

ISSN 2224-0225
№ 1-4 (175)
2017 г.
Издается с 1996 г.

Главный редактор:
С.М. Адекенов
(Республика Казахстан, г. Караганда)

Зам. главного редактора:
Г.А. Атажанова
(Республика Казахстан, г. Караганда)

Редакционный совет:
В.Л. Багирова
(Российская Федерация, г. Москва),
В.С. Чучалин
(Российская Федерация, г. Томск),
А.У. Тулегенова
(Республика Казахстан, г. Алматы),
А.К. Сариев
(Российская Федерация, г. Москва),
Ю.В. Подпрудников
(Украина, г. Киев),
М. Iqbal Choudhary
(Пакистан, г. Карачи),
К.Н.С. Baser
(Турция, г. Эскишехир),
G. Appendino
(Италия, г. Навара),
J. Hohmann
(Венгрия, г. Сегед),
Г.П. Павелковская
(Республика Казахстан, г. Алматы),
К.Б. Мурзагулова
(Республика Казахстан, г. Павлодар),
Е.Г. Толоконников
(Республика Казахстан, г. Караганда),
Г.М. Мухаметжанова
(Республика Казахстан, г. Караганда)

Технический секретарь:
Хан И.П.
(Республика Казахстан, г. Караганда)

Адрес редакции:
100009, Республика Казахстан,
г. Караганда,
ул. М. Газалиева, 4
тел. 8 (7212) 43-39-10
e-mail: phyto_pio@mail.ru

Отпечатано в типографии
ТОО «Гласир»,
Номер подписан в печать
20.12.2017 г.
Тираж: 1000 экз.

При перепечатке ссылка на журнал
«Фармацевтический бюллетень»
обязательна

Фармацевтический бюллетень

НАУЧНО – ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

*Издание зарегистрировано Комитетом информации
и архивов Министерства связи и информации Республики
Казахстан. Свидетельство о постановке на учет
периодического печатного издания
№11473-Ж, выдано 24 февраля 2011 года.*

Рекламодатели предупреждены об ответственности
за рекламу незарегистрированных, не разрешенных
к применению Министерством здравоохранения РК
лекарственных препаратов, за достоверность сведений
в рекламе и объявлениях.
Оставляем за собой право редакторской правки статей.

Уважаемые читатели!

В настоящее время в Республике Казахстан активно обсуждается лекарственная политика, прежде всего, развитие отечественной фармацевтической отрасли для обеспечения населения качественными и безопасными лекарственными средствами.

Развитие отечественного фармацевтического рынка заключается в эффективном обеспечении лекарствами, в их доступности, безопасности, рациональном использовании, влияющими на укрепление здоровья граждан, на увеличение продолжительности их активной жизни.

Анализ разработок высокоэффективных и безопасных лекарственных средств показал потребность в комплексном решении проблемы на этапах поиска оптимальных методов выделения и синтеза фармакологически активных веществ, исследования их физико-химических свойств, изучения биологической активности, токсичности и специфической фармакологической активности, подготовки технологии и организации производства готовой продукции.

Очередной номер журнала «Фармацевтический бюллетень» посвящается разработкам фармакологических соединений- субстанций и стандартных образцов оригинальных лекарственных препаратов для организации фармацевтического производства по международным стандартам GMP.

Проведенный на базе Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия» в июле текущего года казахстанско-чешский научно-практический семинар также нашел отражение в представленном выпуске. Приглашенным лектором международного семинара был доктор PhD, ассоциированный профессор кафедры биохимии и микробиологии Университета химии и технологии (Прага, Чешская Республика) Войтех Спивок. В его обзорной статье «Молекулярный докинг белок-лиганд и его место в разработке лекарственных средств на основе структуры» описаны ключевые компоненты программ для проведения докинга, показано, как молекулярный докинг может использоваться для проведения виртуального скрининга, который позволит отбирать соединения, обладающие биологической активностью.

Обзор профессора Г.А.Атажановой, Айжан С. Адекеновой, А.Али, Х. Мамырхан, С.К.Наушарипова «Лечебные мыла. Состояние производства и рынок сбыта» посвящен анализу рынка туалетных мыл в Казахстане, способам получения туалетных мыл с лечебными свойствами. Обсуждаются основные этапы технологического процесса производства лечебного мыла с эфирными маслами.

В статье А.К. Даирова с соавторами обсуждается опыт работы по разведению и содержанию конвенциональных лабораторных животных и SPF-категории на примере вивария Центральной-референс лаборатории Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, представлены требования к обустройству вивария, соответствующего международным стандартам.

Статья Г.Х. Тулеуовой, Айгерим С. Адекеновой, Ж.Р. Торегожиной, А.Ж. Турмухамбетова «Стандартизация гармина – стандартного образца» посвящена стандартным образцам, являющимся одним из ключевых элементов системы стандартизации лекарственных средств. Гармин необходим в качестве отечественного стандартного образца для постадийного контроля производства и оценки качества нейротропного лекарственного средства «Гармина гидрохлорид» в

ряду сырье – субстанция – готовая лекарственная форма.

В работе П.Ж. Жанымхановой «Нарингенин для контроля качества производства оригинального флавоноидного лекарственного препарата» обобщены и систематизированы литературные данные в области флавоноидсодержащих лекарственных растений. В статье обсуждаются методы определения и выделения полифенольных соединений, в том числе нарингенина.

В статье Г.А. Атажановой «Технология выделения камфоры из сырья полыни беловатой» представлена технология выделения монотерпеноида камфоры из природных источников, а также освещен материал отдельных стадий производства синтетической камфоры. Также представлен материал о выделении левовращающей камфоры из казахстанского источника полыни беловатой. В статье впервые представлена технология комплексной переработки сырья полыни беловатой, в которой методом центробежной хроматографии выделен сесквитерпеновый лактон леукомизин, а затем из балласта выделена камфора в сравнительно большом количестве.

В статье М.А. Бийсенбаевой, С.Х. Акназарова, А.К. Мырзагалиевой, К.С. Бексеитовой, М.И. Досымбетовой, У.М. Амзеевой «Использование биологически активной добавки «Фитосорб–Алтын Жебе» для профилактики и лечения ожирения» приведены результаты доклинических испытаний БАД «Фитосорб – Алтын Жебе» в качестве профилактического и терапевтического средства для предотвращения и лечения ожирения. Установлено, что данная продукция отечественного производства наряду с множественными полезными свойствами обеспечивает еще и улучшения процесса обмена веществ и может быть использована в борьбе с лишним весом.

**С уважением,
редакционная коллегия**

Информация
о Казахстанско-Чешском научно-практическом семинаре
«Виртуальный скрининг молекул природных соединений
на биологическую активность, молекулярный докинг молекул
природных соединений и их производных»

В период с 11 по 14 июля 2017 года на базе Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия» (г. Караганда, Республика Казахстан) прошел казахстанско-чешский научно-практический семинар, посвященный виртуальному скринингу (*in silico*) природных соединений и их производных, в рамках которого для сотрудников холдинга был проведен мастер-класс по одному из современных методов биоинформатики – «лиганд-белковому» докингу.

Семинар проводил доктор PhD, ассоциированный профессор кафедры биохимии и микробиологии Университета химии и технологии (Прага, Чешская Республика) Войтех Спивока, на протяжении последних 10 лет специализирующийся на исследованиях в области компьютерного моделирования, в частности молекулярного докинга, и совершенствования существующих алгоритмов по прогнозированию биологической активности органических соединений. Данный семинар был разработан доктором В. Спивоком на основе статьи De Graaf C., Kooistra A.J., Visher H.F. et al. Crystal structure-based virtual screening for novel fragment-like ligands of the human histamine H₁ receptor // Journal of Medicinal Chemistry. – 2011. – V. 54, No 23. – P. 8195-8206, теоретическая часть которого применяется в качестве учебно-методического комплекса в Институте химии и технологии города Праги.

Визит доктора В. Спивока проходил в рамках работы над грантовым проектом №0145-ГФ4 «Изучение взаимосвязи «структура-активность» на основе модели виртуального скрининга природных терпеноидов и их производных».

В работе семинара приняли участие 13 человек, среди которых ведущие специалисты холдинга, докторанты PhD

и магистранты, свободно владеющие английским языком. Формат научно-практического семинара предоставил возможность сотрудникам отрабатывать на практике базовые основы компьютерного моделирования.

На семинаре заслушан и обсужден доклад доктора В. Спивока «Основы «лиганд-белкового» докинга и виртуального скрининга».

В период проведения обучающего семинара были освещены основные методы виртуального скрининга и компьютерного моделирования, применяемые в направленном поиске биологически активных соединений и разработке на их основе оригинальных лекарственных средств, озвучены их преимущества и недостатки, подробно описаны наиболее часто используемые базы данных белковых молекул и органических соединений, визуально продемонстрированы возможности программных средств по пространственному (3D) моделированию и молекулярному докингу. Семинар проходил в открытой диалоговой форме, благодаря чему каждый участник мог задать интересующие его вопросы лектору. Ключевыми аспектами семинара стали:

1. Молекулярное моделирование в поиске новых лекарственных средств

Драг-дизайн (англ. *drug* – лекарственный препарат и *design* – проектирование, конструирование) или конструирование лекарственного средства – это комплекс методов по разработке новых лекарственных препаратов с заранее заданными свойствами. Основные понятия, используемые в драг-дизайне – это мишень и лекарство. Мишенью может служить макромолекулярная биологическая структура, предположительно связанная с определенной функцией, нарушение

которой приводит к заболеванию. На эту мишень с помощью драг-дизайна создается (или подбирается из существующих) определенное химическое соединение (как правило, низкомолекулярное), специфически взаимодействующее с ней, что приводит к положительному терапевтическому эффекту.

Создание лекарств или так называемый «драг-дизайн», основанный на структуре лиганда (молекулы), это:

- поиск подобия лекарству;
- фармакофорное моделирование.

Драг-дизайн, основанный на структуре молекулы, реализуется с помощью докинга «протеин-лиганд» и методов на основе моделирования.

2. Понятие виртуального скрининга и основные программные средства, используемые в молекулярном докинге

Виртуальный скрининг – это вычислительная процедура, которая включает автоматизированный просмотр базы данных химических соединений и отбор тех из них, для которых прогнозируется наличие желаемых свойств. Чаще всего виртуальный скрининг применяется при разработке новых лекарственных препаратов для поиска химических соединений, в том числе органических, обладающих нужным видом биологической активности. В последнем случае процедура виртуального скрининга может быть основана либо на знании

пространственного строения биологической мишени, либо на знании структуры лигандов к молекуле данной биологической мишени.

Ключевой процедурой виртуального скрининга, основанного на знании пространственной структуры биологической мишени, является молекулярный докинг, позволяющий предсказать пространственное строение комплекса «лиганд-белок», исходя из которого при помощи оценочных функций можно рассчитать константу связывания лиганда (молекулы) с белком. В этом случае из соединений, для которых предсказаны наибольшие значения констант связывания с молекулой белка, формируют сфокусированную библиотеку, из которой отбирают материал для дальнейшего биологического эксперимента.

Существует множество программ для проведения молекулярного докинга, таких как: FlexX (<http://www.biosolveit.de/FlexX/>), Dock (<http://dock.compbio.ucsf.edu>), AutoDock (<http://autodock.scripps.edu>), SurFlex (<http://www.biopharmics.com>), Gold (http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/), PLANTS (<http://www.tcd.uni-konstanz.de/research/plants.php>), DockSearch (<http://www.ibmcm.sk.ru>), Glide и др.

Перечень необходимого программного обеспечения для проведения молекулярного докинга представлен в таблице.

Таблица 1

Характеристика	Мишени	Лиганды (молекулы)
Источник	PDB (www.pdb.org) 	ZINC (zinc.docking.org), ChEMBL, PubMed
Типы файлов	PDB, mol2	mol2, sdf, smiles
Программы визуализации	VMD, UCSF Chimera, PyMol и др.	Молекулярный редактор ChemAxon
Утилиты	Поиск участков связывания – конвертация с использованием программы Focket – OpenBabel	Конвертация – OpenBabel

Молекулярный докинг позволяет исследователям решать следующие задачи:

– предсказывать режимы связывания между молекулой и рецептором;

– проводить виртуальный скрининг и отбирать из множества соединений «потенциально» обладающие биологической активностью;

– осуществлять поиск других мишеней.



Рисунок 1. База данных химических соединений ZINC

Для проведения процедуры докинга необходимо наличие:

– структуры белка;
– структуры лиганда (молекулы);
– программного алгоритма (генетические алгоритмы, оптимизация по алгоритмам «Муравьиной колонии» (ant colony optimization) и «Имитации отжига» (simulated annealing), инкрементальная постройка).

– функции подсчета баллов: потенциальная энергия, потенциал средней силы, эмпирические методы.

Наряду с рядом преимуществ данного метода имеется и ряд недостатков, перечисленных ниже:

– гетерогенность белков (динамическая/ индуцированная подгонка, протонированные состояния, таутомеры, наличие молекул воды, кофакторы и др.);

– структура лигандов (таутомеры, протонированные состояния, кольцевые структуры, цис/транс и другие изомеры, соли и др.);

– слишком большое наличие вращающихся связей;

– сравнительно низкая производительность подсчета баллов;

– низкое подобие лекарствам и сложность к стыковке в участках связывания.

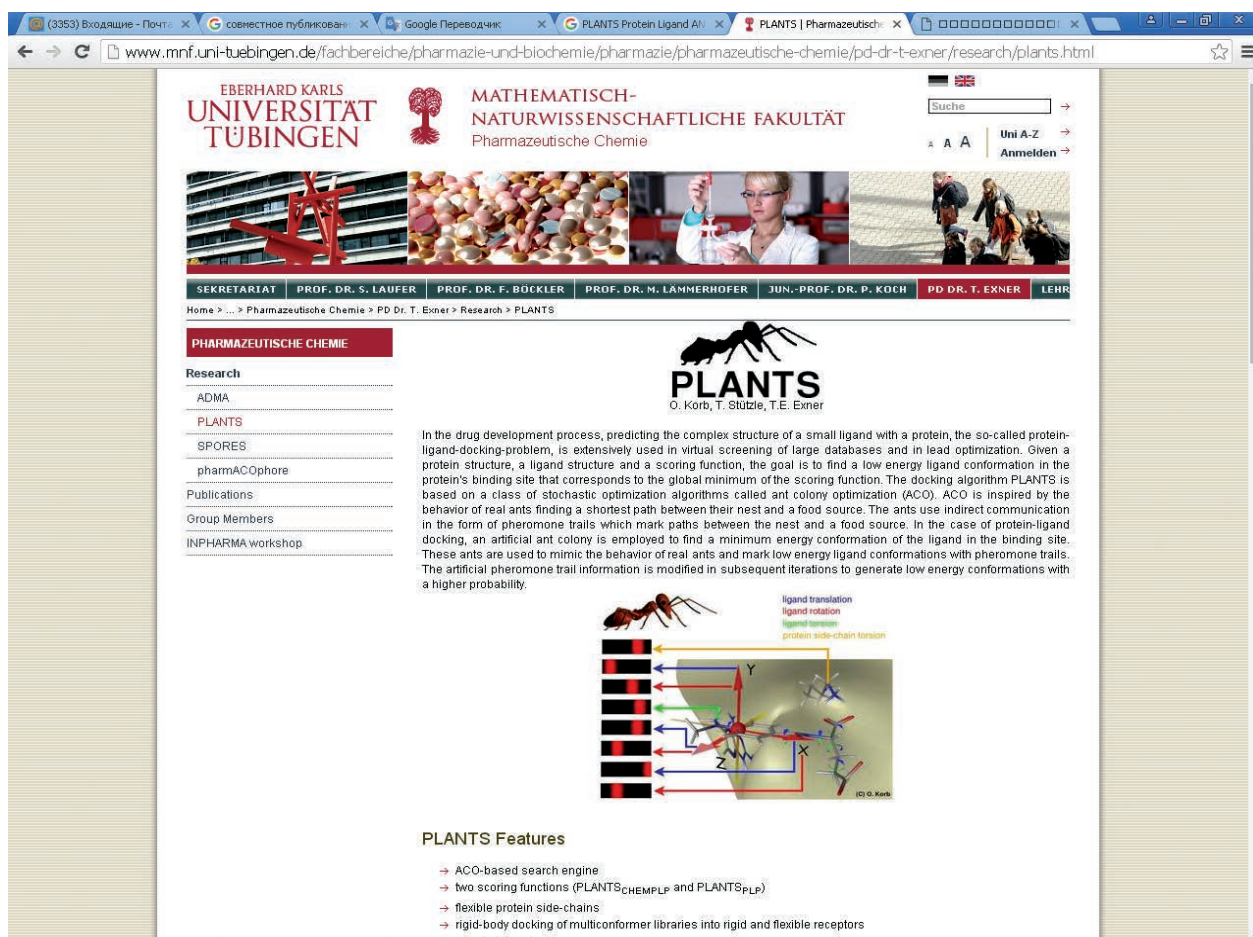


Рисунок 2. Докинг-программа PLANTS (Protein-Ligand ANT System), использующая программный алгоритм «Муравьиной колонии» (англ. *Ant colony optimization*)

При проведении докинга необходимо учитывать, что:

- докинг – это компромисс между скоростью и точностью;
- наличие сравнительно высокой статистической ошибки в диапазоне ~ 2 ккал/моль для структурно-определенных докинг-моделей;
- наличие для некоторых классов мишеней и лигандов большей или меньшей аффинности;
- прогнозирование аффинности приводит к увеличению размера лиганда молекулы);
- необходимо быть осторожным при удалении связанных кофакторов, белков и т.п.

Во время обучающего семинара участники смогли на практике ознакомиться с программным обеспечением, базовыми

процедурами и операциями, а также проследить алгоритм проведения молекулярного докинга от подготовки пространственной структуры лиганда (молекулы) до получения итоговых оценочных показателей энергии «лиганд-рецепторного» связывания. В качестве экспериментальной модели белковой мишени использовалась белковая молекула H_1 -гистаминового рецептора, структура которой определена ранее проведенными исследованиями. Как известно, гистамин представляет собой биогенный амин, относящийся к медиаторам аллергических реакций немедленного типа. Блокаторы гистаминовых H_1 -рецепторов ослабляют вызываемые гистамином гипотензию и спазмы гладкой мускулатуры (бронхов, кишечника, матки), уменьшают проницаемость капилляров, препятствуют

развитию гистаминового отека, уменьшают гиперемии и зуд и, как следствие, предупреждают развитие и облегчают

течение аллергических процессов. Белковая молекула H_1 -гистаминового рецептора представлена на рисунке.

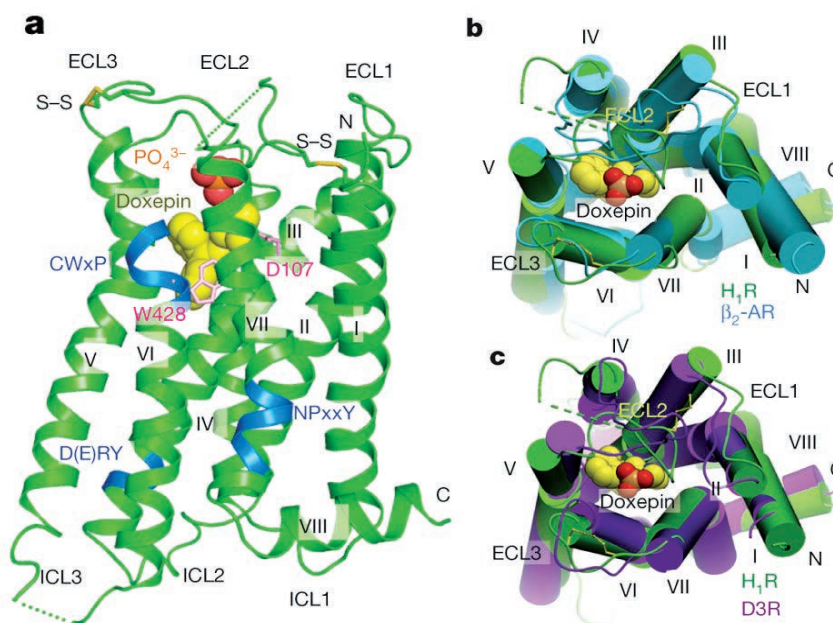


Рисунок 3. H_1 -гистаминовый рецептор человека

Таким образом, после обсуждения и обмена мнениями на казахстанско-чешском научно-практическом семинаре «Основы «лиганд-белкового» докинга и виртуального скрининга» было принято решение продолжить совместную научно-исследовательскую деятельность по следующим ключевым направлениям:

- Поиск биологически активных природных терпеноидов, полипренолов, алкалоидов и флавоноидов, а также их химически модифицированных производных;
- Проведение компьютерного моделирования энергии связывания комплекса «лиганд-мишень» (докинг) с целью поиска специфических фармакологически активных мишеней для природных соединений и их производных;
- Создание на базе холдинга «Фитохимия» электронной базы данных молекул природных соединений и их производных с использованием современных специализированных платформ с возможностью проведения их последующего докинга;

- Подготовка и представление совместной заявки на грантовое финансирование проекта по созданию и внедрению в работу электронной базы данных молекул природных соединений и их производных;
- Организация академической мобильности и обучающих стажировок для сотрудников холдинга в Университет химии и технологии (Прага, Чешская Республика);
- Совместная публикация научных статей в рейтинговых зарубежных изданиях с импакт-фактором;
- Публикация в периодическом издании холдинга «Фитохимия» «Фармацевтический бюллетень» обзорной статьи доктора PhD, ассоциированного профессора В. Спивока «Молекулярный докинг и виртуальный скрининг»;
- Планирование и организация работы по систематическому обучению сотрудников холдинга основным методам компьютерного моделирования, в том числе методу молекулярного докинга (январь, июль 2018 г.).

Информация о визите профессора Э.Н. Новрузова в Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»

6-12 октября 2017 года заместитель директора по научной работе Института ботаники Национальной Академии наук Азербайджана, доктор биологических наук, профессор Эльдар Новруз оглы Новрузов (г. Баку), посетил Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» и Карагандинский фармацевтический завод.



Профессор Э.Н. Новрузов ознакомился с лабораториями холдинга «Фитохимия» и с технологией производства оригинальных лекарственных препаратов на Карагандинском фармацевтическом заводе.



9 октября 2017г. на базе холдинга «Фитохимия» состоялся научный семинар с участием профессора Э.Н. Новрузова по обсуждению совместных научных исследований биологически активных веществ из растительного сырья Казахстана и Азербайджана.

В работе семинара приняли участие ведущие ученые холдинга «Фитохимия», докторанты и магистранты. Всего более 30 сотрудников.



Семинар проводился под председательством академика НАН РК, доктора химических наук, профессора Адекенова С.М.

Доклад профессора Э.Н. Новрузова посвящен состоянию, перспективам и проблемам ресурсоведения в Азербайджане. Участники семинара обсудили с профессором Э.Н. Новрузовым перспективные направления по исследованию химического состава растений Казахстана и Азербайджана, изучению их биологической активности, стажировке молодых специалистов, подготовке и повышению квалификации научных сотрудников.

По результатам визита профессора Э.Н. Новрузова состоялось подписание соглашения о научно-техническом сотрудничестве между Институтом ботаники Национальной Академии наук Азербайджана и Международным научно-производственным холдингом «Фитохимия».



Посещение делегацией Алтайского государственного университета Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия»

6-7 декабря 2017 года делегация Алтайского государственного университета (г. Барнаул, РФ) посетила Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия».

В составе делегации были профессор, декан химического факультета Алтайского государственного университета Н.Г. Базарнова, директор НИИ биологической медицины, д.б.н., профессор В.В. Лампатов, зав. отделом биотехнологии растений Алтайского государственного университета, к.б.н. Л.И. Тихомирова, доцент кафедры органической химии Алтайского государственного университета, к.х.н. Е.В. Лагуткина, старший научный сотрудник НИИ биологической медицины, с.н.с. НИИ биологической медицины Семенихина Наталья Михайловна.



Также 6 декабря 2017 года на базе холдинга «Фитохимия» состоялся научный семинар с участием профессоров Алтайского государственного университета о перспективах совместного сотрудничества и по проведению совместных научных исследований.

В работе семинара приняли участие ведущие ученые холдинга «Фитохимия», докторанты и магистранты. Всего более 30 сотрудников. Семинар проводился под председательством академика НАН РК, доктора химических наук, профессора С.М. Адекенова



Доклад профессора Н.Г. Базарновой был посвящён перспективам сотрудничества с Алтайским государственным университетом с научными и образовательными организациями Республики Казахстан, приоритетным направлениям научных исследований Алтайского государственного университета, Алтайскому биофармацевтическому кластеру, стажировке молодых специалистов, подготовке и повышению квалификации научных сотрудников. Также Н.Г. Базарнова предоставила информацию о научном журнале «Химия растительного сырья», издаваемого на базе Алтайского государственного университета.

Профессор В.В. Лампатов свое выступление посвятил созданию инновационных методов получения и использования лекарственного природного сырья и продуктов на его основе с применением современных достижений химии, биотехнологии и биоинженерии, созданию методов контроля качества лекарственных средств и биологически активных добавок.



Делегация Алтайского государственного университета ознакомилась с лабораториями холдинга «Фитохимия» и с технологией производства оригинальных лекарственных препаратов на Карагандинском фармацевтическом заводе.

Участники семинара обсудили с профессорами Алтайского государственного университета перспективные направления по исследованию химического состава растений флоры Алтая, строения молекул химических структур выделенных природных соединений, изучению их биологической и фармакологической активности, разработке новых лекарственных препаратов для медицины, а также по участию в совместных научно-исследовательских грантах, обмену

специалистами, совместным стажировкам и обучению сотрудников холдинга «Фитохимия» в Алтайском государственном университете, подготовке и повышению квалификации научных кадров через магистратуру и PhD докторантуру.

Также обсуждался вопрос по оказанию содействия в защите диссертационных работ сотрудникам АО «МНПХ «Фитохимия» по специальности биорганическая химия, фармацевтическая химия, фармакология, технология фармацевтического производства в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Пермской фармацевтической академии, Самарском государственном медицинском университете.

PROTEIN-LIGAND DOCKING AND ITS PLACE IN STRUCTURE-BASED DRUG DESIGN

Vojtěch Spiwok

E-mail: spiwokv@vscht.cz

Department of Biochemistry and Microbiology,
University of Chemistry and Technology, Prague,
Technická 3, Prague 6, 166 28, Czech Republic

Structure-based drug design is one of major motivation for determination of 3D structures of proteins and other biomolecules. Protein-ligand docking is one of main tool used in this area. In this review we will show main components of docking programs - target and ligand structure, scoring function and docking algorithm. We will also show how docking can be used in virtual screening of large compound libraries and what are future trends in this field.

Introduction

The most common strategy in modern drug design is the target-based strategy. At the beginning, certain biomolecule such as enzyme, receptor or transporter, is identified as a target - the key player associated with the disease. Intervention of target function (by activation, inhibition, stabilisation etc.) is supposed to trigger the desired therapeutic effect. Next, a large series of compounds is tested for their ability to influence the function of the target. For example, enzymes and molecular transporters can be inhibited by suitable inhibitors. Receptors can be activated or blocked by agonists or antagonists. In this phase it is usually necessary to test large series of compounds, either experimentally or computationally. Docking is one of the most common computational method in drug design.

Protein-ligand docking (further referred to as docking, but keep in mind that for example protein-protein exists as well) is a viable alternative to experimental high throughput screening. Advantage of docking is mostly in its low cost. In contrast to experimental screening it is not necessary to purchase the compounds. Instead, their chemical structures can be simply downloaded from website of vendor and their three-dimensional structures can be generated by well established computer programs. Testing itself is also carried out using a computer.

Only a small fraction of compounds, which are predicted as active, may be purchased and experimentally tested.

Docking is a set of computational methods aimed at prediction of the binding mode and affinity of a protein-ligand complex. Most researchers use the term docking or protein-ligand docking for simplified algorithms that do not explicitly model the process of binding, do not consider target flexibility or involve other simplifications. In this review we will focus on these simplified docking methods and at the end we will briefly mention more advanced methods such as those based on biomolecular simulations.

Docking essentials

Docking typically requires following components: 3D structure of the target protein, 3D structure of the tested ligand, scoring function and docking algorithm.

Structural biology, namely X-ray crystallography and NMR, is the major source of 3D structures of biomolecules. Development of new drugs by docking is the major driving force of structural biology research. Pharmaceutical companies and academic laboratories also use structural biology to optimize affinity of known ligands by chemical modification (e.g. in lead optimization), in fragment-based drug design [1], to predict the structure of one protein (e.g.

difficult to determine) from the structure of a similar protein and for other purposes. Protein Data Bank (www.pdb.org) [2] is the key source of structural biology information. This web site provides experimentally determined 3D structures of proteins and other biomolecules and biomolecular assemblies (more than 130 000 in August 2017) free of charge. These structures can be downloaded as Cartesian coordinates in the PDB format.

An experimentally determined structure of a target protein must be further tuned for docking purposes. For example, X-ray crystallography usually does not resolve hydrogen atoms. Most docking programs require a structure of target protein with all or with polar hydrogens. Molecular modelling programs usually make it possible to add hydrogens using simple algorithms. Beside addition of hydrogens it may be useful to predict, by computer programs or simply by chemical intuition, protonation states of acidic and basic residues and histidine tautomers. It is possible to use for example the program Propka [3] to predict pKa values of acidic or basic side chains. Comparison of the predicted pKa with the pH of the protein's environment gives the answer about the protonation state. A general acid A-H is dissociated if its pKa is below the pH and other way around. It may be also useful to check whether side chain nitrogen and oxygen of Asn and Gln are not swapped (it may be incorrectly assigned in structure determination process). Some side chain rotatable groups, e.g. O-H in Ser and Thr, may be also adjusted prior to docking.

Next we need 3D structures of small molecule compounds to be docked. Vendors of small molecule compounds usually provide chemical structures (not 3D, often referred to as 2D) of their catalog. Corresponding three dimensional structures can be predicted by well established computational algorithms. Programs such as CORINA [4], CONFECT [5] and others can be used for this purpose. These commercial programs make it possible to convert large series of chemical structures into 3D structure with very good accuracy. Open source alternative is for example Open

Babel [6]. Building of 3D structures of drug-like small molecules is relatively trivial for those composed of aromatic rings and small unsaturated heterocycles. Saturated rings, such as 6-membered rings, may exist in different conformations (chair, boat, skew-boat). The situation is even more complicated for 7- and higher-membered rings, bi- or polycyclic molecules and bridged polycycles. Some programs provide a series of possible conformations to cope with this problem. Despite these complications the accuracy of predicted structures is usually very good.

Very useful tool for docking and virtual screening is the ZINC database [7]. It comprises approximately 400 millions (in August 2017) purchasable small molecule compounds. It is being constantly updated by scanning vendor databases. Furthermore, 3D structures of these compounds have been generated by established programs and can be downloaded individually or in different subsets based on vendor, properties etc.

Similarly, to target proteins, small molecules may exist in different protonation states and tautomers. Some programs for generations of 3D structures of ligands can predict possible tautomers and identify the most abundant one, which is selected for docking. As an alternative it is possible to generate all tautomers and dock them all. A problem related to this issue comes from the fact that many commercially available small molecule compounds are acidic or basic and they are sold as salts. Many vendors include this information in their structural records. The program must then remove the counterion, which may be important for drug formulation and drug delivery but is irrelevant for *in silico* and *in vitro* testing.

Next ingredient of docking is the scoring function. Scoring function is the relationship between the 3D structure of a protein-ligand complex and its free energy. It is used for two purposes. First, it is used to drive the docking. The best binding mode of the compounds is predicted by optimization of the score for given protein and ligand. Second, it is used to predict the binding free energy of the final pose and to compare it with other compounds.

The first generation of docking programs used potential energy functions of protein-ligand complexes as a scoring function. This potential energy may be calculated by summing up electrostatic and van der Waals binding energies for all protein-ligand atom pairs. This approach may sound very intuitive since the ligand is bound in the binding site by these types of noncovalent interactions. However, this may lead to highly non-realistic predictions of binding free energies. For example, a hydrophobic ligand in a hydrophobic binding site would be modelled as barely attractive because it lacks strong electrostatic interactions. In contrast, a negatively charged ligand in a positively charged binding site would be modelled as highly attractive. In reality the situation may be opposite. Both, negatively charged ligand in a positively charged binding site are highly solvated in the dissociated state. Binding of the ligand to the protein requires energetically demanding desolvation. This desolvation cost may be higher than energy gained by protein-ligand interaction. On the other hand, binding of a nonpolar ligand into the nonpolar binding site is governed by hydrophobic interactions, which are not taken into the account at the level of potential energy.

This problem leads to development of scoring function aimed at prediction of free rather than potential energy. Large family of scoring functions use empirical data [8]. Many 3D structures of protein-ligand complexes have been known and their binding free energies have been experimentally determined. It is possible to develop a model of the relationship between the 3D structure of a protein-ligand complex and its free energy and to fit parameters of this model using this data. Such empirical scoring functions are used in many high-end programs. As an alternative to potential-energy-based and empirical scoring functions it is possible to use solvation/desolvation corrections, a potential of mean force (PMF) approach or hybrid approaches.

The final component of docking is the docking algorithm. These algorithms are trying to find the based binding pose for a given structures of target protein and ligand

and given scoring function. Docking of a rigid ligand into a rigid protein requires finding of the minimum of six-dimensional functions. Three dimensions' account for translational and three for rotational degrees of freedom. Each additional rotatable bond in the ligand or protein adds another degree of freedom. Since this problem is an optimization problem it is possible to use general optimization programs such as simulated annealing [9], genetic algorithms [9] or ant colony optimization [10]. Some programs use docking-specific algorithms such as incremental building [11]. In this algorithms the molecule is dissected into rigid fragments. The first fragment is placed into the binding site and its position is optimized by translation and rotation. Next, the second fragment is attached to the first fragment and its torsion of the bond is adjusted to give the best score. This continues until the whole molecule is build. If such docking ends up in a dead end it is restarted from the scratch.

In most applications of docking the target protein is modelled as rigid and ligand is modelled as flexible with flexibility governed by rotatable bonds. Some programs allow for certain (limited) flexibility in target structure, for example adjustment of OH groups. Some programs also allow for certain conformational freedom in flexible rings of compounds. The fact that a target protein may undergo big conformational changes upon binding of ligands and these changes are ligand-specific motivated an effort to develop docking programs allowing larger conformational changes in protein. There are two approaches addressing this problem. It is either possible to allow these conformational changes on the fly in a docking. Alternatively, it is possible to predict an ensemble of protein conformations and to do a rigid docking into each of structure of the ensemble separately.

Docking programs have been developed by academic laboratories as well as by companies. Some docking programs are free of charge, some are commercial. Open source or free software include Autodock [9], Autodock Vina [12], DOCK [13], PLANTS [10] and others. Commercial software includes FlexX [11], Glide [14], GOLD [15], ICM-Dock [16], MOE

[17], Surflex-Dock [18] and others. Figure 1 shows docking of a thapsigargin derivative (8-O-dodecanoyl-8-O-debutanoyltrilobolide) into the binding site of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA, PDB ID: 3NAL [19]). The structure of protein and ligand were

downloaded from PDB and ZINC, respectively. Docking was done by PLANTS program [10]. The picture shows the best binding pose (left, score -82.6625) and all 10 predicted binding poses (right, score -82.6625 - -72.5059).

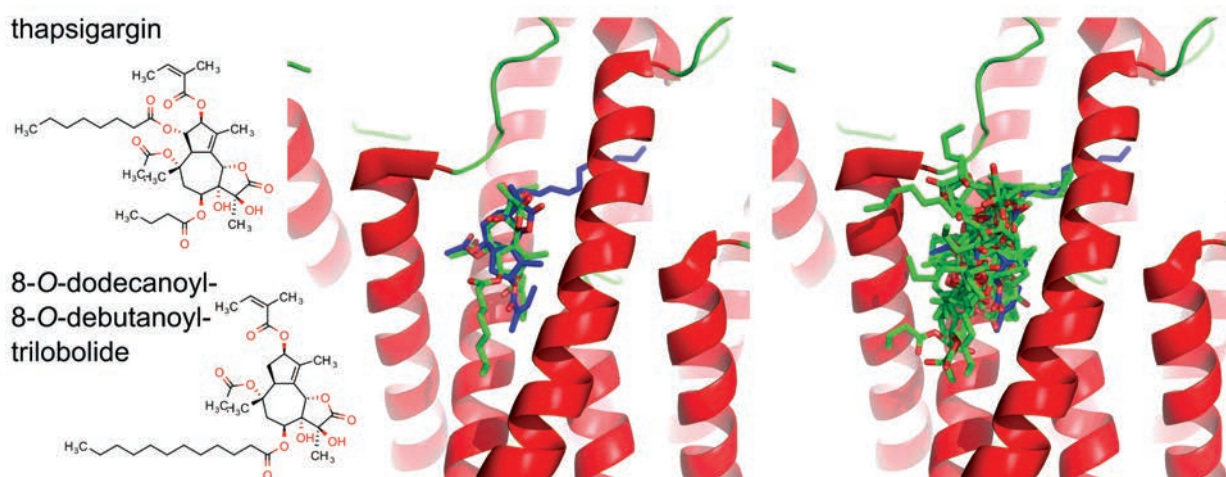


Figure 1. Docking of thapsigargin into the binding site of SERCA. Experimentally determined binding pose of 8-O-dodecanoyl-8-O-debutanoyltrilobolide as dark sticks, docked structures of thapsigargin are shown as light sticks (left - the binding pose with the best score, right - all 10 predicted binding poses).

Virtual screening

Similarly, to experimental high-throughput screening, virtual screening can be also described as looking for a needle in a haystack. The needle is a biologically active compounds and the haystack is a large library of compounds. It should be mentioned that virtual screening is not only based on docking (i.e. based on structure of the target protein also referred to as structure-based). For example, it is possible to screen large libraries compounds by searching for compounds similar to known ligands of the target protein (without knowing 3D structure of the target protein).

Typical docking-based virtual screening campaign starts with preparation of the structure of the target. Briefly, the 3D structure of the target protein is downloaded from PDB, the ligand is removed from the binding site (provided that there is any), hydrogen atoms are added, protonation states and tautomers are adjusted etc. as described above. Usually

the binding site must be predefined by the user prior docking. It can be identified for example by values of Cartesian coordinates or residue numbers.

Next, a series of tested compounds is downloaded from vendor web site or ZINC. These databases can be obtained in various formats (SMILES, SDF, MOL2) [20]. If necessary 2D structures can be converted to 3D. Finally, these structures are docked into the binding site. Most docking programs need seconds to minutes to dock one compound. It is therefore necessary to use high-performance computing resources. Finally, compounds with best binding scores are selected, purchased and experimentally tested. Docking-based virtual screening campaigns also often include various complementary filters to remove non-drug-like, potentially toxic, reactive or otherwise undesirable compounds. Many researchers also inspect predicted binding poses visually using a structure visualization software. These researchers look at binding modes of docked

compounds and reject those compounds that show good scores but their binding does not follow their chemical intuition.

Example of a very successful virtual screening campaign is the one carried out in the group of Chris de Graaf [21]. Histamine receptor H_1 is the target of antihistaminics for allergy treatment and possibly other drugs. Its 3D structure was determined by crystallography in 2011 by Shimamura and co-workers (PDB ID: 3RZE [22]). Chris de Graaf and co-workers collected a database of more than 100 000 compounds. Next they predicted their 3D structures and docked them into the binding site of the receptor using PLANTS software [10]. They used two criteria for selection of promising compounds - the PLANTS score and interaction fingerprints. By these two criteria they selected 611 compounds. From them they further selected 26 using visual inspection and by consistency and novelty filters. These 26 compounds were purchased and experimentally tested. 19 out of these 26 compounds were active in 10 μ M to 6 nM range, which is very good taking into the account the fact that screened molecules were very small (up to 22 non-hydrogen atoms).

There are many successful applications of virtual screening described in literature. However, this methodology is not without pitfalls. First, many potential drug targets are poorly druggable [23], which means it is difficult to develop a strong ligand for it, by virtual as well as by experimental screening. Many targets require conformational change that is difficult to model in virtual screening as described above. There are also many compounds that may systematically provide false positive results in dockings.

There is a way how to evaluate a virtual screening protocol provided that there are some known ligands for the studied target protein. It is possible to prepare a library containing the

known ligands together with the large number of general drug-like compounds. Next, these molecules are docked and sorted by the score. Finally, it is possible to evaluate the procedure in ability to find needles in haystacks. This type of virtual screening is referred to as retrospective (in contrast to prospective virtual screening by Chris de Graaf described above). In the best scenario, all known ligands should have better score than other general compounds, which are considered as inactive. In the worst scenario, known ligands do not show systematically better scores than known ligands. This can be visualized by receiver-operator characteristics (ROC) plot (Figure 2). The horizontal axis shows the false positive rate and the vertical shows true positive rate. The screening is depicted in the ROC plot as a curve. Each point of the curve is one compound. The curve starts in the origin of the coordinate system. The next point corresponds to the best-scored compound. The horizontal coordinate is $1/N$, where N is the number of tested compounds. If this compound is one of the active compounds (true positive), its horizontal coordinate would be $1/M$, where M is the number of active compounds in the library. If this compounds is not one of the actives, the horizontal coordinate would stay zero. Next, the second best-scored compound move by $1/N$ on the horizontal coordinate and by $+1/M$ if active or by 0 if inactive on the vertical coordinate and so forth. This curve reaches point (1,1). In the best scenario this curve grows linearly to the point (M/N , 1) and then follows the ceiling. In the worst scenario it grows approximately linearly from (0,0) to (1,1). Provided that the fraction of active compounds is small ($M \ll N$) the best scenario curve grows to the point ($\sim 0,1$) and the area under this curve is almost equal to one. Area under curve (AUC) in an ROC plot is often used as a main characteristic of a retrospectively tested virtual screening.

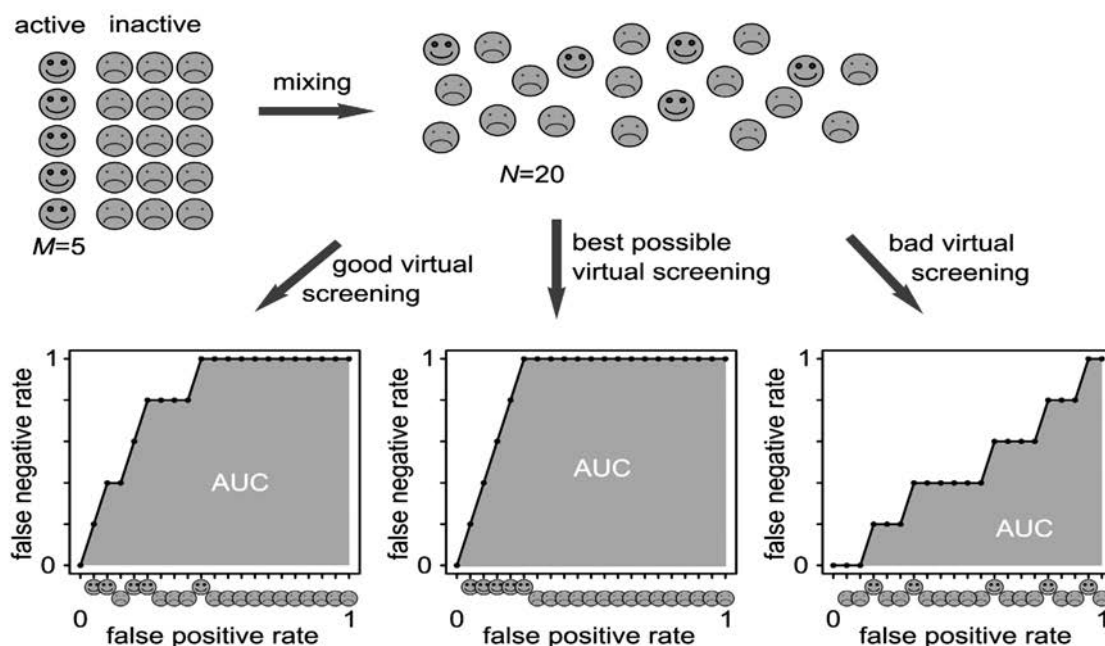


Figure 2. ROC curve for a model retrospective virtual screening with 5 active (smiling faces) and 15 inactive (frowny faces). ROC characteristics for good virtual screening (left, actives were ranked as 1st, 2nd, 4th, 5th and 9th, AUC close to 1), ideal virtual screening (middle, actives were ranked as 1st to 5th, AUC almost 1) and bad virtual screening (right, no difference between rankings of actives and inactives, AUC approx. 0.5).

Future Perspectives

Protein ligand docking became a very popular tool in prediction of binding modes of new ligands. In the situation when a new ligand is discovered and the structure of its complex with its target is unknown, but the structure of the target itself is known, it is possible to use docking to predict the new ligand's binding mode. This information can be efficiently used in further chemical optimization of this new ligand. Docking also became an integral part of virtual screening, in academia as well as in industry. It cannot predict the binding free energy with ultimate accuracy (good docking procedures give accuracy of approx. 2 kcal/mol) and docking performance varies from target to target, but it can usually distinguish good ligands from those that cannot bind at all. It is difficult to say how many approved drugs were developed with the aid of docking. Most drug discovery companies rely on experimental high-throughput screening, however, they often screen pre-focused libraries for given target or

class of targets and this pre-focusing is done by various virtual screening tools.

I see the future of virtual screening in two directions. First, it seems that more and more people virtually screen all ligands into all targets. This generates huge datasets that can be used to predict simultaneously numerous things, not only whether the ligand binds to the target of interest, but also whether it binds to other targets. This may help to distinguish selective and nonselective ligands. At the same time, it requires advanced computational infrastructure, statistics and visualisation.

It is also necessary to improve the accuracy of docking. Interesting methods that can be used in this direction are biomolecular simulations and their enhanced methods [24]. Molecular simulations take into the account hydrophobic interactions, entropy, solvent, target flexibility and other factors that are usually neglected or heuristically modelled in classical docking tools. Their problem is in high computational costs that allow to use them for testing of few selected compounds.

Literature

1. Rees D.C., Congreve M., Murray C.W., Carr R. Fragment-based lead discovery. *Nature Reviews in Drug Discovery*. – 2004. – №3. – P. 660-672.
2. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* – 2000 – №28 – P. 235-242.
3. Olsson M.H.M., Sondergaard C.R., Rostkowski M., Jensen J.H. PROPKA3: Consistent treatment of internal and surface residues in empirical pKa predictions. *Journal of Chemical Theory and Computation*. – 2011. – №7. – P. 525-537.
4. <https://www.mn-am.com/products/corina>
5. <https://www.biosolveit.de/TorsionAnalyzer/>
6. O'Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics* – 2011. – №3 – P. 33.
7. Sterling T., Irwin J.J. ZINC 15 – Ligand discovery for everyone. *Journal of Chemical Information and Modeling*. – 2015. – №55. – P. 2324-2337.
8. Gohlke H., Klebe G. Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-molecule ligands to macromolecular receptors. *Angewandte Chemie International Edition English*. – 2002. – №41. – P. 2644-2676.
9. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. Autodock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. – 2009. – №16. – P. 2785-2791.
10. Korb O., Stützel T., Exner T.E. PLANTS: Application of ant colony optimization to structure-based drug design. *Lecture Notes in Computer Science* – 2006. – №4150. – P. 247-258.
11. <https://www.biosolveit.de/FlexX/>
12. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* – 2010. – №31. – P. 455-461.
13. Kuntz I.D., Blaney J.M., Oatley S.J., Langridge R., Ferrin T.E. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology* – 1982. – №161 – P. 269-288.
14. <https://www.schrodinger.com/glide>
15. <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-discovery/components/gold/>
16. <https://www.molsoft.com/docking.html>
17. https://www.chemcomp.com/MOE-Structure_Based_Design.htm
18. <http://www.biopharmics.com/downloads.html>
19. Anne-Marie L. Winther A.-M.L., Huizhen Liu H., Sonntag Y., Olesen C., le Maire M., Soehoel H., Olsen C.E., Christensen S.B., Nissen P., Møller J.V. Critical Roles of hydrophobicity and orientation of side chains for inactivation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase with thapsigargin and thapsigargin analogs. *Journal of Biological Chemistry* – 2010. – №285. – P. 28883-28892.
20. Gasteiger J., Engel T. (eds) *Chemoinformatics: A textbook*. Wiley Intersciences 2003., ISBN: 978-3-527-30681-7.
21. de Graaf C., Kooistra A.J., Vischer H.F., Katritch V., Kuijer M., Shiroishi M., Iwata S., Shimamura T., Stevens R.C., de Esch I.J., Leurs R. Crystal structure-based virtual screening for fragment-like ligands of the human histamine H₁ receptor. *Journal of Medicinal Chemistry* – 2011. – №54. – P. 8195-8206.
22. Shimamura T., Shiroishi M., Weyand S., Tsujimoto H., Winter G., Katritch V., Abagyan R., Cherezov V., Liu W., Han G.W., Kobayashi T., Stevens R.C., Iwata S. Structure of the human histamine H₁ receptor complex with doxepin. *Nature*. – 2011. – №475. – P. 65-70.
23. Barril X. Druggability predictions: methods, limitations, and applications. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. – 2012. – №3. – P. 327-338.

24. Spiwok V., Šučur Z., Hošek P. Enhanced sampling techniques in biomolecular simulations. Biotechnology Advances. – 2011. – №33. – P. 1130-1140.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ БЕЛОК-ЛИГАНД И ЕГО МЕСТО В РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ СТРУКТУРЫ

Vojtěch Spiwok

e-mail: spiwokv@vscht.cz

Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 3, Prague 6, 166 28, Czech Republic

Разработка лекарственных препаратов на основании структуры является одним из главных факторов, который мотивирует ученых определять 3D структуры белков и других молекул природных соединений. Молекулярный докинг белок-лиганд используется в качестве основного инструмента в данной области. В обзорной статье описаны ключевые компоненты программ для проведения докинга, т.е. структура мишени и лиганда, функция шкалирования и алгоритм докинга. Рассматривается, как молекулярный докинг может использоваться для проведения виртуального скрининга больших баз данных соединений, и обсуждаются перспективные тенденции в данной области.

АҚУЫЗ-ЛИГАНД МОЛЕКУЛАЛЫҚ ДОКИНГІ ЖӘНЕ ОНЫҢ ҚҰРЫЛЫМ НЕГІЗІНДЕ ДӘРІЛІК ЗАТТАРДЫ ЖАСАУДАҒЫ ОРНЫ

Vojtěch Spiwok

e-mail: spiwokv@vscht.cz

Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 3, Prague 6, 166 28, Czech Republic

Құрылым негізінде дәрілік препараттарды жасау ақуыздардың және биологиялық қосылыстардың басқа да молекулаларының 3D құрылымдарын анықтауға ынталандыратын басты факторларының бірі болып табылады. Ақуыз-лиганд молекулалық докингі осы салада негізгі құрал ретінде қолданылады. Шолу мақаласында докингті жүргізуге арналған бағдарламалардың түйінді компоненттері, яғни нысана мен лигандтың құрылымы, шкалалау функциясы және докинг алгоритмі сипатталған. Сонымен қатар, қосылыстардың үлкен дерек қорларының виртуалды скринингін жүргізу үшін молекулалық докингті қолдану жолдары көрсетіліп, осы саладағы болашақ үрдістер туралы айтылады.

ЛЕЧЕБНЫЕ МЫЛА. СОСТОЯНИЕ ПРОИЗВОДСТВА И РЫНОК СБЫТА

Г.А. Атажанова, Айжан С. Адекенова, А. Али, Х. Мамырхан, С.К. Наушарипов

E-mail: phytoperfume@mail.ru

ТОО «Phytoperfume», Республика Казахстан, г. Караганда

В статье приведены данные по анализу рынка туалетных мыл в Казахстане, тенденции развития рынка туалетных мыл с лечебными свойствами. Представлена новая технология изготовления антибактериального натурального мыла и драйверы развития бренда «Phytoperfume». Рассмотрены примеры получения синтетического и натурального мыла с лечебными свойствами. Обсуждаются основные этапы технологического процесса производства лечебного мыла с эфирными маслами.

Казахстанский рынок туалетного мыла

Емкость казахстанского рынка туалетного мыла в 2016 г. в натуральном эквиваленте составила 19 091 тонн (темп роста с 2011 г. - 38,4%); в стоимостном эквиваленте - 14 096 млн. тенге (темп роста с 2011 г. – 30,9%). Рост рынка ожидается на уровне 42,6% к 2021 году в натуральном выражении; в стоимостном выражении - на 46,9%.

На сегодняшний день казахстанский рынок туалетного мыла остается крайне импорт зависимым. В 2016 году доля импорта в потреблении составила 92%.

В то же время, производство мыла и продуктов поверхностно-активных органических веществ в форме брусков, кусков или в жидком состоянии, в Казахстане характеризуется положительным трендом роста. До 2015 г. средние темпы роста производства составили 43,3%, в 2016 г. произошло замедление показателя до 11,7%. Положительные тренды производства мыла в Казахстане связаны в первую очередь со стремлением страны к импорту замещению данной продукции. А во вторую, с увеличением численности населения на 8,3% за последние 5 лет. Замедление темпов роста в 2016 связано с двумя девальвациями национальной валюты в 2015-2016 гг., приведшее к некоторому снижению покупательской способности населения страны.

Всего в Казахстане зарегистрировано 125 организаций, занимающиеся производством мыла, моющих, чистящих и полирующих веществ. Из них производством кускового мыла занимаются только 3 компании (ТОО «Казбытхим», ТОО «Рид», ТОО «АдалПлэнт»), располагающиеся в Павлодарской, Акмолинской областях и в г. Алматы. При этом, в сегменте натурального мыла отечественные производители все еще не представлены.

Тренды рынка

Согласно британской исследовательской компании «Organic Monitor», рынок натуральной и органической косметики в мире имеет положительную тенденцию: в 2015 году объемы продаж в США составили 12 млрд. долларов – вдвое больше, по сравнению с 2006 годом.

По данным Transparency Market Research, тенденция в дальнейшем будет направлена лишь на увеличение спроса на средства, относящиеся к «зеленому» классу, и к концу 2018 она может вырасти до \$13.2 млрд.

Было выявлено, что покупатели все чаще обращают внимание на источник происхождения продукта и делают акцент на его экологическом и этическом бэкграунде. В результате социологического опроса исследовательской компании «Nielsen», на предмет выбора основных характеристик того или иного продукта, 53%

обращают внимание на заверения в полной натуральности продукта - "all natural".

Новый игрок на казахстанском рынке

Компания «Phytoperfume» является на сегодняшний день единственным производителем антибактериального натурального мыла на рынке Казахстана. Компанией совместно с АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» разработаны уникальные рецептуры кускового мыла, обладающие антибактериальными свойствами благодаря эфирным маслам, содержащимся в продукте. Производится монтаж оборудования на участке по производству оригинального лечебного мыла и планируется введение в эксплуатацию.

Миссией «Phytoperfume» является популяризация казахстанской натуральной косметики с лечебным эффектом, тем самым развивая новый сегмент на локальном рынке натуральной лечебной косметики.

Мыло «Phytoperfume» – это высококачественное натуральное мыло с выраженным антибактериальным эффектом на основе казахстанских лечебных трав и эфирных масел.

Драйверы развития бренда «Phytoperfume»

В сегменте антибактериального мыла по предпочтениям конечных потребителей лидирующую позицию занимает бренд «Safeguard» - 32% потребителей, остальные бренды набрали меньше 15% голосов респондентов¹.

Вместе с тем, мыло, обеспечивающее защиту от бактерий, содержит синтетические вещества, оказывающие вредное воздействие на организм человека. Триклозан, входящий в состав мыла, по словам ученых, при длительном применении вызывает мутационные процессы у некоторых бактерий, тем самым снижая естественный иммунитет. Лаурет- и лаурилсульфаты в составе мыла относят к чистящим и пенообразователям.

Они сушат кожу вплоть до аллергической реакции, накапливаются в организме. Кокаmidопропил бетаин - аллерген. Если превысить допустимую концентрацию, можно вызвать токсическую реакцию на коже и глазах. Триклокарбан - угнетает эндокринную систему. Вызывает местное раздражение антисептик – хлороксиленол и цитрат натрия.

Преимуществом мыла «Phytoperfume» является его высокая антибактериальная эффективность при 100% натуральности продукта и, как следствие, отсутствие вышеперечисленных вредных компонентов.

Кроме того, компания гордится экологичностью производства своего продукта, наличием собственной сырьевой (растительной) базы, а также командой высококвалифицированных научных сотрудников-разработчиков мыла.

В планах «Phytoperfume» занять свою нишу на казахстанском рынке с последующим выходом на экспортные рынки.

За последнее время производство моющих средств и средств гигиены перешло на новый уровень развития. Это также затронуло рынок туалетного мыла – разрабатываются и совершенствуются новые рецептуры мыла, вводятся нетрадиционные добавки, придающие продукту дополнительные свойства.

Мыло туалетное - продукт, состоящий из натриевых солей натуральных и синтетических жирных кислот, с добавлением красителей, отбеливающих, антисептических и смягчающих веществ, отдушек и других компонентов, улучшающих потребительские свойства мыла. Мыло относится к группе парфюмерно-косметических товаров [1-2].

Сейчас казахстанские потребители стали более искушенным при выборе товаров для личного потребления. С ростом средней заработной платы покупатели стали более требовательны к качеству товаров и более лояльны к цене такого товара, как мыло, которое само по себе не является дорогостоящим товаром.

¹ Проведенный опрос ТОО «ЦБР Elim»

Мыло является одним из старейших известных химических продуктов, полученное тысячи лет назад в результате реакции животных жиров с пеплом растений. Раньше мыло использовалось только для чистки одежды, а не для личной гигиены. Животные жирные мыла обладали почти невыносимыми запахами и, вероятно, содержали избыточное количество непрореагировавших жиров [3]. Сегодня мыло производится с использованием различных процессов, в том числе кипячения, непрерывного омыления и гидролиза/нейтрализации, а также различных исходных материалов для жиров и масел, получая готовые материалы, которые обладают особо желательными свойствами для применения в качестве продуктов для личной чистки [4,5].

Мыло является одним из примеров более широкого класса материалов, известных как поверхностно-активные вещества. Молекулы поверхностно-активных веществ содержат как гидрофильную и гидрофобную или водоотталкивающую часть. Гидрофильная часть молекулы мыла представляет собой карбоксилатную головную группу, а гидрофобная часть представляет собой алифатическую цепь. Этот класс материалов одновременно растворим как в водной, так и в органической фазах или в предпочтительном агрегате на границах воздух-вода. Именно эта специальная химическая структура приводит к способности поверхностно-активных веществ очищать грязь и масло от поверхностей и производить пену [6,7].

В последнее время разрабатываются и совершенствуются новые рецептуры мыла, вводятся нетрадиционные добавки, сообщающие мылу дополнительные свойства. Но, несмотря на то, что большинство потребителей стремятся ориентироваться на современные достижения в области косметики, мыло остаётся неотъемлемой частью нашего быта.

Технология изготовления основана на реакции омыления — гидролиза сложных эфиров жирных кислот со щелочами. При изготовлении туалетного мыла особенно

большую роль играет парфюмирование. Дело в том, что отдушка не только должна быть приятной, но и должна долго сохранять свой запах и потребительские свойства мыла.

Нами разработан регламент производства натурального антибактериального туалетного мыла с эфирными маслами. Оно предназначено для использования в фармацевтике — как антибактериальное средство, в медицине — как средство профилактики инфекционных заболеваний, в косметологии — как средство по уходу за кожей рук, лица и тела. По внешнему виду соответствует требованиям межгосударственного стандарта по ГОСТ 28546-2002.

Продукция ТОО «Phytoperfume» — туалетное мыло прямоугольной формы с закругленными краями с фирменным логотипом; окрашенное в зависимости от вида эфирного масла; с характерным запахом эфирного масла.

Таблица 1

Состав туалетного мыла:

№	Компоненты	Содержание, %
1	Жиры и растительные масла	55
2	Едкий натр	9
3	Вода (пар)	25
4	Глицерин	3
5	Эфирное масло	3
6	Спирт этиловый (влагоосушитель/стабилизатор)	2
7	Хлорид натрия	1
8	Отдушки	2

Масса туалетного мыла 60 г.

Агрегатное состояние при нормальных условиях — твердая дозированная форма.

Средняя масса продукта 60 г ± 5 %.

Упаковка и этикетирование готовой продукции

Упаковку осуществляют посредством бумажного обертывания в два-три слоя

по ГОСТ 8273-75, помещают в ящики транспортные по ГОСТ 13841-95. В отдельных случаях упаковку осуществляют в индивидуальные коробки.

Краски на этикетке в соответствии с ГОСТ 26160.

Маркировка.

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192 с нанесением манипуляционного знака «Беречь от влаги»

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 23285-78.

Хранение. Твердое туалетное мыло хранят в сухих, закрытых хорошо проветриваемых помещениях при температуре не ниже -5°C и относительной влажности воздуха не более 75%.

Срок годности. 2 года.

Оборудование по производству лечебного мыла представлено в таблице 2.

Основные этапы технологического процесса производства лечебного мыла представлены на схеме 1.

Таблица 2

Ведомость спецификации оборудования,
контрольно-измерительных и регулирующих приборов

№	Наименование	Кол-во ед.	Материал рабочей зоны	Габариты, техническая характеристика
1	Дуплекс – Пилотеза	1	нерж. сталь	600*1200*2000 см 5 кВт; 380 В
2	Реактор для варки мыла (эл.тены)	1	нерж. сталь	800*2000 см V-150 л 5 кВт; 380 В
3	Ёмкость для разогрева твердого жира	1	нерж. сталь	800*1300 см V-150 л 3 кВт; 380 В
4	Приемный стол для пилотезы с ручной резкой	1	нерж. сталь	1260*600*700 см
5	Барабан для нанесения маркировки на мыло	1	нерж. сталь	
6	Пресс для штамповки мыла в комплекте со штампом для мыла (100 г)	1	латунь	600*600*700 см 380 В
7	Этажерка для сушки мыла	2	Черный металл с сетчатой полкой	600*1500*900 см
8	Упаковочная машина	1	нерж. машина	Около 80 упак/мин
9	Весы технические	1		разрешение до 100 кг
10	Морозильник	1	пластик, эмалированная решетка	V-1200 л
11	Бутыль	2	стекло	V-до 5 л

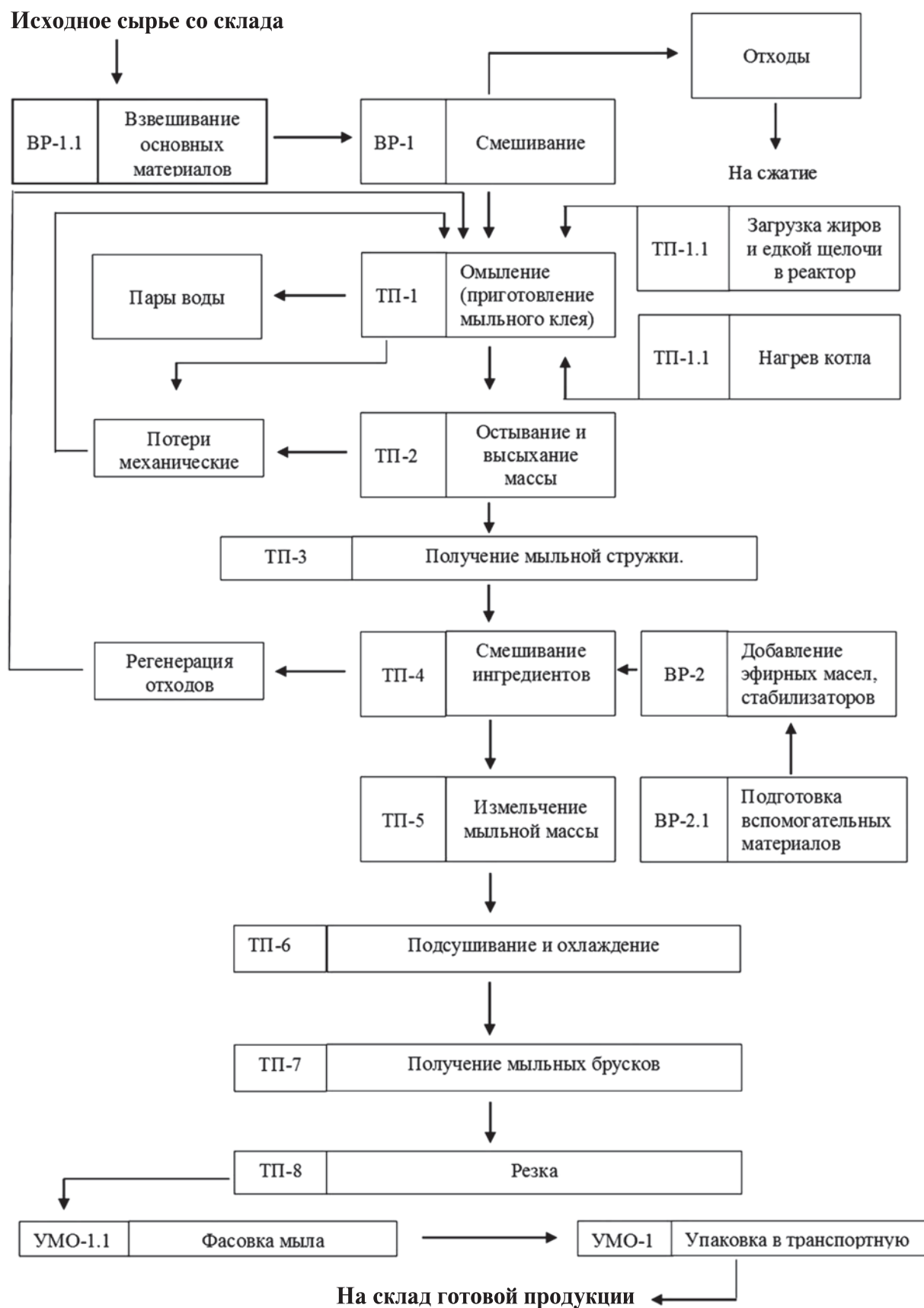


Схема 1. Технологический процесс производства мыла

Ниже представлена характеристика сырья для производства лечебного мыла.

Топленый жир (говяжий, свиной, и т.д.) – позволяет получить очень твердое белоснежное мыло. Дает невысокую, устойчивую пену. Придает мылу увлажняющее свойство. Хорошо сочетается с кокосовым и оливковым маслом. Является классической натуральной основой в мыле. Жир животный топленый пищевой подразделяется на: говяжий, свиной, бараний высшего и первого сортов, а также сборный жир по ГОСТ 25292.

Технические требования по ГОСТ 25292

В зависимости от качества и производственного назначения технический животный жир подразделяют на жир первого, второго, третьего сортов и специальный.

Технический животный жир вырабатывается в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологической инструкции, утвержденной в установленном порядке.

По органолептическим и физико-химическим показателям технический животный жир должен соответствовать требованиям, указанным в ГОСТе.

Каустическая сода (гидроксид натрия) - представляет собой белое вещество твердой консистенции, мылкой на ощупь. Отлично растворяется в воде, выделяя при этом большое количество тепла. Едкий натрий является очень сильным химическим соединением. Уровень pH 1% раствора составляет 13. В мыловарении каустическая сода используется для получения твердого брускового мыла при вводе в жирную фазу приготовления. Натр едкий технический по ГОСТ 2263, водный раствор с массовой долей 40-50%.

Технические требования по ГОСТ 2263

Едкий натр должен быть изготовлен в соответствии с требованиями настоящего стандарта и технологическому регламенту, утвержденному в установленном порядке.

Технический едкий натр выпускают следующих марок:

ТР - твердый ртутный (чешуированный);

ТД - твердый диафрагменный (плавленый);

РР - раствор ртутный;

РХ - раствор химический;

РД - раствор диафрагменный.

По физико-химическим показателям едкий натр должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в ГОСТе

Эфирные масла – это вытяжки полезных компонентов растений с широким спектром биологической активности. Всего 1-3 мл могут оказать благоприятное воздействие на кожу рук. Эфирные масла используют не только в косметических, но и оздоровительных целях. Разные масла борются с вирусами, бактериями и вредными токсинами, делают здоровой среду организма, способствуют его очищению от яда. Стимулируют иммунную систему и повышают её сопротивляемость к стрессу, а также улучшают обмен веществ. Эфирное масло для мыла используют в целях ароматизации, а через пену масло соприкасается с кожей и отдает все полезные свойства.

Вода (Aqua) – это основа всех косметических средств, её содержится больше всего – от 25 до 50 %.

Глицерин (Glycerin) – увлажнитель и размягчитель. Глицерин (от греч. glykeros-сладкий) простейший трехатомный спирт $\text{HOCH}_2 - \text{CHON} - \text{CH}_2\text{OH}$; без запаха, вязкой, прозрачной и бесцветной структурой. Получают глицерин путем химии, соединяя воду и жиры (масла). Выступает проводником воды в вашу кожу, улучшая её проникновение в клетки кожи. Он помогает придать увлажняющие свойства мылу, так как втягивает в себя влагу из окружающих его компонентов и среды. В медицине глицерин применяют как средство для смягчения кожи (смягчительное средство), а также в свечах и клизмах как слабительное средство. Глицерин служит основой для приготовления мазей, линиментов, производные глицерина – жиры, липиды и некоторые др. – играют большую биологическую роль.

Технические требования по ГОСТ 6259-75

Глицерин должен быть изготовлен в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическому регламенту, утвержденному в установленном порядке.

По физико-химическим показателям глицерин должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в ГОСТе.

Отдушка для мыла имеет огромное значение. Иногда без ее применения пользоваться мылом невозможно, так как запах основы бывает не просто специфическим, а порой очень неприятным.

Хлорид натрия (NaCl, Sodium chloride) - поваренная соль, регулятор щелочности. Используется для повышения вязкости. Натрия хлорид применяется при лечении различных хронических воспалительных процессов кожи и слизистых оболочек и при пониженном тонусе нервной и мышечной систем. Содержание в мыльной основе 0,5 -1 по ГОСТ 13830-97.

Кокосовое масло - абсолютно натуральное средство, соответственно никаких побочных эффектов и аллергии. Надолго увлажняет кожу, не позволяет вашей коже пересохнуть, предотвращает появление преждевременных морщин, быстро впитывается, не оставляет жирного блеска, гипоаллергенно. Содержание в мыльной основе 5 -25 %

Кокосовое масло должно вырабатываться в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим инструкциям, утвержденным в установленном порядке.

Технические требования по ГОСТ 10766

Кокосовое нерафинированное масло должно вырабатываться из копры, в которой содержание пестицидов не должно превышать норм Министерства здравоохранения КР, утвержденных в установленном порядке для масличного сырья соответствующего назначения.

По физико-химическим показателям кокосовое масло должно соответствовать требованиям и нормам, изложенным в ГОСТе.

Содержание пестицидов в кокосовом масле, предназначенном для непосредственного употребления в пищу или направляемом для производства пищевых продуктов, не должно превышать норм Министерства здравоохранения КР, утвержденных в установленном порядке для растительных масел соответствующего назначения.

Пальмовое масло добывают с околплодников африканской пальмы методом холодного прессования. В мякоти плодов содержится 70% чистого масла. Готовое масло представляет собой твердую массу ярко-оранжевого цвета.

Технические требования ГОСТ 31647-2012.

Пальмовое масло вырабатывают в соответствии с требованиями настоящего стандарта по техническим документам, с использованием вспомогательных средств, установленными или санитарными правилами и нормами, гигиеническими нормативами, или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

По органолептическим показателям масло пальмовое должно соответствовать требованиям, указанным в ГОСТе.

Содержание пестицидов, токсичных элементов и радионуклидов не должно превышать уровни, установленные или санитарными правилами и нормами, гигиеническими нормативами, или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

Идентификационная характеристика «жирно-кислотный состав пальмового масла» и метод определения жирно-кислотного состава.

Масло подсолнечное по ГОСТ 1129-2013.

Содержание пестицидов, токсичных элементов, радионуклидов и микротоксинов в подсолнечном масле не должно превышать норм, установленных в ГОСТе.

Микробиологические показатели в подсолнечном масле марки «Премиум» не должны превышать норм, установленных для растительного масла, предназначенного для изготовления продуктов детского питания.

Органолептические и физико-химические показатели должны соответствовать требованиям, указанным в ГОСТе.

Подсолнечное масло может использоваться для технических целей. При этом конкретные нормы показателей согласовывают с потребителем.

Методы контроля

Отбор проб, подготовка пробы к испытанию, определение органолептических показателей, определение температуры застывания выделенных из мыла жирных кислот, определение массовой доли хлористого натрия, вычисление качественного числа и массовой доли содопродуктов - по ГОСТ 790-89.

Обзор рынка мыла в Казахстане за 2011 – 2016 гг.

Производство мыла и продуктов поверхностно-активных органических веществ в форме брусков, кусков или в жидком состоянии, в Казахстане характеризуется положительным трендом роста. До 2015 г. средние темпы роста производства составили 43,3%, в 2016 г. произошло замедление показателя до 11,7%. Положительные тренды производства мыла в Казахстане связаны в первую очередь со стремлением страны к импортозамещению данной продукции. А во вторую, с увеличением численности населения на 8,3% за последние 5 лет. Замедление темпов роста в 2016 году связано с двумя девальвациями национальной валюты в 2015-2016 гг., приведшее к некоторому

снижению покупательской способности населения страны.

Емкость казахстанского рынка в 2016 г. в натуральном эквиваленте составила 19 091 тонн (темп роста с 2011 г. - 38,4%); в стоимостном эквиваленте емкость рынка составила 14 096 млн. тенге (темп роста с 2011 г. – 30,9%).

Объемы экспорта мыла за последние 6 лет значительно упали (в натуральном выражении на 70,1%, в стоимостном - на 18%), импорт же, наоборот значительно увеличился (в натуральном выражении рост составил 55%, в стоимостном выражении - 41,1%). Такая тенденция связана с увеличением потребления импортного туалетного мыла, которое отличается большим ассортиментом, по сравнению с местными брендами, а также нацелено на различные сегменты потребителей.

В 2016 году, в натуральном выражении, наибольшую долю во внешней торговле туалетным мылом заняла Российская Федерация – 53,3%, на втором месте Украина – 14,9%, тройку лидирующих стран замыкает Турция – 11,1%.

Лидирующие позиции в экспорте заняли такие страны, как Кыргызстан (75,2%), Китай (13,9%), Россия (4%).

В 2016 году доля импорта в потреблении составила 92%.

Тенденции развития рынка

Согласно британской исследовательской компании «Organic Monitor», рынок натуральной и органической косметики в мире имеет положительную тенденцию: в 2015 году объемы продаж в США составили 12 млрд. долларов – вдвое больше, по сравнению с 2006 годом.

Основной спрос на натуральную и органическую косметику приходится на Европу и Северную Америку – они делают 80% от мировых продаж.

По данным Transparency Market Research, тенденция в дальнейшем будет направлена лишь на увеличение спроса на средства,

относящиеся к «зеленому» классу, и к концу 2018 она может вырасти до \$13.2 млрд.

Было выявлено, что покупатели все чаще обращают внимание на источник происхождения продукта и делают акцент на его экологическом и этическом бэкграунде. В результате социологического опроса исследовательской компании «Nielsen», на предмет выбора основных характеристик того или иного продукта, 53% обращают внимание на заверения в полной натуральности продукта - «all natural».

Если рассматривать рынок натуральной косметики в Казахстане, то можно сделать вывод, что в настоящий момент рынок не развит, отечественные производители натуральной косметики до сих пор не представлены.

Свойства антибактериального синтетического мыла

Общеизвестно, что основное назначение мыла - санитарно-гигиенические цели. При мытье рук водой с обычным туалетным мылом с поверхности кожи удаляется до 90% микроорганизмов и микрофлоры. Это связано со щелочной реакцией водных растворов мыла (pH 9-10), уничтожающей болезнетворные микроорганизмы.

1950-е и 1960-е годы являются годами разработки нового продукта – антибактериального мыла. В 1990-х годах антибактериальное мыло стало общедоступным средством, его стали продавать для широкого потребителя и повсеместно. А к 2010-м годам продажи антибактериального мыла в США превысили 1 миллиард долларов в год.

Добавление триклозана в мыло или гель для душа позволяет полностью подавить жизнедеятельность бактерий, заселяющих кожу человека. У этого действия есть и побочный эффект: считается, что именно из-за его широкого применения у бактерий развивается устойчивость к антибиотикам, то есть в результате эволюции или мутации бактерии уже невозможно убить ранее использовавшимися средствами. Кроме

того, под действием триклозана в организме женщины меняется уровень полового гормона эстрогена, что признано фактором риска в развитии рака груди.

Американское управление по безопасности еды и лекарств FDA (The Food and Drug Administration) в 2016 году вынесло запрет на использование триклозана в мыле для широкого производства. Купить триклозановое мыло в США теперь можно только по рецепту в аптеках.

Также используется трихлокварбан, который имеет антибактериальный эффект широкого спектра действия и часто его добавляют в продукты личной гигиены. Это особенно распространено в коммерческих мылах. Тем не менее, он имеет несколько неблагоприятных последствий для здоровья и окружающей среды. Например, может способствовать бактериальной устойчивости, он содержит канцерогенные примеси, хронически токсичен, нарушает эндокринную систему.

В синтетическое мыло помимо триклозана можно добавить и другие антисептики (хлоргексидин, салициловую кислоту и т.п.) и биологически активные вещества, в том числе полученные из природного сырья лекарственных растений.

Например, известен способ приготовления антибактериального мыла, включающий получение натриевых солей жирных кислот из маслосодержащих материалов с добавлением 2-3 об.% жидкого микробиологического биопрепарата «ЭМ-Вита» и 0,85-1 об.% сахара, которое выдерживают в течение 1 месяца, периодически перемешивая, при температуре 30-35°C, после чего масляное суло омыляют, перемешивая его с раствором каустической соды и добавкой ЭМ-порошка в количестве от 0 до 0,3-0,5% от объема отработанного растительного масла, перемешивают полученную массу до гомогенного состояния и разливают в формы, в которых выдерживают до приобретения мылом твердого состояния [8].

Авторами разработан способ получения мыла, включающий омыление жиров и

переработку сваренного мыла в товарный продукт, отличающийся от известных способов тем, что гидролиз топленого жира проходит в присутствии экстракта биюргуна солончакового [9].

В мыло добавляют также и минеральные отложения. Например, антибактериальное мыло туалетное содержит мыльную основу и натуральную добавку, отличающуюся от известных методов приготовления тем, что в качестве натуральной добавки использованы подготовленные илово-глинистые отложения озера Большой Тамбукан от 0,5 до 35% [10].

Известен способ получения противомикробного мыла с бентонитом. Мыло туалетное содержит мыльную основу, антиоксидант, функциональные добавки и воду и в качестве антимикробного агента - наночастицы бентонитового порошка [11]. Технический результат такого мыла - антимикробная защита кожи пролонгированного действия при уменьшении негативного воздействия на нее.

Таким образом, потребительские свойства антибактериальных косметических моющих средств зависят как от качества применяемых ПАВ (поверхностно-активных веществ), определяющих их моющую способность, так и от добавок, определяющих их косметические и лечебно-профилактические свойства.

Состав и свойства лечебного натурального мыла

Современная косметическая продукция для поддержания своей конкурентоспособности должна иметь не только привлекательные внешние характеристики, действовать быстро и с явным видимым эффектом, но и содержать в своем составе биологически активные вещества, благотворно действующие на обменные процессы и улучшающие регенеративные функции кожи. Всё чаще для изготовления косметических средств производители используют натуральные ингредиенты. На это повлияла не только серьезная регламентация

использования синтетических ингредиентов, но и стремление производителей назвать свой продукт «натуральным». Восприятие потребителем слова «натуральный» как синоним слову «высшего качества» привело к увеличению спроса на так называемую «Зеленую продукцию» [12].

Например, известен способ получения натурального мыла, включающий введение в воду при постоянном перемешивании и температуре 20-25°C при атмосферном давлении карбонатов или гидрокарбонатов щелочных и щелочноземельных металлов, при этом в качестве полезных добавок используют водные, масляные или углекислотные экстракты лекарственных растений, их галеновые отвары или сухие тонкодисперсные порошки [13].

В состав туалетного мыла, содержащего мыльную основу (вода, глицерин растительного происхождения, стеарат натрия, пропиленгликоль, стеариновая кислота, NaCl, лауриновая кислота, масло миндальное, гель Алоэ Вера, витамины А и Е) добавлен авторами антибактериальный агент - эфирное масло можжевельника [14].

Потребительский спрос на натуральные и органические средства личной гигиены неуклонно растет из-за факта, что некоторые синтетические химические вещества оказались вредными для здоровья человека. Популярное местное мыло, произведенное в Гане, считается натуральным мылом, потому что оно изготовлено из натуральных ингредиентов, полученных из шелухи какао-бобов и нерафинированного пальмоядрового масла. В Исследовательском институте какао в Гане получено новое мыло с добавлением масла ши (каритэ), чтобы улучшить его биологический эффект. Мыло обладает эффективными свойствами против бактериальных и грибковых заболеваний, а также активно в отношении экземы и псориаза [15].

Зеленая технология мыла, основанная на повторном использовании отходов, таких как миндальные оболочки, апельсиновые корки и использованное кулинарное масло могут использоваться для приготовления

моющих средств. В Португалии тысячи тонн отходов образуются из использованного кулинарного масла и очистки орехов, которые растут с каждым годом. Кроме того, высокое потребление цитрусовых, апельсинов приводит к отходам большого количества цитрусовой кожуры. Поэтому необходимо диверсифицировать механизмы повторного использования этих отходов, чтобы вернуть их в сырье. В соответствии с этой тенденцией, сначала были проведены измельчение миндальных оболочек, обработка отработанного масла, апельсиновой корки и извлечения лимонена. Результаты подтвердили высокий потенциал идеи в области экологического безотходного производства, поэтому он может тиражироваться во многих отраслях [16].

Для применения в медицине авторами предложено антибактериальное, дезинфицирующее туалетное жидкое мыло с эфирными маслами, растительными экстрактами и березовым дёгтем [17].

В жидкое мыло «Универсальное», состоящее из натриевых или калиевых солей жирных кислот C16-C18, спирта этилового ректифицированного добавлены хлорид натрия и эфирное масло цитрусовых. Жирные кислоты получены омылением куриного жира. Данное мыло обладает хорошей моющей способностью и стабильностью при хранении [18].

Экстракт полыни *Artemisia rupestris* L. до 1,5% добавляют китайские ученые в состав жидкого и твердого антибактериального и противовирусного мыла. В состав мыла также добавлен жидкий экстракт корнеплодов репы (*Brassica rapa*) до 1,5%. Предлагаемое жидкое моющее средство не только очищает кожу, но и защищает, и увлажняет её [19].

Сотрудниками ТОО «Phytoperfume» в лабораторных условиях разработаны несколько мыльных композиций с различным составом на основе: говяжьего жира с различным %-содержанием пальмового масла; кокосового масла; конского жира; бараньего жира. Оптимальным является состав со смесью говяжьего жира, кокосового, пальмового,

подсолнечного и щелочи, с добавлением в качестве отдушки – эфирного масла полыни. Туалетное мыло соответствует техническим условиям по форме и по содержанию с хорошим пенообразованием. Изучение антимикробной активности проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, грамотрицательным штаммам и к дрожжевому грибку *Candida albicans* методом диффузии в агар (лунок). Препараты сравнения – линкомицина гидрохлорид для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*. Установлено, что все образцы композиций мыла с эфирным маслом полыни гладкой показывают выраженную антимикробную активность [20].

История использования эфирных масел в лечебных и косметических целях уходит в глубокую древность. Человечество знакомо с достоинствами эфирных масел уже более 5000 лет, в том числе с их целебными, очищающими, консервирующими свойствами. Общее число эфиромасличных растений мировой флоры оценивается в 2500-3000 видов. Мировой ассортимент основных эфирномасличных растений не очень большой. Он насчитывает порядка 30-40 видов семейств *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*. Благодаря многообразию компонентного состава, эфирные масла обладают обширным спектром биологического действия: фунгицидным, антисептическим, антибиотическим свойствами, проявляют противоопухолевую, противовирусную, антимикробную, противотуберкулезную активность.

Сотрудниками ТОО «Phytoperfume» разработаны туалетные мыла с эфирными маслами растений, обладающих различной биологической активностью (таблица), подобран оптимальный состав туалетного мыла, состоящего из говяжьего жира, кокосового и пальмового масла и каустической соды и наработаны опытные партии [20-22].

Свойства эфирных масел, используемых в составе туалетных мыл

Название растения	Фармакологические свойства эфирного масла
1	2
Полынь гладкая (<i>Artemisia glabella</i> Kar. et Kir.)	Обладает высокой антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной и противотуберкулезной активностью.
Полынь беловатая (<i>Artemisia leucodes</i> Schrenk.)	Оказывает антисептическое, местнораздражающее, местное анальгезирующее и противовоспалительное действие. Эфирное мало полыни беловатой представляет собой жидкость бледно-зеленого цвета с резким, камфорным запахом
Мята перечная (<i>Mentha piperita</i> L.)	Эфирное масло обладает свойствами: противовирусными, противомикробными, противогрибковыми, обезболивающими, антиоксидантными, спазмолитическими, успокаивающим. Тонкий аромат этого масла успокаивает и расслабляет, прогоняет прочь тревогу и беспокойство.
Аяния кустарничковая (<i>Ajania fruticulosa</i> (Ldb.) Poljak)	Эфирное масло обладает высокой противовоспалительной, ранозаживляющей, противовоспалительной и противомикробной активностью.
Мелколепестник канадский (<i>Erigeron canadensis</i> L)	Эфирное масло обладает антибактериальной активностью Масло обладает цитрусовым запахом за счет своего основного компонента лимонена, который используется в качестве отдушки в парфюмерии и в производстве ароматизаторов.
Пихта сибирская (<i>Abies sibirica</i> Ledeb)	Обладает бактерицидным и противовирусным действием. Эфирное масло способно подавлять стафилококки, капельные инфекции и палочковидные микроорганизмы, именно поэтому в хвойных лесах воздух особенно чистый и свежий. Оно также эффективно как профилактическое средство при предрасположенности к ОРЗ и гриппу.
Шалфей лекарственный (<i>Salvia officinalis</i> L.)	Является хорошим антисептиком. Оказывает общеукрепляющее действие. Устраняет чрезмерную потливость и неприятные запахи тела. Укрепляет волосы и устраняет перхоть.
Роза (<i>Rosa</i>)	Эфирное розовое масло: оказывает противовоспалительное, противогрибковое и противовирусное действие; заживляет раны и останавливает кровь
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i> L.)	Антимикробные свойства эффективны при лечении ран и кожных поражений, масло препятствует распространению грибка и некоторых паразитов, например, вшей.
Ромашка аптечная (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	Эфирное масло ромашки обладает бактерицидными, противовоспалительными, тонизирующими, болеутоляющими и ранозаживляющими свойствами. Оно губительно действует на ряд болезнетворных бактерий, что позволяет эффективно применять его как вспомогательное средство при таких заболеваниях, как ангина, бронхит, ларингит, пневмония и конъюнктивит (ромашковая вода). Его используют и при иных простудных заболеваниях, так как оно способно снизить температуру тела при лихорадочном состоянии.

Таким образом, производство туалетного мыла в Казахстане практически не развито, значение местных брендов на рынке минимально (меньше 10%). При этом, в сегменте натурального кускового мыла отечественные производители не представлены вовсе. Антибактериальное туалетное мыло, представленное на казахстанском рынке, содержит в своем составе синтетические вещества, являющиеся токсичными для иммунной системы и имеющие способность накапливаться в коже.

Преимуществами нового предприятия по производству инновационной продукции – натурального антибактериального мыла из отечественного сырья являются:

- инновационность технологии;
- доступность источников растительного сырья;
- натуральные и экологически чистые компоненты для производства;

- сравнительно высокая антибактериальная активность разработанной продукции по сравнению с мылами известных фирм «Safeguard», «Protex» и других, содержащие в своем составе синтетические компоненты (триклозан и другие);

- низкая цена оригинального мыла на основе эфирных масел;

- разработка имеет патентную защиту;

- внедрение технологии производства лечебного мыла, разработанной в ТОО «Phytoperfume», позволит организовать отечественную линию по выпуску высококачественного экологически чистого, натурального мыла с выраженным антибактериальным эффектом на основе исключительно казахстанских лечебных трав и эфирных масел, обеспечив рынок Казахстана отечественной продукцией, тем самым будет заложена основа одного из перспективных и только развивающегося направления химической промышленности.

Литература

1. Плесовских В.А., Дубовик О.А., Безденежных А.А. Физико-химия и технология производства мыла. - СПб: Изд-во «Химиздат», 2007. – 336 с.
2. Р.А.Фридман. Технология косметики. 2-е изд., перераб. и доп.- М.: Изд-во «Пищевая промышленность», 1984. – 485 с.
3. Дубовик О.А., Зинченко И.В., Тришин В.М. Омыление нейтральных жиров и растительных масел едкими щелочами //Масложировая промышленность. – 2005. – № 3. – С. 27-29.
4. Садовничий Г.В. Современное масложировое производство и перспективы его развития // Масложировая промышленность. – 2004. – №1. – С. 2-3.
5. Дубовик О.А., Зинченко И.В., Тришин В.М. Кинетика реакций нейтрализации высших жирных кислот и омыления их сложных метиловых эфиров едкими щелочами натрия и калия в производстве натриевых и калиевых мыл // Вестник ВНИИЖ – 2005. – № 1. – С. 24-28.
6. Дубовик О.А., Зинченко И.В. Вязкость водных растворов натриевых мыл // Масложировая промышленность. – 2005. – № 6. – С. 30-31.
7. Дубовик О.А. Образование и стабилизация мыльно-щелочных эмульсий в производстве натриевых мыл // Химическая промышленность. – 2006. - № 4. – С.175-184.
8. Патент РФ № 2012140519. Способ производства мыла / Северина В.Я. Опубл.: 27.01.2014, Бюл. № 3
9. Заявка на получение патента РК 2013/0324.1. Способ получения мыла «Актобе» / Жансугурова Ж.А., Абылгазина Д.Т., Шулембаева К.К., Тулепбергенов С.К., Тулепбергенова Л.С., Зияева Г. К., Токубаева А.А.
10. Патент РФ № 2012136939. Мыло туалетное/ Школьный В.Н., Майдан А.И., Боякова И.Г., Школьный В.В., Майдан И.А. Опубл. 10.05.2014, Бюл. № 13.
11. Патент РФ № 2010115401. Мыло туалетное с антимикробными свойствами / Беклемышев В.И., Махонин И. И., Мауджери У. О. Д., Абрамян А. А., Солодовников В. А., Филиппов К.,

Афанасьев М. М. Оpubл.: 20.10.2011, Бюл. № 29

12. Steventon K., Cowdell F. Acne and diet: A review of the latest evidence // *Dermatol Nursing*. – 2013. – №12. – P. 28-34.

13. Патент РФ № 2008132222. Способ получения натурального мыла/ Ефремова Е.Ф., Ефремов С.А., Медведева О.Ф. Оpubл.: 20.06.2010, Бюл. № 17.

14. Патент РК № 2431656. Мыло туалетное антибактериальное/ Есполов Т.И., Батраков Ю.И., Мырзакожа Д. А. Оpubл.: 15.11.2013, бюл. №11.

15. Gyedu-Akoto E., Yabani D., Sefa J., Owusu D. Natural Skin-care Products: The Case of Soap Made from Cocoa Pod Husk Potash // *Advances in Research*. – 2015. - № 4. – P. 365-370

16. Félix S., Araújo J., Pires A., Sousa A. Soap production: A green prospective // *Waste Management*. – 2017. – № 66. – P. 190–195

17. Заявка: 2012/1255.1 от 26.11.2012. Мыло жидкое банное / Паненко Т.А.

18. Патент РФ № 2012125501. Жидкое мыло «Универсальное»/ Тарасов С.В., Тарасов В.Е., Иващенко А.С., Коробко С.С. Оpubл.: 10.06.2014, Бюл. № 16.

19. Патент РК № 15731 Жидкое моющее средство, содержащее экстракт полыни/ Болотов Ю.А., Кульжамбекова С.Д., Бутабаева Д., Пастухова О.В. Оpubл.: 15.05.2014, Бюл. №5

20. Патент РК № 32754 от 02.04.2018. Антибактериальная мыльная композиция с эфирным маслом полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.)/ С.М. Адекенов, Г.А. Атажанова, Ф.Т. Мукашева, Р.Б. Сейдахметова.

21. Атажанова Г.А. Технология получения моющих и косметических средств с эфирными маслами. – *Фармацевтический бюллетень*. – 2016. – № 1-2. – С. 75-87.

22. G. A. Atazhanova. Essential oils: modern trends, prospects of study and application// В сб. «12 International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds». – Tashkent., 2017. – P.381

ЕМДІК САБЫНДАР. ӨНДІРІС ЖАҒДАЙЫ ЖӘНЕ НАРЫҚТА ТАРАЛУЫ

Г.А. Атажанова, Айжан С. Әдекенова, Ә. Әли, Х. Мамырхан, С.К. Наушарипов

E-mail: phytoperfume@mail.ru

«Phytoperfume» ЖШС, Қазақстан Республикасы, Қарағанды қ.

Мақалада Қазақстандағы иіссабын нарығын талдау деректері, емдік қасиеттерге ие иіссабын нарығының даму үрдістері келтірілген. Бактерияға қарсы табиғи сабынды жасаудың жаңа технологиясы және «Phytoperfume» брендин дамыту драйверлері ұсынылған. Емдік қасиеттерге ие синтетикалық және табиғи сабын алу тәсілдерінің үлгілері қарастырылған. Эфир майлары қосылған емдік сабын өндірісінің технологиялық үдерісінің негізгі кезеңдері талқыланады.

THE MEDICAL SOAPS. PRODUCTION STATE AND SALES MARKET

G.A. Atazhanova, Aizhan S. Adekenova, A. Ali, H. Mamyrkhan, S.K. Nausharipov

E-mail: phytoperfume@mail.ru

Phytoperfume LLP, Karaganda, the Republic of Kazakhstan

The article provides data on the analysis of toilet soaps market in Kazakhstan and market development trends of the toilet soaps with curative properties. A new production technology of the natural antibacterial soap and the Phytoperfume brand development drivers have been presented. Examples of production methods of both synthetic and natural soaps with medicinal properties have been reviewed. The main process stages of medical soap production with essential oils are discussed.

Оригинальные лечебные мыла



Объединяя науку и природу компания ПОО "Phytoperfume" разработало и организовало производство мыла по современной технологии, используя отобранные натуральные ингредиенты. Мыло содержит уникальные ароматы казахстанских лечебных трав. Мыло не содержит искусственных красителей и продуктов нефтехимии.



Мыло с эфирным маслом пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) обладает бактерицидным, противовирусным, дезинфицирующим, противовоспалительным, ранозаживляющим, противоожоговым, антистрессовым действием, омолаживает кожу.



Мыло с эфирным маслом мяты перечной (*Mentha piperita* L.) является антисептическим, противовоспалительным, бактерицидным средством, повышающим защитные силы эпидермиса и отбеливающим пигментные пятна.

Мыло с эфирным маслом розы китайской (*Rosa chinensis* Jacq.) обладает антисептической, бактерицидной, ранозаживляющей активностью, снимает отеки, омолаживает, тонизирует, повышает эластичность кожи.



Мыло с эфирным маслом ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) имеет выраженное противовоспалительное, антисептическое, ранозаживляющее, тонизирующее, успокаивающее и смягчающее кожу свойство.

Мыло с эфирным маслом аянии кустарничковой (*Ajania fruticulosa* Pofjak.), с преобладающим содержанием хамазулена, обладает ранозаживляющим, регенерирующим, противоаллергическим, противовоспалительным, бактериостатическим действием.



Мыло с эфирным маслом мелкопестника канадского, (*Eupatorium canadensis* L.) с высоким содержанием лимонена, проявляет антибактериальное, противовирусное, ароматизирующее свойство.



Мыло с эфирным маслом полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.) благодаря многокомпонентному составу, обладает противовоспалительной, болеутоляющей, антисептической, антивирусной, противогрибковой, дезинфицирующей активностью.

Мыло с эфирным маслом шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) является хорошим антисептиком, эффективным средством лечения акне, балансирует накопление кожного жира, регулирует потоотделение, стимулирует формирование рубцовой ткани.



Мыло с эфирным маслом полыни беловойтой (*Artemisia leucodes* Schrenk.) содержит в большом количестве камфору и обладает обезболивающим, противомикробным, противовоспалительным, инсектицидным действием.



Мыло с эфирным маслом душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) является эффективным антибактериальным, противовирусным, противомикробным, фунгицидным, заживляющим, противовоспалительным средством.

Производитель: ТОО "Phytoperfume"
Адрес: 100009, г. Караганда, ул. Ержанова 41/2,
Тел.: 8(7212)210195;
E-mail: phytoperfume@mail.ru

РАЗВЕДЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЕ КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И SPF-КАТЕГОРИИ ПО СТАНДАРТАМ GLP

А.К. Даиров¹, Д.А. Турегелдиева², Д.А. Бугыбаева², С.М. Адекенов¹,

E-mail: aidar_dairov@list.ru, dinarat73@mail.ru.

¹АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, 100009, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4

²РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» Комитета охраны общественного здоровья МЗ РК, Республика Казахстан, 050054, г. Алматы, ул. Капальская, 14

В статье обсуждается опыт работы по разведению и содержанию конвенциональных лабораторных животных и SPF-категории на примере вивария Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева (далее – КНЦКЗИ).

Сегодня, наука Казахстана переживает период бурного преобразования и нового витка развития. Для скорейшей интеграции в единое научное пространство отечественным ученым необходимо внедрение международных стандартов исследований, в частности, международных стандартов надлежащей научной практики (Good Scientific Practice, GSP), надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice, GCP) и надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP) [1].

Стандарт GLP – это система норм, правил и указаний, направленных на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных исследований. Принципы GLP разработаны в 1979 году (США) и получили признание в большинстве стран мира. Стандарт предложен в связи с выявлением фактов серьезных недостатков, включая фальсификацию данных, в материалах по изучению безопасности новых лекарственных средств. Сейчас все страны с развитой контрольно-разрешительной системой регламентируют создание, испытание и производство препаратов своими национальными правилами и нормами, в основе которых лежат требования GLP.

Главная задача GLP заключается в содействии получения в ходе испытаний

высококачественных, обоснованных, гарантированных данных исследований, признающихся другими странами. Исходя из задачи, логично предположить, что для получения достоверных результатов исследований, экспериментально-биологические клиники (виварии) и лабораторные животные также должны соответствовать всем требованиям стандарта GLP.

Важно отметить, что с 6 мая 2017 года в Евразийском экономическом союзе вступили в силу единые правила GLP в отношении производства лекарственных средств [2].

Согласно проекта решения Совета Евразийской комиссии «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза» от 22 декабря 2015 г. № 174, виварий (англ. vivarium) – это здание или отдельное помещение при исследовательской организации, которое предназначено для содержания лабораторных животных в соответствии с правовыми нормами использования животных при проведении доклинических (неклинических) исследований [3].

Практически все крупные научно-исследовательские институты и центры Казахстана располагают собственными вивариями для разведения лабораторных животных, однако сведений по вивариям, отвечающим международным требованиям

и стандартам GLP нет. Тем не менее, с каждым годом увеличивается число вивариев оснащенных современным виварным оборудованием и специализирующихся на разведении стандартизированных линий лабораторных животных.

К таковым можно отнести виварии и экспериментально-биологические клиники при Медицинском университете Астана и Карагандинском Государственном медицинском университете, специализирующихся на разведении и подготовке лабораторных животных для проведения научно-исследовательских работ и практических/лабораторных занятий студентов вуза. А также, виварии Национального центра биотехнологии

(Астана) и Национального центра экспертизы лекарственных средств (НЦЛЭС, Алматы), оснащенных всем необходимым современным виварным оборудованием и содержащих на разведении как конвенциональных, так и лабораторных животных SPF-категории. К примеру, виварий при испытательном центре НЦЛЭС оснащен вентилируемыми клеточными комплексами производства Tecniplast и Allentown с электронным блоком управления, обеспечивающими наилучшие условия жизни и стабильный микроклимат лабораторным животным, используемым при испытаниях лекарственных средств и изделий медицинского назначения (рисунок 1).

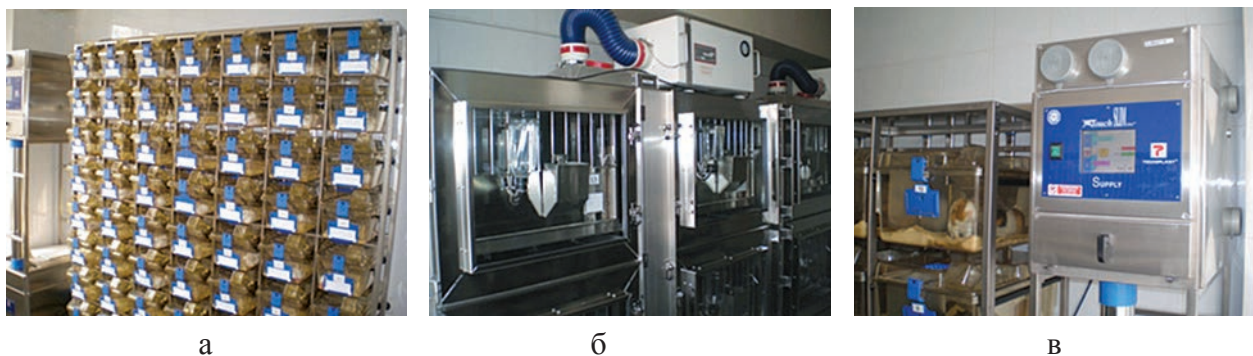


Рисунок 1 - Клеточные комплексы для содержания лабораторных животных при виварии испытательного центра НЦЛЭС: 1а – мобильный вентилируемый клеточный комплекс для содержания мелких лабораторных животных; 2а – клеточный комплекс для кроликов; 3а – вентилируемый клеточный комплекс для морских свинок

Важно отметить, что испытательный центр НЦЛЭС получил статус ассоциированного члена Общей Европейской сети Официальных лабораторий по контролю качества лекарственных препаратов OMCL (GEON), что свидетельствует о соответствии Испытательного центра требованиям международного стандарта ISO/IEC 17025.

В данной статье представлены некоторые требования к обустройству вивария, соответствующего международным стандартам и нормам по содержанию и уходу за лабораторными животными, на примере вивария Центральной-референс лаборатории (ЦРЛ) при КНЦКЗИ.

Одним из предприятий Республики, где условия вивария соответствуют требованиям GLP, считается виварий ЦРЛ при КНЦКЗИ. Необходимо особо отметить, что данный виварий является уникальным не только для Казахстана, но и для Средней Азии в целом. Он спроектирован согласно международным стандартам и оснащен современным виварным оборудованием необходимым для содержания, как конвенциональных лабораторных животных, так и животных SPF-категории (specific pathogen free), а его сотрудники прошли квалифицированную стажировку в дальнем зарубежье.



Айкимбаев М. А.
врач-эпидемиолог, д.м.н.
профессор, заслуженный врач КазССР

КНЦКЗИ носит имя Айкимбаева Масгута Айкимбаевича (1916-1992), известного врача-эпидемиолога Казахской ССР, руководителя крупнейшего Среднеазиатского научно-исследовательского противочумного института. В настоящее время КНЦКЗИ является ведущим научно-исследовательским учреждением, осуществляющим исследования в области распространения, профилактики и предупреждения карантинных и зоонозных инфекций, производства медицинских иммунобиологических препаратов и подготовки специалистов стран Центральной Азии и Кавказа по особо опасным инфекциям.

Виварий для разведения лабораторных животных (питомник) – подразделение организации, где содержатся и размножаются разные виды лабораторных животных с последующей передачей их для экспериментов и манипуляций.

Виварий экспериментальный (экспериментально-биологическая клиника) – подразделение организации, где проводятся экспериментальные работы (заразные и

незаразные), связанные с лабораторными животными.

Животные для вивария приобретаются в специализированных питомниках, благополучных по инфекционным заболеваниям. На каждое животное должны быть ветеринарное свидетельство, сопроводительные документы (накладная и групповой паспорт на лабораторных животных).

Все лабораторные животные классифицируются по трем категориям:

1. Конвенциональные (беспородные) животные – это здоровые лабораторные животные, являющиеся гибридами двух или более линий без подтвержденного микробиологического статуса. Их применяют в токсикологических исследованиях и оценке специфической фармакологической активности.

2. Стандартизированные или SPF (specific pathogen free) животные – здоровые лабораторные животные с подтвержденным микробиологическим статусом и однородные по генотипу (рисунок 2). Для их содержания обязательно наличие барьерной системы. SPF-животные находят применение в получении культур клеток, производства вакцин, поддержания штаммов бактерий и вирусов, испытания новых фармакологических средств.

3. Гнотобиоты – лабораторные животные, получаемые путем гистерэктомии и выращиваемые в особых условиях, полностью свободные от микрофлоры или являющиеся носителями только определенных видов микроорганизмов. Для содержания гнотобиотов применяют специальные изоляторы. Животных данной категории используют в микробиологических, иммунологических исследованиях, а также производстве вакцин и сывороток.



Рисунок 2 - Виды лабораторных животных разводимых в питомнике КНЦКЗИ

Пересадка животных производится не менее одного раза в неделю. Чистый подстилочный материал насыпается в клетки из расчета 200-300 г на 500 см².

При смене клеток животные пересаживаются в заранее продезинфицированные клетки с подготовленной подстилкой, кормушками и поилками. Грязные клетки вместе с подстилкой, кормушками и поилками передаются в дезинфекционно-моечное отделение для их последующей обработки.

В качестве подстилочного материала применяются гигиенические абсорбирующие подстилочные материалы из натурального сырья (древесина и др.) или древесные опилки и стружки. Подстилка заранее автоклавируется или выдерживается в сухожаровом шкафу (при температуре 120-180°C 15-20 минут). Толщина слоя подстилки в клетке – 10-20 мм. При содержании животных в клетках с сетчатым дном подстилка насыпается в поддон.

Прием животных в виварии производится из специализированных питомников, благополучных по инфекционным заболеваниям, при наличии ветеринарных свидетельств на каждую партию животных.

Вновь поступившие животные должны быть осмотрены ветеринарным врачом и изолированы в помещения для карантина/адаптации. Для животных используются

чистые и продезинфицированные клетки. Сроки карантина в каждом случае определяет ветеринарный врач, минимальный срок адаптации – 3 дня. На момент начала исследований все животные должны быть здоровы и не представлять опасность для работников вивария.

В случае возникновения массовых заболеваний среди животных, или при обнаружении случаев инфекционных заболеваний, опасных для животных и человека, в виварии проводится необходимый комплекс противоэпидемических мероприятий.

Больные животные подлежат гуманной эвтаназии (таблица 1).

Таблица 1

Рекомендуемые методы эвтаназии
для лабораторных грызунов и кроликов

Метод эвтаназии	Грызуны	Кролики
Передозировка анестетиком	—	—
Пневматическое ружье	+	—
Диоксид углерода	—	+
Смещение шейных позвонков	—	—
Сотрясение мозга / удар по голове	—	—
Обезглавливание	—	+
Электрический разряд	+	—
Инертные газы (Ar, N ₂)	—	+

При содержании животных в открытых клеточных системах несовместимые виды животных, например, хищник и потенциальная жертва, не должны содержаться в одной комнате, нельзя допускать, чтобы они находились в области зрительного, обонятельного или звукового контакта.

При содержании животных в условиях микроизоляторной технологии в индивидуально-вентилируемых комплексах разные виды животных и разные экспериментальные группы могут содержаться в одном индивидуально-вентилируемом стеллаже на разных уровнях.

Все корма для лабораторных животных должны отвечать следующим критериям: питательной сбалансированности, безопасности и автоклавируемости. После автоклава содержание витаминов и минералов сохраняется лишь в полнорационных гранулируемых кормах.

Типы кормления лабораторных животных:

- полнорационный корм (рекомендуемый, как наиболее стандартный) (таблица 2);
- комбинированный корм (рацион состоит из гранулированного комбикорма-концентрата и добавочных продуктов);
- кормовые смеси (рацион состоит из набора различных кормов, используемых в виде зерносмеси, каш, влажных мешанок, нестандартный тип кормления).

Таблица 2

Нормы расхода полнорационного гранулированного корма для лабораторных грызунов и кроликов
(на одну голову в сутки)

Вид, группа и весовые категории животных	Суточная норма в граммах
Мыши	5-12
Крысы	20-50
Морские свинки	50-80
Кролики	180-300

Некоторые требования к обустройству вивария и организации исследовательской работы по принципам GLP:

Требования к размещению и проектированию вивариев

В соответствии с требованиями GLP виварии размещаются в отдельно стоящем нежилом здании (комплексе зданий) или на верхних этажах лабораторных корпусов с санитарным разрывом от населенного пункта не менее 100 м [4].

В случае размещения вивария в лабораторном корпусе первый необходимо изолировать от других подразделений, а также предусмотреть автономную систему его вентиляции и собственный вход.

Важным является то, что при планировке и размещении помещений вивария обеспечивают соблюдение принципа разделения площадей на «чистые» и «грязные» помещения и предусматривают условия, исключающие встречные или перекрестные потоки перемещений оборудования, инвентаря, материалов, персонала вивария, лабораторных животных с различной степенью эпидемиологической опасности из «грязных» в «чистые» помещения [5].

В составе «чистых» помещений предусматривают (рисунок 3):

- санитарный пропускник для одевания технологической одежды персоналом;
- помещения приема, карантина и адаптации вновь поступающих животных;
- помещения для лабораторных животных;
- операционную с предоперационной для экспериментальных работ, требующих особых условий;
- помещения хранения чистого (обеззараженного) инвентаря для ухода за животными (клеток, поилок, посуды для кормов, оборудования);
- помещения манипуляционной для изучения обменных процессов, взятия проб для анализа;
- помещения для хранения и приготовления кормов для животных;
- диагностический кабинет;

– помещение или оборудованная выделенная зона для испытуемых образцов (биологические материалы) и образцов сравнения.



а



б

Рисунок 3 - «Чистые» помещения вивария:

- 2а – Помещение для содержания лабораторных животных;
- 2б – Диагностический кабинет

В составе «грязных» помещений предусматривают:

- санитарный пропускник для персонала по одеванию переходной одежды;
- помещения изоляторов, предназначенные для содержания подозрительных по инфекционным заболеваниям или больных животных;
- помещение (или отделение) для мойки и дезинфекции оборудования и инвентаря;
- холодильное помещение или холодильная камера для сбора и хранения трупов животных, отходов;
- помещения для персонала вивария (душевая, туалет и гардеробная).

Помещения для содержания лабораторных животных оборудуют принудительной приточно-вытяжной вентиляцией, при этом устройство вентиляции должно исключать перетекание воздушных масс из «грязных» зон в «чистые» [6].

Отдельно от виварной зоны может располагаться комплекс служебных и административно-бытовых помещений: гардероб верхней одежды, кабинет по работе с документами, прачечная, технический узел для кондиционеров, вентиляционных, электротехнических и других специальных установок, складские помещения.

Дезинфекционно-моечное отделение располагается на стыке «чистых» и «грязных» помещений, и используется для обеспечения перемещения «чистого» и «грязного» оборудования, инвентаря, материалов, а также животных и их трупов.

Стыки при отделке стен, пола и потолка должны быть плотно подогнаны и иметь закругления (галтели) для обеспечения качественной уборки и дезинфекции. Все двери в помещениях вивария должны быть оборудованы доводчиками.

Рекомендуется устанавливать проходной автоклав для обеззараживания инвентаря (клеток, поилок, посуды для кормов), оборудования, кормов и подстилочного материала (рисунок 4).



Рисунок 4 – Проходной автоклав для стерилизации клеток, поилок, кормушек и другого инвентаря под струей острого пара

Важным является оснащение вивария ламинарным оборудованием для сбора использованного в клетках подстилочного

материала, что является гарантией защиты персонала и окружающей среды (рисунок 5).



Рисунок 5 – Ламинарный бокс и защитный костюм сотрудника вивария

Виварий также может быть обеспечен специальным оборудованием для сбора, хранения, удаления (утилизации) отходов и трупов лабораторных животных (рисунок 6). Однако чаще отходы вивария утилизируются в учреждениях специализирующихся на утилизации биологических отходов.



Рисунок 6 – Инсинераторы для утилизации медицинских отходов и трупов животных

В помещениях по содержанию и обслуживанию лабораторных животных температура воздуха должна обеспечиваться для: мышей 26-34°C (отдых и размножение), температура ниже 26°C негативно сказывается на поведении мышей; крыс 26-30°C; песчанок, хомяков и морских свинок 28-32°C; кроликов 15-20°C; кошек, собак и приматов 20-25°C. Относительная влажность воздуха в пределах 30-70%.

Искусственное освещение в помещениях содержания животных (яркость – до 325 лк на расстоянии 1 м от пола, шум – до 85 дБ) рекомендуется чередовать – 12 часов свет, 12 часов темнота (для мелких грызунов, как мыши и крысы).

Для стандартизированных (SPF) животных используют индивидуально-вентилируемые комплексы (ИВК), имеющие автономную систему вентиляции воздуха (рисунок 7). SPF-животные могут содержаться и в открытых клеточных системах, но в таком случае в помещениях должна обеспечиваться высокая частота и смена воздуха.



Рисунок 7 – Индивидуально-вентилируемые комплексы и открытые клеточные системы для содержания лабораторных животных

Для конвенциональных лабораторных животных используются открытые клеточные системы.

Уборка всех помещений вивария производится ежедневно с применением моющих и дезинфицирующих средств. За каждым помещением для содержания животных закрепляется уборочный инвентарь, который должен быть промаркирован и храниться в специально отведенном месте.

Ежемесячно в виварной зоне включая санпропускник должна проводиться генеральная уборка, включающая обработку стен, потолков, окон, оборудования и всех поверхностей.

Методы и способы дезинфекции, дезинсекции и режим автоклавирования оборудования, инвентаря, помещений устанавливаются в каждом конкретном случае ветеринарным врачом с учетом специфики проводимых экспериментов на животных.

Для снижения микробной контаминации в воздухе секций для экспериментальных животных, для карантина и адаптации вновь поступающих животных, изолятора, операционной, манипуляционной, для эвтаназии, дезинфекционно-моечное отделение обеспечиваются оборудованием для обеззараживания воздуха.

Сотрудники вивария при работе в виварных помещениях должны одевать защитный костюм (рисунок 8).



Рисунок 8 – Защитные костюмы сотрудников вивария при работе в «чистой» зоне

Стирка защитной одежды в конвенциональном виварии производится не реже 1 раз в неделю и по мере загрязнения. В виварии для стандартизованных животных защитная одежда заменяется после каждого использования.

Вода хозяйственно-питьевого назначения должна отвечать по показателям безопасности гигиеническим требованиям к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения и соответствовать ГОСТ «Вода питьевая».

С целью повышения квалификации специалистов ветеринаров, биологов и сотрудников лабораторий, принимающих непосредственное участие в постановке экспериментов на лабораторных животных, на базе специализированного вивария КНЦКЗИ впервые организован и проведен обучающий семинар «Организация работы вивария для разведения и содержания конвенциональных лабораторных животных и SPF-категории» (06-10 ноября 2017 г.).

Организатором данного семинара выступала Турегелдиева Динара Алимхановна, к.м.н., заведующая лабораторией экспериментальных моделей и вивария КНЦКЗИ. Семинарские и практические занятия проводили сотрудники лаборатории биологических моделей и вивария КНЦКЗИ. Необходимо отметить, что семинар подобного рода проводился в центре впервые. В нем приняли участие сотрудники противочумных станций и специалисты вивариев Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия», Национального центра экспертизы лекарственных средств и Национального центра биотехнологии (рисунок 9).

Учебная программа курса включала: лекции – 20 часов; семинарские и практические занятия, соответственно 6 и 10 часов; самостоятельную работу слушателя – 18 часов, и итоговой аттестации в форме тестирования. Всего 54 учебных часов.

Как известно, организация надлежащей работы вивария в лаборатории любого профиля определяет развитие исследовательских экспериментальных работ и соответственно развитие современных научных программ с использованием качественных биологических моделей – лабораторных животных SPF-категории. В связи с этим, учебная программа семинара содержала теоретические вопросы по национальным и международным стандартам содержания и использования лабораторных животных, а также практические навыки работы в экспериментальном виварии и питомнике для разведения и содержания SPF лабораторных животных.

Национальные и международные правила и требования по содержанию и использованию животных в экспериментах (Руководство по уходу и использованию лабораторных животных (2011); Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986); Директива Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых для научных целей) [7-9];

1. Бекмухамбетов Е.Ж., Джаркенов Т.А., Исакова С.С. Международный стандарт GLP и перспективы его внедрения в научные исследования Казахстана. Проблемная статья // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2009. – Т. 21, № 1. – С. 7-8.
2. Бойцов В. Нормативные документы ЕАЭС учитывают лучшие международные практики / Российская газета. – 2015. – Т. 105, № 6676 (спецвыпуск).

Ветеринарное обеспечение содержания лабораторных животных и использования в исследованиях (ветеринарное наблюдение, санитарные мероприятия, принципы хирургии грызунов). Мониторинг здоровья лабораторных животных;

Стандартные операционные процедуры по содержанию животных и манипуляциям, правила документации;

Организация работы Комиссии по биоэтике, ведение документации, практические рекомендации по созданию институтской программы содержания и использования животных;

Санитарно-гигиенические мероприятия
в виварии и вопросы безопасности персонала
при работе с животными.

Таким образом, создание современного вивария, соответствующего международному стандарту GLP, требует решения множества вопросов и проблем, как от проектирования и строительства вивариев, так и заканчивая вопросами санитарно-гигиенических мероприятий и безопасности персонала при работе с лабораторными животными. При создании современного вивария, а с учетом исследований, которые планируется проводить на его базе, то и в целом испытательного центра, необходимо руководствоваться основными принципами лабораторной практики, основанными на международных стандартах.

3. Проект решения Совета Евразийской экономической комиссии «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза» от 22 декабря 2015 г. № 174.
4. Хамидулина Х.Х., Егизарян А.Р., Рабикова Д.Н. Требования GLP к вивариям // Методы оценки соответствия. – 2012. – № 10. – С. 28-32.
5. Раскоша О.В., Кичигин А.И. Основные принципы надлежащей лабораторной практики (НЛП, GLP) при обустройстве вивария и организации научных исследований // Вестник ИБ КОМИ НЦ УрО РАН. – 2016. – № 3. – С. 19-25.
6. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. USA, National Academy Press, Washington, D.C., 1996.
7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eight Edition, 2011 (Руководство по уходу и использованию лабораторных животных).
8. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N 123 с пересмотренным Приложением А (2006) (для европейских стран, не входящих в ЕС).
9. Directive of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, 2010/63/EU (для европейских стран, входящих в ЕС) (Директива Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, 2010/63/ЕС).

GLP СТАНДАРТАРЫ БОЙЫНША КОНВЕНЦИЯЛЫҚ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖӘНЕ SPF-САНАТЫНДАҒЫ ЖАНУАРЛАРДЫ ӨСІРУ ЖӘНЕ КҮТПІ-ҰСТАУ

А.К. Даиров¹, Д.А. Төрегелдиева², Д.А. Бұғыбаева², С.М. Әдекенов¹,

E-mail: aidar_dairov@list.ru, dinarat73@mail.ru.

¹«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қазақстан Республикасы, 100009, Қарағанды қ., М. Ғазалиев көш., 4

²ҚР ДМ Қоғамдық денсаулық сақтау комитетінің «Масғұт Айқымбаев атындағы карантиндік және зоонозды жұқпалар Қазақ ғылыми орталығы» ШЖҚ РМК, Қазақстан Республикасы, 050054, Алматы қ., Капальская көш., 14

Мақалада Масғұт Айқымбаев атындағы карантиндік және зоонозды жұқпалар Қазақ ғылыми орталығы (бұдан әрі - КЗЖҚҒО) жануарханасының үлгісінде конвенциялық зертханалық және SPF-санатындағы жануарларды өсіру және күтіп-ұстау жұмысының тәжірибесі талқыланады.

BREEDING AND KEEPING THE CONVENTIONAL LABORATORY ANIMALS AND SPF-CATEGORIES ACCORDING TO GLP STANDARDS

A.K. Dairov¹, D.A. Turegeldiyeva², D.A. Bugybayeva², S.M. Adekenov¹

E-mail: aidar_dairov@list.ru, dinarat73@mail.ru.

¹ JSC International Research and Production Holding “Phytochemistry”, 4 M. Gazaliyev Str., 100009, Karaganda, the Republic of Kazakhstan

² M. Aikimbayev Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Diseases of Committee for Public Health Protection of the Ministry of Health of RK, 14 Kapalskaya Str., 050054, Almaty, the Republic of Kazakhstan

The article shares experience in breeding and keeping conventional laboratory animals and SPF-categories of the vivarium at M. Aikimbayev Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Diseases (KSCQZD).

**ДЕЙТЕРООБМЕН ПРОТОНОВ α -МЕТИЛЕНОВОЙ ГРУППЫ В ХИНАЗОЛОНАХ.
V. О ПРИЧИНАХ ЭЛЕКТРОФИЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ДЕЙТЕРООБМЕНА
ПРОТОНОВ α -МЕТИЛЕНОВОЙ ГРУППЫ 3-ЦИКЛИЧЕСКИХ ХИНАЗОЛОНОВ.**

М.Г. Левкович, Б.Ж. Эльмурадов, Н.Д. Абдуллаев

E-mail: mlevkovich@rambler.ru

Институт химии растительных веществ им.акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,
100170, ул. Мирзо Улугбека 77, Ташкент 9.2017, Узбекистан

Рассмотрено необычное химическое свойство 3-циклических хиназолонов – замещение в некоторых средах α -метиленовых протонов на атомы дейтерия. Подробно описано как само явление, так и предложена схема его объяснения. Проведена аналогия процесса D-замещения и проявления этими молекулами электрофильной активности. Показано, что предложенная схема объяснения причин D-замещения хорошо объясняет и химическую активность в рассмотренном ряду соединений.

3-циклические хиназолонны исследуются в Институте химии природных соединений АН РУз уже на протяжении 40 лет. Это природные алкалоиды деоксивазицинон, макиназолинон, их гомологи с 7- и 8-членными полиметиленовыми циклами, и различные их производные.

Трициклические хиназолины, их аналоги и производные имеют широкий спектр биологической активности. Алкалоиды пеганин и его продукт автоокисления вазицинон обладают высокой активностью в качестве бронходилаторов при лечении респираторных заболеваний, вазицинон, дезокси-вазицинон, 5-гидроксидезокси-вазицинон, изаиндиготон - выраженной противовоспалительной, антимикробной, антидепрессантной и антиоксидантной активностями. Также вазицинон обладает противоопухолевой, гипотензивной активностью. В индийской медицине он используется при простуде, кашле, бронхите, ревматизме и астме. Алкалоид дезоксипеганин показывает обратимое антихолинэстеразное действие, применяется в медицинской практике для лечения больных с поражениями периферической нервной системы, и рекомендован, также, для лечения никотиновой, наркотической зависимости, болезни Альцгеймера. Семичленные хиназолонны и хиназолин, проявляют выраженную бронходилаторную

активность. Алкалоид триптантрин показывает антибактериальную, противовоспалительную и противомаларийную активности [1,2].

Яркой чертой этих соединений является выраженная химическая активность к электрофильному замещению в α -метиленовом положении (Н-9). Для тетразолонна по этому пути было получено очень большое количество производных. Для тризолонна меньше, для пентазолонна мало, и практически никаких производных для гексазолонна.

При выполнении этих исследований была выявлена еще одна примечательная особенность – в некоторых средах протоны α -метиленовой группы замещаются на ядра дейтерия. Сразу же обращает на себя внимание подобие этих процессов: тетразолонны обмениваются на дейтерий быстро, тризолонны - медленнее, а гомологи с семи- и восьмичленными циклами очень медленно или даже совсем не обмениваются. Естественно предположение об общих причинах процесса обмена и химической активности. В связи с этим и было предпринято настоящее углубленное исследование процесса D-замещения. Сигналы спектра ПМР трициклических хиназолонов представляют собой удобную структуру для исследования динамики D-замещения. Сигнала α -метиленовой группы,

исчезающий в процессе D-замещения, и контрольный сигнал метиленовой группы при азоте N3, обычно удобно располагается для их количественного сравнения.

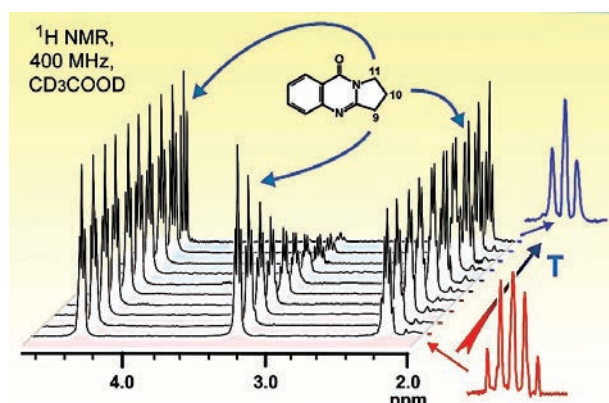


Рисунок. 1 – Динамика D-замещения α -метиленового протона триазолон в CD_3COOD .

Сигнал H-9 в процессе обмена исчезает, сигнал α -метиленовых протонов меняет свою форму с квинтета на триплет, а сигнал контрольной группы метиленов остается практически неизменным [3,4].

Таблица 1.

Время полузамещения α -метиленовых протонов в 3-циклических хиназолонах в 3-х различных средах при комнатной температуре (часы).

Соединение	Растворитель		
	CD_3COOD	CD_3OD	$CD_3OD + NaOH$
1. триазолон	5.0	---	5.5
2. тетразолон	0.12	1000	3.0
3. пентазолон	65	---	>1000
4. гексазолон	110	---	>>1000

В чистом дейтерометаноле очень медленно D-замещение наблюдается только для тетразолон. В уксусной кислоте D-замещение наблюдается во всех 4х гомологах. Подщелоченный метанол представляет собой промежуточный случай. Самую высокую скорость обмена везде проявляет тетразолон, особенно в уксусной

кислоте. Из этого можно предположить, что уксусная кислота и щелочь являются инициаторами D-замещения, а дейтерометанол только средой [3].

Первоначально в этих исследованиях, были выделены две отдельные проблемы:

А- Влияние среды

- зависимости от концентрации самого препарата

- зависимости от концентрации инициатора обмена

- зависимости от температуры среды

В- Роль стереохимических факторов

- влияние полиметиленового цикла

- роль электронных факторов

- рассмотрение гипотетически возможных механизмов D-обмена

Зависимость скорости D-замещения от концентрации самих хиназолонов в диапазоне 4 – 20 мг/см³ не обнаружена. Следовательно, образование самоассоциатов, приводящих к последующей инициации одной из молекул, не происходит. Поэтому образование димеров исходных молекул, как это предлагалось в [5] для амидинов в 1-метил-2-арилиминолактамных структурах, можно не рассматривать.

Зависимость же скорости обмена от концентрации инициатора хорошо выражена и имеет линейный характер.

Зависимость от концентрации щелочи проявила выраженный линейный характер $1/T(1/2) = 0.3 \cdot C(NaOH)$. Варьирование концентрации CD_3COOD в метаноле так же дает простую пропорциональную зависимость. Это подтверждает, что щелочь или уксусная кислота является инициатором D-процесса, а метанол только средой.

Надо отметить, что добавление в D-метанол тяжелой воды (D_2O) или соляной кислоты к иницированию D-замещения не приводит. То есть присутствие в растворе избыточных атомов дейтерия или дейтерированных гидроксильных групп к D-замещению само по себе не приводит. Это указывает на то, что между хиназолонами и инициаторами обмена, возникает некоторое специфическое взаимодействие, характерное именно для молекул инициаторов.

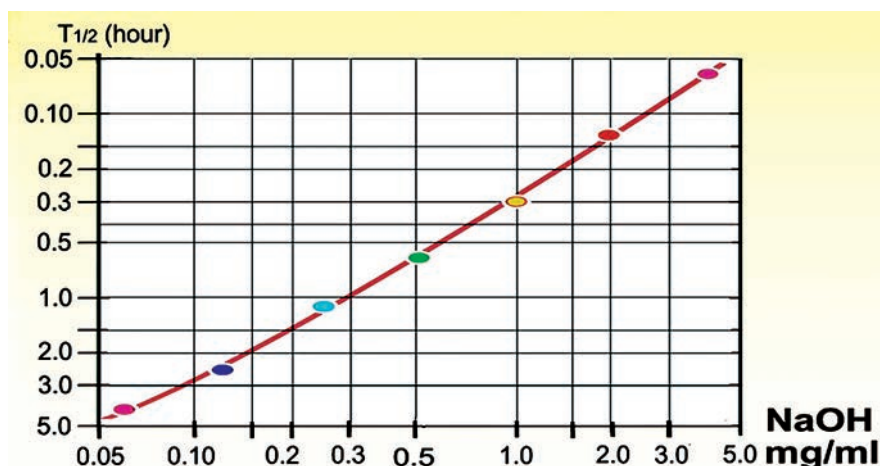


Рисунок. 2 – Зависимость времени полузамещения α -метиленовых протонов тризолона от концентрации NaOH в CD_3OD при комнатной температуре.

Третий вопрос о роли среды — это влияние температуры. Скорость D-замещения в уксусной кислоте для тризолона от температуры в диапазоне от 20°C до 100°C проявила обычную экспоненциальную зависимость. Следовательно, процесс имеет простой аррениусовский характер, а из показателя полученной экспоненты определяется барьер инициации обмена приблизительно как 18 kcal/mol [6].

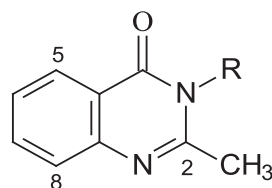
Таким образом, об эффектах среды можно заключить:

В чистом D-метаноле D-замещение практически не происходит. Для запуска D-замещения необходимо наличие некоторых инициаторов. В нашем случае, это были молекулы щелочи или уксусной кислоты. Барьер инициации имеет значение около 18 kcal/mol.

В. Следующий, выделенный нами вопрос - это проблемы стереохимии.

В сложившейся ситуации очень хотелось бы изыскать какие-нибудь особые стереохимические параметры и определить так называемую стереодоступность именно для тетразолонов. Однако в наших исследованиях мы пришли к заключению, что это не верно. В ПМР спектрах крайние метиленовые группы полиметиленового цикла всегда проявляются обычными

триплетами, а средние квинтетами. Отдельные сигналы от аксиальных и экваториальных протонов не проявляются как в тетразолоне, так и во всех остальных рассмотренных соединениях. Следовательно, полиметиленовый цикл хиначолонов является динамичным, его конверсия достаточно быстра, и анализ фиксированных 3Д стереохимических параметров не имеет смысла. Убедительным, в этом отношении, была и регистрация D-замещения в хиначолонах с раскрытым 3-им циклом.



R=H T(1/2)=1,5 часа
CH₃ T(1/2)=0,55 часа

D-замещение в этих соединениях проходит вполне эффективно, причем теперь даже не в метиленовой, а в метильной группе. Таким образом, присутствие третьего цикла не является обязательным. Молекулы последних соединений плоские, а метил при C-2, вступающий в обмен, совершенно свободен.

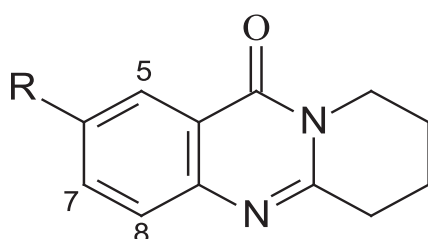
Таким образом, по второму вопросу, то есть по поводу стереохимических факторов, можно сделать заключение: определяющим в процессе D-замещения хиначолонов

является не какая-то особая 3Д-структура, а сам ариламидиновый фрагмент. Наличие же и вид полиметиленового цикла следует рассматривать только как фактор, который в некоторой степени может поддерживать или затормозить процесс обмена в связи с напряжениями, которые он вызывает в ариламидиновом фрагменте.

Роль электронного фактора на процесс обмена проявляется наблюдением D-замещения на соединениях с заместителем в том положении ароматического цикла. Нитрозамещение, то есть акцептор электронной плотности, по шестому положению ускоряет D-замещение, а аминозамещение, донор электронной плотности, замедляет.

Таблица 2.

Время полузамещения α -метиленовых протонов в 6-замещенном тетразолоне в 3х средах при комнатной температуре.



R	Растворитель		
	CD ₃ COOD (минуты)	CD ₃ OD (часы)	CD ₃ OD+NaOH (часы)
NO ₂	2.8	>1000	0.032
Br	12.0	114	0.54
NH-CO-Ph	18.0	>>1000	2.0
NH-CO-CH ₃	24.0	>>1000	2.4
NH ₂	46.0	>>1000	80.0

Все стереохимические параметры самих молекул хиназолонов в области α -метиленового углерода в приведенных производных остаются при этом неизменными. Заряды, как на углероде C-9, так и на соседних с ним атомах, остаются в рассмотренном ряду производных практически неизменными. Ближайшей точкой, с откликающейся электронной плотностью является протон ароматического цикла H-8, что вполне согласуется с правилами заместителей первого и второго ряда (-NH₂ и -NO₂ соответственно). Можно сделать заключение, что заместители в C-6 положении, хоть и влияют на скорость D-замещения, но это влияние, так же как и стереохимия полиметиленового цикла, скорее всего имеет второстепенный характер. Каналом влияния при этом является состояние протона H-8 и, возможно, некоторая поляризация цепочки связей C(8a)-N(1)-C(2)-N(3), искажающая свойства ариламидинового фрагмента хиназона. Главной же причиной D-обмена

являются свойства самого ариламидинового фрагмента.

После приведенного подробного описания различных свойств D-замещения встает естественный вопрос – почему же D-обмен происходит?

Энергии протонированной и дейтерированной формы хиназона совершенно одинаковы и никаких энергетических причин для наблюдаемого явления нет. В поиске ответа на этот вопрос было отмечено, что D-замещение в щелочной среде никогда не проходит до конца. Более того - величина остаточного сигнала H-9 зависит от концентрации NaOH в дейтерометаноле и имеет линейную зависимость. Для уточнения причин этого явления был проведен следующий эксперимент.

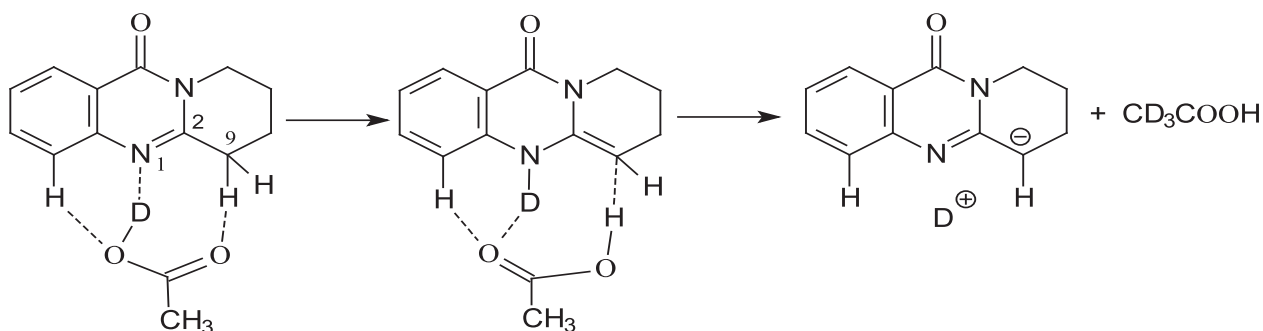
По завершению обычного эксперимента с D-замещением образец с остаточным сигналом α -метиленовых протонов величиной 9% был высушен, и растворен снова, но теперь в обычном, недейтеризованном метаноле с щелочью.

Затем образец был высушен и опять растворен в дейтерохлороформе, в котором D-обмен не происходит. Сигнал α -метиленовых протонов в спектре ПМР вернул свою полную интенсивность 100%. То есть процесс дейтерообмена обратим. Это означает, что процесс обмена, а, следовательно, и величина сигнала Н-9 определяется не энергетическими соотношениями, а относительным содержанием атомов водорода и дейтерия в среде. Инициаторы же D-замещения только открывают канал, для выравнивания относительного содержания Н/D со средой. Следовательно, надо искать какие-то специфические ассоциаты хиnazолонов с

инициаторами, которые бы открывали канал обмена [7].

К сожалению, методами ЯМР зарегистрировать наличие таких ассоциатов не удалось. Поэтому пришлось анализировать гипотетические варианты ассоциатов методами молекулярного моделирования. Расчеты выполнялись в пакете Gaussian 09W в приближении B3LYP/6-311+G(2d,p)// HF3-21G* для газовой фазы, а затем электронные структуры исследовались по AIM-теории Байдера [8].

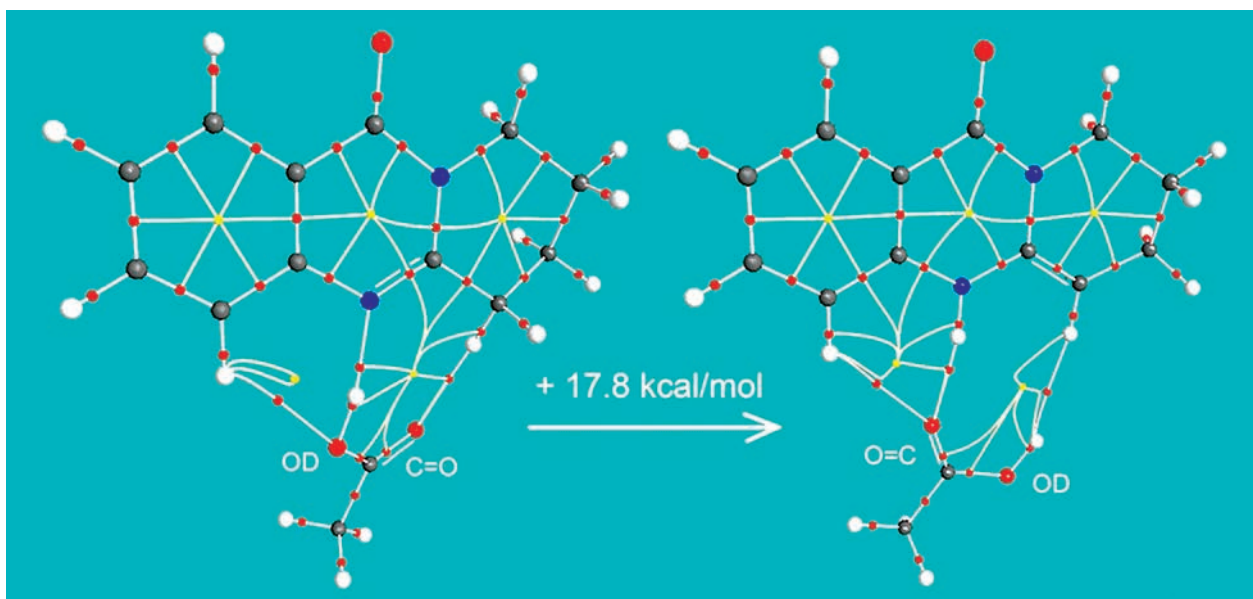
Схему обмена протона на дейтерий между тетразолоном и молекулой уксусной кислоты можно представить следующим образом.



В результате обмена карбонила и гидроксила уксусной кислоты друг с другом, дейтерий уксусной кислоты присоединяется к азоту N-1 тетразолона, двойная связь (N-1)=(C-2) перемещается в положение (C-2)=(C-9), а метиленовый протон Н-9 переходит в положение нового гидроксила уксусной кислоты. Атом дейтерия при азоте N-1, при отщеплении уксусной кислоты, может либо уйти в раствор и оставить молекулу хиnazолона в активированной анионной форме, либо сразу же присоединиться к углероду C-9. Через возникновение активированной анионной

формы хорошо объясняется химическая активность молекул хиnazолонов по α -метиленовой группе.

Моделирование топологии электронной плотности гипотетических ассоциатов проявляет дополнительные детали этих структур. Траектории особых точек электронной плотности проявляют возникновение электронных структур, очень напоминающих дополнительные псевдоциклы, в которые включаются азот N-1, метиленовый протон Н-9 и даже ароматический протон Н-8.



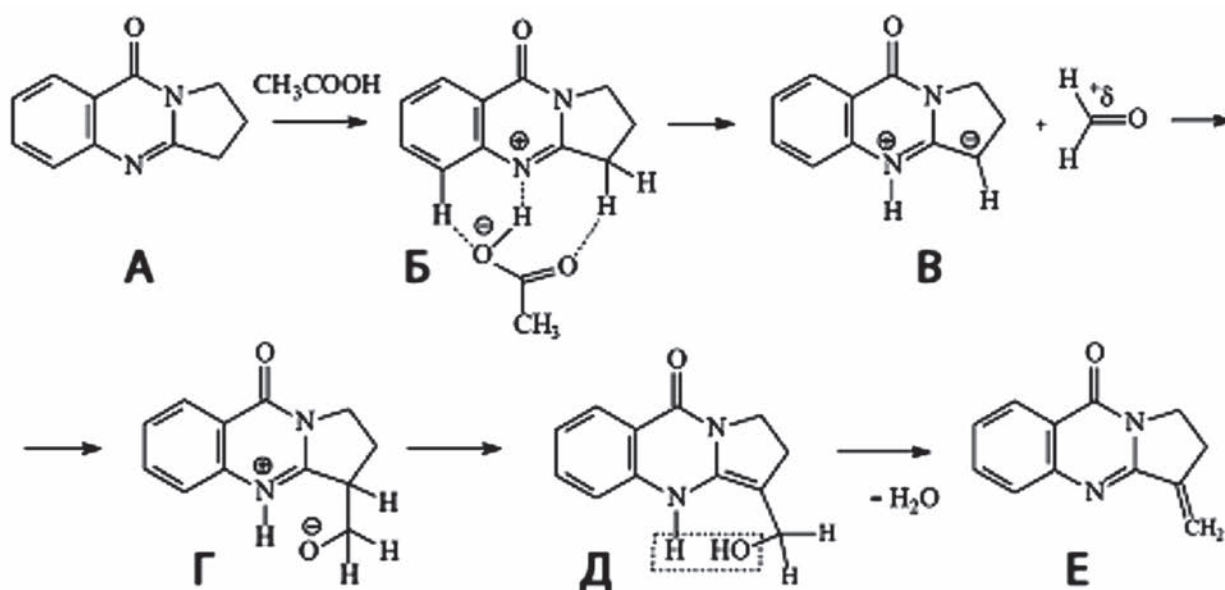
А

Б

Карбонильная группа образует более выраженный, чем гидроксильная, псевдоцикл с особыми точками, характерными как для химических связей, так и для центра цикла. В случае Б, более выраженный псевдоцикл формируется с участием азота N-1 и ароматического протона Н-8. Псевдоцикл же с участием азота N-1 и углерода С-9 наоборот, теряет свою эффективность. Перемещение двойной связи в положение (С-2)=(С-9) ослабляет связь протона Н-9 с углеродом, и он отщепляется для перехода в молекулу уксусной кислоты. Приведенная на схеме Б особенность электронной

плотности между оставшимся протоном Н-9 и новым гидроксилом уксусной кислоты не может рассматриваться как некая связывающая псевдосвязь. Это скорее фрагмент, работающий на разрушение ассоциата хиназолона и уксусной кислоты.

Эффективность предложенной схемы образования/распада ассоциатов хиназолонов с уксусной кислотой может быть проиллюстрирована объяснением одной из характерных химических реакций деоксивазицинона (А), приводящая к новой структуре молекулы (Е).



При распаде ассоциата (Б) возникает активированная форма деоксивазацинона (В), которая далее взаимодействует с молекулой формальдегида (Г), отдает молекулы воды (Д), и превращается в новую структуру (Е).

Заключение

Причины электрофильной активности хиназолонов по α -метиленовой группе и обсуждавшийся здесь процесс дейтерообмена по-видимому имеют одни и те же причины - участие неких инициаторов в образовании и распаде ассоциатов, которые открывают канал обмена α -метиленовых протонов со средой либо активируют

углерод С-9. Инициаторами могут выступать не только молекулы уксусной кислоты или щелочи, но и другие реактанты. Например, нами наблюдался дейтерообмен при инициации обмена триэтиламиноом. Ключевым, по-видимому, является способность к образованию ассоциатов с участием ариламидинового фрагмента хиназолонов.

Если считать, что причинные факторы дейтерообмена и электрофильной активности хиназолонов одинаковы, то скорость D-замещения различных производных хиназолонов в различных средах можно рассматривать как численную меру их способности к электрофильному замещению в аналогичных условиях.

Литература

1. Х. М. Шахидоятов, Хиназолоны-4 и их биологическая активность.- Ташкент: Фан, 1988.- С. 99.
2. Kh. M. Shakhidoyatov, B. Zh. Elmuradov Tricyclic Quinazoline Alkaloids: Isolation, Synthesis, Chemical Modification and Biological Activity// Chem. Nat. Compd.- 2014.- Vol.50, №5, 781-800.
3. M.G. Levkovich, B.Zh.Elmuradov, H. M.Shahidojatov, N.D.Abdullaev Reactivity and H-D Exchange Rate of the -Methylene of Deoxyvasicinone and its Homologs// Chem. of Nat. Compd.- 2014.- Vol.6.-P.1060-1065.
4. M. G. Levkovich, B. Zh. Elmuradov, Kh. M. Shakhidoyatov, N. D. Abdullayev Deuterium Exchange of α -Methylene group in the tricyclic quinasolone-4-ones and -4-thiones//In book: 11th international symposium on the Chemistry of Natural Compounds, 1-4 October, Antalya, Turkey.- 2015.- P. 10.
5. В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Т. Ф. Власова, Р. Г. Глушков, Ю. Н. Шейнкер Ацетали лактамов. IX. Дейтерообмен в ряду 1-метил-2-арилиминолактамов// Химия гетероцикл. соедин.- 1974.- №4.-С.533-536.
6. M. G. Levkovich, B. Zh. Elmuradov, Kh. M. Shakhidoyatov, N. D. Abdullaev Deuterium Exchange of the α -Methylene Group Protons in the Quinasolones: III. Environment Influence on the Exchange Rate// J. Basic Appl. Res.- 2016.- №2.-P. 202-204.
7. M. G. Levkovich, B. Zh. Elmuradov, Kh. M. Shakhidoyatov, N. D. Abdullayev About Electrophilic activity and Deuterium/ In book: 12th international symposium on the Chemistry of Natural Compounds.-Abstracts, 7-8 October, Tashkent, Uzbekistan -2017.- P. 8.
8. R.F.M.Bader Atom in molecules.- Quantum Theory.- Oxford University Press, 1990.- 533p.

**Хиназолондардағы α -метилен топты протондардың дейтерий алмасуы.
V. 3-циклдік хиназолондардың α -метилен топты протондарының
электрофилді белсенділігі мен дейтерий алмасуының себептері туралы.**

М.Г. Левкович, Б.Ж. Эльмуратов, Н.Д. Абдуллаев

E-mail: mlevkovich@rambler.ru

ӨР ҒА академик С.Ю. Юнусов атындағы өсімдік заттар химиясы институты,
100170, Мирзо Улугбек көшесі, 77, Ташкент 9.2017, Өзбекстан

3-циклдік хиназолондардың ерекше химиялық қасиеті – кейбір орталарда дейтерий атомдарының α -метилендік протондардың орнын басуы қарастырылды. Аталған құбылыс жете сипатталып, оны түсіндіру үлгісі ұсынылды. D-орынбасу үдерісінің және осы молекулалардың электрофилді белсенділік танытуының аналогиясы жүргізілді. Ұсынылған D-орынбасу себептерін түсіндіру үлгісі қарастырылған қосылыстар қатарындағы химиялық белсенділікті де жақсы түсіндіретіні көрсетілген.

**Proton deuterium exchange of α -methylene group in the quinazolones. V.
On the causes of electrophilic activity and proton deuterium exchange
of α -methylene group of 3-cyclic quinazolones.**

M.G. Levkovich, B.Zh. Elmuradov, N.D. Abdullayev

E-mail: mlevkovich@rambler.ru

Academician S.Yu. Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences
of the Republic of Uzbekistan,
100170, 77 Mirzo Ulugbek Str., Tashkent 9.2017, Uzbekistan

An unusual chemical property of 3-cyclic quinazolones has been investigated, i.e. the substitution of α -methylene protons by deuterium atoms in some environments. Both the detailed description of the given phenomenon and an explanation scheme have been provided. An analogy was made between D-substitution process and manifestation of an electrophilic activity by these molecules. It has been shown that the offered scheme which explains the causes of D-substitution also justifies well a chemical activity in the considered class of compounds.

ТЕХНОЛОГИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ КАМФОРЫ ИЗ СЫРЬЯ ПОЛЫНИ БЕЛОВОЙ**Г.А. Атажанова**

E-mail: g-atazhanova@mail.ru

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», г. Караганда, Республика Казахстан

В статье обобщены сведения о технологии выделения монотерпеноида камфоры из природных источников, а также освещен материал отдельных стадий производства синтетической камфоры. Также представлен материал о выделении левовращающей камфоры из казахстанского источника полыни беловой. В статье впервые представлена технологическая схема комплексной переработки сырья полыни беловой, в которой методом центробежной хроматографии выделен сесквитерпеновый лактон леукомизин, а затем из балласта выделена камфора в сравнительно большом количестве.

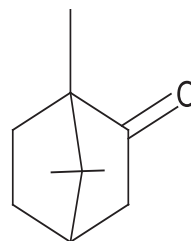
За последние 10 лет накопились обширные сведения о перспективности использования эфирных масел растений и их индивидуальных компонентов в качестве лекарственных средств [1-3]. Однако общий подход к формированию нормативных требований к эфирным маслам с учетом возможностей современных аналитических методов отсутствует.

С учетом вышеизложенного, в холдинге «Фитохимия» проводятся системные многоплановые исследования эфирных масел растений природной флоры, их компонентного состава, выделение и идентификация терпеноидов, включая химическую модификацию их молекул, биоскрининг и выход на практически ценные соединения. В связи с этим, следующим этапом стандартизации эфирных масел полыни цитварной, п. гладкой, п. беловой, п. Филатовой было выделение, очистка и разработка методов стандартизации основных компонентов - камфоры, 1,8-цинеола и хамазулена до степени соответствия стандартным образцам.

Камфора (рис. 1) — лекарственное вещество, относящееся к группе стимуляторов нервной деятельности. Стимулирует дыхание и кровообращение, усиливает обменные процессы в сердечной мышце. Вводят под кожу в виде камфорного масла или внутрь в порошках и желатиновых капсулах при сердечной

слабости, коллапсе, для возбуждения дыхания, при инфекционных заболеваниях, отравлениях наркотиками и снотворными. Бромкамфору (в порошках и таблетках) назначают как успокаивающее центральную нервную систему и улучшающее сердечную деятельность средство при повышенной нервной возбудимости, невралгии, неврозах сердца [4-9].

Камфора — кристаллический терпеновый кетон с приятным запахом, преимущественно производится из дистилляции древесины и коры камфорного дерева. Камфора представляет собой белые, полупрозрачные кристаллы гексагональной формы, слеживается в конгломерат, легко подвергается возгонке, имеет характерный запах.

**Камфора**

Физические свойства камфоры (рис. 1) различаются в зависимости от происхождения, вида и условий выращивания дерева. В молекуле камфоры (рис. 1) находятся два ассиметричных

атома углерода в местах разветвления колец, поэтому она образует два оптически активных изомера: правовращающую природную *d*-камфору и левовращающую полусинтетическую *l*-камфору. Природными источниками камфоры служат следующие растения-камфороносы: камфорный лавр (92% деревьев культивируется на о. Тайвань) и камфорный базилик (в природе произрастает в северо-восточной Африке и на юге Аравии). Синтетическую рацемическую камфору в промышленности получают (в виде рацемической смеси) переработкой скипидара или его основного компонента – α , β -пинена.

Кристаллы камфоры легко слеживаются в сплошные комки, а под небольшим давлением превращаются в прозрачную глыбу. Камфора летуча, легко возгоняется и перегоняется с водяным паром. Мало растворима в воде, легко растворима в этиловом спирте, очень легко растворима в эфире и хлороформе, легко – в жирных и эфирных маслах. Камфора вследствие вязкости трудно растирается в порошок. Характерной константой камфоры является удельное вращение. Удельное вращение правовращающей камфоры от +41 до +44°; левовращающей – от -39 до -44° (10%-раствор в 95%-спирте).

Камфора входит в состав эфирных масел многих растений, но практически источником ее получения служит вечнозеленое камфорное дерево, произрастающее в Юго-Восточной Азии, на острове Тайвань и в Японии. Эфирное масло содержится во всех частях дерева: в листьях, ветвях, стволе, но наиболее богаты им корни и нижние части стволов, выход масла из которых достигает 4,5%. Также входит в состав многих эфирных масел. Особенно много ее в масле камфорного лавра, базилика, полыней, розмарина.

Основные отрасли конечного пользователя для камфоры включают фармацевтические препараты, продукты питания, сельское хозяйство и химические вещества. Высокий рост в фармацевтической промышленности является одним из

основных факторов роста рынка камфоры, и эта тенденция, как ожидается, сохранится в течение прогнозируемого периода

Доминирование Азиатско-Тихоокеанского региона в мировом потреблении и производстве камфоры вероятно продолжится в обозримом будущем. Рынок камфоры сильно фрагментирован, здесь доминируют региональные игроки, в основном из-за низких капиталовложений на рынке. Промышленность характеризуется высокой степенью конкуренции, а крупные игроки конкурируют за ценовую дифференциацию. Таким образом, камфора является чувствительным к рыночной цене с меньшими возможностями для дифференциации продукта. Основными игроками на рынке камфоры являются Camphor и Allied Products Ltd., Beijing Herbal Health Biotech LLC и Hunan Nutramax Inc.

Основным поставщиком камфоры была долгое время Япония, но высокая стоимость импортной камфоры и монопольное положение Японии на мировом рынке заставили другие государства, в том числе и Россию, изыскивать пути ее синтетического получения.

Природная камфора известна многие столетия вследствие ценных лечебных свойств и легкости выделения. Впервые о камфоре упоминает Аэций из Амиды в IV в., сведения о терапевтических эффектах камфоры можно почерпнуть в арабских рукописях VI в. В медицинской практике применялась природная *d*-камфора. Этот препарат монопольно производила Япония, которая в 1895 г., после войны с Китаем, захватила о. Тайвань. В 1870-х гг. был открыт первый пластический материал — целлулоид, состоящий из камфоры и целлюлозы. Камфору стали применять в качестве стабилизатора при производстве бездымного пороха. Япония, воспользовавшись повышенным спросом, резко подняла цену на камфору. Это привело к созданию оригинальных способов получения и организации производства полусинтетической камфоры в России, странах Западной Европы и США.

Источники получения натуральной камфоры:

1. Камфорное дерево (*Cinnamotum camphora* (L.) J.Presl) - большое вечнозеленое дерево, высотой до 20-50 метров (рис. 1).

Имеет гладкие листья воскового вида с многочисленными просвечивающимися точками, являющимися вместилищем эфирного масла. При растирании в руках дают запах камфоры. Весной появляются ярко-зеленые листья с массой невзрачных маленьких белых цветочков. Плоды на вид похожи на ежевику, в диаметре около одного сантиметра. Ствол крепкий с очень грубой корой слегка палевого оттенка и большими вертикальными трещинами.

Камфорное дерево произрастает на островах Тайваня и Хайнань, в южной Японии, юго-восточном Китае, Корее и Индонезии. Также культивируется на Черноморском побережье Кавказа. Древесина камфорного лавра практически не повреждается насекомыми, поэтому ее применяют для изготовления мелких бытовых изделий (шкатулки, веера, бусы).

Эфирное масло камфорного лавра накапливается во всех частях растения по мере его старения, превращается в камфору при соединении с кислородом и содержит:

- в листьях - 0,8-1,8%, основным компонентом которых является *d*-камфора - до 75%;
- в ветвях - 0,8-2% масла, в состав которых входят главным образом *d*-камфора, сафрол и цинеол;
- в древесине содержится 3-5% эфирного масла, основными компонентами которого являются камфора, цинеол, камфен, (+)-лимонен, сафрол, азулен;
- в корнях - до 8% (в основном *d*-камфара, сафрол и цинеол).

При перегонке с водяным паром измельченной древесины и корней получают эфирное масло, из которого при отстаивании и охлаждении выделяется около 90% камфоры. Сырое эфирное масло перегонкой разделяют на фракции различного состава, используют в технике («коричневое камфорное масло», содержит сафрол),

в медицине (медицинская камфора), в ароматерапии («белое камфорное масло»).



Рисунок 1 – *Cinnamotum camphora* (L.) J. Presl

2. Базилик мятолистный (базилик камфорный) *Ocimum basilicum* L. - многолетний полукустарник из семейства губоцветных высотой 50-80 см. Стебель прямостоячий, ветвистый (рис. 2). Листья супротивные, короткочерешковые. Соцветие - простая кисть длиной 7-20 см, венчик белый, реже розовый. Все растение опушенное и имеет сильный специфический запах. Цветет с июля до поздней осени.



Рисунок 2 – *Ocimum basilicum* L.

В диком виде встречается в Северо-Восточной Африке, Южной части Аравийского полуострова, на острове Мадагаскар. Обработывается как однолетнее растение, поскольку оно весьма чувствительно к низким температурам и при наступлении небольших заморозков (1-3 градуса) погибает.

Надземная часть растения содержит эфирное масло (1,6-6%, в соцветиях

1,5-3,5%, в стеблях до 0,3%). Основным компонентом эфирного масла является *d*-камфора (55 - 80%) и ряд других терпенов.

3. Другие растительные источники камфоры:

Achillea moschata Wulf. – Тысячелистник мускусный, в эфирном масле надземной части растения 53–56%;

Ajania fastigiata (C. Winkl.) Poljak. – Аяния щитковая, в эфирном масле надземной части растения 14.8%;

Artemisia arborescens L. - Полынь древовидная, в эфирном масле надземной части растения 14%; *Artemisia austriaca* Jacq. – Полынь австрийская, в эфирном масле надземной части растения 27%;

Artemisia ferganensis Krasch. ex Poljak. – Полынь ферганская, в эфирном масле надземной части растения 85%;

Artemisia halophila Krasch. – Полынь солелюбивая, в эфирном масле надземной части растения 25%;

Artemisia heptapotamica Poljak. – Полынь семиреченская, в эфирном масле надземной части растения 12.5–25.6%;

Artemisia karatavica Krasch. et Abol. ex Poljak. – Полынь каратавская, в эфирном масле надземной части растения 38.4–55.6%;

Artemisia lerchiana Web. Ex Stechm. – Полынь Лерха, в эфирном масле надземной части растения 60–91%;

Artemisia lessingiana Bess. - Полынь Лессинга, в эфирном масле надземной части растения 43,8%;

Artemisia leucodes Schrenk - Полынь беловатая, в эфирном масле надземной части растения 93,3%;

Artemisia porrecta Krasch. ex Poljak. – Полынь длинная, в эфирном масле надземной части растения 37%;

Artemisia rutifolia Steph. ex Spreng. – Полынь рутолистная, в эфирном масле надземной части растения 1.1–28.7%;

Artemisia santolinifolia (Turcz. ex Pamp.) Krasch. – Полынь сантолинолистная, в эфирном масле надземной части растения 30%;

Artemisia specigera C. Koch – Полынь колосоносная, в эфирном масле надземной части растения 48%;

Artemisia terrae-albae Krasch. – Полынь белоземельная, в эфирном масле надземной части растения 37–96%;

Artemisia tridentata Nutt. – Полынь трехзубчатая, в эфирном масле надземной части растения 26–40%;

Artemisia turanica Krasch. – Полынь туранская, в эфирном масле цветов до 70%

Heracleum calcareum Albov. – Борщевик известковый, в эфирном масле надземной части растения 9.5% [10-13].

4. Источники получения синтетической камфоры (рисунки 3-5)

- Сосна сибирская (*Pinus sibirica* L.)
- Сосна корейская (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.)
- Сосна низкая (*Pinus pumila* (Pall.) Regel.)

Сосны сибирская и корейская - вечнозеленые хвойные деревья с густыми кронами, высотой до 30-40 м. Хвоя по 5 игл в пучке (у сосны обыкновенной - *Pinus sylvestris* L. и близких к ней видов хвоя в пучках по 2 иглы). Хвоя сосны корейской длиннее, чем сибирской, шишки и орешки больше. Кедровый стланик (сосна низкая) – это небольшое дерево. Форма кроны стланика зависит от условий его роста: в закрытых от ветра долинах деревья могут достигать высоты 4-5 метров.



Рисунок 3 – *Pinus sibirica* L.



Рисунок 4 – *Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc



Рисунок 5 – *Pinus pumila* (Pall.) Regel

Почти все варианты синтеза камфоры в качестве исходного продукта предусматривали α -пинен, находящийся в скипидаре [14].

Первый полный синтез камфоры через борнилхлорид, и потому называемый

борнилхлоридным, был долгое время единственным промышленным методом получения камфоры. Схематично его можно представить следующим образом (рис. 6):

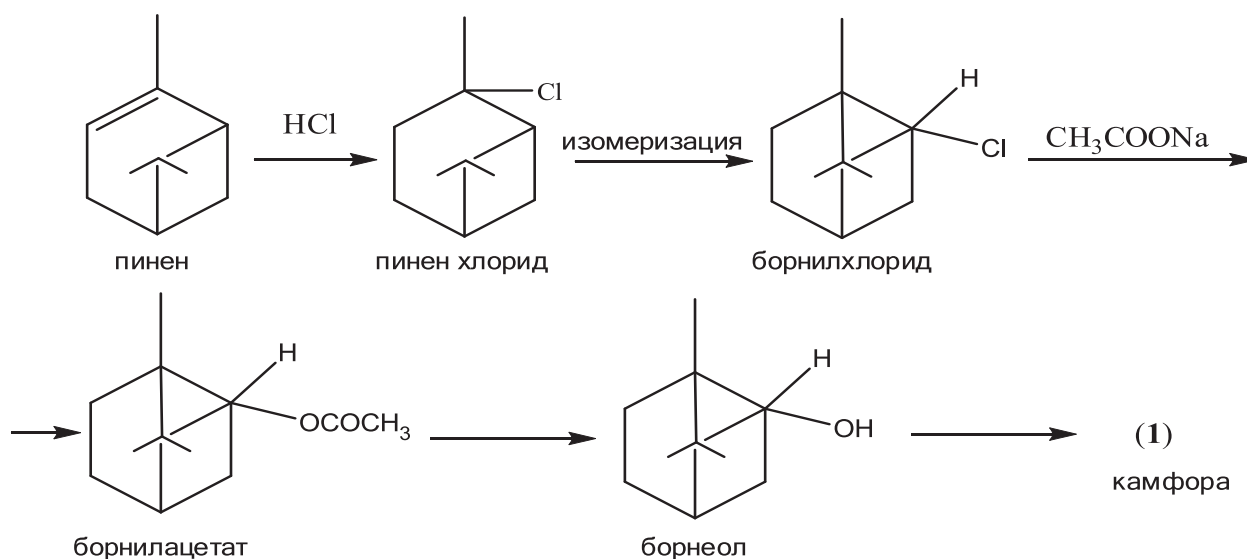


Рисунок 6.

В дальнейшем был разработан более простой и более дешевый вариант этого метода, получивший название изомеризационного способа синтеза

камфоры: пинен путем изомеризации по методу В. Е. Тищенко превращали в камфен, который затем переводился в камфору [14].

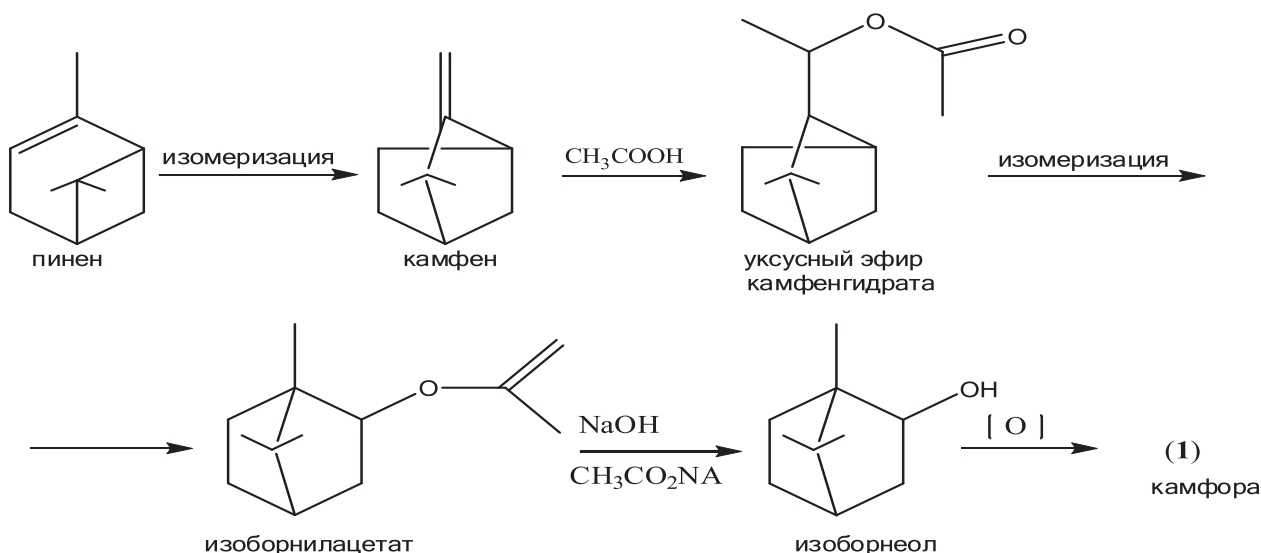


Рисунок 7.

Это метод получения камфоры является промышленным. По нему работает большинство заводов. Камфора, полученная синтетическим путем, является рацемической.

В дальнейшем выяснилось, что еще более ценным сырьем для получения камфоры является эфирное масло пихты, которое содержит в качестве основного продукта уже готовый борнилацетат, после омыления которого получается борнеол. Подвергая его

каталитическому дегидрированию можно получить камфору.

Пихтовое масло подвергают ректификации на многоколонных установках непрерывного действия для получения камфоры (рис. 8) [14].

Таким образом, при использовании пихтового масла исключается ряд дорогостоящих стадий синтеза, что значительно удешевляет производство камфоры.

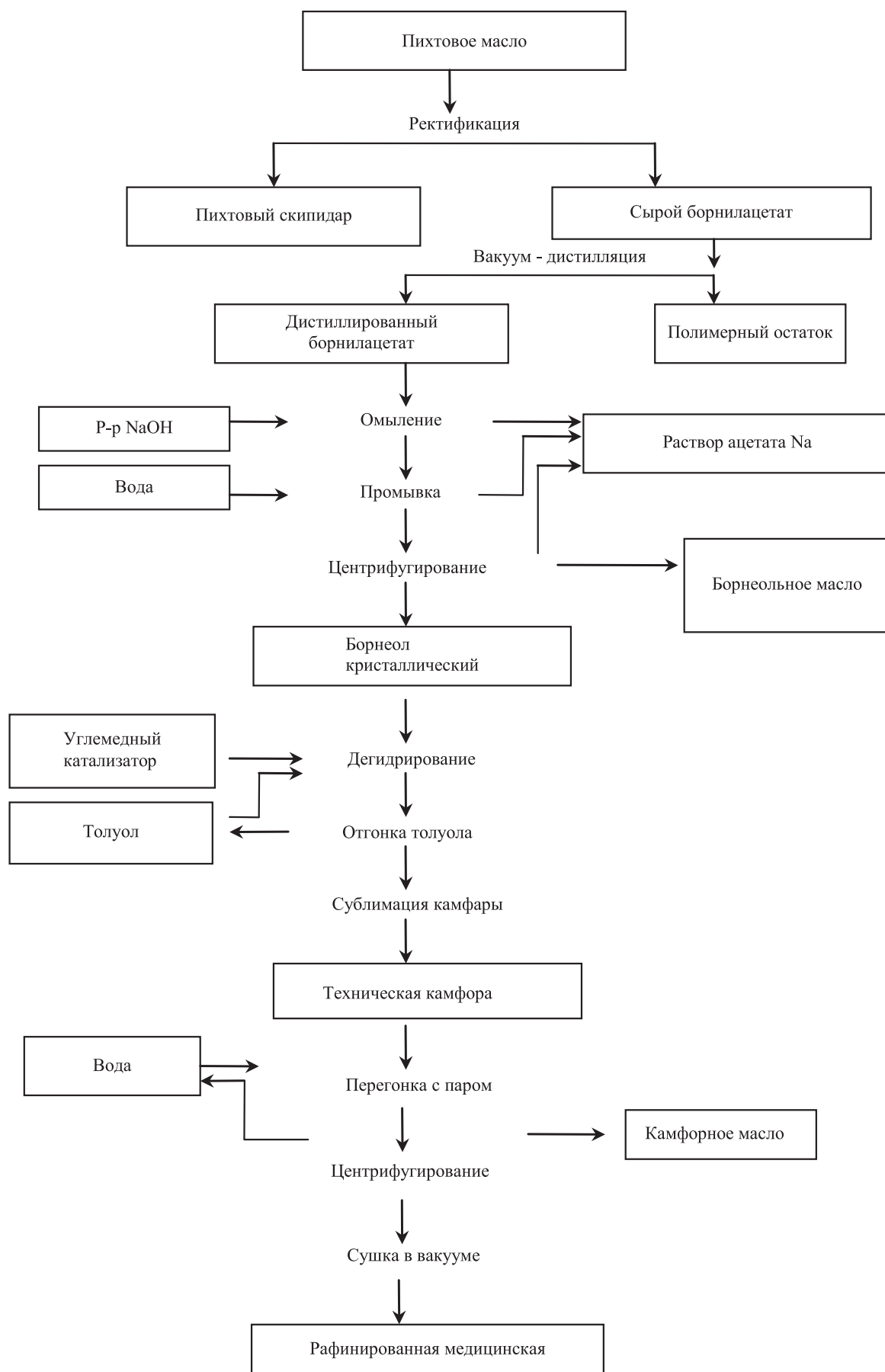


Рисунок 8 – Производство медицинской левовращающей камфоры

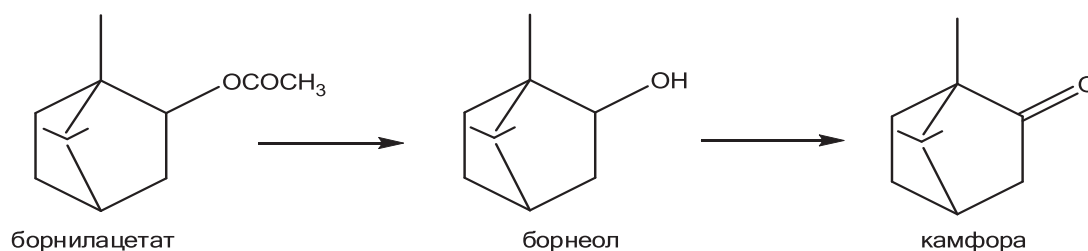


Рисунок 9

В качестве сырья для получения пихтового масла служат молодые пихтовые веточки, так называемые пихтовые лапки. Их подвергают перегонке с водяным паром, при этом отгоняется пихтовое масло, представляющее собой зеленовато-желтоватого цвета прозрачную жидкость, обладающую ароматным запахом хвои. Состав пихтового масла химически неоднороден, поэтому его подвергают фракционной перегонке. Фракция после 180 °С содержит борнилацетат, который и используется для получения камфоры.

Впервые полусинтетический метод получения камфоры из пихтового масла осуществил русский ученый П.Г. Голубев [14]. Производственный синтез камфоры из пихтовых лапок был осуществлен впервые в 1907 г., но в дореволюционной России он не получил своего развития ввиду снижения цен на японскую камфору. И только в советское время, начиная с 1929 г., в Ленинграде на Охтинском химкомбинате было основано первое в СССР производство отечественной камфоры из пихтового масла, освобождающее молодую советскую страну от импорта японской камфоры. В 1934 г. центр производственного получения камфоры был сосредоточен в Сибири.

Камфора, полученная из эфирного масла пихты, по физико-химическим свойствам отличается от японской лишь тем, что она является левовращающей, однако по физиологическому действию она несколько не уступает натуральной правовращающей японской камфоре.

Идентичность советской *l*-камфоры японской *d*-камфоре установил зав. кафедрой фармакологии Томского медицинского

института академик Н.А. Вершинин, который вместе с учениками (профессорами К.С. Шадурским, Е.М. Думеновой, А.С. Саратиковым) установили механизм действия камфоры и доказали в 3-4 раза большую терапевтическую активность *l*-камфоры по сравнению с *d*-изомером и внедрили *l*-камфору в медицинскую практику. Именно благодаря его работам российская *l*-камфора была внедрена в медицинскую практику. До этого считали, что только японская *d*-камфора обладает физиологическим действием. Ранее ГФ Х допускали к использованию в медицине *d*- и *l*-изомеры камфоры, а рацемическую камфору, полученную синтетически, допускали лишь для наружного употребления ввиду низкой степени ее чистоты.

Доступным источником *l*-камфоры является полынь беловатая. Полынь беловатая, или камфорная, относится к подроду *Seriphidium* (Bess.) Rouy.

Полынь беловатая представляет интерес в качестве ценного эфиромасличного растения, в составе эфирного масла которого до 90% занимает природная камфора.

Эфирное масло полыни беловойтой представляет собой жидкость бледно-зеленого цвета с камфорным запахом, кристаллизирующаяся во время перегонки. Константы масла: n_D^{25} 1.4237, d_4^{25} 0.976, к.ч. 3.78, эф.ч. 30.06, эф.п.ац. 46.7, $[\alpha]_D^{18}$ –34.52° (с 4.635, хлороформ). В эфирном масле полыни беловойтой методом хромато-масс-спектрографии идентифицирован более 90 компонентов, среди которых основные – камфора – 39.0% и 1,8- цинеол – 6.2% (таблица 1) [15-17].

Содержание компонентов в эфирном масле *Artemisia leucodes* Schrenk.
в % от цельного эфирного масла

Компонент	Содержание %	Компонент	Содержание, %
1	2	3	4
Трициклен	0.65	Миртеналь	0.17
α -Пинен	0.59	Изоборнилпропионат	0.06
α -Туйен	0.04	<i>транс</i> -Пинокарвилацетат	0.42
Камфен	9.31	δ -Терпинеол	0.09
β -Пинен	0.45	Лавандулол	0.55
Изоамилацетат	0.03	<i>транс</i> -Вербенол	0.26
α -Фелландрен	0.66	Миртенилацетат	0.23
α -Терпинен	0.24	Гептадекан	0.23
Лимонен	0.05	α -Терпинеол	0.26
1,8-Цинеол	7.8	α -Терпенилацетат	0.06
Пентилфуран	0.04	Борнеол	0.85
γ -Терпинен	0.51	Гермакрен Д	0.22
p-Цимен	1.91	Нерилацетат	2.32
Изоамилизовалерат	0.82	β -Бисаболен	0.46
2-Метилбутил- 2-метилбутират	0.13	<i>транс</i> -Карвилацетат	0.49
Терпинолен	0.19	Карвон	1.90
2-Метилбутилизовалерат	0.27	<i>транс</i> -Хризантенол	0.95
3-Октилацетат	0.03	Геранилацетат	0.69
1,2,3-Триметилбензол	0.06	<i>цис</i> -Карвилацетат	0.17
3-Метил-3-изовалерат	0.05	Нерилпропионат	0.58
Октенилацетат	0.07	Куминовый альдегид	0.19
Нонаналь	0.21	Нерол	1.06
p-Ментатриен (<i>изомер</i>)	0.02	Геранилизобутират	0.41
Филифолон	0.19	Гераниол	0.44
Камфенилон	0.10	Миртенол	0.02
3-Ноненилацетат	0.05	Геранилизовалерат	0.48
Пентадекан	0.30	<i>цис</i> -Жасмон	0.03
Хризантенол	2.36	2-Фенилэтил-2-метилбутират	0.30
Камфора	43.00	Амилфенилацетат	0.45
Дигидроахиллен	0.30	Изоамилфенилацетат	0.17
Линалоол	0.23	Пентадеканаль	0.03
1-Нонен-3-ол	0.16	(Е)-Неролидол	0.10
Изопинокамфон	0.90	Октановая кислота	0.17
1-Метил-4- ацетилциклогекс-1-ен	0.05	Куминовый спирт	0.23
<i>транс</i> -p-Мент-2-ен-1-ол	0.12	Геранил тиглат	0.07
<i>транс</i> -Хризантенилацетат	3.41	Гексагидрофарнезилацетон	0.16
Пинокарвон	0.45	Спатуленол	0.21
Борнилацетат	1.76	Тимол	0.06
Гексадекан	0.15	Карвакрол	0.20
β -Кариофиллен	1.13	α -Бисаболол	0.68

Также авторами статьи проведена сверхкритическая углекислотная экстракция травы полыни беловой (*Artemisia leucodes* Schrenk.) с варьированием технологических параметров: давления, температуры, продолжительности процесса, степени измельчения растительного сырья. Определены оптимальные условия сверхкритической флюидной экстракции травы полыни беловой, при

которых наблюдается количественный выход монотерпеноида камфоры и сесквитерпеновых лактонов.

Нами определено влияние технологических параметров сверхкритической флюидной экстракции на извлечение сопутствующих фармакологически активных соединений из полыни беловой (таблица 2).

Таблица 2

Влияние технологических параметров сверхкритической флюидной экстракции на извлечение других фармакологически активных соединений из полыни беловой

Режим CO ₂ -экстракции				Содержание фармакологически активных соединений в CO ₂ -экстракте полыни беловой, % в пересчете на массу экстракта						
Давление, МПа	Температура, °C	Время, мин.	Степень измельчения, мм	камфора	ахиллин	матрикарин	гроссизин	аустрицин	паришин В	паришин С
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
20	60	210	0,5	7,4	3,0	1,10	1,35	2,8	0,56	0,14
20	60	210	1,0	7,5	3,0	1,16	1,38	2,8	0,57	0,15
20	60	210	2,0	7,5	3,0	1,16	1,38	2,8	0,57	0,15
20	60	210	5,0	7,6	3,0	1,16	1,38	2,8	0,57	0,15
20	60	210	10,0	7,6	2,7	1,05	1,10	2,6	0,40	0,13
10	60	210	2,0	10,0	2,9	1,06	1,06	2,1	0,54	0,14
15	60	210	2,0	9,1	2,9	1,17	1,17	2,3	0,66	0,15
16	60	210	2,0	8,2	2,9	1,17	1,19	2,4	0,60	0,15
25	60	210	2,0	6,8	2,5	1,12	1,63	3,6	0,49	0,18
30	60	210	2,0	6,1	2,4	1,12	2,04	3,9	0,33	0,17
16	60	90	2,0	7,3	2,0	0,89	0,98	1,5	0,42	0,08
16	60	120	2,0	7,5	2,5	0,96	1,05	1,9	0,61	0,10
16	60	150	2,0	7,9	3,0	1,15	1,20	2,2	0,62	0,13
16	60	210	2,0	8,0	2,9	1,17	1,19	2,4	0,60	0,15
16	60	240	2,0	8,1	2,9	1,16	1,18	2,6	0,56	0,14
16	55	180	2,0	9,0	3,2	1,00	1,20	2,2	0,60	0,13
16	65	180	2,0	7,6	3,0	1,00	1,20	2,3	0,60	0,13

Как видно из таблицы 2, количественное содержание каждого компонента в CO₂-экстракте полыни беловой меняется в зависимости от изменения параметров режима экстракции, поэтому оптимальный режим CO₂-экстракции следует выбирать для каждого соединения индивидуально.

Углекислотная экстракция полыни беловой позволяет количественно извлекать из сырья, помимо леукомизина, другие фармакологически активные соединения, а именно: камфору и сопутствующие сесквитерпеновые лактоны [18-19].

В АО «МНПХ «Фитохимия» на основе сесквитерпенового лактона полыни беловатой - леукомизина разработан гипополипидемический препарат «Атеролид». Для производства субстанции леукомизина внедрена эффективная, экономичная и экологически безопасная технология, с применением сверхкритической флюидной экстракции и центробежной хроматографии распределения. Ранее разработанная технология выделения леукомизина была направлена на количественное извлечение целевого продукта и не рассматривалась для извлечения попутных веществ, например, камфоры.

Поэтому разработка новой технологии получения субстанции гипополипидемического препарата «Атеролид» на основе комплексной переработки CO_2 -экстракта полыни беловатой является актуальной задачей.

Сотрудниками АО «МНПХ «Фитохимия» разработан опытно-промышленный регламент получения субстанции гипополипидемического препарата «Атеролид» (леукомизин) с применением центробежной хроматографии распределения, определены перечень и контрольные точки технологических стадий и операций производственного процесса.

Для извлечения камфоры из углекислотного экстракта полыни беловатой, после извлечения леукомизина, апробирована следующая методика: 100 г углекислотного экстракта полыни беловатой (после выделения) поместили в фарфоровую чашку, накрыли перфорированным листом фильтровальной бумаги и воронкой с закрытым носиком, чашку нагревали на водяной бане при температуре 40-60 °С, периодически нагревание останавливали и собирали кристаллы, образовавшиеся на воронке, нагревание продолжали до прекращения возгонки камфоры и образования ее кристаллов на воронке.

Из 100 г липофильной части CO_2 -экстракта леукомизина по вышеприведенной методике выделен 41 г камфоры.

Выделенная из эфирного масла полыни беловатой камфора представляет собой зернисто-кристаллическую, прозрачную, бесцветную массу, с характерным запахом. Температура плавления выделенной камфоры оказалась близка литературным данным и составила 173-175 °С (178 °С), $[\alpha]_D^{20} -50^\circ$ (с 0.5, CHCl_3) [21]. Чистота выделенной камфоры по данным анализа ГЖХ – 95% (рис.10).

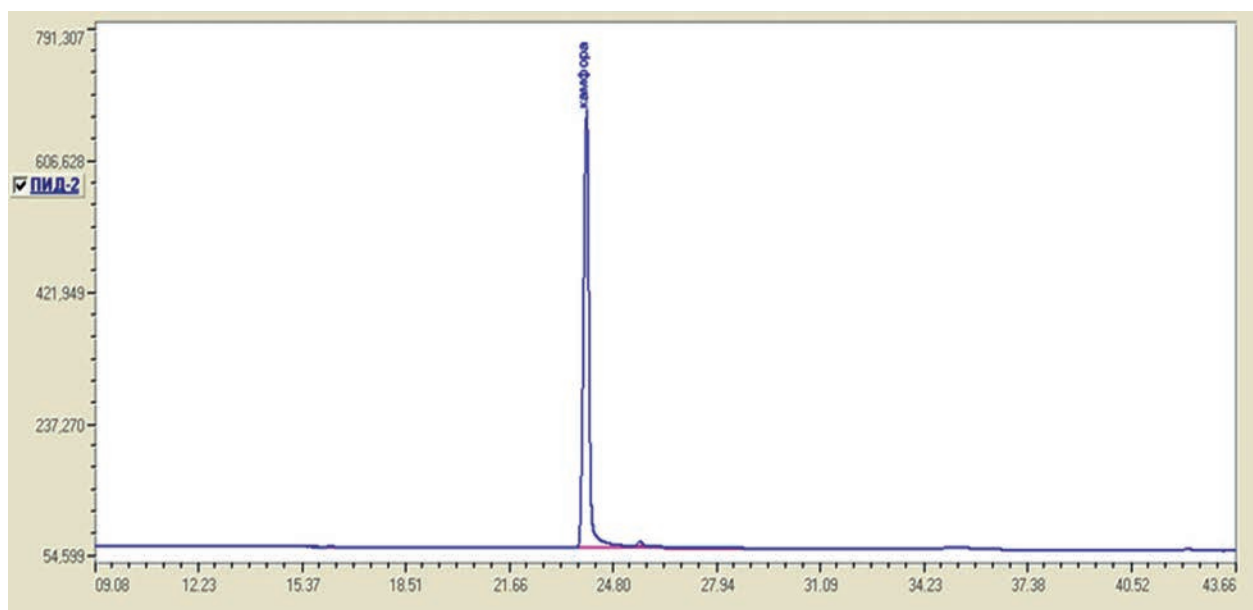


Рисунок 10. Данные анализа ГЖХ камфоры

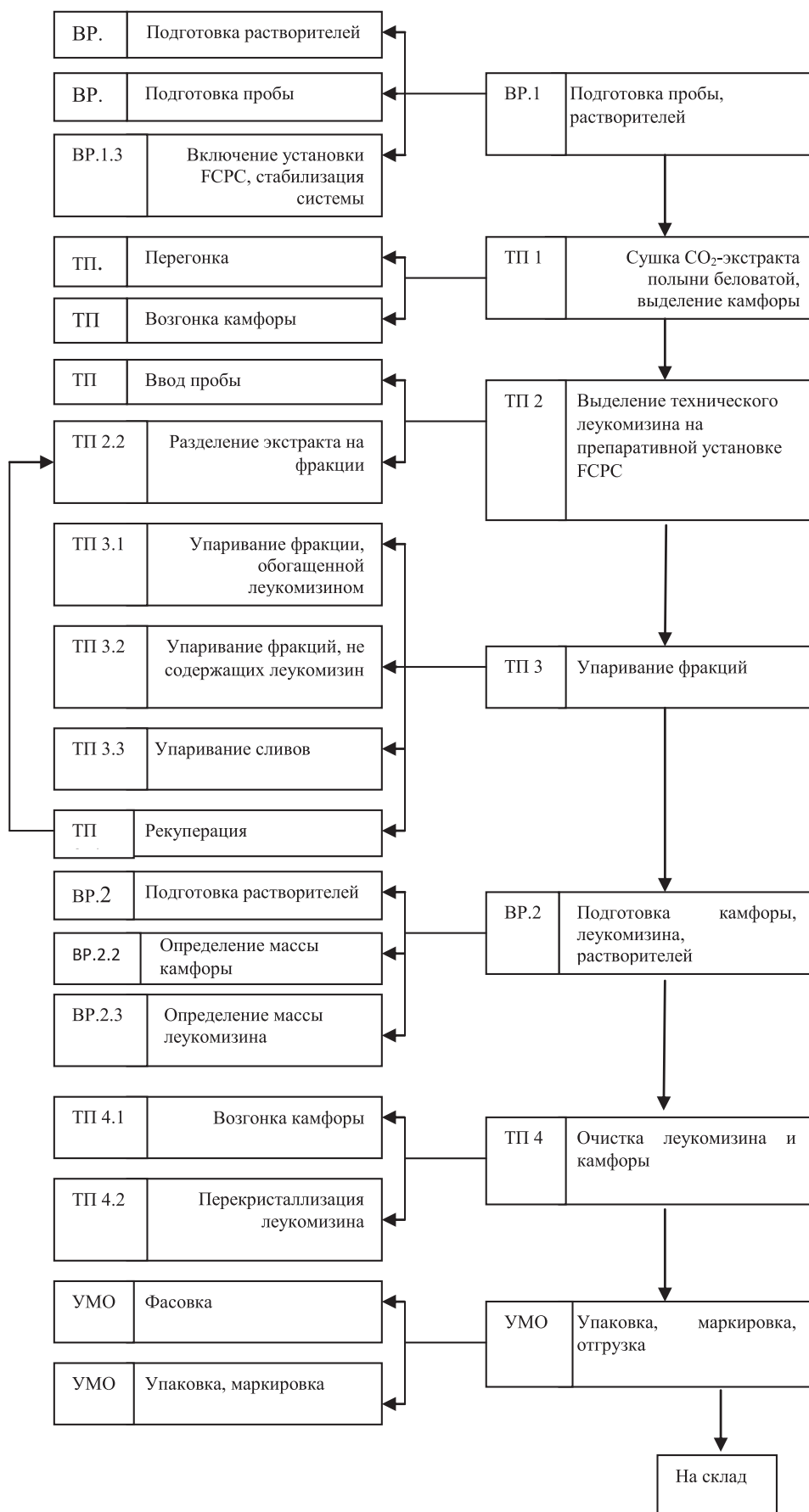


Рисунок 11 – Основные стадии технологического процесса производства субстанции камфоры и леукомизина

Таким образом, нами предложена технологическая схема комплексной переработки сырья полыни беловатой (рис.11), в которой методом центробежной хроматографии выделен сесквитерпеновый лактон леукомизин, а затем из балласта выделена камфора в сравнительно большом количестве. А также установлено, что сверхкритическая флюидная экстракция является эффективным, экологически безопасным способом для извлечения леукомизина и камфоры из надземной части полыни беловатой.

Литература

1. Ткаченко К.Г. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения // Вестник Удмуртского университета. - 2011. - Вып. 1. – С. 88-100.
2. Can Baser K.H., Buchbauer G. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. – 2015. - CPC.Press, London. – С. 994
3. Franz C.M. Essential oil research: Past, present and future // Flavour Fragr. J. - 2010. - № 25. – С. 112–113.
4. Chandrasekaran S., Murthykumar K., Nirmalkumar H., Chandrasekar H. // International Journal of Pharmaceutical Science and Health Care. – 2014. - Issue 4. - Vol 2.
5. Zainudin Z., Mohd Azim M.K. Study on the antibacterial and antifungal effects of camphor oil; *Cinnamomum camphora* with emphasis on the control of overpopulation of tilapia // International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. – 2015, - № 2(5). - P. 337-340.
6. Jianyu Su, Chen J., Sio Liao, Li L., Zhu L., Chen L. Composition and biological activities of the essential oil extracted from a novel plant of *Cinnamomum camphora* Chvar. Borneol // Journal of Medicinal Plants Research. – 2014. - № 6(18). - P. 3487-3494.
7. Aguilar F., Autrup H., Barlow S., Castle L., Crebelli R., Dekant W., Engel K.-H., Gontard N., Gott D., Grilli S., Gürtler R., Larsen J.C., Leclercq C., Leblanc J.-C., Malcata X., Mennes W., Milana M.R., Rietjens I.P., I., Tobback P., Toldrá F. Camphor in flavourings and other food ingredients with flavouring properties Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission // The EFSA Journal. – 2008. - № 729. – P. 1-15.
8. Zuccarini P., Soldani G. Camphor: benefits and risks of a widely used natural product. Acta Biologica Szegediensis. – 2009. - Vol. 53(2). – P.77-82.
9. Chen H.P., Yang K., Xue You C., Lei N., Qi Sun R., Feng Geng Z., Ma P., Cai Q., Sh. Du S., Deng Zh. W. Chemical Constituents and Insecticidal Activities of the Essential Oil of *Cinnamomum camphora* Leaves against *Lasioderma serricorne* // Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry. – 2014. – Vol. 2014. - P. 5-10.
10. Борисов Ю.М. Растительные ресурсы СССР. – Санкт-Петербург: Наука, 1993. – С. 300
11. Duke J.A., CRC handbook of medical herbs. -Boca Raton (Fla.): CRC press, 1986. – P. 677
12. Baker J.J. Essential oils: a complementary therapy in wound management // Wound Care. – 1998. - № 7. - P. 355.
13. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И., биологически активные вещества растительного происхождения. – М.: Наука, 2001. – С. 340
14. Рудаков Г.А. Химия и технология камфоры. – М.: Лес. пром-сть, 1976. – С. 184
15. Танагузова Б.М., Садырбеков Д.Т., Ивасенко С.А., Атажанова Г.А., Арыстанова Т.А., Адекенов С.М. Изучение состава эфирного масла дикорастущих видов полыни // Фармация Казахстана. – 2006. - № 3. – С. 41-42.
16. Танагузова Б.М., Садырбеков Д.Т., Ивасенко С. А., Атажанова Г.А., Арыстанова Т.А., Адекенов С.М. Унифицированная методика определения эфирных масел из дикорастущих полыней // Фармация Казахстана. - 2006. - № 4. – С. 43-44.

17. Танагузова Б.М., Садырбеков Д.Т., Атажанова Г.А., Адекенов С.М. К стандартизации эфирных масел полыни // В сб.: «Новые достижения в создании лекарственных средств растительного происхождения». - Томск, 2006. - С. 315-317.
18. Фольмер В.В., Рахимова Б.Б., Итжанова Х.И., Адекенов С.М. Применение метода CO₂-экстракции в технологии выделения сесквитерпеновых лактонов // В сб. «Актуальные проблемы химии природных соединений». - Ташкент, 2010. - С. 173.
19. Фольмер В.В., Рахимова Б.Б., Ивасенко С.А., Адекенов С.М. Оптимизация условий извлечения сесквитерпенового лактона леукомизина из полыни беловатой // В сб.: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». - Пятигорск, 2010. - Вып. 65. - С. 244-245.
20. Folmer V.V., Khabarov I.A., Ivasenko S.A., Rakhimova B.B., Zhabaeva A.N., Itzhanova K.I., Adekenov S.M. Optimization of method of isolation of leucomisine from *Artemisia leucodes* Schrenk. // Current issues of natural products chemistry and biotechnology: Сб. науч. тр. - Novosibirsk, 2010. - P. 66.
21. Горяев М.И. Характеристика химических соединений, входящих в состав эфирных масел. - Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1953. - С. 542

АҚШЫЛ ЖУСАН ШИКІЗАТЫНАН КАМФОРАНЫ БӨЛІП АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫ

Г.А. Атажанова

E-mail: g-atazhanova@mail.ru

«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қарағанды қ.,
Қазақстан Республикасы

Мақалада табиғи көздерден камфора монотерпеноидын бөліп алу технологиясы туралы мәліметтер жалпыланып, синтетикалық камфора өндірісі жеке кезеңдерінің материалы баяндалған. Сонымен қатар, ақшыл жусанның қазақстандық көзінен солайналымды камфораны бөліп алу туралы материал ұсынылған. Мақалада алғаш рет ақшыл жусан шикізатын кешенді қайта өңдеудің технологиялық тәсімі ұсынылып, онда ортадан тепкіш хроматография әдісімен леукомизин сесквитерпенді лактоны, кейін балластан салыстырмалы көп мөлшерде камфора бөліп алынған.

TECHNOLOGY OF CAMPHOR ISOLATION FROM *ARTEMISIA LEUCODES* SCHRENK. RAW MATERIAL

G.A. Atazhanova

E-mail: g-atazhanova@mail.ru

JSC International Research and Production Holding Phytochemistry, Karaganda,
Republic of Kazakhstan

The article summarises prior research in the isolation technology of camphor monoterpene from natural products, and illustrates some stages of synthetic camphor production. Information on the isolation of matricaria camphor from Kazakhstan natural source *Artemisia leucodes* Schrenk. has been also presented.

The technological scheme of complex processing of *Artemisia leucodes* Schrenk. raw material has been described for the first time in this article. First, by means of the centrifugal chromatography a sesquiterpene lactone leucomisine is isolated, then a rather considerable amount of camphor is obtained from the residue.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГАРМИНА – СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА

Г.Х. Тулеуова, Айгерим С. Адекенова, Ж.Р. Торегожина, А.Ж. Турмухамбетов

E-mail: phyto_pio@mail.ru

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», г. Караганда, Республика Казахстан

Гармин в качестве отечественного стандартного образца обеспечивает постадийный контроль производства и оценку качества нейротропного лекарственного средства «Гармина гидрохлорид» в ряду сырье – субстанция – готовая лекарственная форма.

Строение и подлинность стандартного образца гармина однозначно установлена на основании ИК-, УФ-, масс-спектрометрии, ЯМР- спектроскопии, рентгеноструктурного и элементного анализа. Описаны физико-химические и спектральные показатели стандартного образца гармина, которые будут применяться для идентификации и количественного определения гармина в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах.

В настоящее время происходит смещение акцента с анализа готовой продукции на аналитический контроль производства, т.е. качество должно быть заложено в продукт и контролироваться в процессе производства. Это означает, что аналитический контроль производства лекарственных средств должен проводиться в полном соответствии с действующей нормативной документацией. Сборником обязательных общегосударственных стандартов и положений, нормирующих качество лекарственных средств, является Государственная фармакопея. Фармакопейный анализ лекарственных средств включает в себя оценку качества по множеству показателей. В частности, устанавливается подлинность лекарственного средства, анализируется его чистота, проводится количественное определение. В последние годы наметилась тенденция к переходу на расширенное

использование физических и физико-химических методов анализа [1].

При анализе такими методами оцениваются различные нехимические свойства лекарственных веществ, которые можно было бы теоретически один раз описать и затем просто сличать полученный в опыте результат с имеющимися данными. В связи с этим хроматограмма или спектр, полученный для одного и того же вещества в одной лаборатории одним человеком, но в разные дни, будут различаться. Соответственно, на основе таких переменных данных сложно сделать заключение о качестве лекарственного препарата.

Стандартные образцы в фармацевтическом секторе обеспечивают единство измерений, что, в свою очередь, обеспечивает так называемую прослеживаемость результатов анализа, то есть реализацию принципа: результаты анализа, выполненные в разное время в различных местах, должны иметь одно и то же заключение о качестве лекарственных средств. Поэтому контроль качества лекарственных средств без использования стандартных образцов на современном уровне невозможен.

Гармин – индольный алкалоид, выделенный из растения *Peganum harmala* L. (гармала обыкновенная), семейства *Peganaceae*, служит основой для производства лекарственного средства нейротропного действия. Как химическое соединение оно представляет собой [7-метокси-1-метил-9Н-пиридо(3,4-*b*) индол] [2].

Для индола характерна ароматичность, что проявляется в способности к реакциям электрофильного замещения.

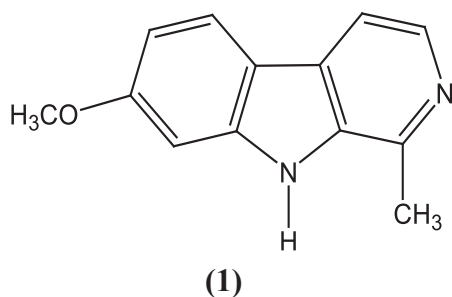
Целью данной работы является исследование по разработке характеристик подлинности и показателей качества СО ГФ РК гармина.

В качестве объекта использовали индольный алкалоид гармина.

Анализы ВЭЖХ выполнялись на хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technology, USA), включающем насос QuatPump G1311A, дегазатор G1322A, УФ-детектор G1314A, петлю Rheodyne объемом 20 мкл, на аналитической колонке размером 4,6 x 150 мм, заполненной Zorbax SB-C18 с размером частиц 5 мкм, в изократическом режиме, при комнатной температуре.

Для проведения физико-химических исследований использованы следующие приборы: ИК-спектрометр Termo Nicolet Avatar-360 (США), УФ-спектрофотометр Helios-β (Великобритания), прибор для определения температуры плавления Voetius (Германия).

Стандартный образец гармина представляет собой порошок белого с желтоватым оттенком цвета, без запаха, который легко растворим в *этаноле P*, *метаноле P*, *диметилформамиде P*, практически не растворим в *воде P* [3]. Для определения подлинности СО ГФ РК гармина были предложены инфракрасный спектр, ультрафиолетовый спектр, ВЭЖХ, тонкослойная хроматография, качественная реакция и температура плавления [4].



Гармин (1) - кристаллический порошок белого с желтоватым оттенком цвета, без запаха, температура от 265°C до 268°C, растворим в 96 % этаноле, легко растворим в метаноле, диметилформамиде, практически не растворим в воде.

Инфракрасный спектр поглощения СО ГФ РК гармина, полученный в дисках с калия бромидом (3 мг препарата в 300 мг калия бромида), в области от 3800 до 600 см⁻¹, имеет характеристические полосы поглощения при 3142 см⁻¹ (NH), 2964 см⁻¹, 2832 см⁻¹ (OCH₃, фенильного фрагмента), 1626 см⁻¹ (-C=N), 1564 см⁻¹ и 1483 см⁻¹, 1452 см⁻¹.

В УФ-спектре данного соединения имеется максимум поглощения при длине волны 241 нм и 301 нм, типичный для индольного цикла, находящегося в сопряжении с ароматическим гетероциклом.

При проведении качественной реакции добавлением к 20 мг СО ГФ РК гармина капли раствора кислоты кремневольфрамовой, выпадает осадок белого цвета (реакция на алкалоиды).

Температура плавления составила от 265 до 268 °C.

Чистота и подлинность образца СО ГФ РК гармина определяли методом ВЭЖХ на приборе HEWLETT PACKARD Agilent 1100 Series в изократическом режиме. Содержание вещества составляет не менее 98 %. Время удерживания СО ГФ РК гармина 14,0 мин. При определении посторонних примесей к 30 мг образца РСО гармина прибавили 30 мл подвижной фазы (ацетонитрил: вода (50:50)), растворяли при нагревании и охладили. Доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. По 20 мкл полученного раствора хроматографировали на жидкостном хроматографе. Анализ проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в следующих условиях:

- аналитическая колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C₁₈, 4,6 x 150 мм, с размером частиц 5 мкм;
- состав подвижной фазы: ацетонитрил-0,1 М раствор аммиака вода (1:1);
- детектирование при длине волны 301 нм;
- температура колонки - комнатная;
- скорость подвижной фазы 0,25 мл/мин.

Обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения ChemStation. Методом нормализации от суммы всех площадей (без учета пика растворителя) рассчитывали хроматографическую чистоту гармина (не менее 98 %) и содержание посторонних примесей. На хроматограмме возможно наличие пика идентифицированного соединения с временем удерживания 4,46 мин. Идентифицированное соединение – вазацинон.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования

теста «Пригодность хроматографической системы». Для этого эффективность колонки, рассчитанной по пику СО ГФ РК, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок. Относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика РСО гармина на хроматограммах раствора сравнения, должна быть не более 2,0 %.

Разработаны показатели качества СО ГФ РК алкалоида гармина, которые включены в проект АНД.

Литература

1. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия. Издание третье. – М., 2006. – С. 635.
2. Инновационный патент РК №29584 Метокси-1-метил-9Н-пиридо [3,4-b]индол-2N-гидрохлорид, обладающий антидепрессивной, противогипоксической и антипаркинсонической активностью/Адекенов С.М., Нурмаганбетов Ж.С., Турмухамбетов А.Ж., Анаев А.А., Арыстан Л.И., Сариев А.К.: Оpubл. 06.03.2015, Бюл. №3.
3. Государственная фармакопея Республики Казахстан. - Том III: Стандартные образцы. I-е изд. - Алматы: Жибек жолы, 2014. - С. 122.
4. Государственная фармакопея Республики Казахстан. - Том I.- I-е изд. – Алматы: Жибек жолы, 2008. - С. 52-79.

ГАРМИН – СТАНДАРТТЫ ҮЛГІНІ СТАНДАРТТАУ

Г.Х. Төлеуова, Айгерім С. Әдекенова, Ж.Р. Төрегожина, А.Ж. Тұрмұхамбетов

E-mail: phyto_pio@mail.ru

«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қарағанды қ.,
Қазақстан Республикасы

Стандартты үлгілер дәрілік заттарды стандарттау жүйесінің басты элементтерінің бірі болып табылады.

Гармин шикізат – субстанция – дайын дәрілік түр қатарында «Гармин гидрохлориді» нейротропты дәрілік затының өндірісін кезеңдік бақылау және сапасын бағалау үшін отандық стандартты үлгі ретінде қажет.

Гармин стандартты үлгісінің құрылымы мен түпнұсқалылығы ИҚ-, УК-, масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия, рентгенқұрылымдық және элементтік талдау негізінде нақты анықталды. Гармин стандартты үлгісінің физика-химиялық және спектрлік көрсеткіштері сипатталды. Олар дәрілік өсімдік шикізаты мен дәрілік өсімдік препараттарында гарминді сәйкестендіру және оның мөлшерін анықтау үшін пайдаланылатын болады.

STANDARDIZATION OF HARMINE REFERENCE STANDARD

G.H. Tuleuova, Aigerim S. Adekenova, Zh.R. Toregozhina, A.Zh. Turmukhambetov

E-mail: phyto_pio@mail.ru

JSC “International Research and Production Holding “Phytochemistry”, Karaganda,
Republic of Kazakhstan

Reference standards are one of the key elements of the drugs standardization system.

Harmine is critical as a domestic reference standard for the step-by-step production control and quality assurance of neurophilic drug «Harmine Hydrochloride» in the following sequence: raw material – substance – a ready dosage form.

The structure and authenticity of harmine reference standard were positively confirmed based on IR- UV-, mass-spectrometry, NMR-spectroscopy, X-ray, and elemental analysis. Physical, chemical, and spectral parameters of harmine reference standard were described. They would be applied to define harmine and its amount in the medicinal plant raw material and herbal drugs.

НАРИНГЕНИН ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДСТВА ОРИГИНАЛЬНОГО ФЛАВОНОИДНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

П.Ж. Жанымханова

E-mail: pernesh1983@mail.ru

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»,
г. Караганда, Республика Казахстан

В настоящей работе обобщены и систематизированы литературные данные в области флавоноидных лекарственных растений. В статье обсуждаются методы определения и выделения полифенольных соединений, в том числе нарингенина.

В мировой практике при стандартизации сырья, фармацевтических субстанций и готовых лекарственных форм используются как фармакопейные стандартные образцы, так и универсальные стандартные образцы активных фармацевтических субстанций и их примесей, стандартные образцы растительного происхождения, а также физико-химические стандартные образцы для калибровки измерительной аппаратуры. Стандартные образцы являются фактором, непосредственно влияющим на качество получаемых лабораторией результатов, позволяющих контролировать качество всех этапов производства лекарственных препаратов по стандартам GMP.

Опыт отечественных производителей оригинальной фармацевтической продукции на основе растительного сырья показывает перспективность развития данного направления в фармацевтической отрасли республики. Также для Казахстана, на данный момент, является важным развитие отечественных наукоемких технологий, что обеспечит нашей продукции конкурентоспособность при выходе на мировой фармацевтический рынок. В этом отношении Республика Казахстан располагает значительными ресурсами лекарственных растений для производства собственных оригинальных и высокоэффективных препаратов, заменяющих импортные.

Внедрение международных норм контроля качества и безопасности лекарственных средств подразумевает использование современных методик анализа, требующих в подавляющем большинстве случаев использования государственных стандартных образцов.

Данный вопрос особенно актуален в связи с присутствием на фармацевтическом рынке республики фальсифицированных лекарственных средств.

Стандартные образцы играют важную роль в обеспечении качества лекарственных средств на протяжении всего «жизненного цикла», начиная от разработки лекарственного средства и заканчивая контролем качества лекарственного средства на рынке страны.

В настоящее время в медицинской практике, прежде всего, из-за роста токсико-аллергических заболеваний и лекарственной резистентности вследствие применения синтетических препаратов все более популярными становятся лекарственные средства растительного происхождения. Среди действующих веществ растительного происхождения выделяются флавоноиды – биологически активные вещества, обладающие широким спектром фармакологического (желчегонного и гепатопротекторного) действия.

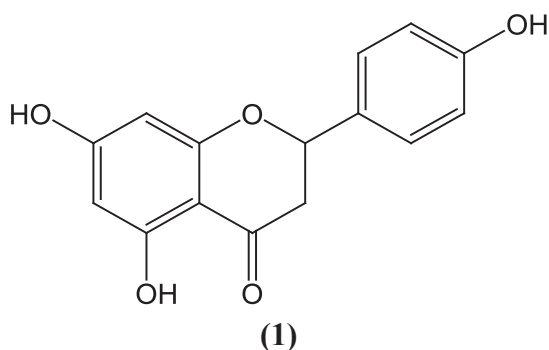
Флавоноиды – наиболее многочисленный класс природных фенольных соединений, которым характерно структурное

многообразие, высокая и разносторонняя активность и малая токсичность.

Препаратов, содержащих чистые флавоноиды, пока имеется немного. Чаще эти соединения находятся в растениях в комплексе с другими БАВ и используются суммарно.

Нарингенин (1) входит в состав препарата «Фламин». Фламин представляет собой смесь флавоноидов, среди которых доминирующим является изосалипурозид. Сырьем для производства фламина используют цветки бессмертника песчаного (*Helichrisum arenarium* L. (Moench.)) из семейства Asteraceae. Фламин оказывает желчегонное и противовоспалительное действия, назначают при холецистите, холангите.

Известно, что в цветках бессмертника и фламине содержится сумма флавоноидов (не менее 20 соединений), относящихся к различным группам: флавоны (апигенин, лютеолин), флавонолы (кемпферол, кверцетин и их гликозиды, 3,5-дигидроксигидрокси-6,7,8-триметоксифлавоноловые гликозиды), халконы (изосалипурпозид), флаваноны (+)-нарингенин, (-)-нарингенин и их гликозиды). В растениях *H. arenarium* содержится также ряд сопутствующих веществ, включая полисахариды, кумарины, коричные кислоты и др.



Авторами Саратовского института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН исследован химический состав бессмертника песчаного *Helichrisum arenarium* (L.) Moench. Среди флавоноидов обнаружены нарингенин и его растворимый агрегат, кверцетин,

апигенин, а также 5-О-гликозид апигенина и изосалипурпозид. Методом молекулярной адсорбционной спектроскопии установлено, что исследуемый экстракт содержит 73,48 мг флавоноидов в пересчете на рутин, 17,94 мг на кверцетин на 1 г сухой массы экстракта, что составляет 20,99 и 5,13% соответственно. Экстракт бессмертника песчаного обладает противоопухолевой активностью в отношении перевиваемой саркомы 45 и благоприятно влияет на организм животных в целом [1].

Учеными Самарского государственного медицинского университета из цветков бессмертника песчаного *Helichrisum arenarium* (L.) Moench выделены и идентифицированы флавоноиды изосалипурпозид, салипурпозид, 5, 7-дигидроксифталид. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов с использованием дифференциальной спектрофотометрии в присутствии стандартного образца изосалипурозид [2-5].

Украинскими учеными разработана стандартизация цветков бессмертника песчаного. Количественно определен флавоноид апигенин, содержание которого в исследуемом сырье составляет от 0,006±0,145% в пересчете на воздушно сухое сырье [6].

Изучен количественный состав растения *H. arenarium*, взятый из 28 естественных популяций 17 районов Саратовской области, где проводился сбор растений в период массового цветения данного вида с 23 июня по 1 августа 2008 г. В каждой популяции случайным образом производили выборку 30 растений зрелого возрастного состояния (G2), у которых отбирались соцветия, измельчались и помещались в 95%-ный этиловый спирт, так как у данного вида растений именно на соцветия приходится наибольшее количество флавоноидов. В результате ТСХ-анализа с использованием элюента бутанол - уксусная кислота (2:3) обнаружено 6 зон адсорбции в каждом экстракте. Идентификация нарингенина осуществлена по стандарту. По данным, полученным в ходе спектрофотометричес-

кого анализа, спектр поглощения нарингенина из экспериментальных экстрактов совпадал с таковым у стандартного образца. Кроме того, по данным о величине R_f и цвету зон адсорбции при аналогичных условиях ТСХ-анализа, идентифицированы рутин ($R_f=0,29$), гиперозид ($R_f=0,39$), лютеолин-7-гликозид ($R_f=0,42$) и нарингенин-5-гликозид ($R_f=0,53$).

Суммарное содержание флавоноидов в исследованных популяциях держалось примерно на одном уровне. Однако максимальные значения наблюдались в экстрактах из растений центральных районов Правобережья Саратовской области (4,82-10,86%) со снижением в направлении севера и юга, в то время как минимальные значения – в левобережных районах с аридными условиями произрастания (3,32-4,50%) [7].

Иркутскими учеными [8-12] разработана комплексная переработка лиственницы. Изучены химическое строение и биологическая активность комплекса полифенолов коры лиственницы. На основе разработанных способов получения индивидуальных экстрактивных веществ предложена схема переработки древесины и коры лиственниц сибирской и Гмелина. Приведены данные о биологической активности практически значимых экстрактивных соединений из биомассы лиственницы. Описаны новые лекарственные средства и продукты функционального питания, созданные на их основе. Исследовано влияние экстрагента на выход экстрактивных веществ и количественное соотношение фракций соединений в составе фенольного комплекса коры лиственницы Гмелина. Основным компонентом флавоноидной фракции из древесины лиственниц сибирской и Гмелина является дигидрокверцетин и дигидрокемпферол. Кроме обязательного присутствия этих двух флавоноидов содержатся 12% фенольных соединений (фенолокислоты, флавоноиды, флаваноны, флаванолы и т.д.). В коре лиственницы до

настоящего времени обнаружен только один представитель флаванонов – нарингенин.

Кору лиственницы даурской (*Larix gmelinii* Rupr.) (Rupr.) и сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), предварительно освобожденную от липидных соединений, экстрагировали дважды этилацетатом при температуре 60°C в течение 5 часов [13]. Полученные экстракты объединяли, концентрировали на ротаторном испарителе, далее обработкой насыщенным водным раствором соды разделяли на кислую и нейтральную фракции, каждую из которых изучали отдельно. Из нейтральной части этилацетатного экстракта разделяли с помощью колоночной хроматографии (сорбент - полиамид, элюент - хлороформ-метанол с возрастающей долей последнего от 0 до 65%). Идентифицированы: два флавонола - дигидрокверцетин, дигидрокемпферол, пять флавонолов - кверцетин, кемпферол, морин, мирицетин, изорамнетин и флавонон – нарингенин.

Авторами [14-16] разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в некоторых видах цитрусовых в пересчете на гесперидин спектрофотометрическим методом, а также проведена валидационная оценка данной методики по таким параметрам, как правильность, повторяемость, воспроизводимость и линейность. Определено количественное содержание флавоноидов в экстрактах из кожуры *C. reticulata* (мандарин), *C. sinensis* (апельсин), *C. paradisi* (грейпфрут), *C. maxima* (помело) и *C. limonia* (лимон), и установлено, что в среднем содержание флавоноидов составляет от 4,1% до 8,08%, максимальное содержание флавоноидов выявлено в мандарине и грейпфруте - 7,68% и 7,46% соответственно.

Из кожуры *Citrus maxima* (помело) выделены индивидуальные флаваноны нарингин и нарингенин. Именно нарингин придает грейпфруту горький вкус. Используется в спортивных добавках, для похудения, реже как вкусовой компонент. При прохождении через стенку кишечника нарингин полностью превращается в

нарингенин, также в этом участвует кишечная микрофлора. Химическое отличие веществ заключается в том, что нарингин содержит две или более дополнительных молекулы глюкозы, что позволяет растениям таким образом сохранять энергию. Бактерии кишечника, отщепляя углеводы, получают энергию. Чаще всего в спортивных добавках встречается нарингин, поскольку его производство менее затратное. В исследованиях было определено, что нарингин имеет даже некоторые превосходства в фармакокинетике, по сравнению с нарингенином. При количественном кислотном гидролизе флаванона в гидролизате после нейтрализации хроматографически идентифицированы D-глюкоза и L-рамноза. На основании данных бумажной хроматографии в системах 15% уксусная кислота и бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:5), УФ-, ИК- и ЯМР¹ Н-спектроскопии, температуры плавления, агликона идентифицирован как 5,7,4'-тригидроксифлаванон (нарингенин), представляющий собой желтые игольчатые кристаллы, хорошо растворимые в спирте, температура плавления 250°C, в условиях цианидиновой реакции его спиртовой раствор приобретает темно-красно-фиолетовую окраску. Разработана методика количественного определения содержания флавоноидов в кожуре *C. maxima* спектрофотометрическим методом в пересчете на гесперидин по градировочному графику [16].

Разработана технологическая схема комплексной переработки отходов цитрусовых, позволяющая получать гесперидин (выход 9,8-10,1%), сумму полисахаридов (выход 1,01-1,5%) и флавоноидов [17]. Разработан способ получения полисахаридов из отходов цитрусовых, обладающих противоязвенной активностью [18].

Проведено исследование разновидностей *Citrus* на содержание флавоноидов произрастающих на юго-восточной Нигерии. Исследованы корни, стебли, кора,

листья и кожура видов *Citrus aurantifolia* (Christm.), *Citrus grandis* Osbeck (Shaddock/Pummelo), *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Lemon), *Citrus paradisi* Macf. (Grapefruit), *Citrus reticulata* Blanco и *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Sweet orange). По данным количественного анализа, флавоноиды содержатся во всех частях цитрусовых растений, наибольшее их содержание в *C. paradisi* (грейпфрут) [19].

Американскими учеными проведены исследования на содержание флавоноидов в цитрусах *C. paradisi*, *C. limon* (L.), *C. Lime*. В результате исследований определено, что в *C. paradisi* содержится 27 мг нарингина, лайме - 15,6 мг гесперицина, в лимоне - 15,78 мг эриоцетрина на 100 г фрукта.

Нарингенин является одним из самых популярных флавононов, полученных из цитрусов, обладающим иммуномодулирующей, антиоксидантной, цитотоксической и противовоспалительной активностями [20-22].

В холдинге «Фитохимия» на данное время разрабатывается технология выделения нарингенина и апигенина из бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) для применения их в качестве стандартных образцов.

Таким образом, краткий анализ современного состояния изученности полифенолов растений приводит к выводу о перспективности осуществления дальнейших выделений технологически доступных флавоноидов и направленных синтетических трансформаций на их основе и получением соединений, обладающих высокой биологической активностью. К сожалению, на сегодняшний день единичны случаи применения отдельных индивидуальных флавоноидов - монопрепаратов в медицинской практике, несмотря на их широкое разнообразие, возобновляемость источников и доступность их получения.

Несомненно, что данный вопрос нуждается в дальнейшем изучении полифенольных соединений из растений флоры Казахстана. Необходим поиск новых представителей этих соединений, так как установление их строения,

изучение биогенеза, биологической роли и физиологической активности приведет к новым интересным открытиям, что в конечном итоге позволит обеспечить

разработку субстанций и лекарственных форм новых лекарственных препаратов растительного происхождения широкого спектра действия.

Литература

1. Гринев В.С., Шириков А.А., Новолокин Н.А., Курчатова М.Н., Дурнова Н.А., Бучарская А.Б. Полифенольные соединения новой биологически активной композиции из цветков бессмертника песчаного *Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) // Химия растительного сырья. - 2015. - №2. - С. 177-185.
2. Куркин А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Перспективы использования высокоэффективной жидкостной хроматографии для стандартизации сырья и препарата бессмертника песчаного // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2011. - Т.13. - №1 (8). - С. 2015-2018.
3. Куркин А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Определение содержания изосалипурозида в сырье и препаратах бессмертника песчаного // Химико-фармацевтический журнал. - 2012. - Т.46. - №3. - С. 28-30.
4. Куркин А.В. Исследование компонентного состава цветков *Helichrysum arenarium* L. Moench // Химия растительного сырья. - 2011. - №2. - С. 113-116.
5. Куркина А.В. Новые подходы к стандартизации сырья бессмертника песчаного - *Helichrysum arenarium* L. Moench // Традиционная медицина. - 2010. - №1. - С. 45-49.
6. Гудзенко А.В., Цуркан А.А. Разработка подходов к стандартизации цветков бессмертника песчаного *Helichrysum arenarium* (L.) Moench) в растительных смесях // Фармация и фармакология. - 2014. - №1. - С. 29-34.
7. Машурчак Н.В., Игнатов В.В., Кашин А.С. Зависимость состава флавоноидного комплекса соцветий *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. от условий произрастания в саратовской области // Поволжский экологический журнал. - 2009. - № 1. - С. 54-61.
8. Бабкин В.А., Остроухова Л.А., Трофимова Н.Н. Биомасса лиственницы от химического состава до инновационных продуктов. - Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. - С. 235
9. Иванова Н.В., Остроухова Л.А., Бабкин В.А., Иванова С.З., Попова О.В. Комплекс мономерных фенольных соединений коры лиственницы // Химия растительного сырья. - 1999. - №4. - С. 5-7.
10. Остроухова Л.А., Ралдугин В.А., Бабкин В.А., Онучина Н.А., Левчук А.А. Исследование химического состава смолы древесины лиственницы // Химия растительного сырья. - 2011. - №4. - С. 83-87.
11. Бабкин В.А., Остроухова Л.А. Новые лекарственные средства и продукты функционального питания из отходов переработки лиственницы // Фармацевтический бюллетень. - 2014. - №1-2. - С. 116-121.
12. Гординенко И.И., Федорова Т.Е., Иванова С.З., Бабкин В.А. Влияние экстрагента на компонентный состав фенольного комплекса, извлекаемого из коры лиственницы Гмелина // Химия растительного сырья. - 2008. - №2. - С. 35-38.
13. Бабкин В.А., Остроухова Л.А., Дьячкова С.Г., Святкин Ю.К., Бабкин Д.В., Онучина Н.А. Безотходная комплексная переработка биомассы лиственниц сибирской и даурской // Химия в интересах устойчивого развития. - 1997. - №5. - С. 105-115.
14. Евсеева О.С., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в некоторых видах рода *Citrus* // Фармация. - 2013. - №4 (168). - Вып. 24/1. - С. 55-60.
15. Сивцева О.С. Получение флаванонов и синтеза на их основе: дисс. работа канд. фармац.

наук: 14.04.02 // О.С. Сивцева. – Пятигорск, 2016. - 136 с.

16. Евсеева О.С., Андреева О.А., Оганесян Э.Т., Ароян М.В. О качественном составе флаванонов и их количественном содержании в кожуре *Citrus maxima* // Фундаментальные исследования. - 2014. - №6. - С. 96-99.

17. Хочава М.Р. Химико-технологическое обоснование создания флавоноидных препаратов с использованием отходов цитрусовых: автореф. дис. канд. фармац. наук: 15.00.02 // М.Р. Хочава. – Пятигорск, 2001. - С. 211

18. Патент РФ № 2001103422/15, 27.10.2005. Оганесян Э.Т., Хочава М.Р., Доркина Е.Г., Репс В.Ф., Андреева О.А. Средство из отходов цитрусовых, обладающее противоязвенной активностью // Патент России № 2262944. Бюл. № 30.

19. Ezeabara C.A., Okeke C.U., Aziagba B.O. Flavonoid content of *Citrus* species grown in Awka, Anambra State, Southeastern Nigeria // International journal of agriculture and biosciences. - 2013. - №2(3). - P.103-107.

20. Peterson J.J., Beecher G.R., Bhagwat S.A., Dwyer J.T., Gebhardt S.E., Haytowitz D.B., Holdenc J.M. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature // Journal of food composition and analysis. - 2006. - №19. - P. 74-80.

21. Maatouk M., Elgueder D., Mustapha N., Chaaban H., Loannou I., Kilani S., Glaul M., Gledira K., Chekir-Gledira L. Effect of heated naringenin on immunomodulatory properties and cellular antioxidant activity // Cell Stress and Chaperones. - 2016. - №21. - P. 1101-1109.

22. Zunli Ke., Yupan L., Xiaodan Xu., Chao Nie., Zhiqin Z. *Citrus* flavonoids and human cancers // Journal of food and nutrition research. - 2015. - Vol. 3. - №5. - P. 341-351.

БИРЕГЕЙ ФЛАВОНОИДТЫ ДӘРІЛІК ПРЕПАРАТ ӨНДІРІСІНІҢ САПАСЫН БАҚЫЛАУҒА АРНАЛҒАН НАРИНГЕНИН

П.Ж. Жанымханова

E-mail: pernesh1983@mail.ru

«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ,
Қарағанды қ., Қазақстан Республикасы

Осы жұмыста флавоноидты дәрілік өсімдіктер саласындағы әдеби деректер жалпыланып, жүйеге келтірілді. Мақалада полифенолды қосылыстарды, соның ішінде нарингенинді анықтау және бөліп алу әдістері талқыланады.

NARINGENIN FOR PRODUCTION QUALITY CONTROL OF THE ORIGINAL FLAVONOID DRUG

P.Zh. Zhanymkhanova

E-mail: pernesh1983@mail.ru

JSC International Research and Production Holding Phytochemistry,
Karaganda, Republic of Kazakhstan

The given article summarises and systematizes literature in the field of medicinal plants containing flavonoids. It covers the definition and isolation methods of polyphenolic compounds, including naringenin.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ «ФИТОСОРБ – АЛТЫН ЖЕБЕ» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОЖИРЕНИЯ

М.А. Бийсенбаев, С.Х. Акназаров, А.К. Мырзагалиев, К.С. Бексейтова,

М.И. Досымбетова, У.М. Амзеева

E-mail: bekalsu@mail.ru

ТОО «НПТЦ «Жалын», Институт проблем горения, Научно-исследовательский институт кардиологии и внутренних болезней.

В данной статье приведены результаты доклинических испытаний БАД «Фитосорб – Алтын Жебе» в качестве профилактического и терапевтического средства для предотвращения и лечения ожирения. Установлено, что данная продукция отечественного производства обладает не только множественными полезными свойствами, но и улучшает процесс обмена веществ, благодаря чему успешно используется в борьбе с лишним весом.

В Республике Казахстан на сегодняшний день около 4 миллионов человек страдают ожирением и лишним весом. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2015 г. число людей, страдающих ожирением и лишним весом, составило не менее 3 млрд человек. Особенно актуальным является тот факт, что неуклонно увеличивается количество детей и подростков, подверженных этому недугу. Казахстан не обошла стороной новая мировая эпидемия. По данным национальных исследований, 11,4 % детей имеют избыточную массу тела. По мнению вице-президента Казахской академии питания, доктора медицинских наук Ш. Тажибаевой, в 2008 г. каждая вторая женщина (50,6 %) и чуть меньшее количество мужчин (45,4 %), страдали избыточной массой тела и ожирением в возрасте 25–59 лет [2]. Быстрый рост эпидемии ожирения тесно связан с увеличением доступности калорийных продуктов питания и уменьшением физической активности в связи с малоподвижным образом жизни. Как известно, риск увеличения массы тела повышают рационы питания с высоким содержанием жира, сладостей и низким уровнем клетчатки, а также еда большими порциями. При этом продукты с высоким содержанием жира относятся к категории самых дешевых и доступных. Таким образом,

актуальной проблемой является разработка и внедрение новых инновационных препаратов, способствующих улучшению метаболизма, функциональных свойств внутренних органов и систем, повышению иммунного статуса организма и тем самым поддерживающих оптимальный уровень жизненно важных показателей организма.

Разработанная ТОО «НПТЦ «Жалын» Института проблем горения «Фитосорб – Алтын Жебе» - биологически активная добавка, получаемая особыми методами карбонизации и активации из казахстанской рисовой шелухи и применяемая для очищения организма и восстановления функциональной активности органов пищеварения. Доклинические испытания препарата были проведены в лаборатории экспериментальной медицины Научно-исследовательского института кардиологии и внутренних болезней Министерства Здравоохранения РК.

Методика исследования. Для проведения экспериментальных работ исследования были использованы белые аутбредные крысы (вид – *Rattus norvegicus*) обоего пола в возрасте 5-6 месяцев, со средней массой тела $210,0 \pm 10\%$. Общее количество опытных животных – 150 особей. Животные до начала экспериментов были помещены в карантин на две недели, во время которого проводился их ежедневный

осмотр. Животные содержались в условиях вивария, температура и влажность воздуха составляли - 21-24°C и 65-70% соответственно. Животные были разделены на 3 группы:

I – с введением «Фитосорб–Алтын Жебе» в течение 60 суток;

II – 60 суток после прекращения введения (120 суток от начала введения «Фитосорб – Алтын Жебе»);

III – контрольная группа.

Выбор концентраций, доз и способа введения препарата решался с учетом клинического применения препарата и данных по острой токсичности. Способ введения ограничивался физическими свойствами препарата и особенностями анатомии животных [1, 3]. Размер капсулы не позволил вводить препарат животным непосредственно в капсуле, так как ее диаметр в 2,5 раза превышает диаметр пищевода крысы. Кроме того, оказалось невозможным вводить и раствор капсулы с содержимым из-за образования очень вязкой субстанции при растворении, что делало невозможным ввести животному. Поэтому капсулу скармливали животным индивидуально, затем содержимое в виде взвеси вводили перорально.

Предполагаемая длительность применения у человека «Фитосорб–Алтын Жебе» составляет от 1 до 15 суток, по 1-3 капсуле в день. Поэтому введение препарата животным для исследования хронической токсичности осуществляли на протяжении 30 и 60 суток [4].

Согласно данным исследования по острой токсичности дозы без наблюдаемого отрицательного эффекта (ДБНОЭ) крысы для «Фитосорб-Алтын Жебе» составляет 680 мг/кг. Для пересчета дозы крысы в эквивалентную дозу для человека массой 50-70 кг, с учетом площади поверхности тела, использовали коэффициент 5,9 [4] (см. . 2,7).

ДБНОЭ_{крысы}: $5,9 = \text{ЭДЧ } 680 \text{ мг/кг} : 5,9 = 115,3 \text{ мг/кг}$

Согласно пересчету ДБНОЭ_{крысы} в 680 мг/кг соответствует эквивалентной дозе для человека в мг/кг в перерасчете с

животных (ЭДЧ) в 115,3 мг/кг, что составляет 5765,0 мг/сутки на человека массой 50 кг или 16 капсул.

Рекомендуемые суточные дозы у человека в 340-680-1020 мг/сутки соответствуют дозам в 4,86-9,72-14,58 мг/кг (при перерасчете на кг массы тела). Таким образом, ДБНОЭ_{крысы} почти в 70 раз превышает дозы, рекомендованные для человека.

В исследовании по хронической токсичности «Фитосорб–Алтын Жебе» использовали по одной капсуле на особь и дозу активного вещества в 340 мг/кг, что составляет 85 мг/сутки на крысу с массой тела 250 г.

Результаты исследования. Оценка динамики массы тела крыс представляет собой объективный показатель, часто используемый для интегральной характеристики общетоксического действия веществ [5, 6]. Крыс взвешивали перед началом эксперимента, согласно схеме эксперимента. Взвешивание осуществляли утром до кормления. На рис. 1 представлена динамика массы тела крыс после введения «Фитосорб – Алтын Жебе», а также в контрольной группе. Как видно из представленного рисунка, в течение 15 дней группа животных с введением «Фитосорб – Алтын Жебе» набирала меньше веса, чем контрольная. Затем подопытные животные теряли примерно по 15% массы тела по сравнению с предыдущими сроками наблюдения. Через 30 дней применения «Фитосорб – Алтын Жебе» масса тела у подопытных животных была уже ниже на 9%, чем у контрольных. К 60 дню наблюдения в группе «Фитосорб – Алтын Жебе» разница в массе тела, по сравнению с контрольными, составляла 22%. После прекращения введения препарата (90-е и 120-е сутки наблюдения) масса тела у подопытных животных постепенно восстанавливалась, но была несколько ниже, чем у контрольных животных. Данные показатели приведены на рис. 1 в виде гистограммы.

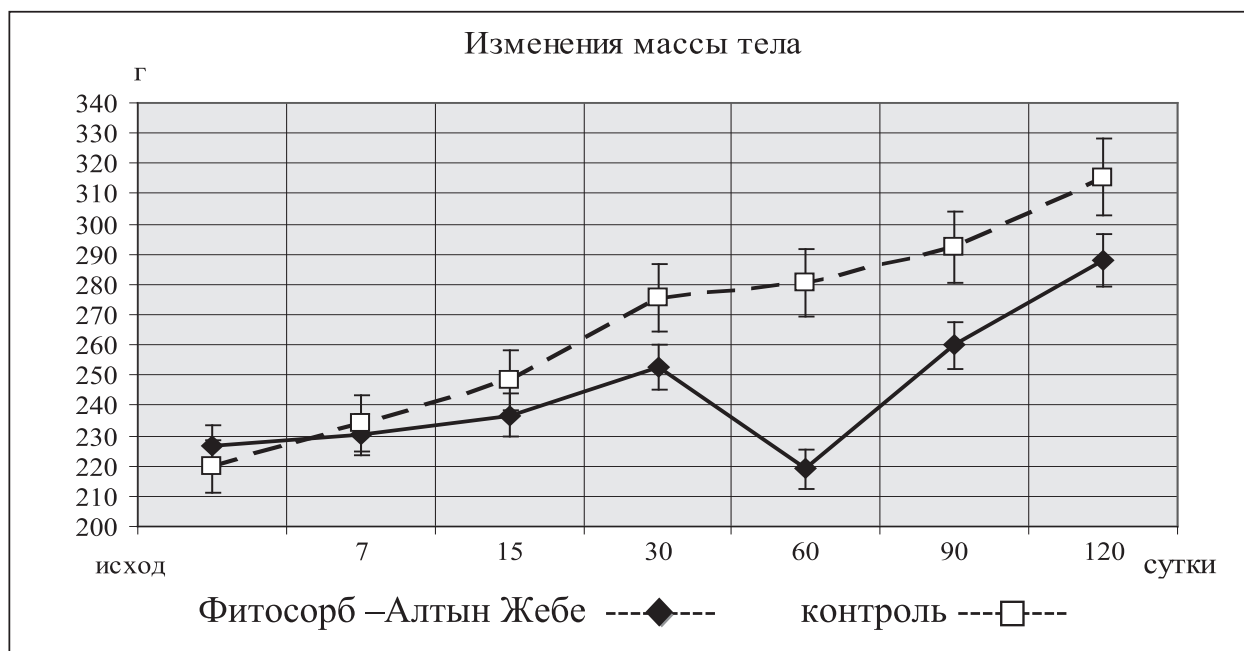


Рисунок 1 – Изменения массы тела животных после применения «Фитосорб - Алтын Жебе».

I, II – группы животных получившие БАД «Фитосорб - Алтын Жебе»;
III – контрольная группа.

Значительным отличием было уменьшение количества висцерального жира по сравнению с контрольной группой животных. Исследования показали, что чем длительнее курс применения препарата, тем меньше количество жиров, накапливающихся в наружной стороне внутренних органов, т.е. препарат имеет свойства предотвращения или лечения ожирения.

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

- внешний вид животных, прием пищи и воды особо не отличались от показателей контрольной группы животных;
- поведение животных не изменялось после приема препарата;
- не были зарегистрированы случаи летального исхода животных в ходе экспериментального периода;
- микроскопические исследования внутренних органов опытных животных не выявили патологических изменений;

- «Фитосорб – Алтын Жебе» является малотоксичным препаратом по классификации Л.И. Медведя.

С изменением массы тела и органов связан целый комплекс физиологических и патологических изменений в организме. Для морфофизиологического анализа использовали основные органы, принимающие активное участие в процессах метаболизма: сердце, печень, почки, легкие, селезенку, тимус, надпочечники.

Через 30 суток относительные массы печени, сердца, селезенки и тимуса статистически достоверно не отличались от контрольной группы. Исключение составили почки, их вес увеличился на 29%.

Но после 60-ти суток введения препарата наблюдалось увеличение веса большинства органов. Так, увеличение относительной массы печени составило - +29%; сердца – +35%; почек – +77%, селезенки – +50%; тимуса - +43%, по сравнению с показателями контрольной группы. Затем, после отмены препарата показатели массы печени, сердца и селезенки восстанавливались до исходных

значений. Следует отметить, что после отмены препарата на 90 сутки наблюдения масса почек, хотя и снижалась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (60 суток), но оставалась повышенной по отношению к контрольным показателям. Так, изменения относительной массы почек у подопытных животных составляли +29%, +77%, +29%, +12%, соответственно на 30, 60, 90 и 120 сутки наблюдения по отношению к контрольным животным. После отмены препарата на 90 и 120 сутки, масса тимуса снижалась соответственно на 43 % и 19%, по отношению к контролю.

Как известно, печень отличается наибольшей индивидуальной изменчивостью. Ее функциональная деятельность связана с изменением массы, в связи с чем для этого органа характерно изменение абсолютной и относительной массы в течение короткого периода времени. Условия существования не остаются постоянными, поэтому относительно высокая вариабельность индексов печени считается нормой. Согласно существующим данным, печень является не только пищеварительной железой, важным органом кроветворения и энергетическим «депо» организма, но и служит хранилищем запасов белков,

среди которых находятся и ферменты, выполняющие функцию детоксикации ксенобиотиков разного происхождения. Масса печени изменяется преимущественно за счет накопления или расходования углеводов. По изменению массы печени можно судить о напряженности обменных процессов.

Индексы масс внутренних органов подопытных животных через два месяца после отмены препарата не имеют статистически достоверных отличий от аналогичных показателей контрольных животных.

Таким образом, изменения массы внутренних органов у подопытных животных после введения «Фитосорб-Алтын Жебе» характеризовались определенной стадийностью и были связаны со временем введения и отмены препарата. Наибольшие изменения были отмечены на 60-е сутки применения «Фитосорб-Алтын Жебе». Наиболее выраженными были колебания массы почек и тимуса. В целом это указывает на изменения обменных процессов в организме животных при длительном употреблении «Фитосорб-Алтын Жебе» (рис. 2).

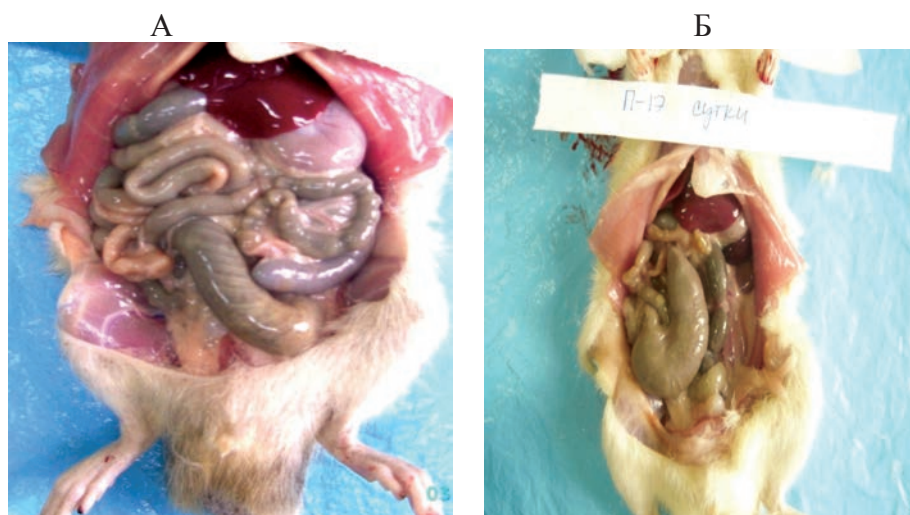


Рисунок 2 – Внутренние органы крыс после применения «Фитосорб- Алтын Жебе». А – 60 суток; Б – 120 суток (60 дней после отмены препарата).

Длительное применение препарата снижает массу тела у подопытных животных

от 15 до 22%. После прекращения введения препарата (90-е и 120-е сутки наблюдения)

масса тела у подопытных животных постепенно восстанавливается, но остается несколько ниже, чем у контрольных животных.

Выводы. Проведенное исследование общетоксического действия лекарственной формы препарата «Фитосорб - Алтын Жебе» в капсулах не выявило признаков токсического действия препарата.

Проведенный анализ данных показывает, что многократное введение взвеси активного вещества «Фитосорб - Алтын Жебе» и капсул не вызывает местно-раздражающего действия на желудочно-кишечный тракт; в участках контакта с препаратом отсутствуют признаки воспаления, некроза и кровотечения.

Согласно проведенному анализу результатов токсикологических исследований

применение препарата «Фитосорб - Алтын Жебе» представляется как метод активной неспецифичной адсорбции.

Прием «Фитосорб - Алтын Жебе» показан при интоксикациях различного генеза (при отравлении лекарственными препаратами, алкалоидами, бытовыми, промышленными и пищевыми ядами и др.), диареи, диспепсии, метеоризме, заболеваниях, сопровождающиеся процессами гниения и брожения в кишечнике.

На основании анализа проведенных доклинических исследований препарат «Фитосорб - Алтын Жебе» безопасно использовать в течение 12 суток по 1-3 капсуле в сутки, препарат можно отнести к III классу малоопасных лекарственных препаратов.

Литература

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - М.: Гриф и К, 2012. – С. 944
2. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях. - Страсбург, 18 марта 1986 г.
3. Красовский Г.Н., Рахманин Ю.А., Егорова Н.А. Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека. - М.: ОАО Изд. Медицина, 2009. – С. 208
4. Куценко С.А. Основы токсикологии. - М.: Медицина, 2004. - 452с.
5. Animal models in Toxicology, 2nd Edition. - Ed. by Shayne C. Gad. - CRC Press Taylor & Francis Group. - 2007. – P. 935

СЕМІРУДІҢ АЛДЫН АЛУ ЖӘНЕ ОНЫ ЕМДЕУ ҮШІН «ФИТОСОРБ – АЛТЫНЖЕБЕ» БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІ ҚОСПАСЫН ҚОЛДАНУ

**М.А. Бийсенбаев, С.Х. Ақназаров, А.К. Мырзағалиев, К.С. Бексейтова,
М.И. Досымбетова, У.М. Амзеева**

E-mail: bekalsu@mail.ru

«Жалын» ҒӨТО» ЖШС, Жану мәселелері институты, Кардиология және ішкі аурулар ғылыми-зерттеу институты.

Бұл мақалада «Фитосорб – Алтын Жебе» ББҚ-ның семіруді болдырмау және емдеуге арналған профилактикалық және терапевтік дәрі ретінде клиникаға дейінгі сынақтарының нәтижелері келтірілген. Аталған отандық өнім көптеген пайдалы қасиеттерімен қатар зат алмасу үдерісін жақсартуды қамтамасыз етіп, оның артық салмақпен күресуде қолданылу мүмкіндігі анықталды

**APPLICATION OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE “PHYTOSORB —
ALTYN ZHEBE” FOR PREVENTION AND TREATMENT OF OBESITY**

***M.A. Biysenbayev, S.Kh. Aknazarov, A.K. Myrzagaliyev, K.S. Bekseytova, M.I. Dosymbetova,
U.M. Amzeyeva***

E-mail: bekalsu@mail.ru

NPTTS “Zhalyn” LLP, Institute of Combustion Problems, the Scientific Research Institute
of Cardiology and Internal Diseases.

This article provides results of preclinical trials of BAA “Phytosorb — Altyn Zhebe” as a preventive and curative agent to reduce the risk of and/or treat the obesity. It was determined that, besides multiple useful properties, this domestic product improves the metabolic processes, and can be used as an effective means against overweight.

ЖУРНАЛ «ХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ»

Журнал «Химия растительного сырья» основан в 1996 году при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований.

В журнале «Химия растительного сырья» публикуются оригинальные научные сообщения, обзоры, посвященные химии процессов, происходящих при глубокой химической переработке как растительного комплекса в целом, так и отдельных его компонентов, созданию принципиально новых эффективных технологических процессов комплексной переработки растительного сырья.

В журнале предусмотрены следующие разделы:

- Физиологически активные соединения на основе растительного сырья.

- Современные химические и физико-химические методы анализа, изучения свойств и контроля технологических процессов комплексной химической переработки биомассы растительного сырья и его компонентов.

- Химия и технология целлюлозно-бумажных материалов из древесины и недревесного сырья, органических и минеральных волокон.

- Биотехнология растительного сырья.

- Новые технологии для переработки растительного сырья.

- Состав, структура и свойства биомассы дерева.

- Состав, строение и свойства низкомолекулярных экстрактивных веществ, выделенных из растительного сырья.

- Физико-химическая модификация растительных биополимеров и лигносодержащих материалов.

Журнал включен в базы данных: Российский индекс научного цитирования (www.elibrary.ru), Scopus, РЖ «Химия» (ВИНИТИ).

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендуемый Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК).

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ – 0,420.

Периодичность 4 номера в год.



Адрес редакции:

656049, г. Барнаул, пр. Ленина, 61, АлтГУ,
Редакция журнала «Химия растительного сырья».
Тел. (3852) 367388, факс (3852) 367388
E-mail: journal@chemwood.asu.ru
<http://chem.wood.ru/>

НОВИНКИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Tadeusz Aniszewski Alkaloids. Chemistry Biology and Applications. – 2015. - 335p.

С. Н. Орехов Фармацевтическая биотехнология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 384 с.

Г.И. Молчанов, А.А. Молчанов, Л.М. Кубалов.
Фармацевтические технологии. – М.: Альфа-М, 2011. – 366 с.

Geoffrey A. Cordell Alkaloids: Chemistry and Biology – 2009. - 439 p.

А.У. Тулегенова Государственная фармакопея
Республики Казахстан. - Алматы: Жибек жолы, 2008. – 577 с.

Стандартизация и контроль качества лекарственных средств
/ под редакцией Н.А. Тюкавкиной. - М.: – Медицинское
информационное агентство. – 2008. - 384 с

И.И. Краснюк, Г.В. Михайлова. Фармацевтическая технология.-
М.: Академия, 2006. - 494с.

Н.В. Беспалова, А.Л. Пастушенков. Фармакогнозия с основами
фитотерапии. – Ростов-на-Дону, 2016. – 381 с.

Т.Г. Дергоусова, О.Д. Могильная. Фармакогнозия.
Лекарственные растения и сходные с ними виды. -
Ростов-на-Дону, 2017. - 320 с.

Е.В. Жохова, М.Ю. Гончаров. Фармакогнозия. –
Москва, 2018. – 544 с.

СОДЕРЖАНИЕ

От редакционной коллегии	2
Обучающий семинар доктора Спивок В. (Чехия) - Виртуальный скрининг молекул природных соединений на биологическую активность, молекулярный докинг молекул терпеноидов, алкалоидов, флавоноидов, полипренолов и их производных	4
Информация о визите профессора Э.Н.Новрузова в Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»	9
Посещение делегацией Алтайского государственного университета Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия»	10
<i>Vojtěch Spiwok</i> Protein-ligand docking and its place in structure-based drug design	12
<i>Г.А. Атажанова, Айжан С. Адекенова, А. Али, Х. Мамырхан, С.К. Наушарипов</i> Лечебные мыла. Состояние производства и рынок сбыта	20
<i>А.К. Даиров, Д.А. Турегелдиева, Д.А. Бугыбаева, С.М. Адекенов</i> Разведение и содержание конвенциональных лабораторных животных и SPF-категории по стандартам GLP	36
<i>М.Г. Левкович, Б.Ж.Эльмурадов, Н.Д. Абдуллаев</i> Дейтерообмен протонов α -метиленовой группы в хиназолонах. V. О причинах электрофильной активности и дейтерообмена протонов α -метиленовой группы 3-циклических хиназолонов	46
<i>Г.А. Атажанова</i> Технология выделения камфоры из сырья полыни беловатой	54
<i>Г.Х. Тулеуова, Айгерим С. Адекенова, Ж.Р. Торегожина, А.Ж. Турмухамбетов</i> Стандартизация гармина – стандартного образца	68
<i>П.Ж. Жанымханова</i> Нарингенин для контроля качества производства оригинального флавоноидного лекарственного препарата	72
<i>М.А. Бийсенбаев, С.Х. Акназаров, А.К. Мырзагалиев, К.С. Бексейтова, М.И. Досымбетова, У.М. Амзеева</i> Использование биологически активной добавки «Фитосорб – Алтын Жебе» для профилактики и лечения ожирения	78
Информация о журнале «Химия растительного сырья»	84
Новинки специализированной литературы	85