Investigation of antioxidant activity and lipophilicity parameters of some preservatives // Electrochim. Acta. – 2005. – Vol. 51. – P. 324-332.

141 Мисин В.М., Сажина Н.Н., Короткова Е.И. Измерение антиоксидантной активности экстрактов смесей чая электрохимическими методами // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 137-143.

142 Кабжанова Н.М., Ишмуратова М.Ю., Жунусова М.А. Анатомическое строение скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой // Матер. респуб. науч.-практ. конф. студ., магистрантов, докторантов и молодых ученых (с междунар. участием) «Молодежь и глобальные проблемы современности». – Караганда, 2018. – Т. 3. – С. 142-145.

143 Zhunussova M.A., Ishmuratova M.Yu., Abdullabekova R.M., Zhuravel I.A. Comparative morphological analysis of raw material of *Scabiosa isetensis* and *S. ochroleuca* // Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология. Медицина. География». – Караганда, 2018. – № 1 (89). – С. 15-19.

144 Жунусова М.А., Ишмуратова М.Ю., Абдуллабекова Р.М. Анатомическое строение листа скабиозы исетской // Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям: матер. V Междунар. науч.-практ. интернет-конф. – Полтава, 2016. – С. 197-199.

145 Жунусова М.А., Ишмуратова М.Ю., Абдуллабекова Р.М. Анатомическое строение некоторых надземных органов скабиозы бледно-желтой // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине: матер. V науч.-практ. конф. – Москва, 2017. – С. 82-85.

146 Zhunussova M.A., Abdullabekova R.M., Zhuravel I.O. Analysis of medicinal plant raw material of *Scabiosa ochroleuca* L. // Modern science in Eastern Europe: Proceedings of XIII International scientific conference (December 22, 2017 yr.). - Morrisville, USA, 2017. – P. 100-104

147 Жунусова М.А. Получение углекислотного экстракта из *Scabiosa ochroleuca* // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Наука и образование в современном мире». – Караганда, 2017. – Т. 5. – С. 287-289.

148 Zhunussova M.A., Suleimen E. M., Iskakova Zh B., Ishmuratova M.Yu. and Abdullabekova R. M. Constituent composition and biological activity of CO₂ - extracts of *Scabiosa isetensis* and *S. ochroleuca* // Chem. Nat. Compd. – 2017. – Vol. 53 (4). – P. 775-777.

149 Zhunussova M.A., Ishmuratova M.Yu., Akhmetova S.B., Abdullabekova R. M., Suleimen E.M. Component composition and biological activity of the CO₂-extract of *Scabiosa ochroleuca* // «PhD day – 2016» abstract book Karaganda PhD medical science research group 1st annual meeting (December 9, 2016 yr.). – Karaganda, 2016. – 39 p.

150 Жунусова М.А., Ахметова С.Б., Кударина А.К., Абдуллабекова Р.М., Ишмуратова М.Ю. Углекислотные экстракты из растений семейства *Dipsacaceae* перспективные источники природных биологически активных веществ // Матер. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии». – Самарканд, 2016. – №3.1 (90). – 42 с.

151 Крылов В.А., Волкова В.В., Зайцев С.Д. Особенности газохроматографического определения эфиров о-фталевой кислоты в воде // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17, № 3. – С. 295-302.

152 Адеханова К.К. Метод спектрофотометрии в анализе сантонина // Вестник ЮКГМА, 2005. – №1-2 (22). – С. 172-174.

153 Пат. 94272 МЗ СССР. МПК: АА61К35/7861К35/78 Способ получения сантонина / Горяев М.И, Поляков П.П, Сазонова Р.Н.; опубл. 01.01.1952. – 1 с.

154 Пат. 79280 СССР. МПК: А61К 35/78 Применение технического сантонина в качестве антигельминтного средства / Фрайштат Д.М., Булгач С.А.; опубл. 01.01.1949. – 1 с.

155 Журба О.В., Дмитриев М.Я. Лекарственные, ядовитые и вредные растения. – М.: «Колосс», 2008. – 512 с.

156 Богма М.В., Половинко А.Е. Тяжелые металлы и качество лекарственного растительного сырья // Новая аптека. Эффективное управление. – 2010. – № 5. – С. 57-58.

157 Келимханова С.Е., Баелова А.Е., Кожамжанова А.С. Микроэлементный состав лекарственного растительного сырья – как показатель его качества // Вестник КазНМУ. – 2010. – №5. – С. 219-221.

158 Жунусова М.А., Голубев О.А., Кабиева С.К., Ибраев М.К., Абдуллабекова Р.М., Сарсенбекова А.Ж., Махмутова А.С. Определение тяжелых металлов в CO₂ – экстрактах методом инверсионной вольтамперометрии // Новости науки Казахстана. – 2017. – №3. – С. 156-165.

159 Захарова Э.А. и др. Определение тяжелых металлов в лекарственных средствах Алмагель и Алмагель А методом анодной инверсионной вольтамперометрии // Хим.-фарм. журнал. – 2002. – Т. 36. – С. 52-54.

160 Гончарова Н.В., Сячинова Н.В. Изучение свойств экстрактов сосны, полученных растворителями различной природы методом дифференциально-сканирующей калориметрии (ДСК) // Успехи современного естествознания. – 2017. – № 1. – С. 7-12.

161 Fedyukhin A.V., Maikov I.L., Sinelshchikov V.A. Comparison of kinetic models of biomass thermal decomposition // Book of abstracts of international conference on interaction of intense energy fluxes with matter. – Nalchik, 2011. – P. 114-115.

162 Wall Me et al. Singular value decomposition and principal component analysis // A practical approach to microarray data analysis. – 2003. – P. 91-109.

163 Albu P., Bolcu C., Vlase G. et al. Kinetics of degradation under non-isothermal conditions of a thermooxidative stabilized polyurethane // J. Therm. Anal. Calorim. – 2011. – № 105 (2). – P. 685-689.

164 Zhunussova M.A., Sarsenbekova A.Zh., Abdullabekova R.M., Figurinene I.V. Comparative analysis of thermal decomposition kinetics of carbon dioxide extract from *Scabiosa ochroleuca* L. and *Scabiosa isetensis* L. at different heating rates // Вестник Карагандинского университета, Серия «Химия». - Караганда, 2018. - № 3 (91). – С. 92 – 98.

165 Пухов С.А. Новые антинеопласты на основе сесквитерпеновых лактонов девясила высокого: дисс. ... к.х.н. – Черноголовка, 2016. – 138 с.

166 Arantes F.F.P., Barbosa L.C.A., Alvarenga E.S. et al. Synthesis and cytotoxic activity of α -santonin derivatives // Eur. J. Med. Chem. – 2009. – № 30. – P. 1-7.

167 Жунусова М.А., Сүлеймен Е.М., Искакова Ж.Б., Ишмуратова М.Ю., Абдуллабекова Р.М. Компонентный состав и биологическая активность CO₂-экстрактов *Scabiosa isetensis* и *S. ochroleuca* // Химия природ. соед. – 2017. – № 4. – С. 659-660.

168 Вятчина О.Ф., Жданова Г.О., Стом Д.И. Некоторые особенности реакции пенообразования в суспензии сахаромицетов // Сиб. мед. журн. – 2010. – № 2. – С. 34-36.

169 Вятчина О.Ф., Жданова Г.О., Стом Д.И., Толстой М.Ю. Пенообразующая активность *Saccharomyces cerevisiae* как новая тест-реакция для биотестирования солей тяжелых металлов // Междунар. науч.-исследовательский журнал, 2017. – № 4 (58). - Ч. 1. – С. 14-18.

170 Турсынова Ш.Б., Абдуллабекова Р.М., Жунусова М.А., Жунусов Е.С.

Исследование возможности применения углекислотного экстракта из травы *Scabiosa ochroleuca* L. в дерматологии // Сб. науч. трудов XXX Междунар. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы современной науки»: Санкт-Петербург–Астана–Киев–Вена, 30 мая 2018. – С. 66-68.

171 Зенков Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / под ред. Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова, А.Е. Просенко. – Новосибирск: СО РАМН, 2003. – 328 с.

172 Самусенко А.Л. Исследование антиоксидантной активности эфирных масел лимона, розового грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей методом капиллярной газовой хроматографии // Химия растительного сырья. – 2011. – №3. – С. 107-112.

173 Шарова Е.И. Антиоксиданты растений: учеб. пособие. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2016. – 140 с.

174 Короткова Е.И. Вольтамперометрический метод определения суммарной активности антиоксидантов в объектах искусственного и природного происхождения: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук: 02.00.02. – Томск, 2009. – 368 с.

175 Скуг Д., Уэст Д. Основы аналитической химии / Пер. с англ. под ред. Ю.А.Золотова. – М.: Мир, 1979. – 69 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Патент Республики Казахстан на изобретение № 33430



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**

№ 33430

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2017/0665.1

(22) 11.08.2017

Қазақстан Республикасы өнертабыстары мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Inventions of the Republic of Kazakhstan: 30.01.2019

(54) Микробқа қарсы белсенділігі бар *Scabiosa ochroleuca* (L.) өсімдігінің CO₂-сығындысын алу тәсілі
Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa ochroleuca* (L.), обладающего противомикробной активностью
Method of obtaining CO₂ extract from *Scabiosa ochroleuca* (L.) having antimicrobial activity

(73) Жунусова Майра Абыловна (KZ)
Zhunussova Maira Abylovna (KZ)

(72) Жунусова Майра Абыловна (KZ) Zhunussova Maira Abylovna (KZ)
Ишмурагова Маргарита Юлаевна (KZ) Ishmuratova Margarita Yulayevna (KZ)
Абдуллабекова Раиса Мусулманбековна (KZ) Abdullabekova Raisia Musulmanbekovna (KZ)




«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of RSE «National institute of intellectual property»

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Патент Республики Казахстан на изобретение № 33431


ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**
№ 33431

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION

 (21) 2017/0666.1
(22) 11.08.2017

Қазақстан Республикасы өнертабыстары мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Inventions of the Republic of Kazakhstan: 30.01.2019

(54) Цитоуытты белсенділігі бар *Scabiosa isetensis* (L.), өсімдігінің сығындысын алу тәсілі
Способ получения CO2-экстракта из *Scabiosa isetensis* (L.), обладающего цитотоксической активностью
Method of obtaining CO2-extract from *Scabiosa isetensis* (L.) A. Love Et D. Love (mourning bridle) having cytotoxic activity

(73) Жунусова Майра Абыловна (KZ)
Zhunussova Maira Abylovna (KZ)

(72) Жунусова Майра Абыловна (KZ) Zhunussova Maira Abylovna (KZ)
Ишмуратова Маргарита Юлаевна (KZ) Ishmuratova Margarita Yulayevna (KZ)
Абдуллабекова Раиса Мусулманбековна (KZ) Abdullabekova Raisa Musulmanbekovna (KZ)

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of RSE «National institute of intellectual property»

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Отчет по определению распространения и сырьевых запасов на *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Центрального Казахстана

ОТЧЕТ

по определению распространения и сырьевых запасов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Центрального Казахстана

Определение ресурсов растений рода скабиоза вели в 2016-2017 гг. маршрутно-рекогносцировочным методом с закладкой учетных площадок. Количество площадок по 1 кв.м варьировало от 30 до 50 штук. С каждой площадки срезали сырье, взвешивали на воздушно-сухой вес. При оценке запасов учитывали только хорошо развитые особи скабиозы в генеративной фазе. Среднюю величину веса с 1 кв.м пересчитывали на урожайность в кг/га. Площадь зарослей скабиозы определяли путем приравнивания сторон к геометрической фигуре, измеряли шагомером стороны фигуры и высчитывали ее площадь. Расчет эксплуатационного запаса проводили путем умножения площади заросли на урожайность, объем возможного сбора – как 40-45 % от эксплуатационного запаса.

Анализ распространения проводили на основе доступных литературных источников и результатов собственных многолетних полевых обследований. Скабиоза исетская и скабиозы бледно-желтая широко распространены на территории Центрального Казахстана, образуя заросли, пригодные для заготовки сырья.

Заросли скабиозы бледно-желтой отмечены на территории Корнеевских лесов, в горах Улытау и в горах Буйратау, входя в состав злаково-разнотравного, скабиозово-разнотравного и разнотравно-кустарникового сообщества. Общей проективное покрытие составило от 80 до 90 %.

В злаково-разнотравном сообществе (Корнеевские леса) доминирует *Calamagrostis epigeios*, субдоминант – *Scabiosa ochroleuca*. Видовой состав сообщества оценен в 20-25 видов. Урожайность надземных органов составила 250 кг сухого сырья на 1 га (таблица 1, рис. 1).

Таблица 1. Урожайность и сырьевые запасы скабиозы бледно-желтой на территории Центрального Казахстана

сообщество	место обитания	урожайность, кг/га	площадь, га	эксплуатационный запас, ц	объем ежегодного возможного сбора сырья, ц
злаково-разнотравное	Корнеевские леса	250±5	12,5	31,25	18,75
скабиозово-разнотравное	горы Улытау	312±11	22,4	69,89	41,93
разнотравно-кустарниковое	горы Буйратау	350±15	20,8	72,80	43,68
ИТОГО:			55,7	173,94	104,36

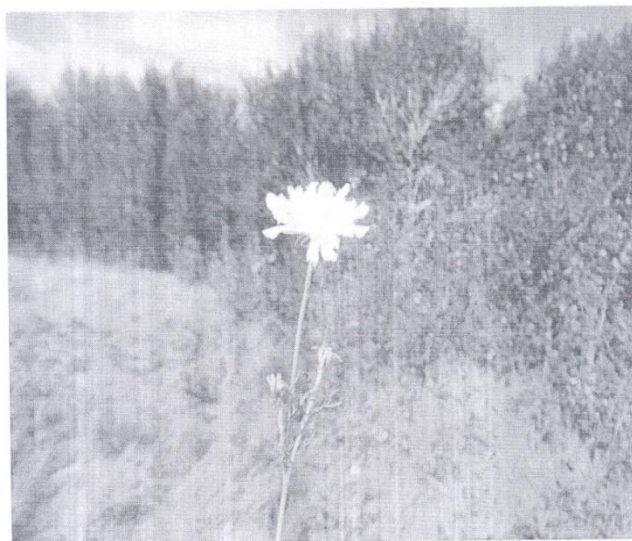


Рисунок 1. Цветущий побег скабиозы бледно-желтой в Корнеевских лесах

Площадь зарослей оценена в 12,5 га. Эксплуатационный запас составил 31,25 ц, а объем возможного сбора – 18,75 ц.

Скабиозово-разнотравные сообщества описаны на территории гор Улытау, подгорные равнины с остепненными лугами. Доминирует в сообществе скабиоза бледно-желтая. Видовой состав оценен в 25-27 видов.

Совокупная площадь сообществ составила 22,4 га при средней урожайности 312 кг/га воздушно-сухого сырья (таблица 1). Эксплуатационный запас сырья надземных органов составил 69,89 ц при объеме возможного сбора – 41,93 ц.

Разнотравно-кустарниковые сообщества выявлены на территории гор Буйратау на равнинных и предгорных участках на площади 20,8 га. Доминантом в сообществе является таволга звербобовая, содоминант – солонечник татарский. Урожайность сырья в данной точке оказалась максимальной – 350 кг/га. Эксплуатационный запас составил 72,80 ц, а объем возможного сбора – 43,68 ц.

Таким образом, общая площадь выявленных зарослей с участием скабиозы бледно-желтой составила 55,7 га при эксплуатационном запасе 173,94 ц, объем возможного сбора сырья – 104,36 ц.

Для скабиозы исетской значительные заросли отмечены в горах Улытау (рис. 2) и Буйратау на сухих каменистых участках и склонах мелкосопочника. Иногда места произрастания обоих видов могут пересекаться.

Отмечены скабиозово-типчаково-разнотравные и злаково-разнотравные сообщества с участием *Scabiosa isetensis*. Общее проективное покрытие варьировало от 60 до 75 %, видовой состав 18-20 видов.



Рисунок 2. Скабиоза исетская в горах Улытау

В скабиозово-типчаково-разнотравном сообществе на территории гор Улытау доминирует *Festuca valesiaca*, содоминант – *Scabiosa isetensis*. Площадь зарослей оценена в 18,2 га при урожайности 285 кг/га воздушно-сухого сырья (таблица 2).

Таблица 2. Урожайность и сырьевые запасы скабиозы исетской на территории Центрального Казахстана

сообщество	место обитания	урожайность, кг/га	площадь, га	эксплуатационный запас, ц	объем ежегодного возможного сбора сырья, ц
скабиозово-типчаково-разнотравное	горы Улытау	285±12	18,2	51,87	31,12
злаково-разнотравное	горы Буйратау	310±15	11,6	35,96	21,58
ИТОГО:			29,8	87,83	52,70

Эксплуатационный запас сырья определен в 51,87 ц при объеме возможного сбора сырья 31,12 ц.

В горах Буйратау скабиоза исетская обитает в составе злаково-разнотравного сообщества. Доминируют в сообществе ковыль перистый и житняк гребенчатый, содоминант – скабиоза исетская. Урожайность сырья

составла 310 кг/га, эксплуатационный запас оценен в 35,96 ц при объеме возможного сбора сырья 21,58 ц.

Таким образом, совокупная площадь зарослей скабиозы исетской составила 87,83 ц, а объем возможного сбора сырья рассчитан на уровне 52,70 ц.

Профессор кафедры ботаники
Карагандинского государственного
университета имени академика
Е.А. Букетова, к.б.н., ассоц.проф.



М.Ю. Ишмуратова

Старший преподаватель
кафедры фармацевтических
дисциплин и химии
Карагандинского государственного
медицинского университета

 М.А. Жунусова

Профессор кафедры фармацевтических
дисциплин и химии
Карагандинского государственного
медицинского университета, д.фарм.н.



Р.М. Абдуллабекова

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Аналитический нормативный документ на лекарственное растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love)

УТВЕРЖДЕН

ТОО «ВиваФарм»

Руководитель испытательной
лаборатории _____ М.А.Гуржина
«18» _____ 2018 г.



АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного препарата

Scabiosa ochroleuca (L.) A. Love et D. Love)

Бозсары қотырот

Скабиоза бледно-желтая

Лекарственное растительное сырье

Наименование и страна организации-производителя

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

АНД РК 42-

Срок введения установлен с
«__» _____ 20__ г.

Вводится впервые

Срок действия до
«__» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Аналитический нормативный документ на лекарственное растительное сырье *Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love)

УТВЕРЖДЕН

ТОО «ВиваФарм»

Руководитель испытательной

лаборатории _____ М.А.Гуржина

«16» _____ 2018 г.



АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного препарата

Scabiosa isetensis L. A. Love et D. Love

Исет котыроты

Скабиоза исетская

Лекарственное растительное сырье

Наименование и страна организации-производителя

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

Наименование и страна организации-унаковщика

ТОО «ВиваФарм», Казахстан

АНД РК 42-

Срок введения установлен с

«___» _____ 20__ г.

Вводится впервые

Срок действия до

«___» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Аналитический нормативный документ на CO₂ - экстракт скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

УТВЕРЖДАЮ

Ректор РГП на ПХВ «Карагандинский
государственный медицинский
университет»

« 15 » « 08 » 2018 г.

Р.С. Досмагамбетова



АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного препарата

Carbo dioxide extractum of *Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love)

Бозсары қотыроттың көмірқышқыл сығындысы

Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный

Лекарственная субстанция растительного происхождения

Наименование и страна организации-производителя

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

АНД РК 42-

Срок введения установлен с

« ____ » _____ 20__ г.

Вводится впервые

Срок действия до

« ____ » _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Аналитический нормативный документ на CO₂ - экстракт скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

УТВЕРЖДАЮ
Ректор РГП на ПХВ «Карагандинский
государственный медицинский
университет»

Р.С. Досмагамбетова
«25» 06 2018 г.



АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного препарата

Carbo dioxide extractum of *Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love)

Исет қотыроттың көмірқышқыл сығындысы

Скабиозы исетской экстракт углекислотный

Лекарственная субстанция растительного происхождения

Наименование и страна организации-производителя

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

АНД РК 42-

Срок введения установлен с
«___» _____ 20__ г.

Вводится впервые

Срок действия до
«___» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

А.С. Досмагамбетова

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Опытно-промышленный регламент на производство CO₂ - экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

Товарищество с ограниченной ответственностью
ФИТО-АРОМАТ

УТВЕРЖДАЮ

Директор ТОО «ФИТО - АРОМАТ»

Б.М. Проскурин

«01» 2018 г.



ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ на производство CO₂ - экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

Согласовано
Директор ТОО «ФИТО - АРОМАТ»

«08» 2018 г. Б.М. Проскурин

Рекомендовано к утверждению
Начальник производства

«01» 2018 г. Б.М. Проскурин

Разработчики:

Научный консультант:
Профессор кафедры фармацевтических дисциплин и химии, д.фарм.н.

Р.М. Абдуллабекова

Исполнитель:
Старший преподаватель кафедры фармацевтических дисциплин и химии, докторант PhD

М.А. Жунусова

Старший преподаватель кафедры фармацевтических дисциплин и химии, докторант PhD

Ш.Б. Турсынова



КАРАГАНДА 2018

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Опытно-промышленный регламент на производство CO₂-экстракта скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

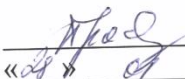
Товарищество с ограниченной ответственностью
ФИТО-АРОМАТ

УТВЕРЖДАЮ
Директор ТОО «ФИТО - АРОМАТ»
Б.М. Проскурин
«28» 01 2018 г.




ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ на производство CO₂-экстракта скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях

Согласовано
Директор ТОО «ФИТО - АРОМАТ»

 Б.М. Проскурин
«28» 01 2018 г.

Рекомендовано к утверждению
Начальник производства

 Б.М. Проскурин
«28» 01 2018 г.

Разработчики:

Научный консультант:
Профессор кафедры фармацевтических
дисциплин и химии, д.фарм.н.

 Р.М. Абдуллабекова

Исполнитель:
Старший преподаватель кафедры
фармацевтических дисциплин и химии,
докторант PhD

 М.А. Жунусова

Старший преподаватель кафедры
фармацевтических дисциплин и химии,
докторант PhD

 Ш.Б. Турсынова




ПРИЛОЖЕНИЕ Л

Акт внедрения результатов НИР в учебный процесс

Утверждаю

Декан биолого-географического
факультета КарГУ им. академика Е.А.
Букетова

 С.А. Талжанов
«08» июля 2018 г.

АКТ

о внедрении результатов НИР в учебный процесс, деятельность организаций и предприятий

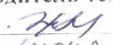
Мы, нижеподписавшиеся, представители кафедры фармацевтических дисциплин Карагандинского государственного медицинского университета и представители КарГУ имени академика Е.А. Букетова, составили настоящий акт о том, что результаты научно-исследовательской работы по фармакогностическому изучению надземных органов *Scabiosa isetensis* и *Scabiosa ochroleuca* внедрены в учебный процесс кафедры ботаники по дисциплине «Фармакогнозия» для студентов специальности 5В070100 – «Биотехнология».

Использование указанных результатов позволяет:

1. Повысить уровень подготовки специалистов в области ботаники и фармакогнозии (для казахского и русского отделения);
2. Расширить сведения по ассортименту новых лекарственных растений Казахстана;
3. Выполнять научные исследования, связанные с определением и описанием растений.

От КГМУ

Руководитель темы:

 М.А. Жунусова
«08» июля 2018 г.

Исполнители:

 М.А. Жунусова
 Р.М. Абдуллаева

От КарГУ им.акад. Е.А. Букетова:


Декан биолого-географического
факультета КарГУ им.акад.Е.А.
Букетова

 С.А. Талжанов
«08» июля 2018 г.

Зав.кафедрой ботаники

 А.К. Ауельбекова
«08» июля 2018 г.

Профессор кафедры ботаники

 М.Ю. Ишмуратова
«08» июля 2018 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ М

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в ТОО «ФИТО-АРОМАТ»

УТВЕРЖДАЮ

Директор ТОО «ФИТО-АРОМАТ»

Б.М. Проскурин

«05» 05 2018



АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы по теме диссертации: «Фармацевтическая разработка лекарственных средств из растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.»

ТОО «ФИТО-АРОМАТ»

(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: Внедрение результатов научно-исследовательской работы по теме диссертации: «Фармацевтическая разработка лекарственных средств из растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.»

Автор: Исполнитель Жунусова М.А., Турсынова Ш.Б., Абдуллабекова Р.М.

Форма внедрения: Получение в докритических условиях CO₂-экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Эффективность внедрения: Подбор оптимальных условий (температура, давление) экстрагирования с достижением максимального выхода экстракта.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрение:

Нет

Срок внедрения 1 месяц 2018г.

Ответственный за внедрение: [Signature] Директор ТОО «Фито - Аромат»
Б.М. Проскурин

ПРИЛОЖЕНИЕ Н

Справка с НЦГНТЭ о наличии публикации в базе Thomson Reuters

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БҒЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІ
ҮМЕТСО АҚ
«ҰЛТТЫҚ МЕМЛЕКЕТТІК ҒЫЛЫМИ-
ТЕХНИКАЛЫҚ САРАПТАМА ОРТАЛЫҒЫ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫНЫҢ
ҚАРАҒАНДЫ ФИЛИАЛЫ



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КОМИТЕТ НАУКИ
АО НЦГНТЭ
КАРАГАНДИНСКИЙ ФИЛИАЛ
АКЦИОНЕРНОГО ОБЩЕСТВА
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ГОСУДАРСТВЕННОЙ
НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ»

100008, Қазақстан Республикасы
Қарағанды қ., Бейбітшілік даңғылы, 30
Тел.: +7 (7212) 56-10-19, 56-30-03
Email: karenti@mail.ru http://www.inti.kz

100008, Республика Казахстан
г. Караганда, Бульвар Мира, 30
Тел.: +7 (7212) 56-10-19, 56-30-03
Email: karenti@mail.ru http://www.inti.kz

06.06.2019 г. № 41С

Докторанту НАО «МУК»
Жунусовой М.А.

Карагандинский филиал АО «Национальный центр государственной научно-технической экспертизы» предоставляет информацию о наличии публикации докторанта PhD **Жунусовой Майры Абыловны** в журнале «**Chemistry of Natural Compounds**» (United States), ISSN: 0009-3130, **CiteScore** 2016 года равен **0.43**, входит в базу данных **Scopus** с 1965 по настоящее время и **Web of Science** с 1999 по настоящее время, имеет **импакт-фактор** за 2016 год, равный **0.46**.

Предметная область – **сельскохозяйственные и биологические науки.**

Статья **Жунусовой М.А.:**

Zhunusova M.A., Suleimen E.M., Iskakova Z.B., Ishmuratova M.Y., Abdullabekova R.M. Constituent Composition and Biological Activity of CO₂-Extracts of *Scabiosa isetensis* and *S. ochroleuca* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2017. – Vol. 53. – Iss.4. – P. 775-777.

Статья **выявлена** в базах **Scopus** и **Web of Science Core Collection** (Clarivate Analytics).

И.о. директора
КФ АО НЦГНТЭ

Г.М. Смагулова

ПРИЛОЖЕНИЕ П

Паспорт штамма *Staphylococcus aureus* из коллекции микроорганизмов

ПАСПОРТ

штамма, выдаваемого из коллекции микроорганизмов

1. Коллекционный номер штамма: В-РКМ -0586.
2. Наименование штамма: *Staphylococcus aureus* 1518
3. Назначение штамма: Определение гемолитической активности.
4. Особенности штамма (генетические маркеры; продуктивность;) не известен
5. Условия культивирования (состав среды, температура и др.): Среда СПА
6. Условия хранения:
Хранение на скошенном агаре СПА инкубация 24 часа 37°C факультативный анаэробные условия.
7. Условия ферментации штамма:
Выращивают на среде : СПА 24ч.
8. Условия использования штамма: Посев на среды.

Руководитель коллекции
микроорганизмов


(подпись)

Абжалелов А.Б.
(Ф.И.О.)

МНС Центрального музея
культур микроорганизмов


(подпись)

Ескараева А.А.
(Ф.И.О.)

25.04.17.



ПРИЛОЖЕНИЕ Р

Паспорт штамма *Escherichia coli* из коллекции микроорганизмов

ПАСПОРТ

штамма, выдаваемого из коллекции микроорганизмов

1. Коллекционный номер штамма: В-RKM -0524.
2. Наименование штамма: *Escherichia coli* BL/Pet 32/VP1
3. Назначение штамма: Рекомбинантной VP1 белок вируса ящура типа 0.
4. Особенности штамма (генетические маркеры; продуктивность;) продукция VP1 белка вируса типа Азия определяется электрофорезом с СДС полиакриломедном геле. Молекулярная масса антигена 45кДа; специфичность полученных антигенов определяется в иммуноферментном анализе.
5. Условия культивирования (состав среды, температура и др.):
Среда СПА
6. Условия хранения:
Хранение на скошенном агаре LB инкубация 24 часа 37°C факультативный анаэробные условия.
7. Условия ферментации штамма:
Выращивают на среде : LB 24ч.
8. Условия использования штамма: Посев на среды.

Руководитель коллекции
микроорганизмов


(подпись)

Абжалалов А.Б.
(Ф.И.О.)

МНС Центрального музея
культур микроорганизмов


(подпись)

Ескараева А.А.
(Ф.И.О.)

25.04.17.



ПРИЛОЖЕНИЕ С

Паспорт штамма *Candida albicans* из коллекции микроорганизмов

ПАСПОРТ штамма, выдаваемого из коллекции микроорганизмов

1. Коллекционный номер штамма: Y-RKM -0475
2. Наименование штамма: *Candida albicans* АТТС-885-653
3. Назначение штамма: не известен
4. Особенности штамма (генетические маркеры; продуктивность; не известен
5. Условия культивирования (состав среды, температура и др.): Среда Сабуро
6. Условия хранения:
Хранение на скопленном агаре Сабуро-агар пересев 1р./3мес +4⁰С при температуре инкубации 30⁰С 24-48 ч.
7. Условия ферментации штамма:
Выращивают на жидкой среде Сабуро: 30 °С - 48-24 ч.
8. Условия использования штамма: Посев на среды.

Руководитель коллекции
микроорганизмов


(подпись)

Абжалелов А.Б.
(Ф.И.О.)

МНС Центрального музея
культур микроорганизмов


(подпись)

Гскараева А.А.
(Ф.И.О.)

25.04.17.



ПРИЛОЖЕНИЕ Т

Заключение о видовой принадлежности растительного сырья скабиозы бледно-желтой (Карагандинская область)

Заключение о видовой принадлежности растительного сырья

На основании анализа предоставленного М.А. Жунусовой сырья лекарственного растения, собранного 30 июля 2016 г. в Керней ауылы Бухар-жырауского района Карагандинской области, – подтверждаю, что эти образцы действительно являются скабиозой бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.).

Доктор биологических наук,
профессор кафедры ботаники

НИ ТГУ

11.01.2018 г.



634050, Россия, г. Томск, просп. Ленина, 36
Национальный исследовательский Томский
государственный университет,
Биологический институт

ПРИЛОЖЕНИЕ У

Заключесние о видовой принадлежности растительного сырья скабиозы исетской (Карагандинская область)

СПРАВКА ПО ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ СЫРЬЯ

Для определения видовой принадлежности был представлен образец сырья и гербарный материал, собранные в горах Улытау (Улытауский район Карагандинской области) в 1 декаде августа 2016 года.

На основании определения данного растения подтверждаем, что оно является видом – скабиоза исетская (*Scabiosa isetensis* L.) семейства Ворсянковые (*Dipsacaceae*). Представленный для определения образец также подтвержден типовым гербарием из гор Буйратау (Буйратауский национальный государственный природный парк, Осакаровский район, Карагандинская область). Код типового образца – 2013.07.20.06.04.

Зав.кафедрой ботаники
КарГУ им.академика
Е.А. Букетова, к.б.н.



А.К. Ауельбекова

«15» 09 2016 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ Ф

Акт по определению микробиологической чистоты ЛРС *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.



АКТ

результатов выполненных работ в учебной микробиологической лаборатории по ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ НЕСТЕРИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ на базе кафедры микробиологии КГМУ.

Объекты исследований: Лекарственное растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. – «1» и *Scabiosa isetensis* L. – «2».

Цель работы: изучить микробиологическую чистоту лекарственного растительного сырья семейства Dipsacaceae: *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Материалы и методы исследований:

Образцы отбирали в случайном порядке из упаковок, в соответствии с требованиями Государственной Фармакопея РК 1 г. испытуемого лекарственного средства растворили в горячей стерилизованной дистиллированной воде. Как правило, использовали разведение 1:10. Затем испытания проводили по показателям «Микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (определение общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов)» и «Микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (испытание на отдельные виды микроорганизмов)» по методике (Метод глубинного посева) описанной Государственной Фармакопея РК. Анализы были выполнены на кафедре микробиологии КГМУ. Данные испытаний ЛРС по микробиологическим показателям должны быть максимально точными и надёжными. Выполняя исследование нами, учитывался риск получения ложных микробиологических результатов при контроле качества лекарственных средств. Соблюдали стерильные и асептические условия.

Результаты исследования: Результаты представлены в таблице.

Образец ЛРС	общее число аэробных бактерии (в 1 г) норма – не более 10^7	Грибы (в 1 г) норма - не более 10^5	<i>Escherichia coli</i> (в 1 г) норма - не более 10^2
«1»	$1,0 \cdot 10^2$	рост не обнаружен	рост не обнаружен
«2»	$1,0 \cdot 10^2$	рост не обнаружен	рост не обнаружен

Выводы: как следует из данных, представленных в таблице, все изученные образцы сырья соответствуют нормативным требованиям по показателю микробиологической чистоты (категория 4А).

Исполнитель: _____ зав.кафедрой микробиологии Ахметова С.Б.

КГМУ КБ бастырма
Начальник ОК КГМУ

ПРИЛОЖЕНИЕ X

Протокол радиологических испытаний скабиозы бледно-желтой

	100006 Карагандинский Бейбітшілік бульвары 12 БСН 920 540 000 504 СТН 302 000 013 220 БСК НСВМҚЗЖК АҚ КҰБ KZ 726 010 191 000 015 428		100006 Карагандин Бульвар Мира, 12 (офис 104) БИН 920 540 000 504 РІН 302 000 013 220 БІК НСВМҚЗЖК АҚ КҰБ KZ 726 010 191 000 015 428																
Аттестат аккредитации № КЗ.И.10.0716 от 10.04.2015г. Тел (7212)42-08-24 факс (7212) 42-56-17 E-mail: <info@isoexpert.kz>																			
ПРОТОКОЛ РАДИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ № 1815																			
от «15» декабря 2017 г.																			
			Всего листов Лист 1																
Завка	№ 933 от 04.12.2017г.																		
Наименование продукции	Растение, надземная часть, <i>Scabiosa ochroleuca</i> семейства Dipsacaceae																		
Заявитель (адрес)	ч.п. Жунусова М.А.																		
Страна (фирма, предприятие) изготовитель	Республика Казахстан																		
Дата поступления образцов	04.12.2017г.																		
Дата проведения испытаний	12.12.2017г.																		
Количество образцов	1																		
Обозначение НД на продукцию	ГН «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности», № 155 от 27.02.2015г.																		
Вид испытаний	Контрольные																		
Регистрационный номер	933																		
Условия проведения испытаний: температура, 22° С; влажность, 47%																			
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">Наименование показателей, Единица измерения</th> <th style="width: 25%;">НД на методы испытаний</th> <th style="width: 25%;">Нормы по НД</th> <th style="width: 25%;">Фактически полученные данные</th> </tr> <tr> <th style="text-align: center;">1</th> <th style="text-align: center;">2</th> <th style="text-align: center;">3</th> <th style="text-align: center;">4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Содержание Cs-137 Бк/кг</td> <td>KZ 07.00.03126-2015</td> <td>200 Бк/кг</td> <td>4,8 Бк/кг</td> </tr> <tr> <td>Содержание Sr-90 Бк/кг</td> <td>KZ 07.00.03125-2015</td> <td>100 Бк/кг</td> <td><6 Бк/кг</td> </tr> </tbody> </table>				Наименование показателей, Единица измерения	НД на методы испытаний	Нормы по НД	Фактически полученные данные	1	2	3	4	Содержание Cs-137 Бк/кг	KZ 07.00.03126-2015	200 Бк/кг	4,8 Бк/кг	Содержание Sr-90 Бк/кг	KZ 07.00.03125-2015	100 Бк/кг	<6 Бк/кг
Наименование показателей, Единица измерения	НД на методы испытаний	Нормы по НД	Фактически полученные данные																
1	2	3	4																
Содержание Cs-137 Бк/кг	KZ 07.00.03126-2015	200 Бк/кг	4,8 Бк/кг																
Содержание Sr-90 Бк/кг	KZ 07.00.03125-2015	100 Бк/кг	<6 Бк/кг																
Протокол распространяется только на образцы, подвергнутые испытанию.																			
Начальник ИЦ - ответственный за подготовку протокола испытаний			П.С. Тимошенко																
Исполнитель			Р.ИИ. Хер																
																			
Запрещается частичная перепечатка протокола без разрешения испытательного центра																			

ПРИЛОЖЕНИЕ Ц

Протокол радиологических испытаний скабиозы исетской

 KZ.T.10.0716	100008 Караганды қаласы Бейбітшілік бульвары, 12 БСН 920 540 000 504 СТН 302 000 013 220 БСК HSBKQZKX AҚ ҚХБ KZ 726 010 191 000 015 428	 Эксперт	100008 г. Караганда Бульвар Мира, 12 (офис 16а) БИН 920 540 000 504 РНН 302 000 013 220 БИК HSBKQZKX AҚ ҚХБ KZ 726 010 191 000 015 428																																										
Аттестат аккредитации № KZ.T.10.0716 от 10.04.2015г. Тел (7212) 42-08-24 факс (7212) 42-56-17 E-mail: <info@ecsexpert.kz>																																													
<h3>ПРОТОКОЛ РАДИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ № 1211</h3> <p style="text-align: center;">от «29» августа 2018 г.</p> <p style="text-align: right;">Всего листов: 1 Лист: 1</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">Заявка</td> <td style="width: 50%;">от 20.08.2018г.</td> </tr> <tr> <td>Наименование продукции</td> <td>Растение, <i>Scabiosa isetensis</i> L. (скабиоза исетская)</td> </tr> <tr> <td>Заявитель (адрес)</td> <td>ч.л. Жунусова М.А.</td> </tr> <tr> <td>Страна (фирма, предприятие) изготовитель</td> <td>Республика Казахстан</td> </tr> <tr> <td>Дата поступления образцов</td> <td>20.08.2018г.</td> </tr> <tr> <td>Дата проведения испытаний</td> <td>28.08.2018г.</td> </tr> <tr> <td>Количество образцов</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Обозначение НД на продукцию</td> <td>ГН «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности», № 155 от 27.02.2015г.</td> </tr> <tr> <td>Вид испытаний</td> <td>Контрольные</td> </tr> <tr> <td>Регистрационный номер</td> <td>639</td> </tr> </table> <p>Условия проведения испытаний: температура, 20°С; влажность, 52%</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>Наименование показателей, Единица измерения</th> <th>НД на методы испытаний</th> <th>Нормы по НД</th> <th>Фактически полученные данные</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Содержание Cs-137 Бк/кг</td> <td>KZ 07.00.03126-2015</td> <td>200 Бк/кг</td> <td><7 Бк/кг</td> </tr> <tr> <td>Содержание Sr-90 Бк/кг</td> <td>KZ 07.00.03125-2015</td> <td>100 Бк/кг</td> <td><13 Бк/кг</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">Протокол распространяется только на образцы, подвергнутые испытаниям.</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 40%;">Начальник ИЦ - ответственный за подготовку протокола испытаний</td> <td style="width: 20%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%; text-align: right;">И.С. Тимошенко</td> </tr> <tr> <td>Исполнитель</td> <td></td> <td style="text-align: right;">П.Н. Медведев</td> </tr> </table> <p style="text-align: center; font-weight: bold;">Запрещается частичная перепечатка протокола без разрешения испытательного центра</p>				Заявка	от 20.08.2018г.	Наименование продукции	Растение, <i>Scabiosa isetensis</i> L. (скабиоза исетская)	Заявитель (адрес)	ч.л. Жунусова М.А.	Страна (фирма, предприятие) изготовитель	Республика Казахстан	Дата поступления образцов	20.08.2018г.	Дата проведения испытаний	28.08.2018г.	Количество образцов	1	Обозначение НД на продукцию	ГН «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности», № 155 от 27.02.2015г.	Вид испытаний	Контрольные	Регистрационный номер	639	Наименование показателей, Единица измерения	НД на методы испытаний	Нормы по НД	Фактически полученные данные	1	2	3	4	Содержание Cs-137 Бк/кг	KZ 07.00.03126-2015	200 Бк/кг	<7 Бк/кг	Содержание Sr-90 Бк/кг	KZ 07.00.03125-2015	100 Бк/кг	<13 Бк/кг	Начальник ИЦ - ответственный за подготовку протокола испытаний		И.С. Тимошенко	Исполнитель		П.Н. Медведев
Заявка	от 20.08.2018г.																																												
Наименование продукции	Растение, <i>Scabiosa isetensis</i> L. (скабиоза исетская)																																												
Заявитель (адрес)	ч.л. Жунусова М.А.																																												
Страна (фирма, предприятие) изготовитель	Республика Казахстан																																												
Дата поступления образцов	20.08.2018г.																																												
Дата проведения испытаний	28.08.2018г.																																												
Количество образцов	1																																												
Обозначение НД на продукцию	ГН «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности», № 155 от 27.02.2015г.																																												
Вид испытаний	Контрольные																																												
Регистрационный номер	639																																												
Наименование показателей, Единица измерения	НД на методы испытаний	Нормы по НД	Фактически полученные данные																																										
1	2	3	4																																										
Содержание Cs-137 Бк/кг	KZ 07.00.03126-2015	200 Бк/кг	<7 Бк/кг																																										
Содержание Sr-90 Бк/кг	KZ 07.00.03125-2015	100 Бк/кг	<13 Бк/кг																																										
Начальник ИЦ - ответственный за подготовку протокола испытаний		И.С. Тимошенко																																											
Исполнитель		П.Н. Медведев																																											

ПРИЛОЖЕНИЕ Ч

Справка-отчет о получении углекислотных экстрактов из скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской

«ФИТО-АРОМАТ»



Товарищество с ограниченной
ответственностью

Республика Казахстан 050010 пр. Достык 31 к 12 тел/факс (327) 2 91-95-70 p/c KZ94319A010000451622
в АФ АО БТА БАНК г. Алматы. SWIFT БИК AVKZ KZ KX КБе 17 Email pbm06@mail.ru

№ _____ « 11 » 0,9 2016г.

Справка - отчет

В ТОО «Фито-Аромат», на экстракционной установке УУПЭ5л, проведены экспериментальные экстракции трав: **скабиозы бледножёлтой, скабиозы исетской и ворсянки щитинистой** на условиях докритики, Экстрагент – жидкая углекислота ГОСТ 8050-85. Сырьё заказчика.

Экстракция проведена по заказу Жунусовой М.А, докторанта 2го курса Карагандинского Государственного Медицинского Университета.

Проведено пять экстракционных циклов при различных технологических условиях. Увеличение площади контакта экстрагируемого сырья с экстрагентом, жидким CO₂, осуществлялось путём дополнительного дробления.

1я экстракция Скабиозы бледно-жёлтой проведена при следующих параметрах:

Экстракционная масса - 2600гр
Рабочее давление - 69-72 атм.
Температура экстракции - 18-21С⁰
Время экстракции - 18 ч.
Выход экстракта - 12 гр

2я экстракция

Рабочее давление - 76 атм.
Температура экстракции - 22С⁰
Время экстракции - 16 ч.
Выход экстракта - 10 гр

общий выход- 22 гр или 0,85%

Экстракция Скабиозы исетской

Экстракционная масса - 350гр
Рабочее давление - 72 атм.
Температура экстракции - 21С⁰
Время экстракции - 18ч **Выход экстракта - 2гр. Или 0,57%**

Экстракция Ворсянки щитинистой

Экстракционная масса - 850гр
Рабочее давление - 72атм.
Температура экстракции - 21С⁰
Время экстракции - 18 ч **Выход экстракта - 3 гр**

3я экстракция Ворсянки.

Рабочее давление - 68 атм.
Температура экстракции - 19С⁰
Время экстракции - 20ч **Выход экстракта (в твёрдой и водной фракции) - 6гр**
Общий выход - 9гр или 1%



Директор ТОО

Проскурин Б.М.

ПРИЛОЖЕНИЕ Ш

Акт по определению микробиологической чистоты CO₂-экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

«УТВЕРЖДАЮ»
Турмухамбетова А.А.
2018 г.



АКТ

результатов выполненных работ в учебной микробиологической лаборатории по ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ НЕСТЕРИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ на базе кафедры микробиологии КГМУ.

Объекты исследований: CO₂ экстракты скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской.

Цель работы: изучить микробиологическую чистоту готовых растительных CO₂ - экстрактов травы семейства Dipsacaceae, 1- CO₂ –экстракт *S.ochroleuca* L., 2 - CO₂ –экстракт *S.isetensis* L.:

Материалы и методы исследований:

Образцы отбирали в случайном порядке из упаковок, в соответствии с требованиями Государственная Фармакопея РК 1 г. испытуемого лекарственного средства растворили в горячей стерилизованной дистиллированной воде. Как правило, использовали разведение 1:10. Затем испытания проводили по показателям «Микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (определение общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов)» и «Микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (испытание на отдельные виды микроорганизмов)» по методике (Метод глубинного посева) описанной Государственной Фармакопее РК. Анализы были выполнены на кафедре микробиологии КГМУ. Данные испытаний ЛРС по микробиологическим показателям должны быть максимально точными и надёжными. Выполняя исследование, учитывался риск получения ложных микробиологических результатов при контроле качества лекарственных средств. Соблюдали стерильные и асептические условия.

Результаты исследования: Результаты представлены в таблице 1.

Образец ЛРС	общее число аэробных бактерий (в 1 г) норма – не более 10 ⁷	Грибы (в 1 г) норма - не более 10 ⁵	<i>Escherichia coli</i> (в 1 г) норма - не более 10 ²
«1»	1,0*10 ²	рост не обнаружен	рост не обнаружен
«2»	1,0*10 ²	рост не обнаружен	рост не обнаружен

Выводы: как следует из данных, представленных в таблице, все изученные образцы сырья соответствуют нормативным требованиям по показателю микробиологической чистоты (категория 4А).

Исполнитель
заведующий кафедрой микробиологии



Ахметова С.Б.

ПРИЛОЖЕНИЕ Щ

Акт испытаний на антимикробную, антимикотическую и цитотоксическую активность, КГМУ



АКТ

результатов выполненных работ в учебной микробиологической лаборатории по испытанию на противобактериальную, противогрибковую и цитотоксическую активности на базе кафедры микробиологии КГМУ.

Объекты исследований: CO₂ - экстракты и спиртовые экстракты отходов углекислотной экстракции растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., *Dipsacus strigosus* Willd.

Цель работы: изучить противобактериальную, противогрибковую и активности CO₂ - экстрактов и спиртовых экстрактов отходов углекислотной экстракции растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., *Dipsacus strigosus* Willd. и цитотоксическую активность CO₂ - экстракта *Scabiosa ochroleuca* L.

Материалы и методы исследований:

Метод тестирования противобактериальной и противогрибковой активности – метод диффузии в агар с тест-культурами: *S. aureus* 0586; *Bacillus subtilis* 6633; *E. Coli* 0524; *Candida albicans* 0475, *Candida albicans* НИЦ.

Стандартом противобактериальной активности выбран антибиотик бензилпенициллина натриевая соль и цефалоспориновый антибиотик третьего поколения - цефтриаксон, противогрибковой активности – нистатин.

Углекислотные экстракты и спиртовые экстракты отходов производства CO₂ - экстракта были растворены в 96%, 60% и 40% этиловом спирте, стерильной дистиллированной воде (соотношение 0,1 г на 3 мл растворителя).

Концентрации тестируемых препаратов составляли для антибактериальной активности – 1 мкг, противогрибковой – 1 мкг. Концентрация препаратов сравнения составляла 1 мг. Антимикробную активность образцов оценивали по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметры зон меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антимикробной активности, 10-15 мм - слабая активность, 15-20 мм - умеренно выраженная активность, свыше 20 мм - выраженная. Каждый образец испытывали в трех параллельных опытах.

Статистическую обработку проводили методами параметрической статистики с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки.

Разведение производили из расчета 1мг вещества на 1мл растворителя. Определяли чувствительность бактерий к данным препаратам диффузионным методом с помощью дисков. Использовали 4 вида бактерий: *S. aureus*, *Bacillus subtilis*; *E. Coli*; *Candida albicans*.

Высеивали данные культуры методом газона на следующих питательных средах: ЖСА, среда Эндо, питательный агар и среда Сабуро. Затем чашки Петри инкубировали в течение суток при 37*С, для грибов 28*С. Результаты выявленной задержки роста на средах показаны в таблице 1-4.

Антимикробная и противогрибковая активность образцов

Таблица 1 - Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - 96% этиловый спирт

№	Исследуемые вещества	<i>B.subtilis</i> 6633	<i>C.albicans</i> НИЦ 1	<i>S.aureus</i> 0586	<i>E.coli</i> 0524	<i>C.albicans</i> 0475
1.	СО ₂ -экстракт, скабиоза бледно-желтая	14±1,0	12±1,0	21±1,0	14±1,0	18±1,0
2.	СО ₂ -экстракт, скабиоза исетская	13±1,0	13±1,0	15±1,0	13±1,0	11±1,0
3.	СО ₂ -экстракт, ворсянка щетинистая	14±1,0	-	12±1,0	11±1,0	11±1,0
4.	Скабиоза бледно-желтая (СО ₂ -отход)	10±1,0	13±1,0	13±1,0	11±1,0	12±1,0
5.	Скабиозы исетской (СО ₂ -отход)	10±1,0	11±1,0	10±1,0	10±1,0	11±1,0
6.	Ворсянка щетинистая (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	11±1,0	10±1,0	10±1,0
7.	Спирт этиловый 96%	11±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
8.	Бензилпенициллина натриевая соль	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
9.	Цефтриаксон	33±1,0	-	35±1,0	34±1,0	-
10.	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 2 - Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - 60% этиловый спирт

№	Исследуемые вещества	<i>B.subtilis</i> 6633	<i>C.albicans</i> НИЦ 1	<i>S.aureus</i> 0586	<i>E.coli</i> 0524	<i>C.albicans</i> 0475
1	СО ₂ -экстракт, скабиоза бледно-желтая	11,5±1,0	11±1,0	17±1,0	12±1,0	14±1,0

2	СО ₂ -экстракт, скабиоза исетская	12,5±1,0	11±1,0	14,5±1,0	13±1,0	10±1,0
3	СО ₂ -экстракт, ворсянка щетинистая	14±1,0	-	11±1,0	10±1,0	11,5±1,0
4	Скабиоза бледно-желтая (СО ₂ -отход)	10±1,0	12±1,0	11±1,0	10±1,0	10,5±1,0
5	Скабиозы исетской (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Ворсянка щетинистая (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
7	Спирт этиловый 60%	10,5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
8	Бензилпенициллина натриевая соль	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
9	Цефтриаксон	33±1,0	-	35±1,0	34±1,0	-
10	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 3 - Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - 40% этиловый спирт

№	Исследуемые вещества	<i>B.subtilis</i> 6633	<i>C.albicans</i> НИЦ 1	<i>S.aureus</i> 0586	<i>E.coli</i> 0524	<i>C.albicans</i> 0475
1	СО ₂ -экстракт, скабиоза бледно-желтая	10±1,0	10,2±1,0	12±1,0	11±1,0	11,5±1,0
2	СО ₂ -экстракт, скабиоза исетская	12±1,0	10±1,0	12,5±1,0	11±1,0	10±1,0
3	СО ₂ -экстракт, ворсянка щетинистая	12±1,0	-	10±1,0	10±1,0	11±1,0
4	Скабиоза бледно-желтая (СО ₂ -отход)	10±1,0	11±1,0	10,5±1,0	10±1,0	10,3±1,0
5	Скабиозы исетской (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Ворсянка щетинистая (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
7	Спирт этиловый 40%	10,5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
8	Бензилпенициллина натриевая соль	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
9	Цефтриаксон	33±1,0	-	35±1,0	34±1,0	-
10	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Таблица 4 - Диаметры задержки роста тест-штаммов. Растворитель - дистиллированная вода

№	Исследуемые вещества	<i>B.subtilis</i> 6633	<i>C.albicans</i> НИЦ 1	<i>S.aureus</i> 0586	<i>E.coli</i> 0524	<i>C.albicans</i> 0475
1	СО ₂ -экстракт, скабиоза бледно-желтая	10±1,0	10,2±1,0	12±1,0	11±1,0	11,5±1,0
2	СО ₂ -экстракт, скабиоза исетская	12±1,0	10±1,0	12,5±1,0	11±1,0	10±1,0
3	СО ₂ -экстракт, ворсянка щетинистая	12±1,0	-	10±1,0	10±1,0	11±1,0
4	Скабиоза бледно-желтая (СО ₂ -отход)	10±1,0	11±1,0	10,5±1,0	10±1,0	10,3±1,0
5	Скабиозы исетской (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
6	Ворсянка щетинистая (СО ₂ -отход)	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
7	Вода дистиллированная	10.5±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0	10±1,0
8	Бензилпенициллина натриевая соль	15±1,0	-	17±1,0	12±1,0	-
9	Цефтриаксон	33±1,0	-	35±1,0	34±1,0	-
10	Нистатин	-	22±1,0	-	-	25±1,0

Образец *S. ochroleuca* (96% этиловый спирт) имеет высокую антибактериальную активность по отношению к штаммам *St.aureus* 0586 и умеренную антибактериальную активность по отношению к штаммам *E.coli* (0524), *B.subtilis* 6633, *C.albicans* (0475), *C.albicans* (НИЦ 1).

В результате исследования потенциала противогрибковой активности установлено, что практически все исследованные образцы в той или иной степени тормозят рост тестовых культур *in vitro*. Исключение составляет культура дрожжевых грибов *Candida albicans* НИЦ 1, которая не реагирует на СО₂-экстракт ворсянки щетинистой.

Цитотоксическая активность

Для определения цитотоксичности использовался тест - объект *Saccharomyces cerevisiae*.

Снижение скорости подъема пены рассматривали как ингибирующий, а повышение как — стимулирующий эффект. Контролем служила суспензия дрожжей, приготовленная на основе водопроводной воды, дехлорированной путем отстаивания. Эксперименты проводили в 5-и независимых опытах с 3 параллельными измерениями.

Тест - объектом являлись дрожжи *S. cerevisiae* (препарат сушеных пекарских дрожжей «Yufa»). Из углекислотных экстрактов (96% этиловый спирт) приготовили разведения 1:10, 1:20, 1:40, 1:80.

В 20 мл анализируемой пробы были внесены 1,36 г дрожжей, полученная смесь суспензировалась, было добавлено 0,4 г глюкозы. Полученную смесь разлили по 3 мл в мерные пробирки и инкубировали в течение 15 мин, при 30 °С. По истечении заданного времени определяли объем образовавшейся пены и вычисляли скорость ее подъема по формуле:

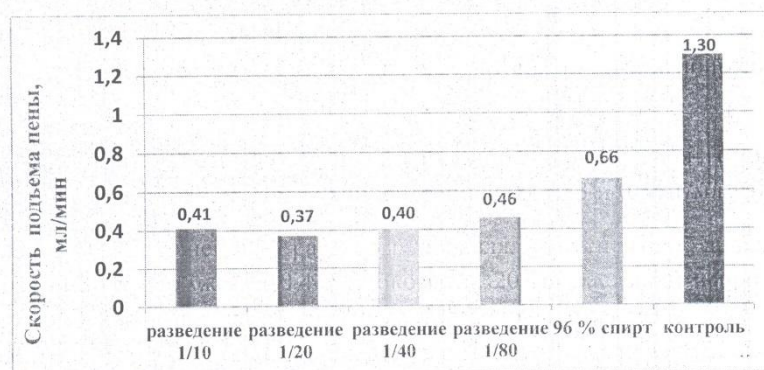
$$V = v/t$$

где v - скорость подъема пены (мл/мин), V — объем пены, мл, t — время, мин.

Снижение скорости подъема пены рассматривали как ингибирующий, а повышение как - стимулирующий эффект.

Антибиотик нистатин растирали в ступке до получения гомогенной массы и приготовили растворы с концентрацией 0,1; 0,3 и 0,5 мг/мл.

Затем в полученные растворы добавляли суспензию дрожжей и глюкозу (1,36 г дрожжей и 0,4 г глюкозы на 20 мл раствора) и проводили тестирование по вышеуказанной схеме. Согласно диаграмме, в сравнении с контролем, экстракт скабиозы бледно-желтой оказывает ингибирующий эффект.



В разведении 1/20 образец *S.ochroleuca* (96% этиловый спирт) показал наивысшую цитотоксическую активность, в сравнении с разведениями: 1/10, 1/40, 1/80 этого же образца.

Заключение. Образец *S. ochroleuca* (96% этиловый спирт) имеет высокую антибактериальную активность по отношению к штаммам *St.aureus* 0586 и умеренную антибактериальную активность по отношению к штаммам *E.coli* (0524), *B.subtilis* 6633, *C.albicans* (0475), *C.albicans* (НИЦ 1). В

разведении 1/20 образец *S.ochroleuca* (96% этиловый спирт) показал наивысшую цитотоксическую активность. В результате исследования потенциала противогрибковой активности установлено, что практически все исследованные образцы в той или иной степени тормозят рост тестовых культур *in vitro*. Исключение составляет культура дрожжевых грибов *Candida albicans* НИЦ 1, которая не реагирует на CO₂-экстракт ворсянки щетинистой.

Таким образом, результаты скрининга позволяют выделить *S.ochroleuca* с наибольшим потенциалом противобактериальной и противогрибковой активности и наличием цитотоксичности.

Исполнитель:
Зав. кафедрой микробиологии

ҚАРАҒАНДЫ МЕМЛЕКЕТТІК
МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ
Қолдың нақтылығын
РАСТАЙМЫН
ҚАРАҒАНДИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
Подлинность подписи
3
КММУ ҚБ бастымы
Начальник ОК КГМУ

Ахметова С.Б.



ПРИЛОЖЕНИЕ Э

Акт испытаний на цитотоксическую и антирадикальную активность при ЕНУ им. Л.Н. Гумилева



Утверждаю
Директор института химии
Сүлеймен Е.М.
2018 г.

АКТ

результатов выполненных работ в Институте прикладной химии по испытанию на цитотоксическую и антирадикальную активность при ЕНУ им. Л.Н. Гумилева

Объекты исследований: CO₂ экстракты скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской, ворсянки щетинистой.

Материалы и методы исследований:

Целью данной работы явилось исследование цитотоксической и антирадикальной активности CO₂ экстрактов скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской, ворсянки щетинистой.

В соответствии с целью исследования работа проводилась по следующим направлениям:

- исследование цитотоксической активности CO₂ экстрактов скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской, ворсянки щетинистой.
- исследование антирадикальной активности CO₂ экстрактов скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской, ворсянки щетинистой.

Опыты проводились в лабораторий Института прикладной химии при Евразийском Национальном университете им. Л.Н. Гумилева.

Для определения цитотоксической активности были взяты морские рачки *Artemia salina*. Эта методика основана на установлении различия между количеством погибших личинок артемий в анализируемой пробе (опыт) и воде, которая не содержит токсических веществ (контроль). Критерием острой летальной токсичности раствора вещества является гибель 50% личинок и более в опыте по сравнению с контролем.

Разведение производили из расчета 1мг вещества на 1мл растворителя. Каждый образец испытывали в трех параллельных опытах. Проводили при температуре 20±2⁰С, естественном световом периоде. Соленость контрольной искусственной воды равна 8,0-8,5 (рН). Во время биотестирования личинки артемий были в возрасте до 1 суток. Плотность посадки личинок – 20-40 экземпляров на одну пробирку.

Определение антирадикальной активности исследуемых экстрактов проводили по известной методике колориметрии свободных радикалов, основанной на реакции DPPH с образцом антиоксиданта. Оптическую плотность исследуемых растворов зависящую от концентрации измеряли на спектрофотометре Cary 60 UV-Vis при длине волны 520 нм.

Результаты и их обсуждение

Цитотоксическая активность. Изучали цитотоксическую активность методом выживаемости морских рачков *Artemia salina*. Колбу заполняли искусственной морской водой и добавляли яйца *Artemia salina*. Выдерживали в течение 3-х дней при мягкой подаче воздуха пока рачки не вывелись из яиц.

В качестве препарата сравнения использовали актиномицин Д или стауроспорин. Образцы проверяли с концентрациями 10, 5 и 1 мг/мл. Результаты исследований цитотоксической активности показаны в таблице 1.

Таблица 1. Результаты исследования цитотоксической активности

Исследуемое вещество	Концентрация, мг/мл	К-во личинок в контроле		К-во личинок в образце			% выживших личинок в контроле	% выживших личинок в образце	Смертность, А. %	Наличие нейротоксичности, %
		выж.	погиб.	выж.	погиб.	пар.				
Экстракт скабиозы бледножелтой	10	26	1	11	15	0	96	42	54	0
	5	26	1	20	5	0	96	80	16	0
	1	26	1	26	1	0	96	96	0	0
СО ₂ экстракт скабиозы исетской	10	26	1	2	24	0	96	8	88	0
	5	26	1	4	18	0	96	18	78	0
	1	26	1	21	4	0	96	84	12	0
Экстракт ворсянки щетинистой	10	26	1	21	5	0	96	81	15	0
	5	26	1	21	5	0	96	81	15	0
	1	26	1	25	1	0	96	96	0	0

В результате исследования цитотоксической активности установлено, что экстракт скабиозы бледножелтой в концентрациях 5 и 1 мг/мл не проявляет цитотоксичность, а в концентрации 10 мг/мл цитотоксичен, смертность личинок составляет 54%.

СО₂ экстракт скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет цитотоксичность, смертность личинок составляет 78-88%, а концентрация 1 мг/мл не токсичен.

Экстракт ворсянки щетинистой во всех испытанных концентрациях не проявляет цитотоксичность.

Антирадикальная активность. Антирадикальную активность определяли с помощью реакций ингибирования 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилрадикала (DPPH). Готовили спиртовые растворы исследуемых растворов в диапазоне концентраций 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 и 1,0 мг/мл. Пробирки находились в штативе, завернутого в черный полиэтилен. После интенсивного перемешивания растворы оставались в темноте на 30 минут, далее измеряли оптические плотности при 520 нм. Антирадикальную активность исследуемых растворов сравнивали с антирадикальной

активностью бутилгидроксианизола (ВНА). Результаты исследований антирадикальной активности показаны в таблице 2.

Таблица 2. Антирадикальная активность (%) экстрактов при разных концентрациях

№	Исследуемые вещества	Концентрация экстрактов (мг/мл)				
		0,1	0,25	0,5	0,75	1,0
1	Бутилгидроксианизол (ВНА)	80,82	81,23	82,30	83,08	83,88
2	Скабиоза исетская CO ₂ (экстракт)	15,90	13,15	15,35	17,01	19,74
3	Ворсянка щетинистая (экстракт)	10,09	13,23	14,59	16,48	16,51
4	Скабиоза бледножелтая (экстракт)	14,56	20,40	22,81	26,44	30,93

На основании анализа данных таблицы видно, что антирадикальная активность экстрактов скабиозы исетской и ворсянки щетинистой низкая по сравнению с ВНА, а экстракт скабиозы бледножелтой проявляет в концентрации 1 мг/мл среднюю, а в остальных концентрациях 0,1-0,75 мг/мл низкую антирадикальную активность по сравнению с бутилгидроксианизолом.

Заключение. В результате исследования установлено, что представленные вещества, показавшие слабую антирадикальную активность, обладают также цитотоксичностью, что позволяет говорить об отсутствии избирательности химиотерапевтического действия.

Таким образом, результаты исследования позволяют выделить что экстракт скабиозы бледножелтой в концентрации 10 мг/мл и CO₂ экстракт скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет цитотоксичность.

Исполнитель:

Ведущий научный сотрудник
Института прикладной химии

Искакова Ж.Б.