

НАО «Казахский национальный медицинский университет
имени С.Д. Асфендиярова»

УДК 615.012:633.883.2

На правах рукописи

ЖУМАШОВА ГУЛЬСИМ ТОКАНОВНА

**Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания
новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного
(*Rheum cordatum* Losinsk.)**

6D110400 – Фармация

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты
Сакипова З.Б., д.фарм.н., профессор
Саякова Г.М., к.фарм.н., профессор
Зарубежные консультанты
Кисличенко В.С., д.фарм.н., профессор
Wirginia Kukula-Koch, PhD, Professor

Республика Казахстан
Алматы, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТЕНИЙ РОДА РЕВЕНЬ	12
1.1 Общая характеристика растений рода ревень (<i>Rheum L.</i>)	12
1.2 Ботаническое описание, географическое распространение растений рода ревень (<i>Rheum L.</i>)	13
1.3 Химический состав, фармакологическая активность и применение в народной и научной медицине растений рода ревень (<i>Rheum L.</i>)	14
1.4 Современные аспекты создания растительных лекарственных препаратов: требования к качеству.	22
Выводы	25
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.	26
2.1 Объекты исследования	26
2.2 Методы исследования	26
3 ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ, ФАРМАЦЕВТИКО - ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО.	33
3.1 Разработка надлежащей технологии сбора и заготовки сырья ревеня сердцевидного в рамках GACP	33
3.2 Изучение морфологических и анатомических признаков подземных и надземных органов ревеня сердцевидного. Макро- и микроскопическое исследования сырья ревеня сердцевидного.	35
3.3 Фитохимическое изучение ревеня сердцевидного.	43
3.4 Определение количественного содержания основных групп биологически активных веществ в сырье ревеня сердцевидного.	63
3.5 Фармацевтико-технологическое исследование сырья из корней ревеня сердцевидного.	74
3.6 Стандартизация сырья из корней ревеня сердцевидного.	75
3.7 Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения сырья из корней ревеня сердцевидного.	77
Выводы.	79
4 ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СЫРЬЯ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО	82
4.1 Анализ отечественного фармацевтического рынка слабительных лекарственных препаратов	82
4.2 Разработка технологии получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и валидация технологического процесса	85
4.3 Установление показателей качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критериев приемлемости	91

4.4	Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта из корней ревеня сердцевидного	92
4.5	Исследование безопасности, антиоксидантной и противовоспалительной активности экстракта из корней ревеня сердцевидного	94
	Выводы	100
5	ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА ТАБЛЕТОК С ЭКСТРАКТОМ ГУСТЫМ ИЗ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО И ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА	102
5.1	Разработка состава и технологии таблеток, покрытых оболочкой . . .	102
5.2	Установление показателей качества таблеток, покрытых оболочкой, и их критериев приемлемости	106
5.3	Валидация процесса получения таблеток, покрытых оболочкой	106
5.4	Испытание стабильности, установление срока годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой	112
5.5	Технико-экономическое обоснование производства таблеток, покрытых оболочкой	113
	Выводы.	115
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	116
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ .	119
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.	120
	ПРИЛОЖЕНИЯ	133

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие нормативные документы:

Кодекс РК «О здоровье народа и системе здравоохранения» от 7 июля 2020 г. № 360-VI Закон РК

Лесной Кодекс РК (с изменениями и дополнениями по состоянию на 27.11.2019 г.)

Приказ МЗ СР РК «Об утверждении надлежащих фармацевтических практик» от 27 мая 2015 г. № 392

WHO Guidelines on Good Practice for the cultivation and harvesting (GACP) of medicinal plants. World Health Organization

Приказ МЗ СР РК «Об утверждении Правил государственной регистрации, перерегистрации и внесения изменений в регистрационное досье лекарственного средства или медицинского изделия» от 18 ноября 2009 г. № 735 (с изменениями и дополнениями по состоянию на 27.05. 2019 г.)

Государственная Фармакопея Республики Казахстан Т. 1. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2008. – 592 с.

Государственная Фармакопея Республики Казахстан. Т. 2. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2009. – 804 с.

Государственная Фармакопея Республики Казахстан. Т. 3. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2014. – 872 с.

Приказ МЗ РК «Об утверждении Правил составления, согласования и экспертизы нормативно-технического документа по контролю за качеством и безопасностью лекарственных средств» от 19 ноября 2009 г. № 754

Приказ МЗ РК «Об утверждении Правил проведения доклинических (неклинических) исследований, клинических исследований, клинико-лабораторных испытаний медицинских изделий для диагностики *in vitro*, а также требований к доклиническим и клиническим базам» от 2 апреля 2018 года № 142

Приказ МЗ СР РК «Об утверждении Правил хранения и транспортировки лекарственных средств и медицинских изделий» от 24 апреля 2015 г. № 262 (с изменениями от 22.04. 2019 г.)

Приказ МЗ СР РК «Об утверждении Правил производства и контроля качества, а также проведения испытаний стабильности и установления срока хранения и повторного контроля лекарственных средств и медицинских изделий» от 25 августа 2015 г. № 680 (с изменениями от 22.04.2019 г.)

Приказ Министра национальной экономики РК от 27.02.2015 г. № 155 «Гигиенические нормативы «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности»

Приказ МЗ СР РК «Об утверждении Правил маркировки лекарственных средств и медицинских изделий» от 16 апреля 2015 г. № 227 (с изменениями от 22.04.2019 г.)

ГОСТ 17768-90 Средства лекарственные. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение (с изменениями от 01.03.2003)

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АТХ	Анатомо-терапевтическо-химическая классификация
АО	Акционерное общество
АФИ	Активный фармацевтический ингредиент
БАВ	Биологически активные вещества
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ГАМК	Гамма-аминомасляная кислота
ГНЦЛС	Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств», г. Харьков, Украина
ГОСТ	Государственный отраслевой стандарт
ГПМЦ	Гидроксипропилметилцеллюлоза
ГФ РК	Государственная Фармакопея Республики Казахстан
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДФПГ	2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
ЖКТ	Желудочно-кишечный тракт
КазНМУ	Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
КазНУ	Казахский национальный университет имени аль-Фараби
ЛП	Лекарственный препарат
ЛР	Лекарственное растение
ЛРС	Лекарственное растительное сырье
ЛС	Лекарственное средство
ЛЭК	Локальный этический комитет
МЗ	Министерство здравоохранения
МКЦ	Микрокристаллическая целлюлоза
НД	Нормативный документ по качеству лекарственного препарата
НИИ	Научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной медицины им. Б.А. Атчабарова НАО «КазНМУ имени С.Д. Асфендиярова»
ФПМ	
НФаУ	Национальный фармацевтический университет г. Харьков, Украина
ПВП	Поливинилпирролидон
СНГ	Содружество независимых государств
СО	Стандартный образец
ТОО	Товарищество с ограниченной ответственностью
ТСХ	Тонкослойная хроматография
ТЭО	Технико-экономическое обоснование
ФС	Фармацевтическая субстанция
ЭГКГ	Эпигаллокатехин галлат
ЭК	Эпикатехин
ЭКГ	Эпикатехин галлат
GACP	Good Agricultural and Collection Practice for starting materials of herbal origin (Надлежащая практика культивирования и сбора исходного сырья растительного происхождения)

GAE	Gallic acid equivalent (эквивалент галловой кислоты)
GMP	Good manufacturing practice (Надлежащая производственная практика)
ICH	International Council for Harmonisation of technical requirements for registration of human pharmaceutical products (Международный Совет по гармонизации методических требований для регистрации лекарственных препаратов медицинского применения)
LD	Lethal Dose (летальная доза)
MIC	Minimal Inhibitory Concentration (минимальная ингибирующая концентрация, МИК)
QbyD	Quality by design (качество через разработку)
R _f	Retardation factor (коэффициент удерживания)
R&D	Research and development (исследования и разработка)
RH	Relative humidity (относительная влажность воздуха)
RSD	Relative standard deviation (относительное стандартное отклонение)

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Настоящая диссертационная работа посвящена фармакогностическому изучению, стандартизации сырья из ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и надлежащей разработке лекарственных средств на его основе.

Актуальность темы исследования

Государственная программа развития здравоохранения РК «Денсаулық» на 2016-2019 гг. предусматривает реализацию Национальной лекарственной политики, направленной на обеспечение доступности и рациональное применение ЛС.

В соответствии со Стратегическим планом МЗ РК на 2017-2021 гг. интенсивное развитие отечественной фармацевтической отрасли предусматривает повышение конкурентоспособности и экспортоориентированности фармацевтической продукции за счет внедрения надлежащей производственной практики (GMP) и гармонизированных требований к качеству ЛС, в том числе производимых из ЛРС отечественного ареала произрастания. Решение указанной задачи требует проведения научных исследований по выявлению новых отечественных видов ЛР и ЛРС, разработки на их основе безопасных, эффективных и качественных ЛП, внедрение их в медицинскую практику.

Одним из наиболее распространенных патологических состояний являются заболевания ЖКТ. Неправильное питание и нарушение его режима, увеличение причин стресса, низкая физическая активность и вредные привычки являются решающими факторами в развитии болезней ЖКТ. Значительная часть населения (до 70 %) с различной повторяемостью сталкивается с нарушением деятельности ЖКТ, которое проявляется в затрудненном, либо редком опорожнении кишечника (запоре). Для лечения указанных функциональных нарушений деятельности пищеварительной системы используют слабительные средства. Слабительные свойства особо выражены у ряда ЛР, в том числе у растений рода ремень (*Rheum* L.).

Среди растений данного рода значительный научный и практический интерес представляет ремень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.), произрастающий на территории Казахстана, являющийся ценным источником БАВ и применяющийся в народной медицине при заболеваниях ЖКТ.

В связи с этим комплексное исследование ЛР и сырья из него, их стандартизация, разработка технологии получения растительной ФС, разработка состава и технологий получения ЛП представляет актуальную научную проблему.

Цель исследования: Изучение анатомо-диагностических признаков, фитохимическое исследование, стандартизация сырья из ревеня сердцевидного и создание на его основе безопасных и эффективных ЛП.

Задачи исследования:

- провести анализ отечественного фармацевтического рынка ЛП слабительного действия;

- разработать надлежащую технологию сбора и заготовки сырья;
- установить основные морфологические и анатомические признаки сырья из ревеня сердцевидного и провести сравнительный анализ с признаками официального вида – ревеня тангутского (*R. palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.);
- провести фитохимический анализ и определить количественное содержание основных групп БАВ в различных органах ЛР (корнях, листьях, стеблях и семенах);
- разработать оптимальную технологию получения экстракта из корней ревеня сердцевидного и провести стандартизацию;
- изучить острую и подострую токсичность, антиоксидантную и противовоспалительную активность экстракта;
- осуществить фармацевтическую разработку таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного;
- провести ТЭО производства таблеток, покрытых оболочкой.

Объекты исследования: ремень сердцевидный и его органы (корни, листья, стебли и семена), экстракт густой из корней ревеня сердцевидного, таблетки, покрытые оболочкой.

Методы исследования: физические, физико-химические, химические, фармакогностические, фармацевтико-технологические, фармакологические, микробиологические, биологические и статистические методы.

Научная новизна

Впервые проведен полный фармакогностический анализ сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.). Определены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья из ревеня сердцевидного в сравнении с признаками официального вида. В результате фитохимического исследования органов (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного впервые идентифицированы 22 соединения (антраценпроизводные, дубильные вещества, катехины и их галлаты, флавоноиды и их гликозиды). Большинство представленных компонентов впервые описываются в экстрактах из сырья ревеня сердцевидного.

Получены новые данные о составе и количественном содержании БАВ (антраценпроизводных, полисахаридов, дубильных веществ, флавоноидов, органических кислот, аминокислот, хлорофиллов и каротиноидов), установлено содержание 19 макро- и микроэлементов, 18 аминокислот в сырье из ревеня сердцевидного.

В результате сравнительного анализа экстрактов установлено, что органом, наиболее обогащенным метаболитами (антраценпроизводными и другими фенольными соединениями), являются корни ревеня сердцевидного. По результатам исследования проведена стандартизация корня ревеня сердцевидного в соответствии с требованиями ГФ РК.

Разработан новый способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, позволяющий повысить выход БАВ и сократить время экстракции по сравнению с традиционным методом перколяции. Новизна разработанного способа подтверждена патентами на полезную модель № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в

фармацевтических и пищевых продуктах» и № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья», зарегистрированными в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года (Приложения А, Б).

Впервые установлена безопасность, высокая антиоксидантная и противовоспалительная активность водного и спиртового экстрактов из корней ревеня сердцевидного.

Впервые разработан состав и технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна разработанного способа подтверждена патентом на полезную модель № 4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием», зарегистрированным в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года (Приложение В).

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

- анализ фармацевтического рынка сегмента слабительных ЛП за период с 2012-2016 гг. по объему продаж в натуральном и денежном выражениях позволяет установить стабильный рост;

- фармакогностическое исследование сырья, комплексное фитохимическое изучение различных органов (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного позволило идентифицировать сырье, установить качество и принадлежность к производящему виду растения *Rheum cordatum* L., а также установить орган (корни) с наибольшим содержанием БАВ (антраценпроизводных);

- разработка надлежащей технологии сбора и заготовки сырья из ревеня сердцевидного, получение экстракта густого из его корней позволяют выделить растительную ФС фармакопейного качества с установленной безопасностью и фармакологической активностью;

- рациональный состав, оптимальная технология таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, соответствие показателей их качества фармакопейным требованиям и результаты ТЭО позволяют рекомендовать данный проект отечественным производителям для внедрения в производство.

Практическая значимость исследования

Технология сбора, заготовки и хранения корней ревеня сердцевидного внедрена ТОО «ФитОлеум», г. Есик, РК (Акт внедрения №1 от 20.05.2018 г. Приложение Г).

Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни» (Приложение Д).

На базе кафедры промышленной фармации НФаУ, г. Харьков, Украина, апробирован оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, позволяющий повысить выход БАВ и сократить время экстракции (Акт апробации от 05.12.2018 г., Приложение Е).

Разработана спецификация качества на «Экстракт густой из корней ревеня сердцевидного» (Приложение Ж).

Технология получения и методики контроля качества таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного успешно апробированы в отделе фармацевтических разработок ТОО «Вива Фарм», г. Алматы, РК (Акт апробации, Приложение И).

Разработана спецификация качества на «Таблетки, покрытые оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного» (Приложение К).

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в материалах: Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире» (г. Караганда, Казахстан, 2018 г.); V Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Наука и медицина: современный взгляд молодежи» (г. Алматы, Казахстан, 2018 г.); Международной научно-практической конференции «Современные методы коррекции угревой болезни и других проблем кожи в практике косметолога» (г. Харьков, Украина, 2018 г.); Международной научно-практической конференции «IV Глобальная наука и инновации 2019: Центральная Азия» (г. Астана, Казахстан, 2019 г.); VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (г. Санкт-Петербург, Россия, 2019 г.); Международной научно-практической конференции «Медицинская наука XXI века – взгляд в будущее» (г. Душанбе, Таджикистан, 2019 г.); Международной научно-практической интернет-конференции «Современные достижения фармацевтической науки в создании и стандартизации лекарственных средств и диетических добавок, которые содержат компоненты природного происхождения» (г. Харьков, Украина, 2020 г.); Международной онлайн конференции «Modern science. Management and standards of scientific research» (г. Прага, Чехия, 2020 г.).

Сведения о публикациях

По результатам исследований опубликована 21 научная работа, в том числе:

- статья в международном рецензируемом научном журнале, входящем в базу данных Scopus и Web of Science Core Collection – 1, Приложение Л;
- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства образования и науки РК – 6;
- тезисы и статьи на международных научно-практических конференциях (Россия, Украина, Чехия, Таджикистан, Казахстан) – 8;
- статьи в международных журналах (Россия, Таджикистан, Кыргызстан) – 3;
- патенты на полезную модель – 3.

Связь задач исследования с планом научных программ

Диссертационная работа выполнена в рамках реализации государственных программ по развитию отечественной фармацевтической промышленности и снижению импортозависимости, инициативного проекта НАО «КазНМУ им С.Д. Асфендиярова» «Изучение этнофармацевтической флоры Казахстана» №0115РК0245 от 10.07.2015 г.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 132 страницах машинописного текста

в компьютерном наборе, содержит 35 таблиц, 63 рисунка, список литературы, включающий 188 источников, а также 23 приложения. Работа состоит из введения, обзора литературы, раздела, посвященного материалам и методам исследования, трех разделов собственных исследований, выводов и заключения.

1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТЕНИЙ РОДА РЕВЕНЬ

1.1 Общая характеристика растений рода ревень (*Rheum* L.)

Ревень как ЛС был известен еще за 2700 лет до н.э. Китайцы называют ревень «великим желтым» (*dà huáng* 大黃) и использовали корень в лечебных целях в течение нескольких тысячелетий, о чем свидетельствуют древние манускрипты. Применялся ревень в китайской медицине как внутреннее и как наружное средство. В малых дозах внутрь использовался как желчегонное, как возбуждающее аппетит средство, а также при атонии кишечника и метеоризме; в больших дозах – в качестве слабительного при хроническом запоре; наружно – при заболеваниях кожи и витилиго. Использовался также при женских заболеваниях, связанных с застоем в области малого таза, при малярии и лихорадке у детей [1].

Древнегреческое название ревеня – ῥήον (произносимое по-русский, как «рау») упоминается в труде греческого врача Педания Diosкорида «О лекарственных средствах» (I в. н.э.). Авиценна описал лекарственные свойства ревеня в своих рукописях [1].

В XI–XII веках из Китая ревень импортировали в Персию, затем в древнюю Грецию, позднее в Европу. В середине XVI века во Франции корень ревеня ценился в пять раз дороже, чем шафран. В середине XVII века в Англии тот же корень стоил дороже опия в три раза [1, 2].

Растения рода ревень (*Rheum* L.) относятся к семейству Гречишных (*Polygonaceae* Juss.), который насчитывает 50 родов и 1200 видов. Представители семейства встречаются в самых разнообразных средах обитания: от Арктики до тропиков, от горных до низинных районов и от влажных лесов до засушливых степей [3]. Растения семейства Гречишных (*Polygonaceae* Juss.) морфологически разнообразны и встречаются в виде однолетних или многолетних трав, кустарников, деревьев или лиан. Семейство Гречишные (*Polygonaceae* Juss.) флоры Казахстана включает 11 родов. Самые большие из них: род щавель (*Rumex* L.), род персикария (*Persicaria* Hill.) и род ревень (*Rheum* L.). По данным литературы 42 вида отечественных представителей семейства Гречишных (*Polygonaceae* Juss.) обладают лекарственными свойствами, а в официальной медицине нашли применение только 14 видов [4, 5].

Род ревень *Rheum* L. включает около 50 видов, преимущественно встречающихся на Азиатском континенте, и представлен травянистыми многолетними растениями с древесным крупным корнем с укороченным вертикальным корневищем, большими листьями с длинным черешком и тостыми, голыми или бугристыми стеблями. Прикорневые листья большие, округлые или широкояйцевидные, 30-60 см длиной. Стеблевые листья мельче прикорневых. Цветки мелкие, собраны в длинные метелки. Плод – крупный, трехгранный орешек [5]. Представители рода ревень *Rheum* L. широко применяются в медицине, в кулинарии, как декоративные и в дубильно-экстрактной промышленности. В медицинской практике используются корни с

корневищами.

На территории Казахстана произрастают 9 видов рода ревеня *Rheum L.*, из них 7 видов обладают лекарственными свойствами [4, 6].

Пищевыми свойствами обладают мясистые стебли ревеня, называемые черешками. Употребляют их в пищу, для приготовления витаминного салата, как ранний огородный овощ. Свежие стебли (черешки) применяются для приготовления супов, овощного пюре, киселей, в качестве начинки в пироги.

1.2 Ботаническое описание, географическое распространение растений рода ревеня (*Rheum L.*)

По систематическим данным А.С. Лозиной-Лозинской (1936 г. и 1937 г.), род ревеня содержит 49 (50) видов, объединенных в 7 секций: *Palmata*, *Rhapontica*, *Deserticola*, *Orbicularia*, *Spiciformia*, *Nobilis*, *Ribes* [7, 8]. Секции *Palmata* и *Rhapontica* считаются самыми древними. Для территории бывшего Советского Союза отмечается 25 видов, для России и соседних государств – 17 [8, 9].

Путем исследования морфологических особенностей и распространения видов ревеней в сравнительном аспекте А.С. Лозина-Лозинская (1936 г.) пришла к выводу, что центров распространения рода являются – Центральный Китай и Иран. В результате расселения первоначальных видов в разных направлениях возник современный ареал рода.

Основным ареалом произрастания растений рода ревеня (*Rheum L.*) являются умеренные зоны в Гималаях, от Кашмира до штата Сикким, и зоны влажных лесов северо-западного Китая. Виды данного рода широко распространены на территории Азии, в том числе Казахстана. Сибирские виды ревеней встречаются на огромных площадях на территории Сибири и Дальнего Востока. Наиболее широко распространены здесь являются *Rheum compactum L.* и *Rheum rhabarbarum L.* (*Rheum undulatum L.*). Центром происхождения лесных ревеней из секции *Palmata* (*Rheum palmatum L.* и *Rheum officinale Baill.*) является восточная часть Цинхай-Тибетского плато. В районах альпийской зоны на каменистой почве, в моренах, в трещинах между валунным песком и возле ручьев обитают представители секции *Palmata*. *Rheum emodi* произрастает в умеренной, субальпийской и альпийской зонах Гималаев в хорошо дренированной, пористой, богатой гумусом почве.

Для сибирских видов ревеней, как *Rheum compactum* и *Rheum rhabarbarum* характерны некоторые черты (опушение листа, плотный лист и др.), способствующие их выживанию в суровых климатических условиях [7].

Rheum palmatum – ревеня дланевидный, или пальчатый. Крупное многолетнее травянистое растение секции *Palmata*. Культивируется на Дальнем Востоке [10].

Официальный вид ревеня тангутский *Rheum palmatum L. var. tanguticum Regel.* является разновидностью *Rheum palmatum*. Крупное многолетнее травянистое растение с хорошо развитой надземной частью. Корневище короткое, но широкое и многоглавое. Листья дланевидные, пластинка 5-, 7 – лопастная, с черешками достигают до 1,5 м длины. В диком виде произрастает в

северо-западном Китае и на нагорьях Северного Тибета. Во времена Советского Союза были организованы промышленные культуры в Украине, Белоруссии, в Воронежской области [2, 10].

Rheum officinale Baill. – ремень лекарственный. В лекарственном отношении считается менее ценным, чем ремень тангутский. Произрастает в Китае, восточнее мест произрастания ремня тангутского. Культивируется на Дальнем Востоке [10].

Rheum emodi Wall. ex Meissn. – мощное растение, широко известный как индийский или гималайский ремень, является официальным в индийской фармакопее. *Rheum emodi* является многолетним растением, эндемичным для Гималайского региона, распространенным в умеренном и субтропическом регионе Индии от Кашмира до Сиккима. Произрастает в альпийской зоне на каменистых почвах, широко применяется в традиционной системе индийской народной медицины, как Аюрведа и медицина Юнани. Культивируется более 5000 лет для ее целебных свойств сельскими и племенными людьми Кашмира и имеет большое значение в традиционной медицине для лечения рака [10].

Rheum rhabarbarum L. (*Rheum undulatum* L.) – ремень волнистый, многолетний цветонос высотой до 250 см. Произрастает в Восточной Сибири по каменистым склонам гор на песчаных почвах [10].

Rheum compactum L. (*Rheum rhaponticum* L.) – ремень компактный, многолетнее растение с хорошо развитой надземной и подземной частями. Листья яйцевидно-треугольные, по краям волнистые, у основания сердцевидные, с длинным черешком. Произрастает по каменистым склонам, по берегам рек и ручьев на мезофильных субальпийских лугах в лесном поясе и в высокогорьях Саяна и Алтая [10].

1.3 Химический состав, фармакологическая активность и применение в народной и научной медицине растений рода ремень (*Rheum* L.)

Из 18 видов рода *Rheum* L. до настоящего времени были выделены около 200 компонентов, которые отнесены к 5 классам соединений (антрахиноны, антроны, стильбены, флавоноиды и ацилгликозиды) и изучена их химическая структура. Эти компоненты показали слабительную, антиоксидантную, противовоспалительную, противоопухолевую, антимикробную, противогрибковую, антидислипидемическую, антиагрегантную, противодиабетическую, противоязвенную, нефропротективную и гепатопротекторную активность (таблица 1–4) [11].

Свободные антрахиноны – эмодин, реин, фисцион и хризофанол присутствуют почти во всех видах рода *Rheum* L. (таблица 1). Выделенные антрахиноны и их гликозиды проявили хорошую фармакологическую активность [11 – 32].

Таблица 1 – Производные антрахинона, выделенные из растений рода *Rheum* L.

№ п/п	Соединение, компонент	Выделение и обнаружение в видах <i>Rheum</i> L.	Ссылки
1	2	3	4
1	Эмодин	<i>R.officinale</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R. tanguticum</i> <i>R.emodi</i> , <i>R.nanum</i> , <i>R.wittrockii</i> , <i>R.hotaoense</i> , <i>R. qinjingense</i> , <i>R.sublanceolatum</i> , <i>R. rhizastachyum</i> , <i>R. uninrrre</i> , <i>R. glabrucaule</i> , <i>R. franzenbachil</i> , <i>R. undulatum</i> , <i>R. spiciforme</i> , <i>R. turkestanicum</i>	[12-18]
2	Алоэ-эмодин	<i>R. officinale</i> , <i>R.tanguticum</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R.nanum</i> , <i>R. qinjingense</i> , <i>R. hotaoense</i> , <i>R. uninrrre</i> , <i>R. glabrucaule</i> , <i>R. undulatum</i> , <i>R. spiciforme</i>	[12, 13, 15, 16, 18, 19]
3	Хризофанол	<i>R.officinale</i> , <i>R. tanguticum</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R.emodi</i> , <i>R. nanum</i> , <i>R. wittrockii</i> , <i>R. hotaoense</i> , <i>R. rhizastachyum</i> , <i>R. franzenbachil</i> , <i>R.uninrrre</i> , <i>R. glabrucaule</i> , <i>R. undulatum</i> , <i>R.spiciforme</i> , <i>R. turkestanicum</i> , <i>R. sublanceolatum</i>	[14-19]
4	Фисцион	<i>R.officinale</i> , <i>R.tanguticum</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R. emodi</i> , <i>R.nanum</i> , <i>R.wittrockii</i> , <i>R.hotaoense</i> , <i>R. qinjingense</i> , <i>R.sublanceolatum</i> , <i>R. uninrrre</i> , <i>R.glabrucaule</i> , <i>R.franzenbachil</i> , <i>R.undulatum</i> , <i>R.spiciforme</i> , <i>R. turkestanicum</i>	[12, 14-19]
5	Реин	<i>R. officinale</i> , <i>R.tanguticum</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R. hotaoense</i> , <i>R. franzenbachil</i> , <i>R. undulatum</i> , <i>R. spiciforme</i> , <i>R. turkestanicum</i>	[12, 13, 15, 16, 18]
6	Хризарон	<i>R.rhaponticum</i>	[20]
7	Цитреорозеин	<i>R. nanum</i> , <i>R. glabrucaule</i>	[21]
8	Ревандхинон-3	<i>R. emodi</i>	[14]
9	Хризофанол-8-Метил-эфир	<i>R. glabrucaule</i>	[21]
10	Хризофанол-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранаид	<i>R.officinale</i> , <i>R.palmatum</i> , <i>R. hotaoense</i> , <i>R. rhizastachyum</i>	[16]
11	Хризофанол-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранаид	<i>R.officinale</i> , <i>R.tanguicum</i> , <i>R. palmatum</i> , <i>R.emodi</i> , <i>R.nanum</i> , <i>R.wittrockii</i> , <i>R.hotaoense</i> , <i>R. uninrrre</i> , <i>R. glabrucaule</i> , <i>R.undulatum</i>	[14-19]
12	Хризофанол-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(6'- <i>O</i> -ацетил)-глюкопиранозид	<i>R.emodi</i>	[22]
13	Хризофанол-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(6'- <i>O</i> -галлоил)-глюкопиранозид	<i>R. undulatum</i> , <i>R. hotaoense</i>	[23]
14	Хризофанол-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(6'- <i>O</i> -малонил)-глюкопиранозид	<i>R. qinjingense</i>	[24]

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
15	Эмодин-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. officinale, R. undulatum</i>	[25]
16	Эмодин-6- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[26]
17	Эмодин-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. emodi, R. wittrockii, R. sublanceolatum, R. uninrrre, R. glabrucaule, R. franzenbachil, R. undulatum</i>	[17, 21]
18	Эмодин-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозил-6- <i>O</i> -сульфат	<i>R. emodi</i>	[27]
19	Эмодин-гемтиобиозид	<i>R. nanum</i>	[28]
20	6-метил-алоэ-эмодин	<i>R. emodi</i>	[29]
21	Алоэ-эмодин-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. undulatum</i>	[23]
22	Алоэ-эмодин-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. tanguticum, R. qinjingense, R. sublanceolatum, R. hotaoense, R. undulatum</i>	[12, 15]
23	Алоэ-эмодин-3- (гидроксиметил)- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. palmatum, R. glabrucaule</i>	[16, 21]
24	6-метил-реин	<i>R. emodi</i>	[30]
25	Реин-8- <i>O</i> - β - глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[31]
26	Фисцион-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. emodi</i>	[29]
27	Фисцион-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. palmatum, R. officinale, R. emodi, R. qinjingense, R. hotaoense, R. franzenbachil, R. undulatum</i>	[12, 16, 17, 25]
28	Фисцион-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - гентиобиозид	<i>R. officinale</i>	[32]
29	Реин-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -[6'- <i>O</i> -(3''- метоксил малонил)] глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[31]
30	1-метил-8-гидроксил-9,10- антрахинон-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(6'- <i>O</i> - циннамоил) глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[31]

Антроны менее насыщены кислородом, чем антрахиноны. Двадцать шесть антронов были выделены до настоящего времени из разных видов рода *Rheum* L. [11, 33 – 39] (таблица 2).

Таблица 2 – Производные антрона, выделенные из растений рода *Rheum* L.

№ п/п	Соединение, компонент	Выделение и обнаружение в видах <i>Rheum</i> L.	Ссылки
1	2	3	4
1	Реинозид А	<i>R. palmatum</i>	[33]
2	Реинозид В	<i>R. palmatum</i>	[33]

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
3	Реинозид С	<i>R. palmatum</i>	[33]
4	Реинозид D	<i>R. palmatum</i>	[33]
5	Пальмидин А	<i>R. palmatum</i>	[34]
6	Пальмидин В	<i>R. palmatum</i>	[34]
7	Пальмидин С	<i>R. palmatum</i>	[34]
8	Рендин А	<i>R. palmatum</i>	[35]
9	Рендин В	<i>R. palmatum</i>	[35]
10	Рендин С	<i>R. palmatum</i>	[35]
11	Сеннидин С	<i>R. palmatum</i>	[36]
12	10-гидроксикаскарозид D	<i>R. emodi</i>	[37]
13	10- гидроксикаскарозид С	<i>R. emodi</i>	[37]
14	10R-хризалоин 1-O-β-D- глюкопиранозид	<i>R. emodi</i>	[37]
15	Каскарозид С	<i>R. emodi</i>	[37]
16	Каскарозид D	<i>R. emodi</i>	[37]
17	Кассиалоин	<i>R. emodi</i>	[37]
18	Ревандхинон -1	<i>R. emodi</i>	[38]
19	Ревандхинон -2	<i>R. emodi</i>	[38]
20	Ревандхинон-4	<i>R. emodi</i>	[33]
21	Сеннозид А	<i>R. palmatum</i>	[39]
22	Сеннозид В	<i>R. palmatum</i>	[39]
23	Сеннозид С	<i>R. palmatum</i>	[39]
24	Сеннозид D	<i>R. palmatum</i>	[39]
25	Сеннозид E	<i>R. palmatum</i>	[39]
26	Сеннозид F	<i>R. palmatum</i>	[39]

Стильбены – важные компоненты в хемотаксономии. В исследованиях сообщалось о девятнадцати стильбенах, выделенных из разных видов ревеня [11, 14 – 17, 23, 25, 28, 40 – 46] (таблица 3).

Таблица 3 – Производные стильбена, выделенные из растений рода *Rheum* L.

№ п/п	Соединение, компонент	Выделение и обнаружение в видах <i>Rheum</i> L.	Ссылки
1	2	3	4
1	3,4',5-тригидроксистильбен-4'-O-β-D-(6''-O-галлюил) глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i> ; <i>R. tanguticum</i> ; <i>R. officinale</i>	[40, 41]
2	3,4',5- тригидроксистильбен-4'- O-β-D- глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i> ; <i>R. tanguticum</i> ; <i>R. officinale</i>	[40,41]
3	Деоксирапонтицин	<i>R. undulatum</i>	[25]
4	Дезоксирапонтицин	<i>R. emodi</i> ; <i>R. undulatum</i>	[14, 23]
5	Дезоксирапонтигенин	<i>R. undulatum</i>	[23]
6	Гентин С	<i>R. nanum</i>	[28]
7	Изорапонтин	<i>R. undulatum</i>	[23]
8	Максимол А	<i>R. palaestinum</i>	[42]
9	Максимол В	<i>R. palaestinum</i>	[42]

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4
10	Пикеатаннол	<i>R. undulatum</i>	[43]
11	Пикеатаннол 3'- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. hotaoense</i> ; <i>R. undulatum</i>	[23]
12	Пикеатаннол 4'- <i>O</i> -(6''- <i>p</i> -кумароил) β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. emodi</i>	[17]
13	Пикеатаннол 1-3,4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. undulatum</i>	[25]
14	Ресвератрол	<i>R. undulatum</i>	[23]
15	Ресвератрол 4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -(6''- <i>O</i> - галлоил)- глюкопиранозид	<i>R. tanguticum</i>	[44]
16	Ресвератрол 4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. tanguticum</i>	[44]
17	Рапонтицин	<i>R. tanguticum</i> ; <i>R. undulatum</i> ; <i>R. palaestinum</i>	[15, 23, 43, 45, 46]
18	Рапонтигенин	<i>R. palmatum</i> ; <i>R. tanguticum</i> ; <i>R. emodi</i> ; <i>R. undulatum</i>	[15, 16, 23, 43, 45]
19	Рапонтицин 2''- <i>O</i> -галлат	<i>R. tanguticum</i> ; <i>R. undulatum</i>	[15, 23]

Флавоноиды являются большим классом соединений, которые содержатся в различных видах ревеня и обеспечивают антиоксидантную активность. Ацилгликозиды также считаются важными биологически активными компонентами видов рода *Rheum* L., причем большинство из них демонстрируют отличную фармакологическую активность [15, 16, 19, 40, 44, 47, 48, 49 – 52] (таблица 4).

Таблица 4 – Флавоноиды и ацилгликозиды, выделенные из растений рода *Rheum* L.

№ п/п	Соединение, компонент	Выделение и обнаружение в видах <i>Rheum</i> L.	Ссылки
1	2	3	4
1	(+)-катехин	<i>R. palmatum</i> ; <i>R. tanguticum</i>	[15, 40, 47]
2	(-)эпикатехин-3- <i>O</i> -галлат	<i>R. tanguticum</i> ; <i>R. officinale</i>	[15, 40, 19]
3	(-)эпигаллокатехин-3- <i>O</i> -галлат	<i>R. officinale</i>	[19]
4	Галловая кислота	<i>R. palmatum</i>	[16, 40]
5	Кемпферол-3- <i>O</i> -рамнозид	<i>R. undulatum</i>	[48]
6	Кемпферол-3- <i>O</i> -(2',6'- <i>di-O</i> - рамнопиранозил)-β- <i>D</i> - галактопиранозид	<i>R. undulatum</i>	[48]
7	Галловая кислота 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[49]
8	Галловая кислота 4- <i>O</i> -β- <i>D</i> - глюкопиранозид	<i>R. palmatum</i>	[49]
9	1,2,6-три- <i>O</i> -галлоилглюкоза	<i>Rhei Radix et Rhizoma</i>	[40]
10	Глюкопиранозил-галлоил-глюкоза	<i>R. palmatum</i>	[50]

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4
11	Кумароил- <i>O</i> -галлоил-глюкоза	<i>R. palmatum</i>	[50]
12	1- <i>O</i> -галлоил-6- <i>O</i> -циннамоил- β - <i>D</i> -глюкоза	<i>R. palmatum</i>	[51]
13	1,2-ди- <i>O</i> -галлоил-6- <i>O</i> -циннамоил- β - <i>D</i> -глюкоза	<i>R. palmatum</i>	[51]
14	Линдлейн	<i>R. tanguticum</i>	[44]
15	1'- <i>O</i> -галлоилсахароза	<i>R. coreanum</i>	[51]
16	2- <i>O</i> -галлоилсахароза	<i>R. coreanum</i>	[51]
17	6- <i>O</i> -галлоилсахароза	<i>R. coreanum</i>	[51]
18	6'- <i>O</i> -галлоилсахароза	<i>R. coreanum</i>	[51]
19	Кверцетин	<i>R. turkestanicum</i>	[52]

Фармакологическая активность компонентов, выделенных из видов рода Rheum L.

Антраценпроизводные являются важным компонентом растений рода *Rheum L.*, ответственными за их биологическую активность. В литературе [53] отмечается выраженный слабительный эффект основных антрахинонов (эмодин, реин и хризофанол) растений рода *Rheum L.* Также слабительный эффект выражен у сеннозидов и реинозидов из класса антронов, которые идентифицированы в *Rheum palmatum L.* [54].

Анализ доступной мировой литературы показывает, что основные антрахиноны ревеней демонстрируют выраженную противоопухолевую активность. Ряд исследований показали, что основные антрахиноны *Rheum palmatum*, такие как эмодин, алоэ-эмодин и реин могут ингибировать рост и пролиферацию различных клеток рака [55]. Сообщается, что эмодин ингибирует пролиферацию клеток рака яичников, молочной железы, легких, печени и простаты, вызывает индукцию апоптоза в клетках HL-60 [56] и профилактику метастазов [57].

Алоэ-эмодин проявляет способность ингибировать рост клеток рака легких человека и рака желудка [58, 59, 60]. Ресере и др. сообщали, что алоэ-эмодин обладает специфической противоопухолевой активностью *in vitro* и *in vivo* в отношении нейроэктодермальных опухолей [61, 62].

В литературе отмечается, что реин, подавляя поглощение глюкозы, нарушает функцию опухолевых клеток, что приводит к гибели клеток [63].

Метанольные и водные экстракты из корневищ *Rheum emodi* проявили высокую антиоксидантную активность и показали способность индуцировать апоптоз и подавлять миграцию метастатических раковых клеток MDA-MB-231 молочной железы [64, 65].

Проводилось изучение противовоспалительной, антимикробной, противовирусной и противогрибковой активности выделенных антрахинонов.

Калориметрическим методом установлено подавляющее действие на рост *Staphylococcus aureus* пяти антрахинонов, выделенных из подземных органов *Rheum officinale*. Установлено, что антимикробная активность антрахинонов

подавлять рост *Staphylococcus aureus* увеличивалась в ряду реин > эмодин > алоэ-эмодин > хризофанол > фисцион [66, 67]. В литературе [68] приведены результаты исследования этанольных экстрактов корней и корневищ *Rheum palmatum*, *Rheum undulatum* и *Rheum rhaponticum*, которые показали более высокую ингибирующую активность по отношению к грамположительным бактериям (*Staphylococcus spp.*), чем по отношению грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis*). Самую высокую активность против *Staphylococcus spp.* показал экстракт *R. undulatum* (MIC = 125-250 мкг/мл).

Хризофанол, фисцион, эмодин и алоэ-эмодин, выделенные из корневищ *Rheum undulatum* проявляли активность против грамположительных анаэробных бактерий *Streptococcus nutans*, обнаруживаемые в ротовой полости человека, и успешно применяются в стоматологической практике Кореи [69]. Китайскими учеными изучен молекулярный механизм противовоспалительной активности антрахинонов ревеня и установлен выраженный противовоспалительный эффект алоэ-эмодина [70].

Chauhan и др. изучали противовоспалительную активность метанольного экстракта корней *Rheum emodi* с использованием каррагинан индуцированной модели отека лапы крыс. Ингибирующая активность была сопоставимой с контрольным препаратом Ибупрофен в дозе 50 мг/кг [71].

Установлена активность эмодина, извлеченного из корней *Rheum tanguticum*, против вируса простого герпеса *in vitro* и *in vivo* [72] и исследована эффективность эмодина *Rheum officinale* при острых респираторных проявлениях коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV [73].

Выявлена противогрибковая активность свободных антрахинонов (хризофанол, алоэ-эмодин, фисцион и реин) и антрахиноновых эфиров, выделенных из корневищ *Rheum emodi* против патогенных грибов [74, 75].

Авторами описаны антиоксидантная и липидоснижающая активность хризофанола, эмодина и их 8-O-β-D-глюкопиранозидов, содержащихся в корневищах *Rheum emodi*. Отмечено, что эмодин обладает наиболее выраженными свойствами, оказывающими влияние на обмен липидов [76].

Установлено, что антрахиноны хризофанол, эмодин, содержащиеся в экстрактах из подземных органов ревеней, обуславливают нейропротективную активность [77, 78].

Исследована также биологическая активность других групп БАВ, выделенных из растений рода *Rheum* L.

Изучен потенциал резвератрола (относящегося к стильбенам, выделенного из *Rheum undulatum*) в лечении сердечной недостаточности [79] и установлена его противоопухолевая активность [80].

Флавоноид кверцетин, выделенный из *Rheum turkestanicum*, показал противовоспалительную [81], нейропротективную [82], гепатопротекторную [83] активность, а галловая кислота, содержащаяся в корнях *Rheum palmatum*, проявила антиоксидантную активность [84].

Препараты на основе ревеня

В Европейской фармакопее, фармакопеех Китая и Японии содержатся

монографии на корни *Rheum palmatum*, *Rheum tanguticum*; *Rheum officinale* [85, 86, 87].

В официальной медицине применяются препараты из сырья ревеня в виде порошка, таблеток, экстракта сухого (*Extractum Rhei siccum*), экстракта жидкого (*Extractum Rhei fluidum*), настойки (*Tinctura Rhei amara*) и сиропа (*Sirupus Rhei*) [86, 88]. В препаратах, приготовленных на воде, преобладает слабительное действие (антраценпроизводные), а спиртовые улучшают пищеварение и оказывают вяжущее действие (дубильные вещества). Препараты в малых дозах (0,05-0,2 г) оказывают вяжущее действие, а в больших дозах (0,5-2,0 г) слабительное, которое наступает через 8-10 ч [88].

Казахстанские виды рода Rheum L.

Во флоре Казахстана произрастают 7 лекарственных видов растений рода *Rheum L.*: ремень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.), ремень компактный (*Rheum compactum* L.), ремень Виттрока (*Rheum wittrockii* Lundstr.), ремень Максимовича (*Rheum maximowiczii* Losinsk.), ремень татарский (*Rheum tataricum* L.), ремень низкий (*Rheum nanum* Siev.), ремень туркестанский (*Rheum turkestanicum*) [89]. Два вида, *Rheum compactum* L. и *Rheum wittrockii* Lundstr., занесены в Красную книгу Казахстана [90, 91]. Казахстанские виды растений рода *Rheum L.* широко используются в народной медицине, пищевой и дубильно-экстрактовой промышленности.

Rheum cordatum встречается на горных склонах Памиро-Алтая и Западного Тянь-Шаня. Отвары и настои из подземных частей *Rheum cordatum* применяются при язвенной болезни желудка, надземная часть как источник витаминов С, РР и каротиноидов. Значительные запасы ревеня сердцевидного были выявлены в 1960-1980 гг. на склонах гор Каратау и Чу-Илийских горах с площадью зарослей 457 тыс. га, а производственный запас составил 66 тыс. т. сухого корня [89, 91].

Rheum compactum широко распространен в Сибири, Дальнем Востоке и Средней Азии (Прибалхашье). Отвар в тибетской медицине используется как слабительное средство [91]. Выращивается в Алтайском ботаническом саду КН МОН РК (г. Риддер).

Rheum nanum встречается в пустынных местах и песчаных степях Западной Сибири и в Средней Азии. В Средней Азии произрастает в Арало-Каспийском регионе и в Прибалхашье. Листья *Rheum nanum* в Монголии употребляют в пищу [91].

Rheum wittrockii произрастает преимущественно в горах Средней Азии. Отвар из подземных частей *Rheum wittrockii* используют как вяжущее или слабительное средство, в зависимости от дозы; листья – как желчегонное, наружно – при ожогах. Как ранняя овощная культура и источник витаминов *Rheum wittrockii* употребляют в пищу в сыром виде и готовят из него компот, варенье, желе и пастилы [91]. Выращивается в Главном ботаническом саду РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК.

Rheum maximowiczii – эндемичный вид Средней Азии. Сок из листьев употребляют для лечения малярии и как закрепляющее при диарее [91]. Культивируется в Алтайском ботаническом саду КН МОН РК (г. Риддер).

Rheum tataricum – эндемик Средней Азии, произрастающий в пустынных и

степных склонах нижегорного пояса. Отвар корней и плодов *Rheum tataricum* используется как кровоостанавливающее средство при внутренних кровотечениях, как противолихорадочное средство, как вяжущее или слабительное при желудочных заболеваниях, а зола – для рубцевания ран. Потенциальный источник для получения препаратов, антиоксидантной, противоопухолевой и Р-витаминной активностью [91]. Культивируется в Главном ботаническом саду РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК.

Rheum turkestanicum встречается на песчаных, каменистых склонах гор Средней Азии и Кавказа. Молочный отвар из подземных органов *Rheum turkestanicum* применяют при заболеваниях ЖКТ, сердечно-сосудистой системы и как противолихорадочное, кровоостанавливающее средство [91].

Литературный анализ показал, что фитохимическое изучение видов рода *Rheum* L. проводилось в 60-80-е годы в КазНУ им. аль-Фараби под руководством профессора, д.х.н. Т.К. Чумбалова на кафедре химии природных соединений как основного сырья дубильно-экстрактивного производства Казахстана. Проведен фитохимический анализ *Rheum cordatum*, *Rheum tataricum* и *Rheum wittrockii*, как наиболее распространенных видов растений рода *Rheum* L. Из корней *Rheum cordatum* выделены дубильные вещества до 26 % и антрахиноны до 4 % [92]. В листьях *Rheum cordatum* обнаружено высокое содержание флавоноидов – 4,4 % и витамина С. Установлено присутствие флавоноидов в экстрактах из листьев и семян *Rheum tataricum*, а в подземной части было отмечено высокое содержание дубильных веществ – до 25,74 % [92, 93]. В экстрактах из листьев *Rheum turkestanicum* выявлено содержание флавоноидов до 2,28 % [92].

В настоящее время возобновилось изучение *Rheum tataricum*. Сотрудниками Института ботаники и фитоинтродукции КН МОН РК проведены ресурсоведческие исследования *Rheum tataricum* и выявлены промысловые массивы в долине реки Иле (Балхашский район, Алматинская область). Фитохимические исследования надземной части *Rheum tataricum* L. произрастающего на территории Балхашского района Алматинской области, проведены учеными КазНУ им. аль-Фараби и Института ботаники и фитоинтродукции КН МОН РК. Экспериментально установлено содержание таких основных групп БАВ, как дубильные вещества, антрахиноны, кумарины, полисахариды, флавоноиды, алкалоиды и катехины [94].

Следует отдельно упомянуть работы профессора Музычкиной Р.А., специалиста в области химии антрахинонов, по изучению антраценпроизводных, содержащихся в растениях флоры Казахстана [95]. В ее монографии обобщены методы по обнаружению, выделению, качественному и количественному анализам антраценпроизводных [96].

1.4 Современные аспекты создания растительных лекарственных препаратов: требования к качеству

На сегодняшний день во всем мире фармацевтический рынок является наиболее динамичным и быстрорастущим. Повышение благосостояния населения, экологическая обстановка в современном мире, рост численности,

старение населения и ожирение способствуют росту спроса на лекарственные препараты, в том числе на фитопрепараты. Популяризация и развитие фитотерапии содействовали расширению значительной доли рынка лекарственных средств. По данным ВОЗ около 60 % мирового населения использует ЛР и растительные ЛП для лечения различных заболеваний [97]. Широкий спектр фармакологической активности, возможность длительного применения у всех возрастных групп и безопасность при достаточной эффективности и доступности обуславливают широкое применение фитопрепаратов.

В условиях импортозависимости фармацевтического рынка Казахстана создание новых лекарственных средств на основе отечественного ЛРС является актуальной задачей фармацевтической отрасли. Территориально-географическое положение Казахстана располагает огромным запасом лекарственных растений, которые широко используются в народной медицине. Проведенный анализ фармацевтического рынка фитопрепаратов РК показывает, что около 56 % фитопрепаратов ввозятся из зарубежья [98].

Изучением дикорастущих лекарственных растений Казахстана занимались и в настоящее время занимаются ученые КазНУ им. аль-Фараби, КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» и Института химических наук им. А.Б. Бектурова.

Производство фитопрепаратов в Казахстане напрямую связано с обеспеченностью фармацевтической промышленности растительным сырьем. Обеспечение производства стабильной сырьевой базой, а также обеспечение качества лекарственного растительного сырья возможно путем выращивания лекарственных растений в культуре с выдерживанием требований GACP.

Вопросы совершенствования лекарственной политики страны для обеспечения высокого качества жизни населения отражены в Кодексе о здоровье народа и системе здравоохранения, в Стратегии развития РК до 2050 года и Стратегическом плане МЗ РК на 2017-2021 гг. ГФ РК устанавливает показатели качества и безопасности лекарственных средств, которые государство гарантирует своим гражданам.

Согласно Стратегическому плану развития РК поставлена задача внедрения до 2025 года на всех фармацевтических предприятиях международных стандартов качества, перехода от системы контроля качества готового продукта к системе, обеспечивающей качество в процессе разработки и производства.

В официальной медицине растительные ЛП широко используются для лечения болезней сердечно-сосудистой, дыхательной, центральной нервной систем, ЖКТ и других заболеваний. Перспективны растительные ЛП в частности при терапии хронических заболеваний, в том числе при желудочно-кишечных патологиях. В лечении функциональных нарушений пищеварительной системы широко используются слабительные средства растительного происхождения на основе антраценпроизводных [99, 100].

Изучением химии антрахинонов занимаются ученые КазНУ им. аль-Фараби. Синтезировано около 1140 новых производных на основе природных антрахинонов, из них 600 соединений изучены на биологическую активность,

47 предложены для последующего фундаментального клинического исследования в качестве слабительных, гепатопротекторных, противоопухолевых, антиоксидантных, противовоспалительных, противотуберкулезных, рострегулирующих, бактерицидных и др. препаратов.

В связи с этим, изучение новых отечественных видов ЛР, содержащих антраценпроизводные, является перспективным.

Выводы

Род ревеня (*Rheum* L.) относится к семейству Гречишных (*Polygonaceae* Juss.) и включает около 50 видов. В Казахстане встречается 9 видов, из них 7 видов обладают лекарственными свойствами: ревеня сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.), ревеня компактный (*Rheum compactum* L.), ревеня Виттрока (*Rheum wittrockii* Lundstr.), ревеня Максимовича (*Rheum maximowiczii* Losinsk.), ревеня татарский (*Rheum tataricum* L.), ревеня низкий (*Rheum nanum* Siev.), ревеня туркестанский (*Rheum turkestanicum*). Два вида *Rheum compactum* L. и *Rheum wittrockii* Lundstr. занесены в Красную книгу Казахстана.

Официальные виды рода – *Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel., *Rheum officinale* Baill. и *Rheum emodi* Wall. ex Meissn. не встречаются на территории РК.

Анализ доступной литературы показал, что из 18 видов растений рода ревеня (*Rheum* L.) до настоящего времени были выделены и идентифицированы около 200 соединений, относящихся к пяти различным классам: антраценпроизводным, антраонам, стильбенам, флавоноидам и ацилгликозидам, – и эти компоненты показали обширную фармакологическую активность. Основными компонентами видов растений рода *Rheum* L., ответственными за их фармакологическую активность, являются производные антрацена. Свободные антрахиноны – эмодин, алоэ-эмодин, реин, фисцион и хризофанол, присутствующие почти во всех видах, проявляют выраженный слабительный эффект.

Среди казахстанских видов растений рода ревеня (*Rheum* L.) перспективным является ревеня сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.), широко распространенный на территории республики, являющийся ценным источником БАВ, и применение которого ограничено только народной медициной. Анализ литературных данных показал, что полномасштабное изучение ревеня сердцевидного для фармацевтической промышленности и медицинского применения не проводилось.

В связи с этим, комплексное исследование ЛР и сырья из него, их стандартизация, разработка технологии получения растительной ФС, разработка состава и технологии получения ЛП представляет актуальную научную проблему.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проведенных исследованиях были использованы методы и материалы, соответствующие требованиям ГФ РК, Европейской Фармакопеи и других нормативных документов, действующих на территории РК.

2.1 Объекты исследования

– ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) корни, заготовленные поздней осенью 2017 г. после осеменения и ранней весной 2018 г. от дикорастущих образцов, произрастающих в Чу-Илийских горах;

– ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) листья, заготовленные весной 2018 г.;

– ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) стебли, заготовленные весной 2018 г.;

– ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) семена, заготовленные поздней осенью 2017 г.

Дикорастущее лекарственное растение идентифицировано сотрудниками РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК (справка №01-04/471 от 16 ноября 2017 г.), Приложение М.

Растительная ФС

– экстракт густой из корней ревеня сердцевидного – вязкая желтовато-бурая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.

Вспомогательные вещества

Вода очищенная (ГФ РК I, т. 2) [101, с.168-171].

Спирт этиловый 96 % (ГФ РК I, т. 2) [101, с. 581-583].

МКЦ (ГФ РК I, т. 3) [102, с. 613-619].

Магния гидроксикарбонат (ГФ РК I, т. 2) [101, с. 315-316].

Натрия кроскармеллоза. Белый или молочно-белый порошок. Растворим в воде, нерастворим в спирте, этаноле, бензоле, хлороформе и других органических растворителях [87].

Plasdone S-630. Линейный статистический сополимер 60:40 N-винил-2-пирролидона и винилацетата. Растворяется в воде и во многих органических растворителях [87].

Магния алюмометасиликат. Очень легкий и сыпучий порошок. Растворим в воде и растворителях [87].

Кальция стеарат (ГФ РК I, т. 2). Смесь кальциевых солей стеариновой и пальмитиновой кислот с незначительной частью других жирных кислот. Белый или почти белый тонкий порошок, практически не растворим в воде и 96 % спирте [101, с. 263-265].

Оболочка пленочная *Opadry* 85F18422 White. Состав: поливиниловый спирт, титана диоксид Е 171, макрогол 4000, тальк.

2.2 Методы исследования

Методы исследования ЛРС

Определение морфологических и анатомических диагностических признаков сырья ревеня сердцевидного

Морфологические группы лекарственного растения определяли согласно требованиям общих статей ГФ РК I, т. 1 «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы», «Семена», «Листья» [103, с. 567-571].

Органолептические диагностические признаки определяли на сухом сырье, рассматривая невооруженным глазом при дневном свете.

Кусочки листьев с 5 % раствором *натрия гидроксида* кипятили в течение 1-3 мин, затем сырье тщательно промывали *водой P*, готовили тонкие срезы и помещали их в каплю раствора *глицерина* на предметном стекле [104 – 106].

Для подготовки микропрепарата из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного предварительно нагревали сырье в воде очищенной, с последующим замачиванием сырья спирто-водно-глицериновой смесью (1:1:1) в течение 3 ч. Далее кусочки сырья кипятили в течение 5 мин в 5% растворе *натрия гидроксида*, затем сырье тщательно промывали *водой P*, готовили тонкие срезы и помещали их в каплю раствора *глицерина* на предметном стекле [104 – 109]. Тонкие срезы подготовлены с помощью микротомы с замораживающим устройством ТОС-2. Срезы исследовались под микроскопом МС 300 (увеличение 10x4, 10x10, 10x40, 10x100) с видеокамерой САМV400/1,3 М.

Фитохимический анализ сырья (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией [110].

5,0 г высушенного и тонко измельченного сырья (корней, листьев, стеблей и семян) экстрагировали в 20 мл растворителя (*вода P*, 50 % *этанол P*, 98 % *этанол P*, хлороформ и дихлорметан) три раза по 30 минут на ультразвуковой бане при комнатной температуре. Извлечения центрифугировали, надосадочную жидкость собирали и концентрировали в вакууме при 45 °С, используя вакуумный концентратор Eppendorf Concentrator Plus. Полученные экстракты охлаждали при 4 °С и использовали для исследования.

Хроматографический анализ проводили с использованием системы LC-ESI-Q-TOF-MS серии 6500 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), оснащенной автосамплером (G1329B), дегазатором (G1322A), детектором DAD (G1315D) и бинарным насосом (G1312C). Идентификацию активных компонентов осуществляли с использованием масс-спектрометра Q-TOF (G6530B), производства компании Agilent Technologies.

Использована колонка длиной 150 мм и шириной 2,1 мм Zorbax RP 18 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), с пористым сорбентом с зернением $d_p = 3,5 \mu\text{m}$ при скорости потока 0,2 мл/мин и температуре 25 °С.

Объем впрыска: 20 мкл.

Подвижная фаза: 0,1 % раствор муравьиной кислоты (растворитель А) и 0,1 % раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (растворитель В).

Градиентное элюирование, режим подачи элюента: 0 мин 98 % раствор А; 5 мин 90 % раствор А; 20 мин 60 % раствор А; 35 мин 5 % раствор А; и 36 мин 98 % раствор А.

Время анализа: 45 мин.

Температура газа носителя: 350 °С.

Температура наружного газа: 400 °С.

Напряжение фрагментации, капилляра, сопла и скиммера: 150 V, 3,5 kV, 1000 V, и 65 V соответственно.

Детектор DAD непрерывно регистрировал поглощение от 190 до 600 нм, а затем хроматограммы анализировали при 254, 280, 320 и 365 нм.

Масс-спектры были получены одновременно в режимах отрицательной и положительной ионизации.

Количественный анализ проводили на основе спектров фрагментации, литературных данных и времени удерживания.

Для идентификации органических кислот и аскорбиновой кислоты в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного использовали метод ТСХ (ГФ РК I, т. 2, 2.2.27) [101, с. 695].

Идентификация сырья (корней) ревеня сердцевидного методом ТСХ

Исследование проводили в системе растворителей *кислота муравьиная безводная P – этилацетат P – петролейный эфир P* (1:25:75). Раствор сравнения: раствор *СО эмодина в эфире P*. Обнаружение пятен проводили УФ-облучением при длине волны 365 нм до и после обработки хроматограмм раствором 100 г/л *калия гидроксида P в метаноле P* [87, 96, 101, 109].

Количественное определение содержания водорастворимых полисахаридов проводили гравиметрическим методом в соответствии с ГФ РК I, Т. 2 [101, с. 686–687].

Количественное определение содержания аскорбиновой кислоты, свободных органических кислот, окисляемых полифенолов в пересчете на танин проводили титриметрическим методом [101, 108, 109].

Количественное определение содержания полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, флавоноидов в пересчете на рутин, аминокислот в пересчете на лейцин, содержания пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) проводили спектрофотометрическим методом [101, с. 702-703, 103, 108, 109, 111]. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре OPTIZEN POP (Корея).

Методика определения количественного содержания пигментов

0,1 г измельченного сырья (листьев и стеблей) ревеня сердцевидного тщательно растирали в ступке с небольшим количеством кальция карбоната, кварцевого песка и 2-3 мл 96 % *этанола P*. Полученный экстракт фильтровали через стеклянный фильтр. Экстракцию пигментов повторяли до обесцвечивания фильтрата. Полученную вытяжку переносили в мерную колбу емкостью 25,0 мл и доводили объем 96 % *этанолом P*. Измеряли оптическую плотность полученного экстракта при длине волны 665 нм (максимум поглощения хлорофилла а в 96 % *этаноле P*), 649 нм (максимум поглощения хлорофилла b в 96 % *этаноле P*) и 441 нм (максимум поглощения каротиноидов в 96 % *этаноле P*) [112].

Концентрацию хлорофилла а (C_a , мг/л) и b (C_b , мг/л) рассчитывали по формулам:

$$C_a = 13,70 * A_{665} - 5,76 * A_{649} \quad (1)$$

$$C_b = 25,8 * A_{649} - 7,60 * A_{665} \quad (2)$$

где A_{665} – оптическая плотность раствора при 665 нм;

A_{649} – оптическая плотность раствора при 649 нм;

Концентрацию каротиноидов в ($C_{кар.}$, мг/л) вычисляли по формуле 4:

$$C_{кар.} = 4,695 * A_{441} - 0,268 * (C_a + C_b) \quad (3)$$

где A_{441} – оптическая плотность раствора при 441 нм;

$C_a + C_b$ – суммарное содержание хлорофиллов а и b в растворе, мг/л.

Количественное содержание пигментов (X , мг/л) в листьях и стеблях ревеня сердцевидного рассчитывали по формуле 5:

$$X = \frac{V * C * 100}{m * 1000 * (100 - W)} \quad (4)$$

где V – объем вытяжки, мл;

C – концентрация пигмента в вытяжке, мг/л;

m – масса навески сырья, г.

W – потеря в массе при высушивании.

Количественное определение суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин проводили методом абсорбционной спектрофотометрии в видимой области (ГФ РК I, т. 1, 2.2.25) [103, с. 66-70, 107, 113].

Методика определения количественного содержания антраценпроизводных

1,0 г измельченных корней ревеня сердцевидного и 50 мл 50 % (об/об) этанола P помещали в колбу, закрывали колбу пробкой и взвешивали, нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 90 мин. После охлаждения колбу закрывали той же пробкой, взвешивали и при необходимости доводили массу экстрагентом до первоначальной. Полученную вытяжку фильтровали (раствор А испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещали в мерную колбу и доводили щелочно-аммиачным раствором P до объема 50 мл, перемешивали и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин (раствор Б испытуемого раствора). Охлаждали, измеряли оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора при длине волны 520 нм.

Раствор сравнения к испытуемому раствору: 1 мл 50 % (об/об) этанола P помещали в мерную колбу емкостью 50 мл, доводили объем раствора щелочно-аммиачным раствором P до метки, перемешивали и нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин.

Приготовление раствора СО эмодина. 0,02 г (точная навеска) СО эмодина и 30 мл 96 % этанола P помещали в мерную колбу емкостью 50,0 мл, нагревали,

охлаждали и доводили объем раствора 96 % этанолом *P* до метки и перемешивали (раствор А *СО* эмодаина). 1 мл раствора А *СО* эмодаина помещали в мерную колбу емкостью 50 мл и доводили объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором *P*, перемешивали, нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин и охлаждали (раствор Б *СО* эмодаина).

Измеряли оптическую плотность раствора Б *СО* эмодаина. Раствор сравнения к раствору *СО* эмодаина: 1 мл 96 % этанола *P* помещали в мерную колбу емкостью 25,0 мл, доводили объем щелочно-аммиачным раствором *P* до метки, перемешивали, помещали в мерную колбу вместимостью 50,0 мл и нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин [113].

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин определяли по формуле:

$$x = \frac{D * 50 * 50 * m_0 * 1 * 100 * 100}{D_0 * m * 1 * 50 * 25 * (100 - W)} \quad (5)$$

где *D* – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

*D*₀ – оптическая плотность раствора Б *СО* эмодаина;

m – масса навески сырья, г;

*m*₀ – масса *СО* эмодаина, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Содержание аминокислот в сырье (корнях, листьях, и стеблях) ревеня сердцевидного определяли методом ионообменной жидкостно-колоночной хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот Т 339, производства «Микротехна», Чехия [114, 115]. Связанные аминокислоты определяли методом гидролиза хлористоводородной кислотой: в пробирке из огнеупорного стекла (пирекс) к 0,1 г исследуемого сырья (точная навеска) добавляли 6 N хлористоводородной кислоты. Пробирку охлаждали в жидком азоте и из нее откачивали воздух с помощью вакуумного насоса для предотвращения окисления аминокислот в результате гидролиза. Пробирку запаивали и выдерживали 24 ч в термостате при температуре 106 °С. Содержимое количественно переносили в стеклянный бюкс, упаривали до удаления кислоты хлористоводородной, прибавляли 3-4 мл деионизированной воды и повторяли процедуру выпаривания. Полученный образец растворяли в 0,3N литий цитратном буфере (рН 2,2) и использовали для анализа.

Количественное содержание аминокислот (*C*, мк/моль) в образцах вычисляли по формуле:

$$C = S_1 / S_0 \quad (6)$$

где *S*₁ – площадь пика аминокислоты на хроматограмме испытуемого образца;

*S*₀ – площадь пика соответствующей аминокислоты на хроматограмме раствора стандартной смеси аминокислот, соответствует 1 мк/моль количества каждой аминокислоты. Количество в миллиграммах получают при умножении количества микромолей аминокислоты на соответствующую ей молекулярную

массу.

Определение макро- и микроэлементов в сырье (корнях, листьях и стеблях) ревеня сердцевидного проводили методом атомно-адсорбционной спектроскопии на приборе КАС-120 [108, 116]. Анализируемые пробы выпаривали из кратеров графитовых электродов, источником возбуждения спектров являлись дуги переменного тока силой 16 А. Спектры регистрировали на фотопленке с помощью спектрографа ДФС-8. Линии спектров фотографировали при длине волны от 230 до 347 нм с использованием микрофотометра МФ-1. Калибровочные графики строили с помощью стандартных образцов растворов солей металлов.

Посторонние примеси (ГФ РК I, т. 1, 2.8.2) [103, с. 226].

Потеря в массе при высушивании (ГФ РК I, т. 1, 2.2.32) [103, с. 91].

Общая зола (ГФ РК I, т. 1, 2.4.16) [103, с. 129].

Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной (ГФ РК I, т. 1, 2.8.1) [103, с. 226].

Микробиологическая чистота (ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 4 А, 2.6.12, 2.6.13) [103, с. 479].

Содержание тяжелых металлов в сырье (ГФ РК I, т. 1, 2.4.8) [103, с.149].

Содержание радионуклидов в сырье регламентируются требованиями приказа Министра национальной экономики РК №155.

Упаковка сырья. ГОСТ 17768-90.

Маркировка сырья. Приказ МЗСР РК №227.

Транспортирование сырья. ГОСТ 17768-90

Определение фармацевтико-технологических параметров сырья

Определены следующие фармацевтико-технологические параметры измельченных корней ревеня сердцевидного: насыпная масса, пористость сырья, порозность сырья, коэффициент поглощения экстрагента и выход экстрактивных веществ [117, 118, 119].

Методы контроля качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

Описание экстракта густого из корней ревеня сердцевидного (ГФ РК I, т. 1). Общая статья «Экстракты» [103, с. 556-558].

Сухой остаток экстракта густого из корней ревеня сердцевидного (ГФ РК I, т. 1, 2.8.16) [103, с. 235].

Идентификация методом ТСХ (ГФ РК I, т. 2, 2.2.27) [101, с. 695].

Потеря в массе при высушивании (ГФ РК I, т. 1, 2.2.32) [103, с. 91].

Тяжелые металлы (ГФ РК I, т. 1, 2.4.8, метод А) [103, с. 123].

Микробиологическая чистота (ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В, ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13) [103, с. 479].

Количественное определение суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин в экстракте густом из корней ревеня сердцевидного проводили методом абсорбционной спектрофотометрии (ГФ РК I, т.1, 2.2.25) [103, с. 66].

Методы неклинических исследований экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

Острая и подострая токсичность, алергизирующее действие и

противовоспалительная активность исследуемого экстракта определялись на базе НИИ ФПМ им. Б. Атчабарова в Центре экспериментальной фармакологии в соответствии с правилами Приказа МЗ РК от 2 апреля 2018 года №142, с использованием методов, описанных в методических руководствах [120, 121].

Антиоксидантная активность экстрактов из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного

Экстракты из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного на разных растворителях (*воде Р, этаноле Р* в концентрациях 96 %, 50 %, *хлороформе* и *дихлорметане*) были исследованы на их способность ингибировать свободные радикалыДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил, $C_{18}H_{12}N_5O_6$) в соответствии с модифицированным методом, описанным в работе [76]. Антиоксидантная активность выражалась в процентах ингибирования радикала и сравнивалась с галловой кислотой.

Определение «Общего фенольного индекса» экстрактов из корней, листьев, черешков и семян ревеня сердцевидного

Определение «Общего фенольного индекса» в экстрактах проводили с использованием реактива Фолин-Циокальте [122, 123]. Полученные результаты были выражены в эквивалентах галловой кислоты (GAE).

Фармацевтико-технологические и физико-химические методы контроля качества таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного

Фракционный состав (ГФ РК I, т. 1, 2.9.12) [103, с. 249].

Насыпной объем, г/см³ (ГФ РК I, т. 1, 2.9.15) [103, с. 250].

Текучесть (сыпучесть), г/с (ГФ РК I, т. 1, 2.9.16) [103, с. 251].

Угол естественного откоса, ° определяли на виброустройстве модели ВП-12А [103, 112, 113].

Идентификация таблеток методом ТСХ в соответствии с ГФ РК I, т. 2, 2.2.27 [101, с. 695].

Средняя масса и отклонение от средней массы (ГФ РК I, т. 1, 2.9.5) [103, с. 244].

Потеря в массе при высушивании, % (ГФ РК I, т. 1, 2.2.32) [103, с. 91].

Распадаемость, мин (ГФ РК I, т. 1, 2.9.1) [103, с. 236].

Растворение Q, % (ГФ РК I, т. 1, 2.9.3) [103, с. 239].

Истираемость (ГФ РК I, т. 1, 2.9.7) [103, с. 247].

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ РК с использованием программы Statistica 10,0 PL, Statistica 12,0, Excel, StatPlus 2007 [101, 102, 103].

3 ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ, ФАРМАЦЕВТИКО – ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО

3.1 Разработка надлежащей технологии сбора и заготовки сырья ревеня сердцевидного в рамках GACP

В создании препаратов растительного происхождения надлежащая заготовка ЛРС является важным этапом для обеспечения качества конечного фармацевтического продукта [124].

Организацию сбора ЛРС осуществляли согласно установленным нормам сбора дикорастущих лекарственных видов в соответствии со статьей 42 Лесного кодекса РК, придерживаясь требования GACP [124] (Приложение Н). Ревень сердцевидный занимает большие площади в фитоценозах Чу-Илийских гор и является самым распространенным видом [125 – 128].

При сборе образцов лекарственного растения действовали согласно требованиям природоохранных работ для сохранения существования вида *in situ*, учитывая, что для восстановления зарослей ревеня требуется не менее 3 лет. Корневая система ревеня сердцевидного хорошо развита, в местах выкапывания образуются глубокие лунки. В связи с этим, в образовавшиеся лунки высаживали семена или корневища с почками, если сбор производился в осенний период [129, 130].

В результате исследований по определению количественного содержания антраценпроизводных и полифенолов определены сроки заготовки корней ревеня сердцевидного (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты изучения динамики накопления основных групп БАВ в корнях ревеня сердцевидного

Время сбора сырья	Содержание суммы антраценпроизводных, в пересчете на эмодин, %	Содержание суммы окисляемых полифенолов, в пересчете на танин, %
Октябрь 2017 г.	2,45±0,04	19,57±0,02
Апрель 2018 г.	2,37±0,02	22,34±0,06
Май 2018 г.	2,23±0,05	24,27±0,06

Установлено, что максимальное суммарное содержание антраценпроизводных, в пересчете на эмодин наблюдается в сырье, собранном поздней осенью после осеменения (2,45 %) и ранней весной (2,37 %). Максимальное содержание окисляемых полифенолов, в пересчете на танин было отмечено в сырье, собранном поздней весной (24,27 %).

Технологический процесс. Подземную часть ревеня сердцевидного выкапывали ручным способом и тщательно промывали в проточной воде (рисунок 1). Сушку корней ревеня сердцевидного проводили поэтапно. Отмытые и очищенные куски корней резали на части и подсушивали в хорошо вентилируемых помещениях в течение 24 часов.



Рисунок 1 – Выкапывание корней ревеня сердцевидного, весна 2018 г.

Подсушенные куски разрезали на небольшие части и сушили при температуре $50\pm 5^{\circ}\text{C}$, расстелив на рамки в один слой, периодически переворачивая каждые 60 минут (рисунок 2).

Технологическая схема заготовки корней ревеня сердцевидного представлена на рисунке 3 [127, 128].

Высушенные корни ревеня сердцевидного упаковывали в мешки из крафт-бумаги и произвели маркировку. Установлен режим хранения сырья: температура не выше $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ и относительная влажность – $60\pm 5\%$.

Технология сбора, заготовки и хранения корней ревеня сердцевидного внедрена ТОО «ФитОлеум», г. Есик, РК (Акт внедрения №1, от 20 мая 2018 г., Приложение Г).

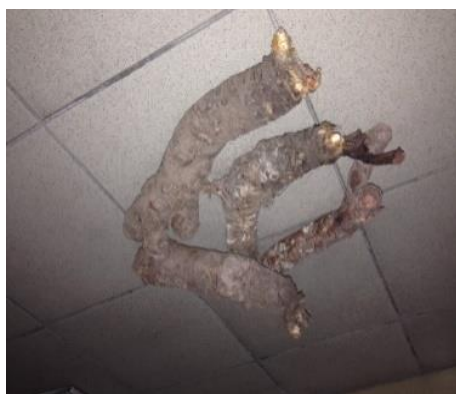


Рисунок 2 – Изрезанные на небольшие куски корни ревеня сердцевидного

Ингредиенты	Стадия	Контрольные точки
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;">Корни ревеня сердцевидного</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> Стадия 1. Сбор сырья. Очистка, промывка, обработка </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Фармакогностические признаки Визуальный осмотр, органолептическая оценка </div>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;">Корни ревеня сердцевидного</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> Стадия 2. Сушка сырья Сушилки </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> - температура, - период ворошения, - контроль в соотв. с ГФ РК; - степень высушенности </div>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;">Цельное высушенное сырье, мешки из крафт-бумаги</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> Стадия 3. Упаковка в мешки Ручной труд </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> - масса, контроль на соответствие ГФ РК, качество упаковки </div>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;">Упакованное цельное высушенное сырье</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Хранение</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> - температура; - влажность; - МБЧ </div>

Рисунок 3 – Технологическая схема заготовки корней ревеня сердцевидного

Также были заготовлены листья, стебли (черешки) и семена ревеня сердцевидного для проведения фитохимического анализа. Семена заготавливали в сентябре 2017 г., а листья и стебли в апреле 2018 г.

3.2 Изучение морфологических и анатомических признаков подземных и надземных органов ревеня сердцевидного. Макро- и микроскопическое исследования сырья ревеня сердцевидного

Морфологические диагностические признаки ревеня сердцевидного

Ревень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.) – травянистое, многолетнее растение высотой до 1-1,5 м (рисунок 4). Стебли прямостоячие, по форме поперечного сечения округлые, в нижней части неветвистые, длиной до 70-100 см (рисунок 5). Крупные, черешковые листья округлой формы, длиной до 40 см и шириной до 50 см, у основания сердцевидные. Жилкование листьев перисто-сетчатое, выделяются 3 мощные жилки, край листа неровный, с закругленными зубцами – городками, в верхней части листовые пластинки покрыты немногочисленными шипами (рисунок 6). Цветки мелкие, собранные в сложные, длинные узкометельчатые соцветия, с мелким околоцветником [4]. Плоды – орешек с тремя ребрами, коричневого цвета, длиной до 15 мм и 10 мм

шириной, основание сердцевидные (рисунок 7). Корни длинные, 30-40 см в длину, 10-15 см в толщину, на поверхности поперечноморщинистые, темного цвета. При жевании хрустит на зубах (очень крупные друзы) (рисунок 8) [107].



Рисунок 4 – Ревень сердцевидный. Зацветающее растение



Рисунок 5 – Морфология ревеня сердцевидного; стебли



Рисунок 6 – Морфология ревеня сердцевидного; листья



Рисунок 7 – Морфология ревеня сердцевидного; плоды



Рисунок 8 – Морфология ревеня сердцевидного; корни

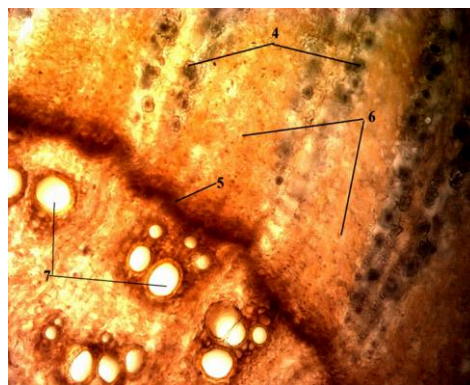
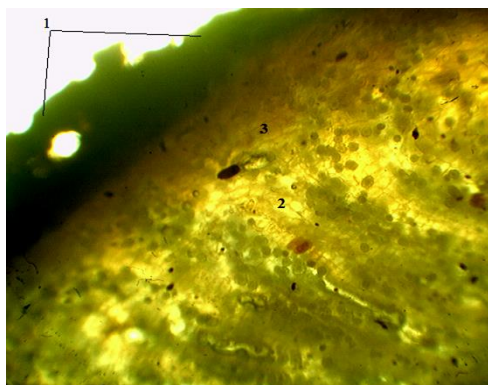
Анатомические диагностические признаки вегетативных органов (корень, стебель, лист) и генеративного органа (плода) ревеня сердцевидного

При исследовании поперечного среза корня под микроскопом ($10\times$) было отмечено, что на поверхности расположена трехслойная перидерма, которая представлена верхним слоем – феллемой (пробкой), феллогеном и феллодермой. Покровная ткань представлена темным зелено-коричневым слоем клеток. Клетки её многоугольные плотно соединены друг с другом и вытянуты в радиальном направлении. Феллодерма (3) представлена плотно сомкнутыми прямоугольными клетками, далее располагаются концентрическими слоями многочисленные округлые паренхимные клетки (2) со слабо утолщенными стенками без межклетников. В паренхимных клетках (6) встречаются многочисленные включения – друзы (4), что свидетельствует о запасующей функции рассматриваемого органа. Камбий (5) представлен однорядным слоем мелких, плотно сомкнутых клеток. В древесине крупные тонкостенные сосуды, которые имеют разный диаметр, лежат одиночно или небольшими группами (7) (рисунок 9) [107, 113, 131].

К диагностическим видовым признакам при проведении микроскопического анализа корня, были отнесены:

1) в паренхиме коры отмечаются клетки, окрашенные в красно-коричневый цвет (включения антраценпроизводных) (рисунок 10 б);

2) в паренхиме коры содержатся свойственные для ревеня сердцевидного



1 – пробка (феллема), 2 – паренхимные клетки первичной коры, 3 – феллодерма, 4 – друзы, 5 – камбий, 6 – паренхимные клетки, 7 – сосуды древесины

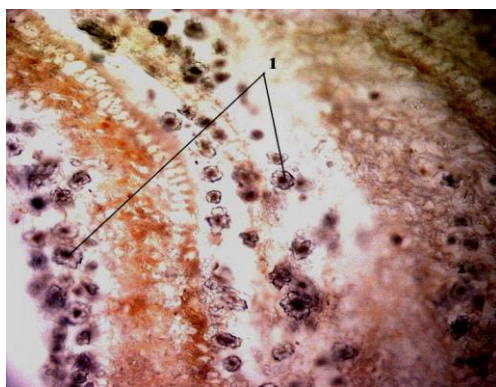
Рисунок 9 – Анатомическое строение корней ревеня сердцевидного

множественные друзы оксалата кальция. Они встречаются единично или собраны в небольшие группы (рисунок 10 а, б, в, г);

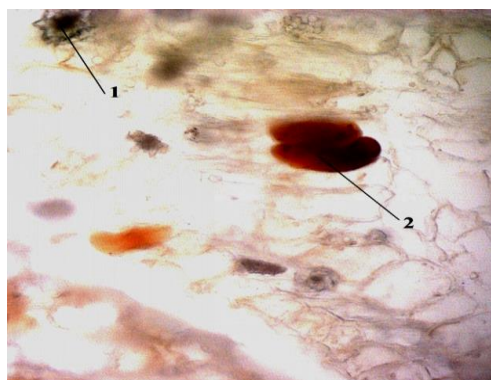
3) 3 – 6- рядные сердцевинные лучи, расширяющиеся к периферии состоят из крупных вытянутых клеток (рисунок 10 а, г);

4) сосуды древесины пористые, кольцевые и лестничные (рисунок 10 а, г);

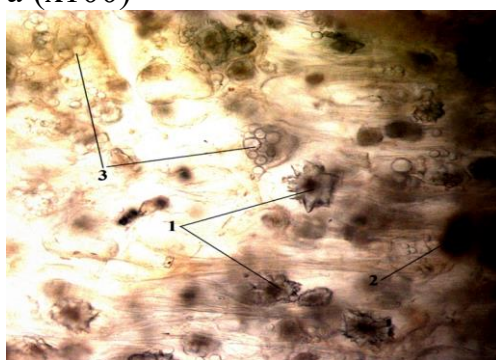
5) паренхима коровой части заполнена отдельными и собранными в группы от 5 до 20 округлыми крахмальными зернами (рисунок 10 а, в, г).



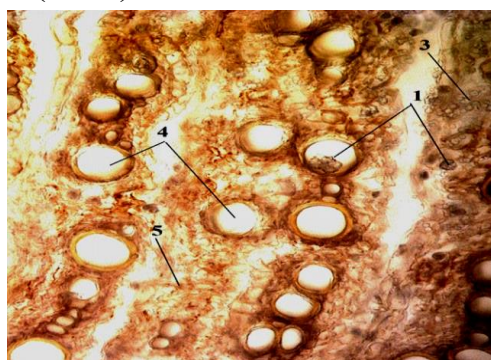
а (x100)



б (x180)



в (x180)

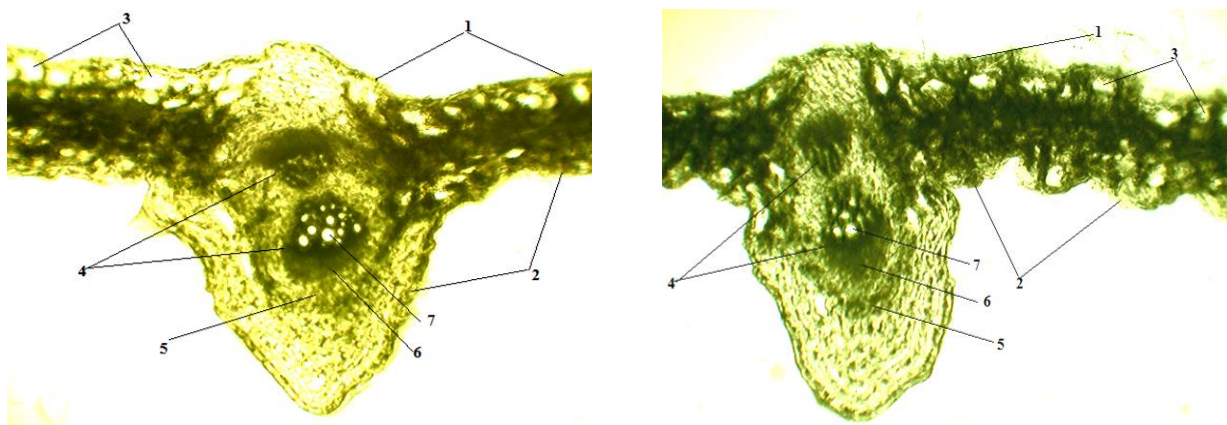


г (x100)

1-друзы, 2-включения (антраценпроизводные), 3- крахмальные зерна, 4- пористые сосуды древесины

Рисунок 10 – Анатомическое строение корней ревеня сердцевидного

При изучении анатомического строения листа ревеня сердцевидного (рисунок 11) отмечены продолговато-округлые клетки верхнего эпидермиса (1) со слабо извилистыми стенками и хорошо развитым, утолщённым слоем кутикулы и малым количеством устьиц. Устьица с обеих сторон листа, окружены 2-4 околоустьичными клетками, что свидетельствует об аномоцитном типе устьичного аппарата. Эпидермис нижней стороны листа (2), имеет меньшие по размеру, округлые, плотно сомкнутые с толстыми клеточными стенками клетки; устьица встречаются в большем количестве. По краю пластинки и по жилке с нижней стороны расположены редкие, очень тонкие конусовидные простые волоски. Не наблюдается чёткой дифференциации мезофилла листа на столбчатую и губчатую основную паренхиму. Губчатый мезофилл достаточно рыхло примыкает к верхнему и нижнему эпидермису, а между его клетками ближе к периферии листа отмечены достаточно крупные, многочисленные воздухоносные полости (3). Центральная часть листовой пластинки представлена двумя проводящими пучками (4), которые обращены друг к другу элементами ксилемы (7). К ксилеме примыкает флоэма (6). Более крупный проводящий пучок располагается со стороны нижней части листовой пластинки, а более мелкий со стороны верхней части листа. Клетки склеренхимы (5) встречаются единично или группами вокруг проводящих пучков. Проводящая система в листьях представлена тремя крупными и мелкими жилками. При рассматривании пластинки листа в проходящем свете видны мелкие жилки; самые мелкие обнаруживаются только под микроскопом. На нижней и верхней стороне листовой пластинки выступают 3 крупные жилки.

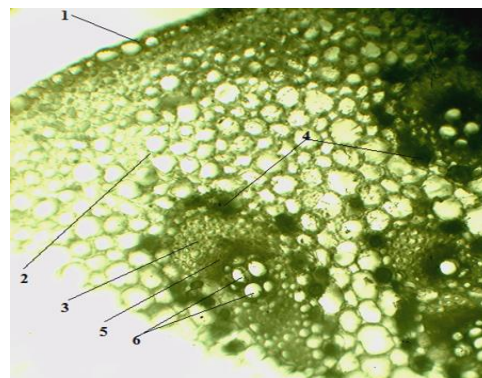


1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – воздухоносные полости в губчатом мезофилле, 4 – проводящие пучки, 5 – склеренхимная обкладка пучка, 6 – флоэма, 7 – сосуды ксилемы.

Рисунок 11 – Анатомическое строение листьев ревеня сердцевидного

На поперечном срезе стебель (рисунок 12) ревеня сердцевидного покрыт одним слоем продолговато-округлой или округлой формы клеток эпидермиса (1). Под эпидермисом расположены слои паренхимных клеток (2) первичной

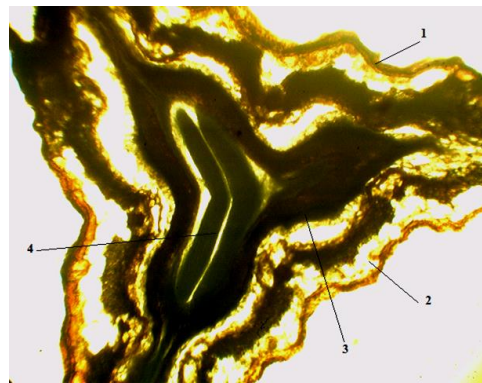
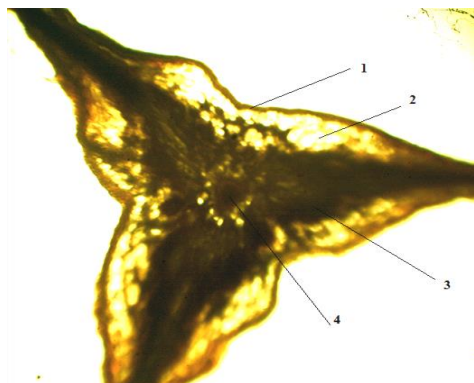
кору. В первичной коре обнаружены вокруг проводящих пучков единичные друзы (4), которые в виде цепочки окружают каждый проводящий пучок. Вокруг каждого пучка отмечены склеренхимные клетки (3). Проводящие пучки коллатерально открытые. Проводящих пучков насчитывается до 30-40 в сечении. В проводящих пучках между ксилемой (6) и флоэмой (5) имеется тонкий слой камбия. Прослеживается сплошной слой механической ткани над проводящими пучками. В центральной части генеративного побега обнаружены округлые, паренхимные клетки сердцевины. Паренхима центрального цилиндра составляет до 5 рядов клеток.



1 – эпидермис, 2 – паренхимные клетки, 3 – склеренхимная обкладка пучка, 4 – друзы, 5 – флоэма, 6 – сосуды ксилемы

Рисунок 12 – Анатомическое строение стеблей ревеня сердцевидного

Семена ревеня сердцевидного – трехгранные (рисунок 13). Семена состоят из двухслойной семенной кожуры (1), которая достаточно плотная, извилистая и утолщенная. Она неплотно прилегает к эндосперму (3), образуя воздухоносные полости (2). Эндосперм состоит из плотно сложенных клеток без межклетников с толстой оболочкой и имеет изодиаметрическую многоугольную форму, содержит запасные питательные вещества. Зародыш семени (4) имеет дугообразную форму.





1 – семенная кожура, 2 – воздухоносные полости, 3 – эндосперм, 4 – зародыш семени

Рисунок 13 – Анатомическое строение семян ревеня сердцевидного

Проведен сравнительный анализ установленных основных морфологических и анатомических признаков сырья из ревеня сердцевидного с признаками официального вида (таблицы 6 и 7).

Таблица 6 – Сравнительный анализ морфологических диагностических признаков ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и фармакопейного вида ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.)

Ревень тангутский	Ревень сердцевидный
1	2
<p>Ревень тангутский – травянистое, многолетнее растение высотой до 2,0-2,5 м. Стебли прямостоячие, толстые, диаметром до 5-6 см.</p> <p>Листья крупные, с длинным черешком, широкояйцевидные, длиной до 65 см, шириной до 75 см, глубоко пальчато-пятилопастные, верхушка узкозаостренная.</p> <p>Цветки мелкие, собранные в большие, длинные метельчатые соцветия, бледно-розового цвета.</p> <p>Плод – широкояйцевидный орешек красно-бурого цвета, с 3 крылышками.</p>	<p>Ревень сердцевидный – травянистое, многолетнее растение высотой до 1-1,5 м. Стебли прямостоячие, по форме поперечного сечения округлые, длиной до 70-100 см.</p> <p>Листья крупные, округлые, длиной до 40 см и шириной до 50 см, с длинным черешком, у основания сердцевидные.</p> <p>Жилкование листьев перисто-сетчатое, выделяются 3 мощные жилки, край листа неровный, с закругленными зубцами – городками, в верхней части листовые пластинки покрыты немногочисленными шипами (рисунок 6). Цветки мелкие, собранные в сложные, длинные узкометельчатые соцветия, с мелким околоцветником [1].</p> <p>Плоды – орешек с тремя ребрами, коричневого цвета, длиной до 15 мм и 10 мм шириной, основание сердцевидные.</p>
	

Продолжение таблицы 6

1	2
<p>Подземная часть состоит из короткого вертикального корневища и из отрезков цилиндрических корней длиной до 20-25 см отходящих от него, с продольно-морщинистой поверхностью. В сырье преобладают корни. Снаружи темно-коричневого, внутри – желтого или красно-желтого цвета. Запах своеобразный, вкус горьковато-вяжущий [109, 129].</p> 	<p>Корни вертикальные, 30-40 см в длину, 10-15 см в толщину, с темно-бурой, поперечноморщинистой поверхностью, с внутренней стороны - светло-бурого цвета. Запах своеобразный, вкус горьковатый, вяжущий. При жевании хрустит на зубах (очень крупные друзы) (рисунок 9) [107].</p> 

Таблица 7 – Сравнительный анализ анатомических диагностических признаков корней из ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и фармакопейного вида ревеня тангутского (*R. palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.)

Ревень тангутский	Ревень сердцевидный
<p>Корни имеют беспучковое строение. На поперечном срезе видны перидерма, кора и древесина. В паренхимных клетках коры и древесины наблюдаются специфичные крупные друзы оксалата кальция. Сердцевинные лучи расширенные, состоящие из 2-4 рядов крупных оранжевых клеток. Флоэма отделяется от ксилемы четкой линией камбия. Сосуды древесины широкие, лестничные и сетчатые, расположены одиночно или группами. В паренхимных клетках древесины и коры отмечаются простые, округлые, 2-5-сложные зерна крахмала [109].</p>	<p>Корни имеют вторичное строение. Перидерма состоит из пробки, феллодермы и феллогена. В паренхиме коры рассматриваются красно-бурые клетки (включения антраценпроизводных), содержится большое количество оксалата кальция в виде друз, расположенных отдельно или собранных в группы. Сердцевинные лучи широкие, из 3-6 рядов крупных вытянутых окрашенных клеток. Сосуды древесины пористые, кольцевые и лестничные. В паренхиме коры и древесины отмечены одиночные и групповые крахмальные зерна, имеющие округлую форму с центром нарастания в виде точки [107].</p>

3.3 Фитохимическое изучение ревеня сердцевидного

Исследование состава экстрактов из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного с использованием различных экстрагентов (*воды R*, 96 % *этанола R*, 50 % *этанола R*, *хлороформа* и *дихлорметана*) методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией впервые проведено на кафедре фармакогнозии Люблинского медицинского университета (Люблин, Польша) [110].

В результате проведенных исследований идентифицированы 22 соединения (антраценпроизводные, катехины, флавоноиды и их гликозиды и фенольные кислоты) (таблица 8) [132–138].

Изучив научную литературу и сравнив ранее выявленные соединения из других видов рода *Rheum L.*, установили, что ремень сердцевидный относится к растениям с более высоким содержанием фенольных метаболитов, в том числе антраценпроизводных. Во всех проанализированных экстрактах были выделены антраценпроизводные. Субъективный количественный анализ идентифицированных соединений показал, что из антраценпроизводных во всех органах растения в значительном количестве содержится эмодин. Также установлено содержание гликозидов эмодина: 1-гликозид эмодина, галлоил-гексоза эмодина, ацетил-гексоза эмодина и 8-О-(6'-О-карбоксиацетил)- β -D-гликозид эмодина. Помимо этих структур, были обнаружены хризофанол, алоэ-эмодин и ацетил-алоээмодин (таблица 8).

Исследуемый вид ревеня можно также рассматривать как богатый источник антиоксидантов. Фенольные соединения представлены: катехинами и их галлатами, галловой кислотой и гликозидом галловой кислоты, флавоноидами (кверцетин, апигенин, кемпферол) и их гликозидами.

Все идентифицированные соединения ранее были обнаружены в других видах рода *Rheum L.*, однако, большинство представленных компонентов впервые описываются в экстрактах ревеня сердцевидного.

По сравнению с другими изученными видами рода *Rheum L.*, ремень сердцевидный содержит лишь небольшое количество ресвератрола и его производных. Среди производных стильбена идентифицированы транс-ресвератрол и тетрагидроксистильбен-О-(ацетил)-гексоза, присутствующие в экстрактах из корней и стеблей.

Флавоноиды присутствуют во всех органах ревеня сердцевидного, однако, их самая высокая концентрация обнаружена в его листьях.

Измерения в режиме МС/МС с высоким разрешением дали надежные данные для изучения закономерностей фрагментации большинства отслеженных соединений и для сравнения этих данных с данными доступной в настоящее время научной литературы и массовых баз данных (например, METLIN). Спектры МС/МС предварительно идентифицированных компонентов из экстрактов корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного представлены на рисунках 14–31.

Таблица 8 – Предварительно идентифицированные и отслеженные молекулы в анализируемых экстрактах из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.) (экстрагент 50 % этанол P)

Режим ионизации	Время удерживания (мин)	Молекулярная формула	m/z экспериментальный	m/z рассчитанный	Дельта (ppm)	ЭДС	МС/МС фрагменты	Предварительное соединение	Корень	Лист	Семена	Стебли	Ссылки
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Антраценпроизводные													
[M-H] ⁻	24.99	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.0971	431.0984	2.94	12	413, 269	1-гликозид эмодаина	++++	++	++	++++	[130]
[M-H] ⁻	25.29	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₄	583.1083	583.1093	1.76	17	435, 269, 169	Эмодин галлоилгексоза	+	-	-	+	[131]
[M-H] ⁻	25.36	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	473.1084	473.1089	1.13	13	269, 186	Эмодин ацетилгексоза	++	++	+	+++	[130]
[M-H] ⁻	25.46	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	517.1019	517.0988	-6.05	14	473, 431, 269	Эмодин-8-О-(6'-О-карбоксиацетил)-β-D-гликозид	++	++	+	++++	[131]
[M-H] ⁻	26.025	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.0505	253.2506	0.52	11	225	Хризифанол	+	пр	пр	+	[131]
[M-H] ⁻	28.00	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	311.0561	311.0561	0.04	12	269, 224, 169	Ацетилалоэмодин	+	-	-	+	[130]
[M-H] ⁻	30.4	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.0454	269.0455	0.54	11	225, 180	Алоэмодин	+	пр	-	+++	[131, 132]
[M-H] ⁻	33.7	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.0436	269.0455	7.21	10.5	225	Эмодин	++++	++	+++	++++	[131, 132, 133]

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Другие фенольные соединения													
[M-H] ⁻	19.59, 24.6 и 22.67	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₄	583.1073	583.1093	3.47	17	269, 169	Апигенин галлоил- гликозидные аналоги	+	пр	пр	+	[134]
[M-H] ⁻	3.55	C ₇ H ₆ O ₅	169.0140	169.0142	1.45	5	125	Галловая кислота	++	++	+++	+	[135]
[M-H] ⁻	4.75	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0673	331.0671	-0.69	6	169, 125	Гликозид галловой кислоты	++++	++++	++	+++	[130]
[M-H] ⁻	13.5	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0698	289.0718	6.76	9	245, 203	Катехин	++	++	++	+++	[134, 136]
[M-H] ⁻	16.05	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0699	289.0718	6.42	9	245, 205	ЭК	++	+++	+++	+++	[134, 136]
[M-H] ⁻	16.3	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	457.0808	457.0776	-6.91	14	305, 169	ЭГКГ	+++	+++	++++	+++	[134, 136]
[M-H] ⁻	18.58	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.0978	431.0984	1.32	12	311, 283, 269	Апигенин гликозид	-	+++	+	++	[134, 135]
[M-H] ⁻	19.0	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	441.0835	441.0827	-1.76	14	289, 169	ЭКГ	++++	++++	++++	++++	[134]
[M-H] ⁻	20.56	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	269.0616	269.0612	-1.48	10	-	Апигенин	пр	-	-	-	[134]
[M-H] ⁻	22.78	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.0702	227.0714	5.12	9	-	<i>Trans</i> - ресвератрол	+	пр	пр	пр	[131]

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
[M-H] ⁻	24.2	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0343	301.0354	3.56	11	273, 178, 151	Кверцетин	+	++++	++++	++	[136]
[M-H] ⁻	24.63	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	447.1289	447.1297	1.72	11	285, 242, 227	Тетрагидрок систильбен- О-(ацетил)- гексоза	+	-	-	+	[130]
[M-H] ⁻	26.9	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.0386	285.0405	6.51	11	213, 151	Кемпферол	+	+++	+	++	[135]
[M-H] ⁻	29.5	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	451.1231	451.1246	3.28	10	407, 305, 179	Эпикатехин гликозид	+	пр	-	+	[134]

ЭДС: эквивалент двойной связи, дельта: разница между высчитанной и экспериментальной массой; пр: прослеживается; +, ++, +++: относительное количество в экстрактах.

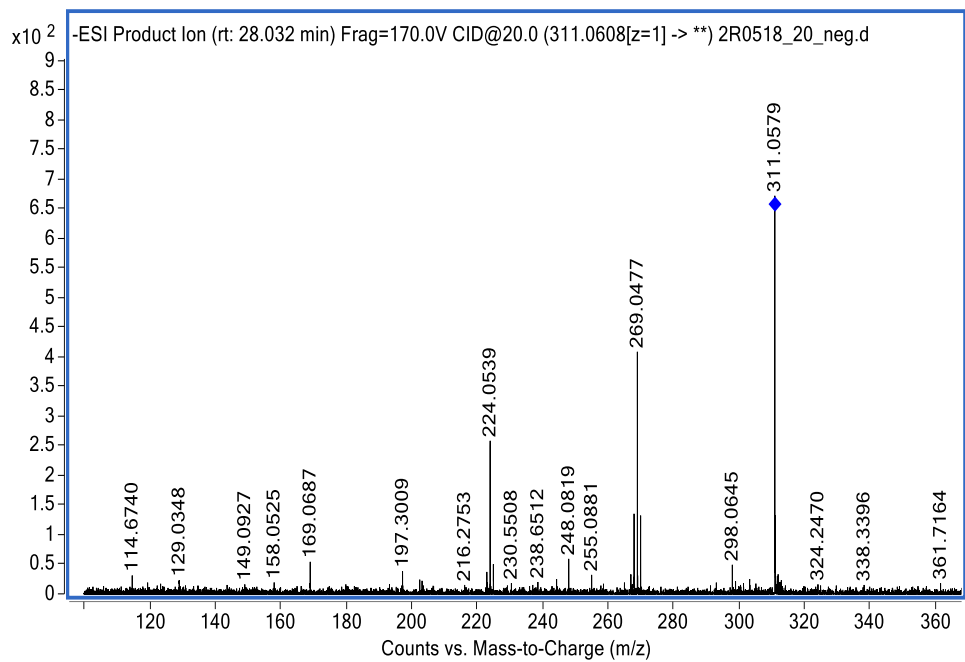


Рисунок 14 – МС/МС спектры ацетил алоэ-эмодина

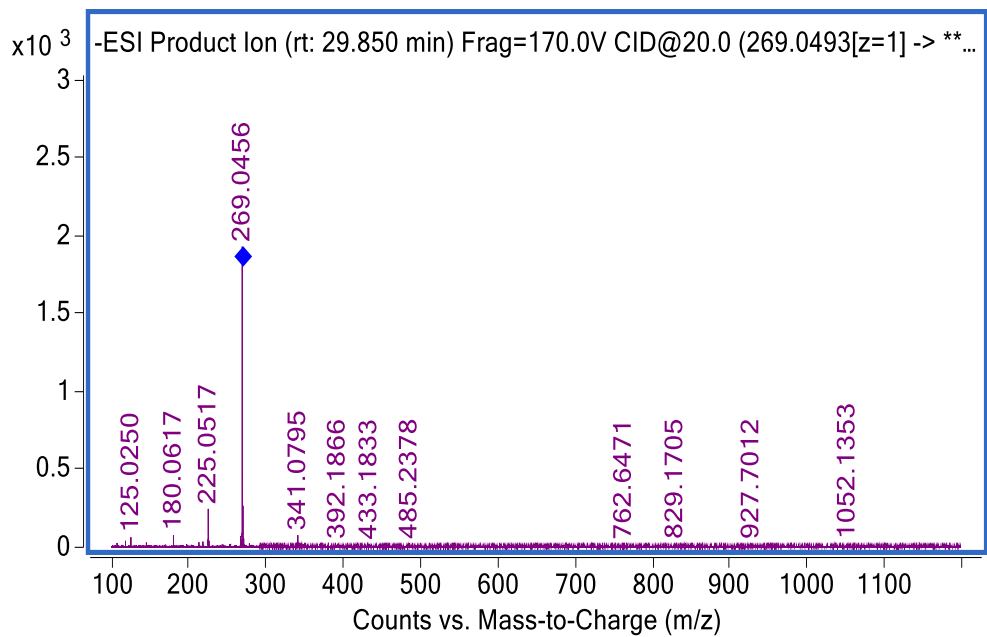


Рисунок 15 – МС/МС спектры алоэ-эмодина

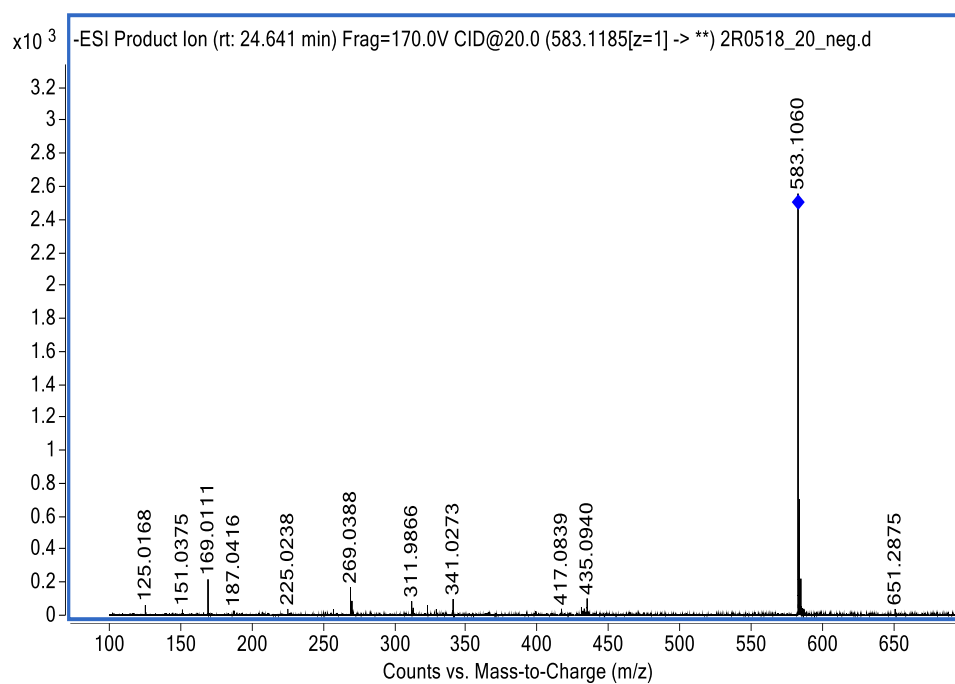


Рисунок 16 – МС/МС спектры апигенин галлоил глюкозы

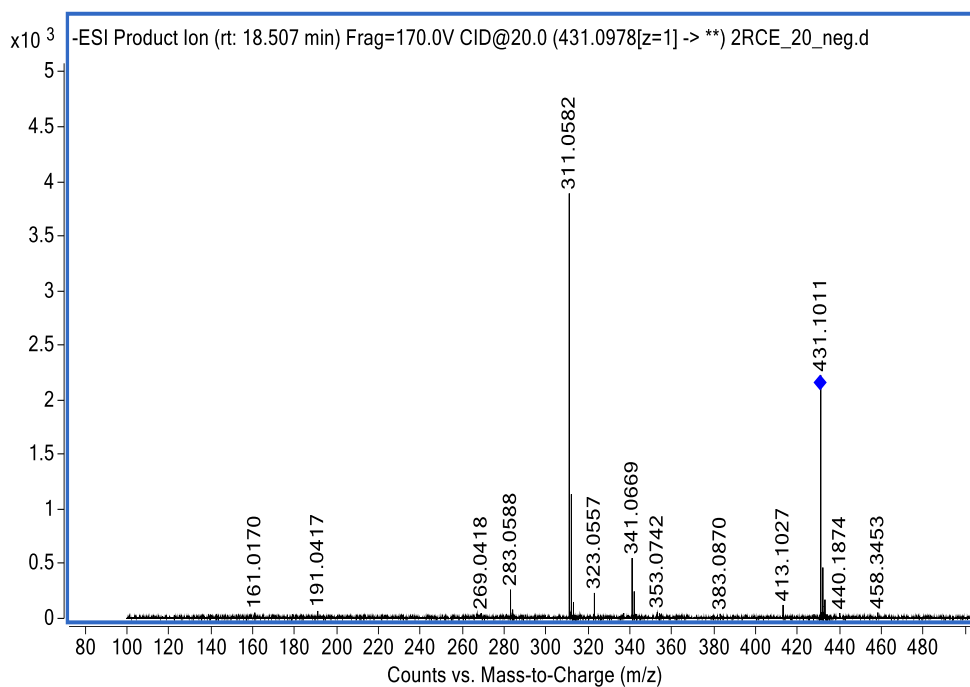


Рисунок 17 – МС/МС спектры апигенин гликозида

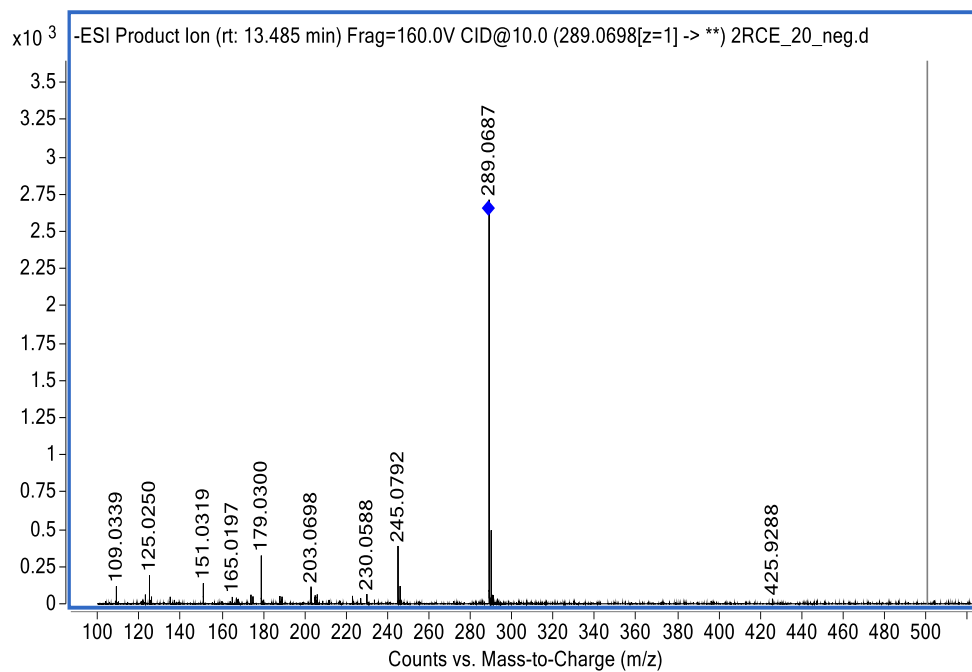


Рисунок 18 – МС/МС спектры катехина

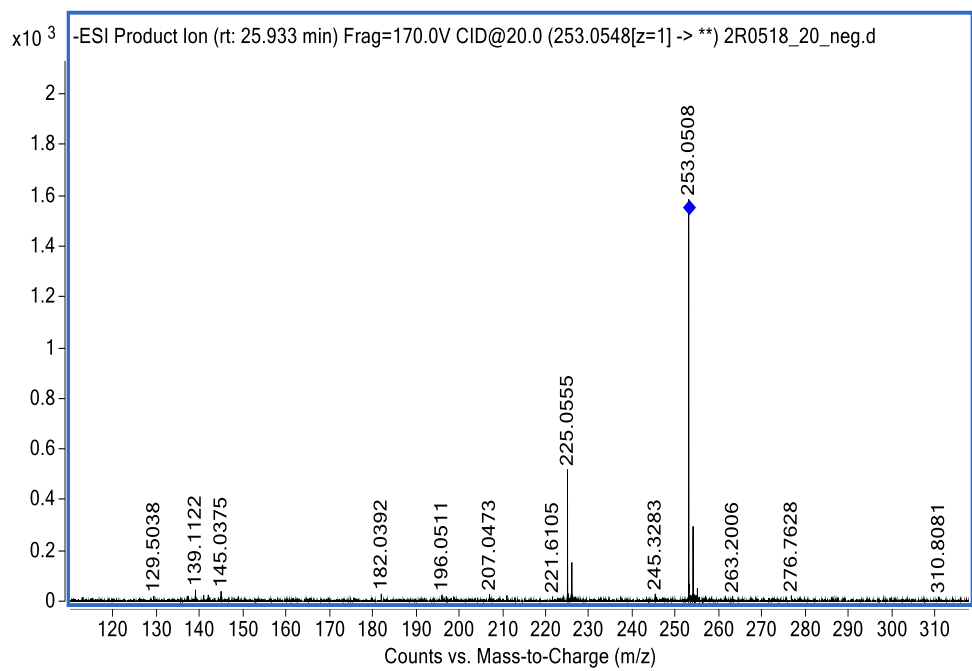


Рисунок 19 – МС/МС спектры хризофанола

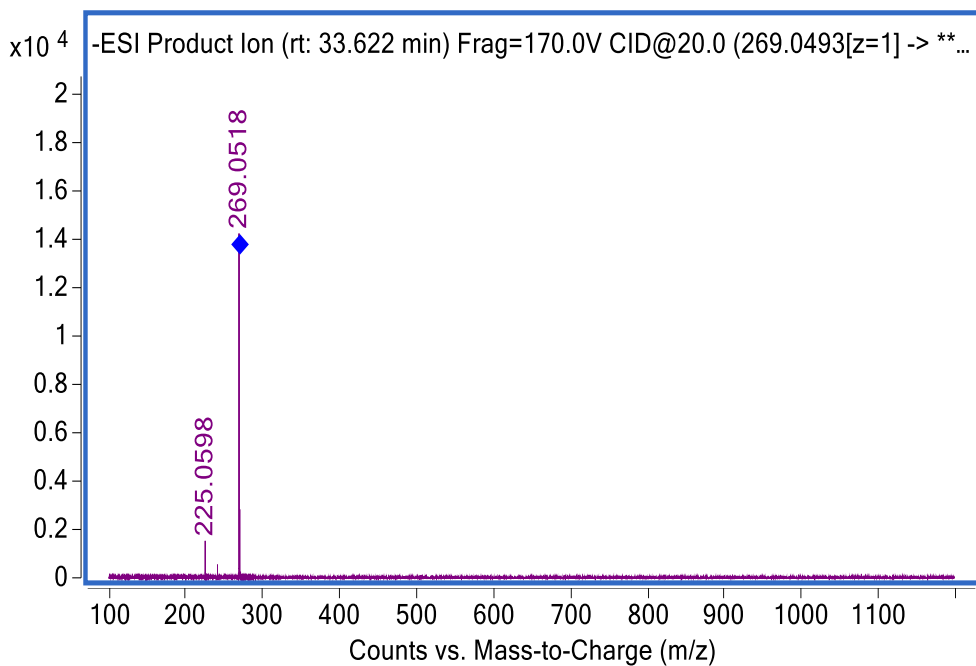


Рисунок 20 – MS/MS спектры эмодаина

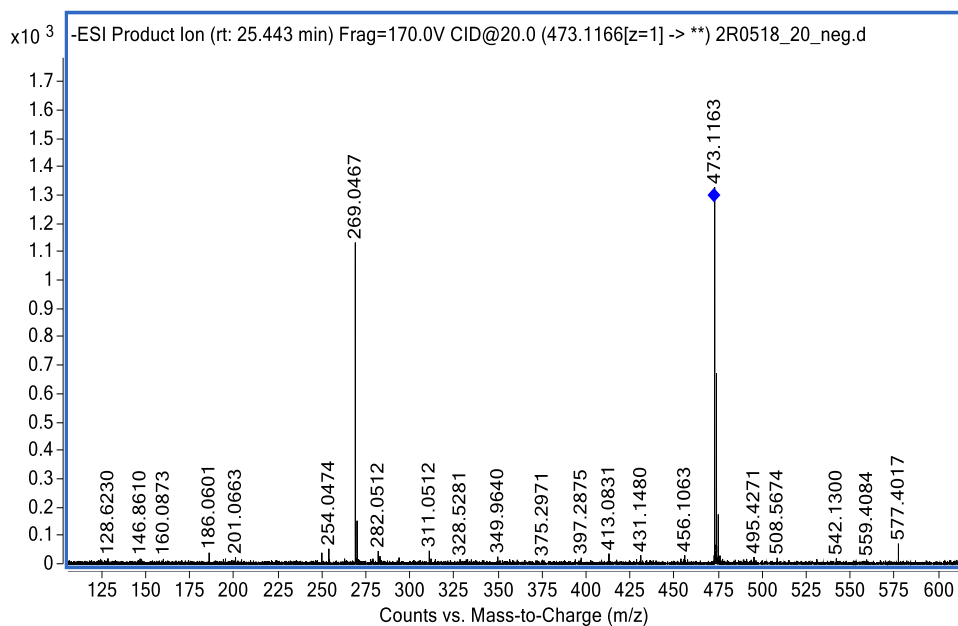


Рисунок 21 – MS/MS спектры эмодин ацетил гексозы

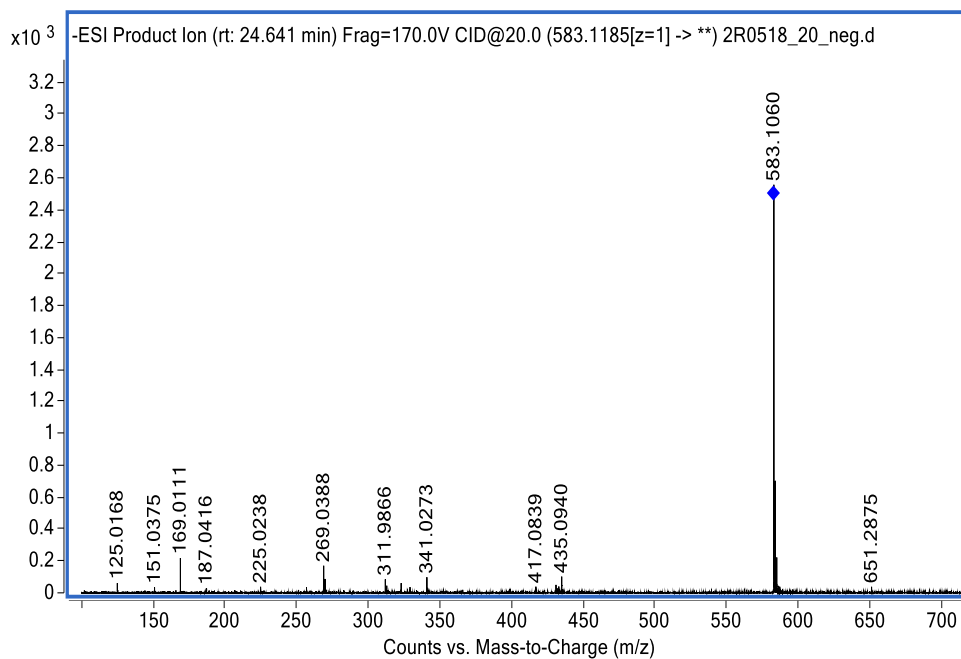


Рисунок 22 – MS/MS спектры эмодин галлоилглюкозы

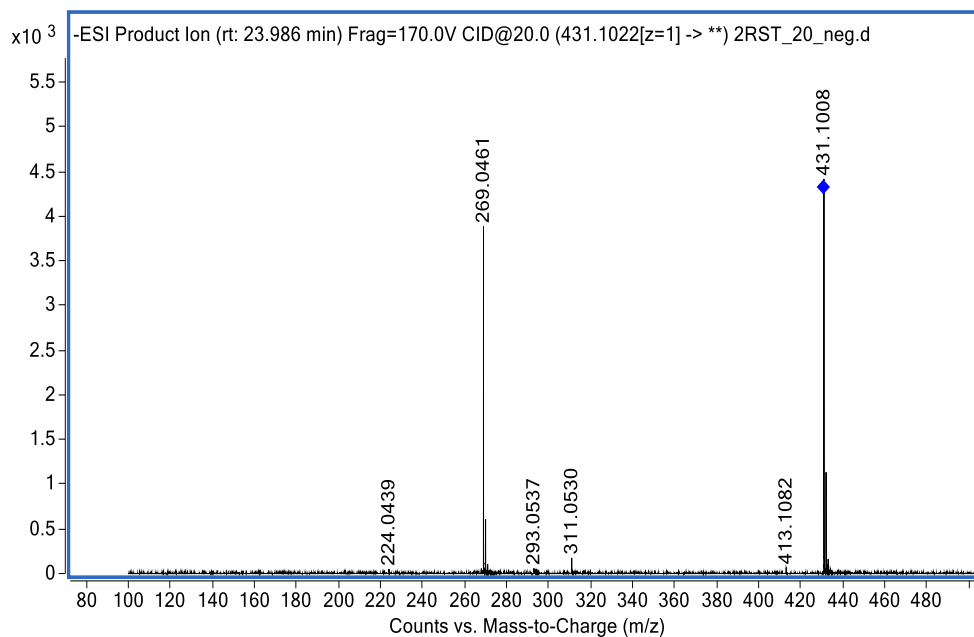


Рисунок 23 – MS/MS спектры эмодин гликозида

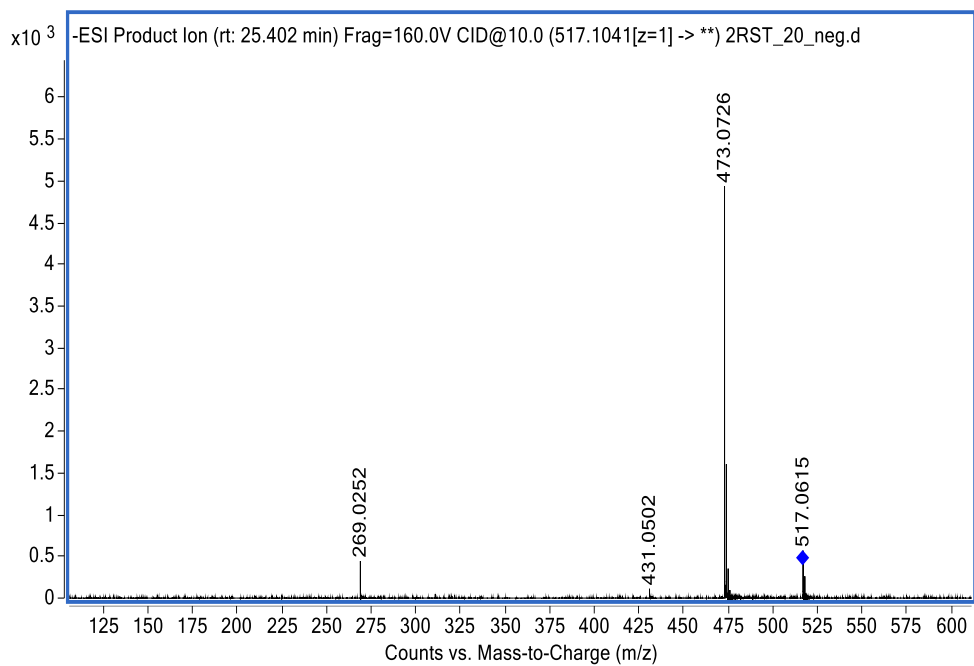


Рисунок 24 – МС/МС спектры эмодин малонил гексозы

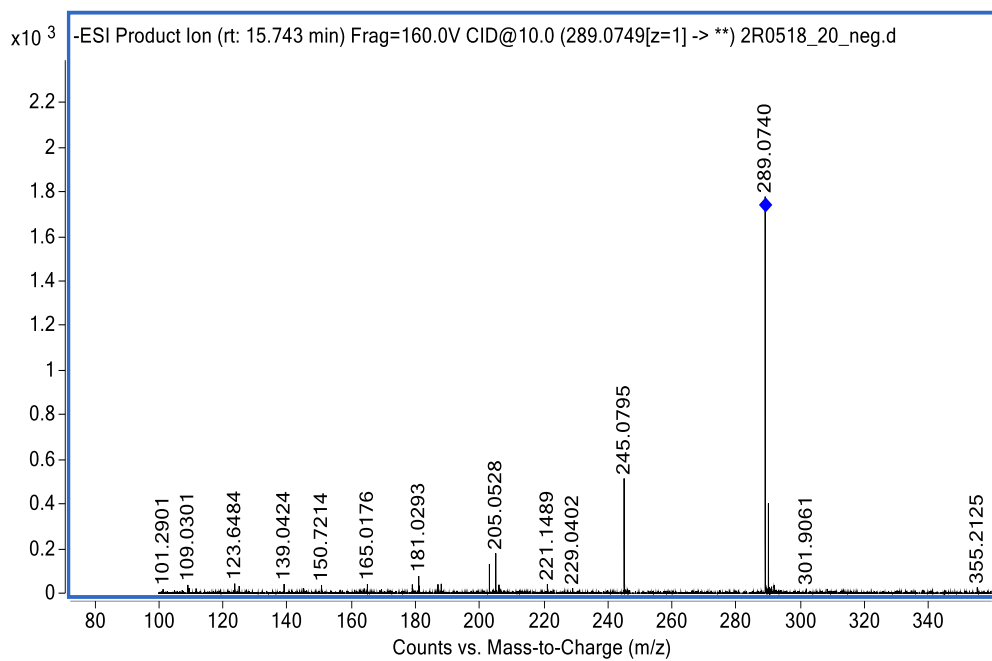


Рисунок 25 – МС/МС спектры ЭЖ

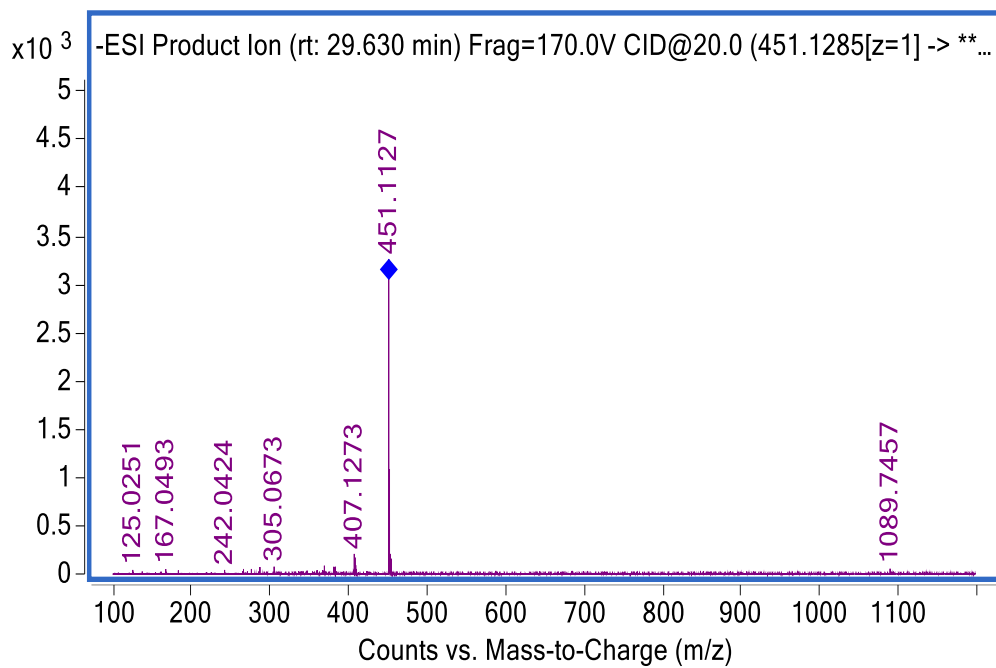


Рисунок 26 – MS/MS спектры ЭКГ

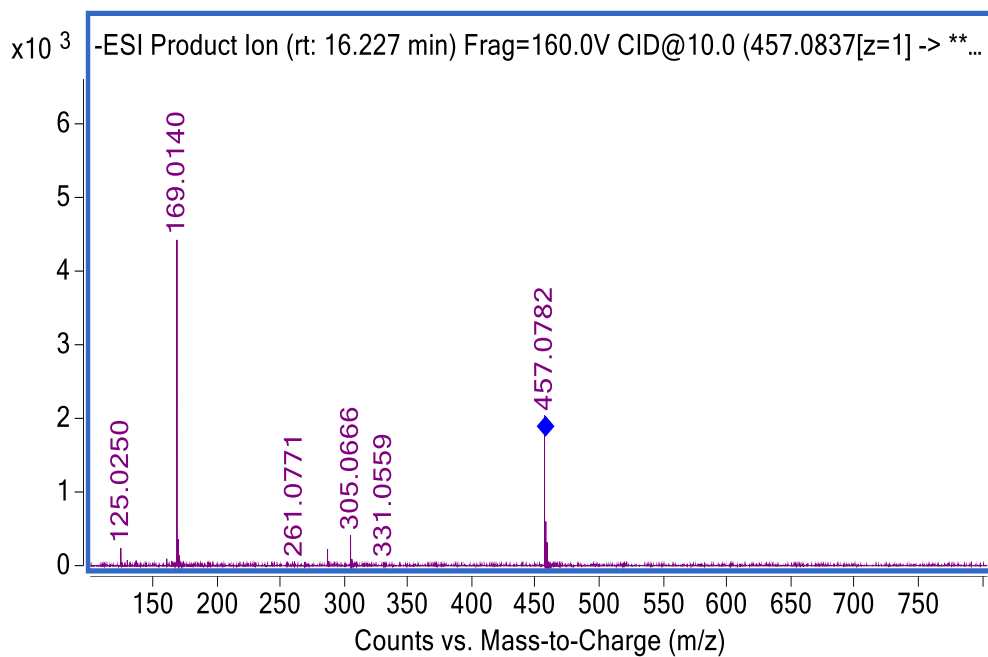


Рисунок 27 – MS/MS спектры ЭКГ

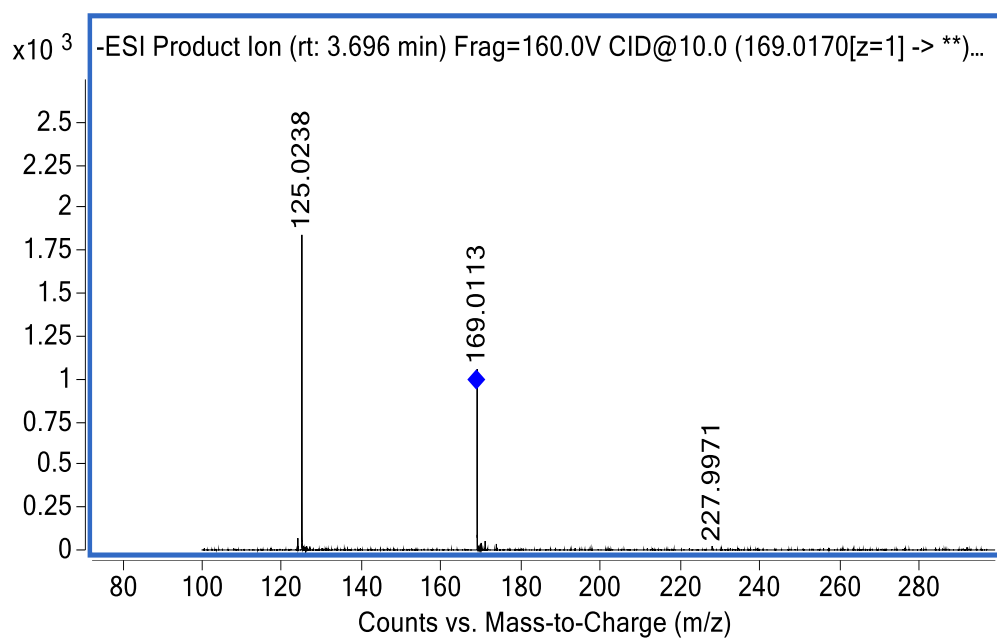


Рисунок 28 – MS/MS спектры галловой кислоты

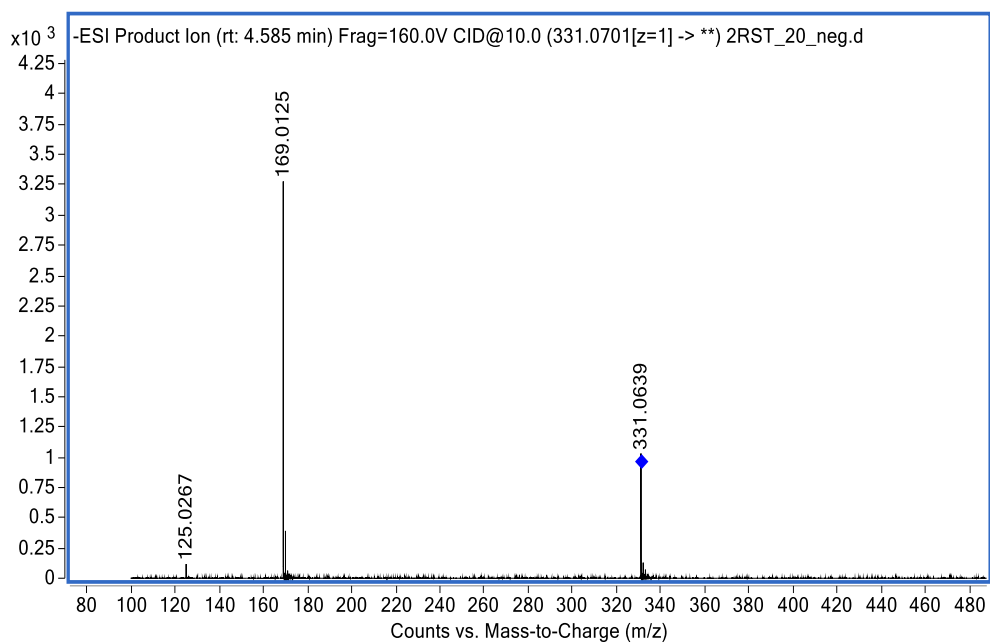


Рисунок 29 – MS/MS спектры гексозида галловой кислоты

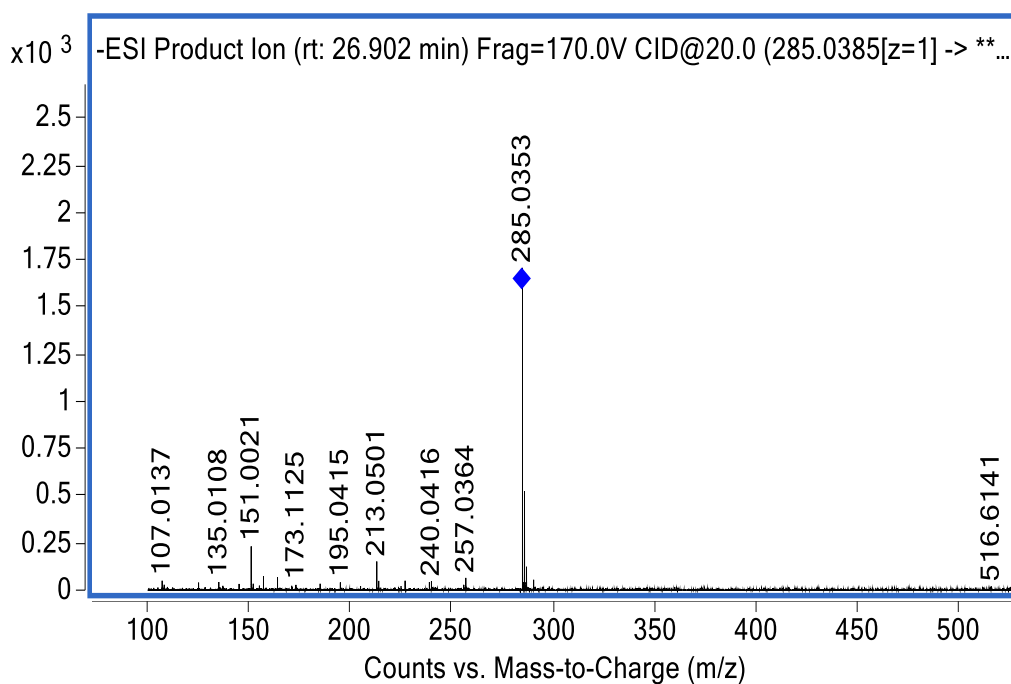


Рисунок 30 – МС/МС спектры кемпферола

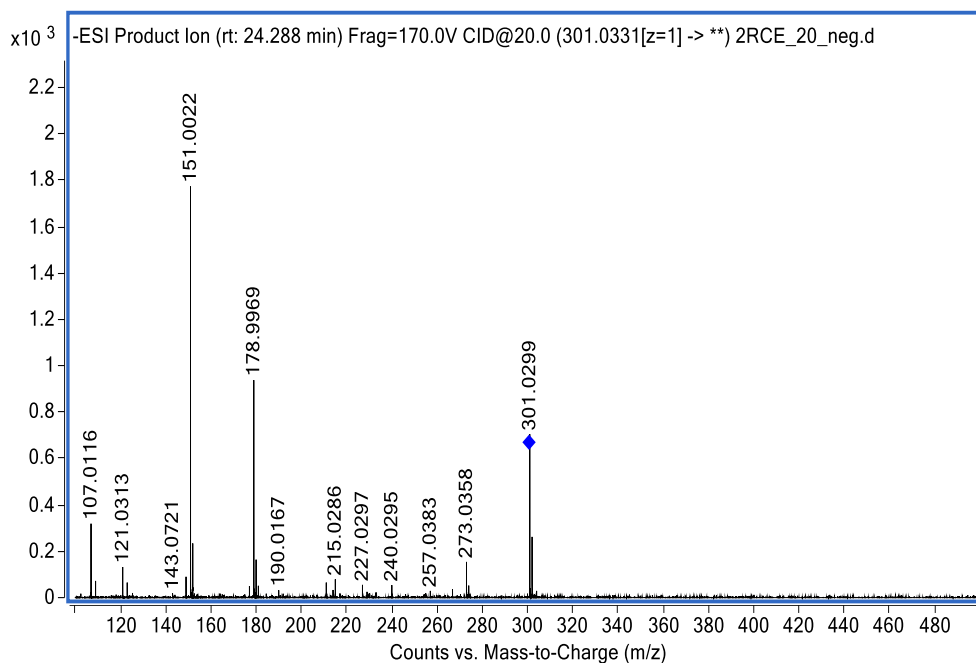


Рисунок 31 – МС/МС спектры кверцетина

Масс-хроматограммы, полученные при анализе методом LC-MS показали некоторые видимые различия между образцами. Результаты изучения представлены на рисунках 32, 33, 34. На представленных хроматограммах можно увидеть, что антраценпроизводные определяются после 25-й минуты анализа, тогда как простые фенольные соединения вымыты из колонки в первые минуты анализа, а флавоноиды и катехины в середине анализа на 13-25 мин.

Нами проведен анализ зависимости химического состава экстракта из корней ревеня сердцевидного, от использованных экстрагентов (в зависимости от полярности). Исходя из полученных хроматограмм, можно сделать вывод, что экстрагент играет ведущую роль в определении состава экстрактов. *Дихлорметан* (3) и *хлороформ* (5) экстрагировали только наименее полярные компоненты, как это видно на масс-хроматограммах (рисунок 32).

Анализ химического состава экстрактов (экстрагент – 50 % *этанол Р*) из корней ревеня сердцевидного, собранных в разное время года, показывает, что, максимальное количество и разнообразие производных антрахинона наблюдается в экстрактах из корней, собранных ранней весной и осенью, в отличие от флавоноидов, которые более распространены и лучше представлены в образцах, собранных поздней осенью (рисунок 33).

Результаты анализа показывают, что в исследуемых органах растения содержатся большое разнообразие вторичных метаболитов (рисунок 34), корни и стебли наиболее богаты метаболитами – как антрахинонами, так и другими фенольными соединениями, тогда как экстракты из листьев и семян имели только несколько пиков в центральной части цикла, что объясняется присутствием флавоноидов и их производных.

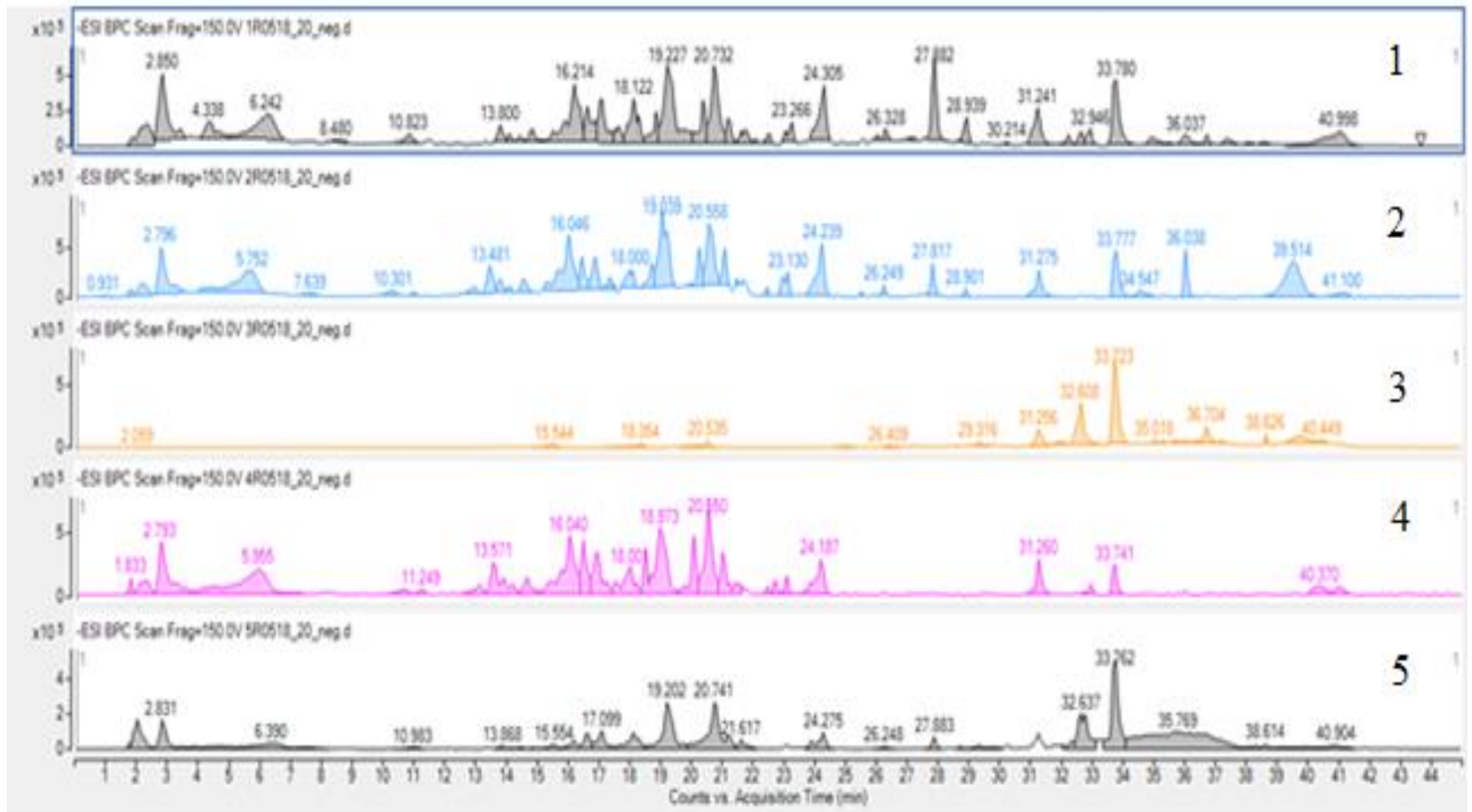


Рисунок 32 – Хроматограммы влияния экстрагента на химический состав экстракта из корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.) (1 – 96 % этанол P, 2 – 50 % этанол P, 3 – дихлорметан, 4 – вода P, 5 – хлороформ)

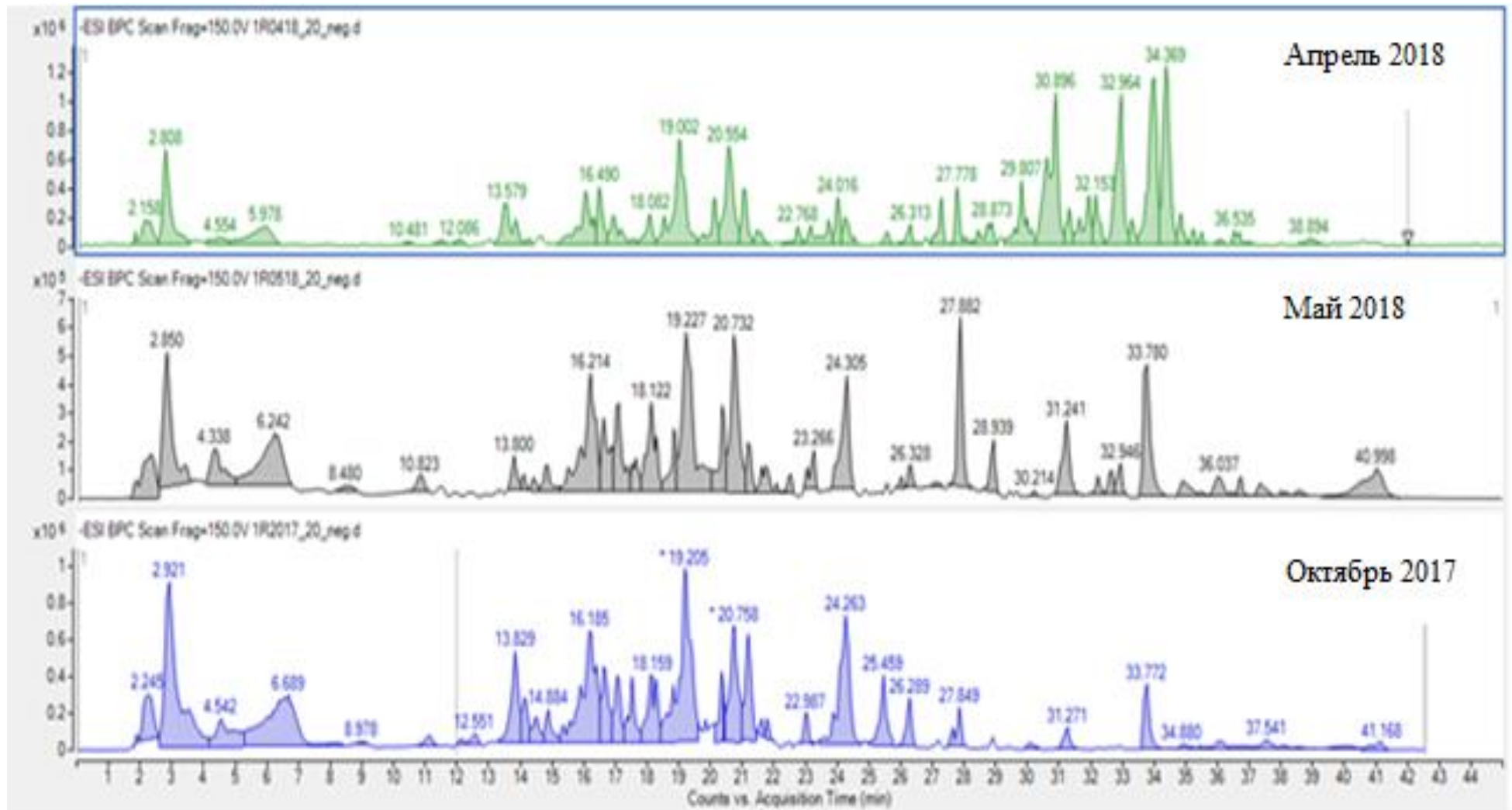


Рисунок 33 – Хроматограммы зависимости химического состава экстрактов из корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.) от периода сбора корней

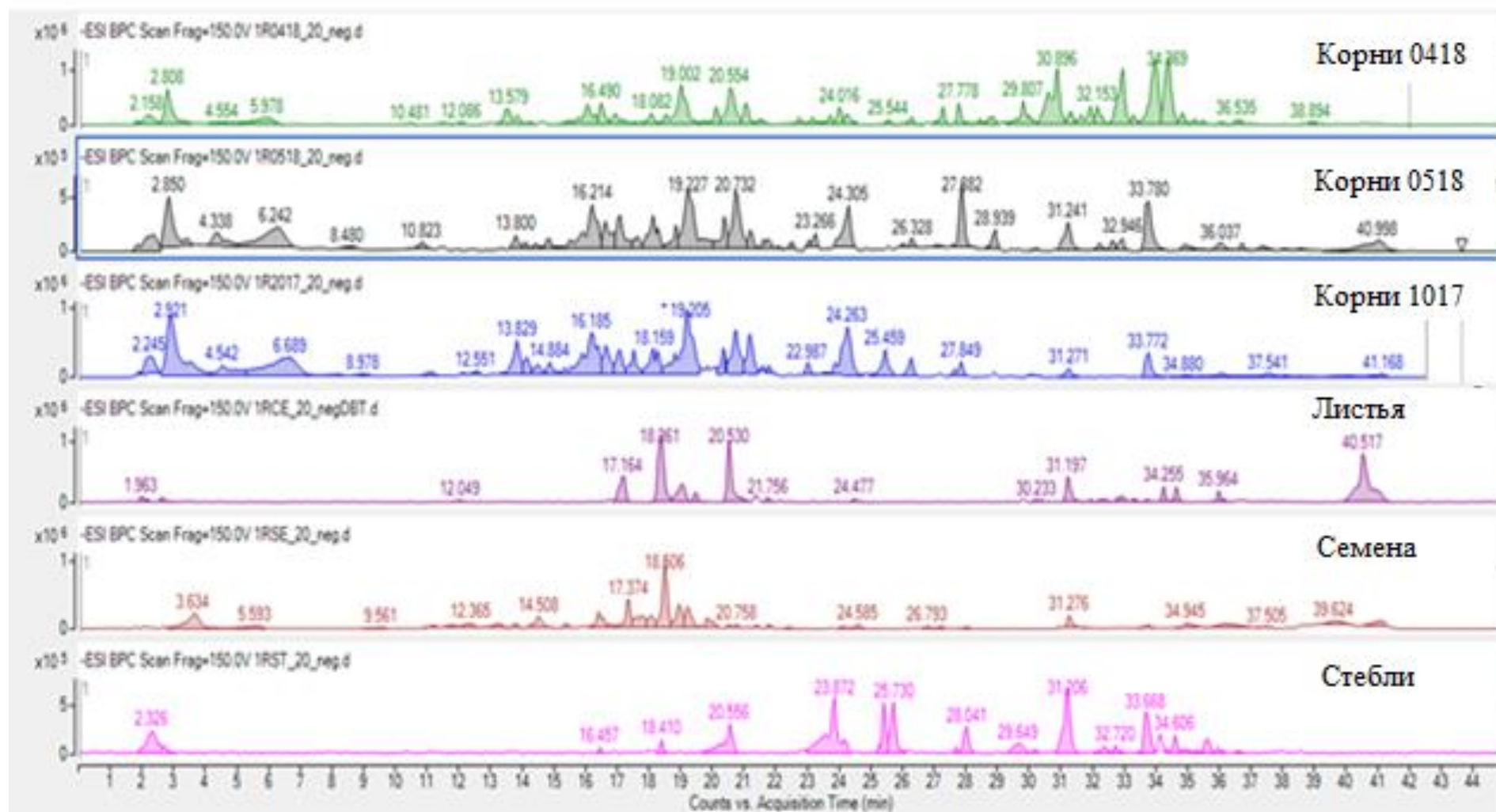


Рисунок 34 – Хроматограммы различия химического состава экстрактов из различных органов ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.) (экстрагент – 50 % этанол *P*, хроматограммы записаны в режиме отрицательной ионизации)

Количественный анализ наиболее распространенных метаболитов в экстрактах корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного

Нами также проведен количественный анализ 7 соединений, относящихся к антрахинонам и другим фенольным соединениям, которые присутствовали в значительных количествах во всех органах, чтобы получить данные не только о составе экстрактов, но и о влиянии применяемых условий экстракции (выбор экстрагента) и количественном распределении выбранных метаболитов в органах растений. Количественное определение соединений проводили по калибровочным графикам эталонных соединений. Нами получены уравнения калибровочной кривой: $y = 9,17888x - 6857142$ (для истициина), $R^2 = 0,9975$; $y = 14449435x + 27462270$ (для ЭКГ), $R^2 = 0,9982$; $y = 16416641x + 34537978$ (для рутина) ($R^2 = 0,9986$). В качестве внешнего стандарта для количественного определения антрахинонов использовали истицин, ЭКГ – для количественного определения катехинов и рутозид для количественного определения флавоноидов.

Анализ экстрактов, полученных с использованием различных экстрагентов (вода Р, 96 % этанол Р, 50 % этанол Р, хлороформ и дихлорметан) показал, что для максимального выделения вторичных метаболитов из исследуемых органов ревеня сердцевидного наиболее подходящим экстрагентом является 50 % этанол Р (таблица 9).

В экстрактах из листьев, стеблей и семян (экстрагент – 96 % этанол Р, 50 % этанол Р и вода Р) доминирующими соединениями были рутозид (0,08 – 4,87 %) и ЭКГ (0,05 – 2,16 %). В экстрактах из корней, полученных с теми же растворителями, преобладало содержание эмодина (0,34 – 1,29 %) и ЭКГ (2,290 – 5,004 %). Обнаружено наибольшее содержание эмодина (1,29 %) и ЭКГ (5,004 %) в экстракте из корней на основе 50 % этанола Р; рутозида (4,87 %) – в водном экстракте из листьев ревеня сердцевидного (таблица 9).

Проведенная работа показала, что ремень сердцевидный богат фенольными соединениями, в частности антраценпроизводными, катехинами и флавоноидами (таблица 9).

Таблица 9 – Количественное содержание основных БАВ в отдельных органах ревеня сердцевидного, в зависимости от используемых растворителей

Экстрагент	Соединение	Листья	Семена	Стебли	Корни 2017	Корни 04.2018	Корни 05.2018
1	2	3	4	5	6	7	8
96 % этанол Р	Эмодин	0.0614± 0.0009	0.0694± 0.0017	0.6581± 0.0056	0.5174± 0.0043	0.3626± 0.003	0.8023± 0.0152
	Алоээмодин	0.0037± 0.00006	0.0029± 0.00002	0.0135± 0.00008	0.0889± 0.0021	0.0049± 0.0007	0.0089± 0.0001
	ЭКГ	0.8552± 0.0264	0.7824± 0.0147	0.0509± 0.0011	2.93± 0.0921	2.5052± 0.0276	2.38± 0.0316

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6	7	8
	ЭГКГ	0.0151± 0.0002	0.24± 0.0064	0.0001± 0.000003	0.4394± 0.0034	0.2467± 0.0035	0.1265± 0.005
	ЭЖ	0.0304± 0.0009	0.0736± 0.0027	0.0116± 0.00008	0.0274± 0.0012	0.0114± 0.0002	0.1100± 0.0042
	Рутозид	2.108± 0.0244	1.614± 0.0361	0.1504± 0.0026	0.0327± 0.0002	0.0155± 0.0003	0.0160± 0.0003
	Кемпферол гликозид	0.0410± 0.0004	0.0032± 0.0001	0.0043± 0.00006	0.0433± 0.001	0.0428± 0.0006	0.0225± 0.0001
50 % этанол Р	Эмодин	0.5420± 0.0114	0.1416± 0.0012	0.4482± 0.0194	1.29± 0.0068	0.9650± 0.027	0.7956± 0.022
	Алоээмодин	0.0025± 0.00002	-	0.0293± 0.0003	0.1273± 0.0007	0.0539± 0.0036	0.017± 0.0003
	ЭКГ	2.1589± 0.0131	2.0829± 0.0031	1.6876± 0.0132	3.084± 0.0319	3.3669± 0.0262	5.004± 0.1265
	ЭГКГ	0.2350± 0.0017	0.6432± 0.0195	0.0363± 0.0003	0.2212± 0.0028	0.3596± 0.0026	0.24± 0.0015
	ЭЖ	0.0464± 0.0005	0.0416± 0.0004	0.0873± 0.005	0.0213± 0.00004	0.0222± 0.0005	0.081± 0.0033
	Рутозид	0.0757± 0.0009	2.0235± 0.0106	0.8525± 0.009	0.0232± 0.00003	0.4144± 0.0064	0.022± 0.0005
	Кемпферол гликозид	0.1564± 0.0051	0.0466± 0.0001	0.1408± 0.0021	0.0549± 0.0017	0.0159± 0.0007	0.021± 0.0003
Дихлорметан	Эмодин	0.1241± 0.0005	0.0004± 0.00001	1.1747± 0.0354	0.2855± 0.0009	0.7823± 0.0180	1.0646± 0.0287
	Алоээмодин	0.0002± 0.00002	-	-	-	-	-
	ЭКГ	0.0032± 0.0002	0.0022± 0.00002	0.0403± 0.0021	0.0019± 0.00004	0.0045± 0.00009	0.0014± 0.00015
	ЭГКГ	-	0.0003± 0.00002	0.0008± 0.00005	0.0002± 0.000006	0.0003± 0.00002	0.00009± 0.00001
	ЭЖ	0.0007± 0.00002	0.0002± 0.000002	0.0006± 0.00004	0.0004± 0.00003	0.0003± 0.00002	0.0003± 0.00002
	Рутозид	0.0106± 0.0002	0.0014± 0.00005	0.0059± 0.0001	0.0003± 0.00003	0.0018± 0.00001	-
	Кемпферол гликозид	-	0.0005± 0.00001	0.0019± 0.00006	-	-	-
Вода Р	Эмодин	0.0197± 0.0001	0.1898± 0.001	0.06± 0.0008	0.8431± 0.0308	0.5222± 0.0337	0.3369± 0.011
	Алоээмодин	-	0.0029± 0.000009	0.0027± 0.00005	0.0831± 0.001	0.0257± 0.0028	0.011± 0.00008
	ЭКГ	1.424± 0.0111	1.7212± 0.0035	0.6364± 0.0134	2.5042± 0.0131	2.76± 0.1116	2.29± 0.0196
	ЭГКГ	0.1107± 0.0005	0.7922± 0.0097	0.0144± 0.00004	0.1564± 0.0004	0.2335± 0.0014	0.1224± 0.0028
	ЭЖ	0.0087± 0.00004	0.0557± 0.0021	0.0341± 0.0002	0.0186± 0.00009	0.0178± 0.0003	0.0421± 0.0009

Продолжение таблицы 9

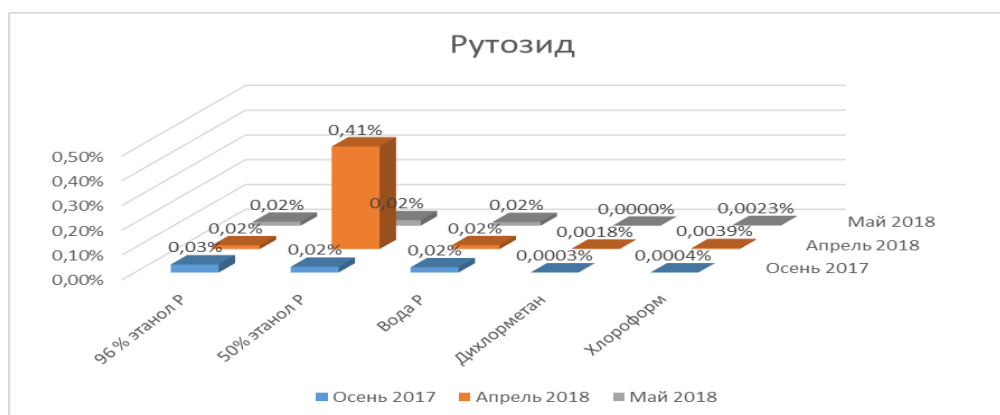
	2	3	4	5	6	7	8
	Рутозид	4.8664± 0.0604	1.9050± 0.0102	0.5992± 0.0171	0.0211± 0.0003	0.0157± 0.0006	0.015± 0.0004
	Кемпферол гликозид	0.1299± 0.0016	0.0181± 0.00005	0.0567± 0.002	0.014± 0.00006	0.011± 0.0013	0.0049± 0.00007
Хлороформ	Эмодин	0.0658± 0.0026	0.0375± 0.0006	0.37±0.0 038	0.5656± 0.0417	0.6566± 0.0161	0.8611± 0.0195
	Алоээмодин	-	-	-	-	-	-
	ЭКГ	0.0024± 0.00002	0.0019± 0.00002	0.0035± 0.00005	0.0034± 0.00005	0.0011± 0.00005	0.8647± 0.0545
	ЭГКГ	0.0001± 0.000005	0.0002± 0.000001	0.0002± 0.00001	0.0006± 0.00004	0.0002± 0.00002	0.0193± 0.00005
	ЭК	0.0001± 0.00002	0.0008± 0.00003	0.0006± 0.0001	-	0.0003± 0.00003	0.0459± 0.0015
	Рутозид	0.0007± 0.0001	0.0005± 0.00001	0.0005± 0.00006	0.0004± 0.00001	0.0039± 0.0002	0.0023± 0.00005
	Кемпферол гликозид	0.0041± 0.00003	-	-	0.0042± 0.00008	0.0102± 0.0007	0.0076± 0.0003

Изучение сезонной изменчивости содержания биологически активных веществ в экстрактах из корней ревеня сердцевидного

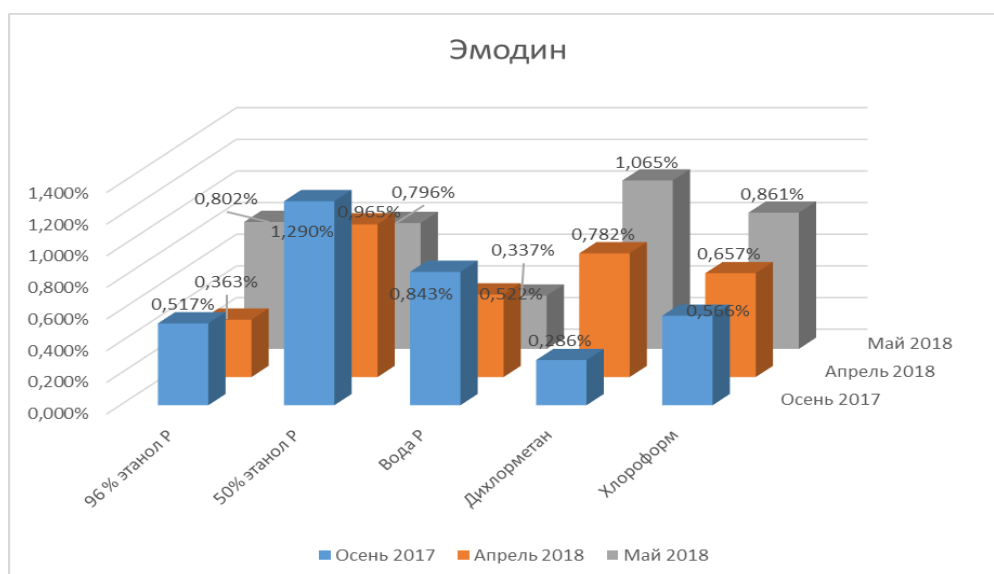
Изучение влияния сезона сбора на содержание анализируемых соединений в корнях показало сильное влияние на содержание рутозида. Самое высокое содержание рутозида наблюдается в экстракте из корней ревеня сердцевидного, собранных весной на 50 % этаноле $P - 0,41\%$ (рисунок 35 (а)).

Как видно из рисунка 35 (б) во всех анализируемых экстрактах из корней ревеня сердцевидного отмечено повышенное содержание эмодина. В экстракте из корней ревеня сердцевидного, собранных осенью (экстрагент 50 % этанол P) содержание эмодина – 1,290 %, а в экстракте из корней, собранных весной составляет – 1,065 % (экстрагент – дихлорметан) (рисунок 35 (б)).

Наибольшее содержание ЭКГ наблюдается в экстракте из корней, собранных в мае месяце 2018 г. (экстрагент 50 % этанол P) и составляет 5,004 % (рисунок 35 (в)).



а)



б)



в)

Рисунок 35 – Изменчивость содержания рутозида (а), эмодина (б) и ЭКГ (в) в экстрактах из корней в зависимости от сезона сбора и используемого растворителя

3.4 Определение количественного содержания основных групп биологически активных веществ в сырье ревеня сердцевидного

Для стандартизации сырья ревеня сердцевидного определено количественное содержание основных групп БАВ.

Обнаружение полисахаридов:

С реактивом Фелинга. Образовывался кирпично-красный осадок меди оксида, свидетельствующий о наличии свободных сахаров [108, 109, 139].

Реакция с α -нафтолом. Появлялось красно-фиолетовое окрашивание, что свидетельствовало о наличии веществ гликозидного характера.

На основании проведенных качественных реакций в водных извлечениях из листьев, стеблей и корней ревеня сердцевидного установлено содержание свободных и связанных сахаров.

Количественное определение суммы водорастворимых полисахаридов в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного проводили гравиметрическим методом [101, с. 686–687].

Образование аморфного коричневого осадка при добавлении к исследуемой водной вытяжке листьев, стеблей и корней ревеня сердцевидного 96 % этаноле *P* свидетельствует о присутствии полисахаридов в исследуемой вытяжке.

Результаты количественного определения водорастворимых полисахаридов в листьях, стеблях и корнях ревеня сердцевидного приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Количественное содержание водорастворимых полисахаридов в листьях, стеблях и корнях ревеня сердцевидного

Вид сырья	m	n	X _i	X _{ср.}	S ²	S _{ср.}	P	t (P, n)	Доверительный интервал	ε _{ср.} , %
Листья ревеня сердцевидного	5	4	33,89	34,42	0,355	0,266	0,95	2,78	34,42±0,74	2,15
			34,12							
			34,45							
			34,67							
			34,98							
Стебли ревеня сердцевидного	5	4	45,29	45,12	0,002	0,022	0,95	2,78	45,12±0,06	0,13
			44,98							
			44,97							
			45,15							
			45,21							
Корни ревеня сердцевидного	5	4	25,72	25,66	0,135	0,164	0,95	2,78	25,66±0,46	0,12
			25,63							
			25,75							
			25,67							
			25,54							

Как видно из таблицы, самое высокое содержание полисахаридов наблюдается в стеблях ревеня сердцевидного – 45,12 %.

Обнаружение и количественное определение содержания аскорбиновой кислоты и свободных органических кислот.

Органические кислоты – группа вторичных метаболитов с широким фармакологическим действием. Они участвуют в процессе дыхания растений, в биосинтезе ароматических аминокислот, пигментов, алкалоидов и микроорганизмов. В организме человека органические кислоты принимают участие в различных обменных процессах, улучшает деятельность ЖКТ, проявляют бактерицидное, антиоксидантное, противовоспалительное, желчегонное действие. В овощах и фруктах, имеющих кислый вкус,

органические кислоты встречаются в свободном состоянии или в виде кислых солей. [139, 140].

При определении содержания органических кислот и аскорбиновой кислоты в листьях, стеблях и корнях ревеня сердцевидного методом ТСХ на хроматограмме испытуемых растворов наблюдаются зоны адсорбции с $R_f = 0,72$ (яблочная кислота), $R_f = 0,13$ (щавелевая кислота) и $R_f = 0,69$ (аскорбиновая кислота) [101, с. 695].

Результаты количественного определения БАВ в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного титриметрическим методом приведены в таблице 11 [101, 108, 109, 140].

Таблица 11 – Количественное содержание аскорбиновой кислоты и органических кислот в сырье ревеня сердцевидного

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту, %	Содержание суммы свободных органических кислот в пересчёте на щавелевую кислоту, %	Содержание аскорбиновой кислоты, %
1	Листья ревеня сердцевидного	1,00±0,04	0,67±0,02	0,09±0,03
2	Стебли ревеня сердцевидного	1,01±0,04	0,68±0,03	0,03±0,01
3	Корни ревеня сердцевидного	0,18±0,07	0,12±0,02	0,03±0,02

Результаты эксперимента показали, что листья ревеня сердцевидного содержат наибольшее количество свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты.

Количественное определение суммы полифенольных соединений

В результате фитохимического анализа сырья (корней, листьев, стеблей) ревеня сердцевидного методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией наряду с антраценпроизводными были обнаружены полифенольные соединения [110].

Исследование спектров поглощения извлечения из корней ревеня сердцевидного при количественном определении суммы полифенолов в пересчете на галловую кислоту показали, что максимум поглощения спирто – водных извлечений из корней, листьев и стеблей ревеня сердцевидного наблюдается при длине волны 270 ± 5 нм (рисунки 36, 37, 38).

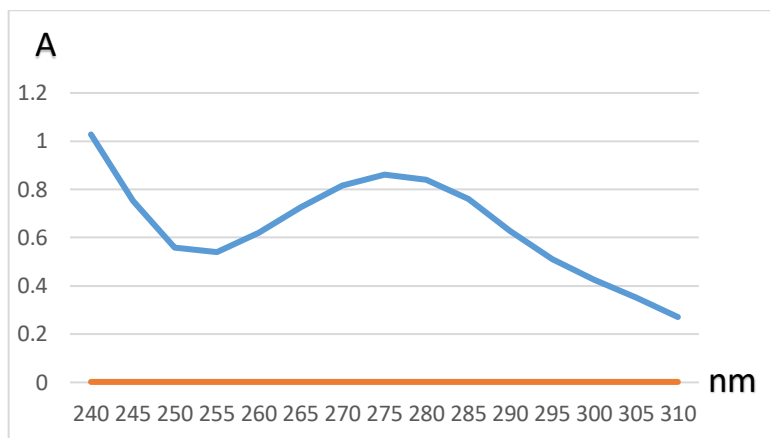


Рисунок 36 – Спектр поглощения извлечения из корней ревеня сердцевидного

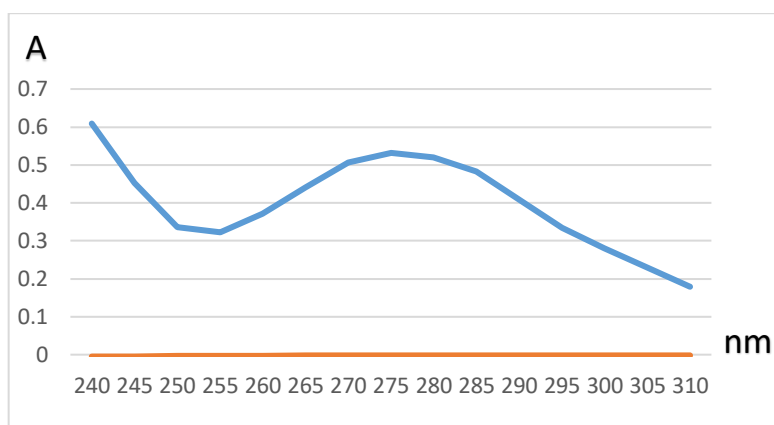


Рисунок 37 – Спектр поглощения извлечения из листьев ревеня сердцевидного

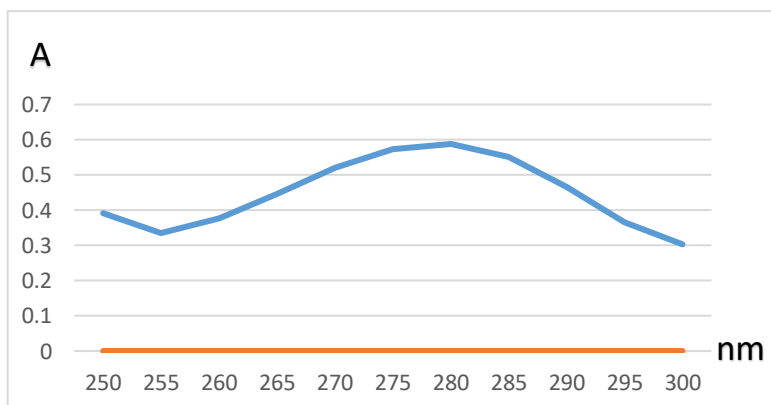


Рисунок 38 – Спектр поглощения извлечения из стеблей ревеня сердцевидного

Результаты количественного определения приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Количественное содержание суммы полифенольных соединений в сырье ревеня сердцевидного

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, %
1	Листья ревеня сердцевидного	19,68±0,17
2	Стебли ревеня сердцевидного	4,16±0,05
3	Корни ревеня сердцевидного	22,70±0,09

Наибольшее количество полифенольных соединений накапливается в корнях ревеня сердцевидного – 22,70 %, незначительно отличается содержание полифенолов в листьях ревеня сердцевидного – 19,68 %. Наименьшее содержание полифенольных соединений было отмечено в стеблях изучаемого вида ревеня – 4,16 %. Полученные данные соответствуют результатам фитохимического исследования сырья (корней, листьев и стеблей) ревеня сердцевидного методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией.

Количественное определение содержания флавоноидов в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного [101, с. 702-703].

Изучение спектров поглощения спиртовых извлечений из корней, листьев и стеблей ревеня сердцевидного показали, что максимум поглощения извлечений отмечается при длине волны от 405 нм до 415 нм, что соответствует максимуму поглощения раствора СО рутина (рисунок 39, 40, 41).

Показано, что в области рабочих концентраций поглощение исследуемого раствора подчиняется закону светопоглощения (Ламберта-Бера).

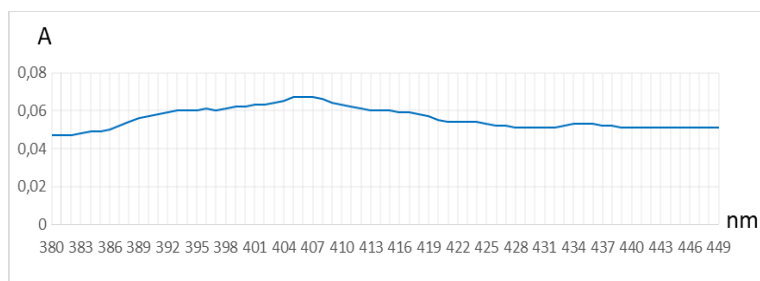


Рисунок 39 – Спектр поглощения спиртового извлечения из корней ревеня сердцевидного

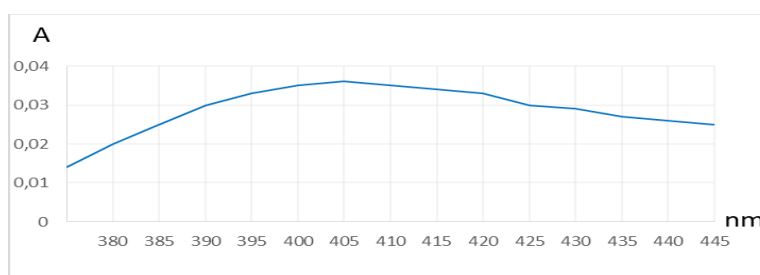


Рисунок 40 – Спектр поглощения спиртового извлечения из листьев ревеня сердцевидного

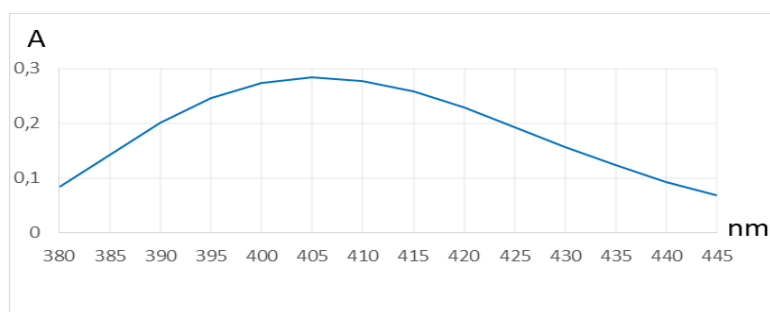


Рисунок 41 – Спектр поглощения спиртового извлечения из стеблей ревеня сердцевидного

Результаты количественного определения приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Количественное содержание флавоноидов в сырье ревеня сердцевидного

№ п/п	Вид сырья	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
1	Листья ревеня сердцевидного	2,54±0,08
2	Стебли ревеня сердцевидного	0,38±0,04
3	Корни ревеня сердцевидного	0,14±0,03

Данные приведенные в таблице показывают, что наибольшее содержание флавоноидов установлено в листьях, что соответствует данным, полученным при фитохимическом исследовании органов ревеня сердцевидного методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией.

Изучение аминокислотного состава и количественное определение суммы свободных аминокислот

В организме аминокислоты выполняют важную функцию строительного материала. Они участвуют в биосинтезе белковых молекул, в образовании гормонов, ферментов, медиаторов и других соединений присутствующих в обмене веществ. Определение содержания аминокислот в организме позволяет выявить наличие различных заболеваний и патологических нарушений. Источником природных аминокислот являются лекарственные растения [114, 115, 141, 142].

Определение состава и содержания аминокислот в сырье (листьях, стеблях и корнях) ревеня сердцевидного проводили согласно методике, описанной в Главе 2, методом ионообменной жидкостно-колоночной хроматографии [114, 115].

Анализ показал, что для всех изучаемых объектов характерно наличие 18 аминокислот, из них 8 незаменимых аминокислот – лизин, гистидин, изолейцин, лейцин, треонин, метионин, валин и фенилаланин (таблица 14).

В наибольшем количестве в листьях ревеня сердцевидного накапливается глутаминовая кислота – 19,81 %. В значительных количествах были обнаружены

аспарагиновая кислота – 8,91 %, лизин – 7,33 %, аланин – 7,07 % и лейцин – 7,05 %. В наименьшем количестве присутствует аминокислота метионин – 1,79 %.

Таблица 14 – Результаты аминокислотного анализа листьев, стеблей и корней ревеня сердцевидного

№ п/п	Аминокислота	Листья, мг	Стебли, мг	Корни, мг	Листья, %	Стебли, %	Корни, %
1	ГАМК	0,472	0,363	0,008	3,96	6,05	0,69
2	Лизин	0,873	0,414	0,115	7,33	6,90	9,42
3	Гистидин	0,267	0,144	0,035	2,24	2,40	2,91
4	Аргинин	0,538	0,308	0,141	4,52	5,14	11,60
5	Аспарагиновая кислота	1,060	0,513	0,122	8,91	8,56	9,99
6	Треонин	0,483	0,226	0,057	4,06	3,77	4,65
7	Серин	0,697	0,268	0,055	5,85	4,47	4,51
8	Глутаминовая кислота	2,358	1,378	0,188	19,81	22,97	15,46
9	Пролин	0,638	0,239	0,058	5,36	3,98	4,72
10	Глицин	0,574	0,251	0,066	4,82	4,19	5,38
11	Аланин	0,841	0,421	0,076	7,07	7,03	6,22
12	Цистин	0,216	0,063	0,039	1,82	1,05	3,20
13	Валин	0,452	0,301	0,020	3,80	5,02	1,67
14	Метионин	0,213	0,115	0,031	1,79	1,92	2,56
15	Изолейцин	0,352	0,246	0,053	2,96	4,10	4,37
16	Лейцин	0,839	0,411	0,066	7,05	6,86	5,36
17	Тирозин	0,404	0,154	0,063	3,39	2,57	5,21
18	Фенилаланин	0,625	0,181	0,025	5,25	3,01	2,07
	Сумма	11,902	6,000	1,218	100	100	100

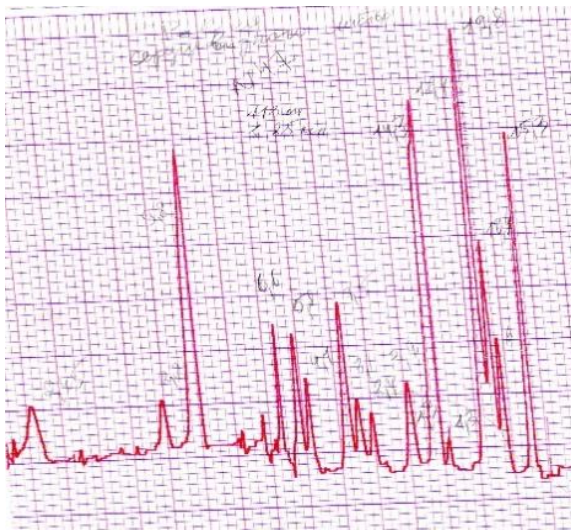
Примечание: Расчет на 100 мг образца

В стеблях ревеня сердцевидного в количественном отношении превалирует глутаминовая кислота, содержание которой составило – 22,97 %. Значительное количество характерно для таких аминокислот, как аспарагиновая кислота – 8,56 % и аланин – 7,03 %. Цистеин содержится в наименьшем количестве – 1,05 %.

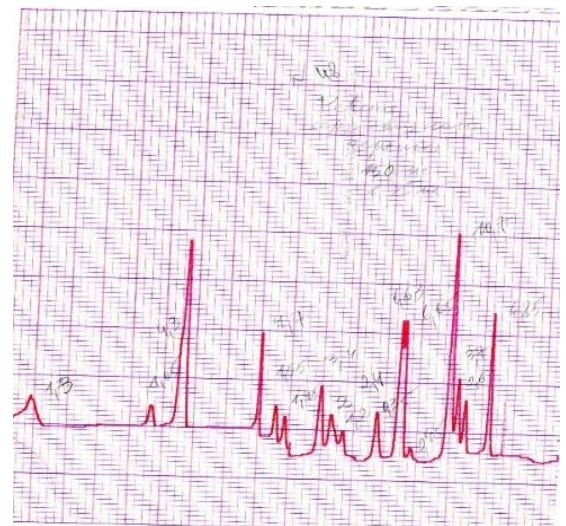
Как видно из таблицы, для корней ревеня сердцевидного характерно высокое содержание глутаминовой кислоты (15,46 %) и аргинина (11,60 %). В меньшем количестве содержатся аспарагиновая кислота (9,99 %) и лизин (9,42 %). Наименьшее содержание зафиксировано для ГАМК – 0,69 %.

В результате эксперимента установлено наибольшее содержание аминокислот в листьях ревеня сердцевидного – 11,902 мг/100 мг, тогда как в его стеблях содержание аминокислот составляет – 6,000 мг/100 мг, а в корнях – 1,218 мг/100 мг.

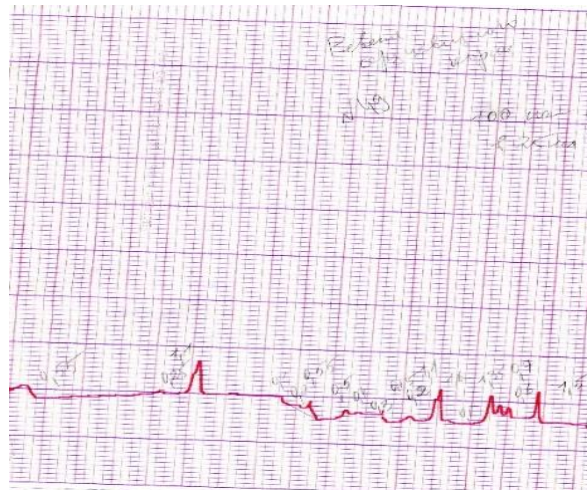
Хроматограммы аминокислот листьев, стеблей и корней ревеня сердцевидного приведены на рисунке 42 (а, б, в).



a)



б)



в)

Рисунок 42 – Хроматограмма аминокислот листьев (а), стеблей (б) и корней (в) ревеня сердцевидного

Для количественного определения суммы свободных аминокислот в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного была использована методика, основанная на реакции взаимодействия аминокислот с раствором нингидрина в изопропиловом спирте [111].

Исследование спектров показало, что максимум поглощения извлечений из листьев, стеблей и корней ревеня сердцевидного с 0,2 % раствором нингидрина в изопропиловом спирте наблюдается при длине волны 573 нм (рисунки 43, 44, 45).

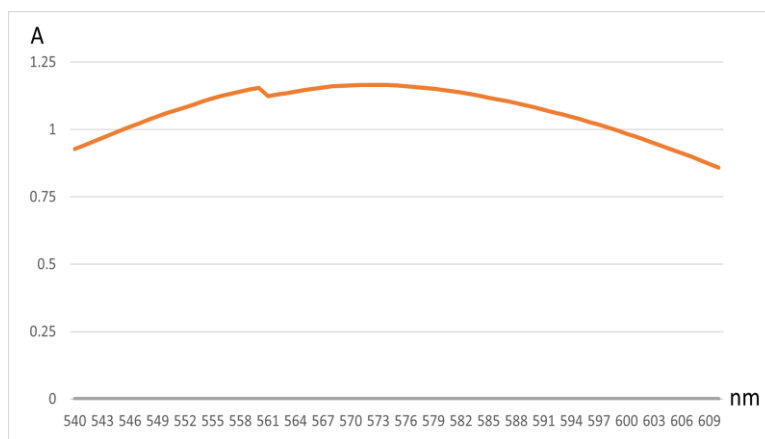


Рисунок 43 – Спектр поглощения извлечения из листьев ревеня сердцевидного с 0,2 % раствором нингидрина в изопропиловом спирте

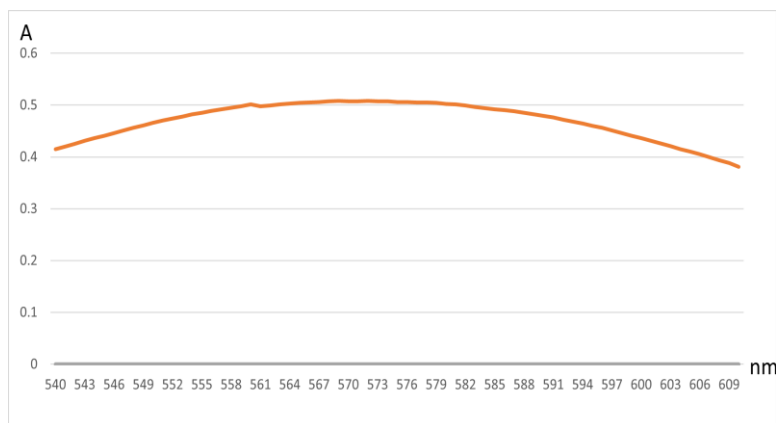


Рисунок 44 – Спектр поглощения извлечения из стеблей ревеня сердцевидного с 0,2 % раствором нингидрина в изопропиловом спирте

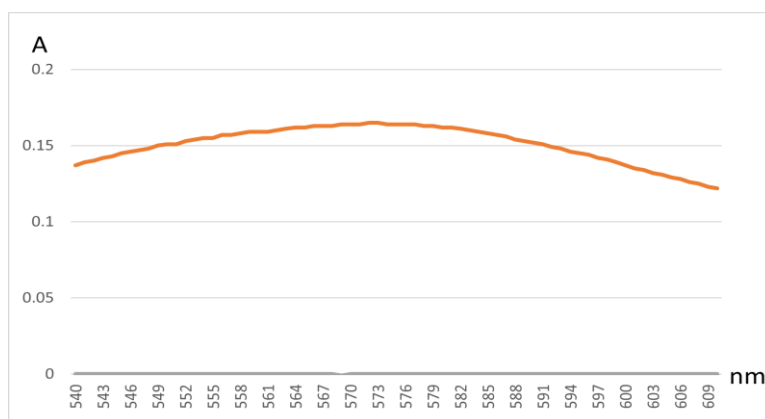


Рисунок 45 – Спектр поглощения извлечения из корней ревеня сердцевидного с 0,2 % раствором нингидрина в изопропиловом спирте

Результаты количественного определения представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Количественное содержание суммы свободных аминокислот в корнях, листьях и стеблях ревеня сердцевидного

№	Вид сырья	Содержание суммы аминокислот, в пересчете на лейцин, %
1	Корни ревеня сердцевидного	0,38±0,03
2	Листья ревеня сердцевидного	2,74±0,08
3	Стебли ревеня сердцевидного	1,11±0,05

Полученные результаты свидетельствуют, что наибольшее содержание суммы свободных аминокислот наблюдается в листьях ревеня сердцевидного, что в 2,5 раза выше, чем в черешках, и в 7 раз выше, чем в корнях. Полученные результаты хорошо согласуются с результатами определения количественного содержания аминокислот в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного методом ионообменной жидкостно-колоночной хроматографии.

Изучение содержания макро- и микроэлементов в сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного

Макро- и микроэлементы жизненно необходимы любому живому организму и без достаточного их количества в живом организме не могут протекать основные физиологические и биологические процессы. Содержание элементов в живых организмах, в том числе в организме человека зависит от содержания химических элементов в окружающей среде. Содержание макро- и микроэлементов в ЛРС оказывает влияние на биологическую активность суммарных экстрактов [143, 144, 145].

Определение проводили методом, описанным в Главе 2 [108, 116].

Результаты анализа приведены в таблице 16.

В сырье (корнях, листьях, стеблях) ревеня сердцевидного установлено и определено содержание 19 макро- и микроэлементов из них: 6 макроэлементов (P, Mg, Ca, Na, K, Si), 8 микроэлементов (Al, Fe, Mn, Ni, Mo, Си, Zn, Pb) [146].

Таблица 16 – Содержание макро- и микроэлементов в листьях, стеблях и корнях ревеня сердцевидного

№ п/п	Элемент	Листья ревеня сердцевидного, мг/100 г	Стебли ревеня сердцевидного, мг/100 г	Корни ревеня сердцевидного, мг/100 г
1	2	3	4	5
1	Fe	18,7	17,5	30
2	Si	150	100	330
3	P	260	125	30
4	Al	45	19	60
5	Mn	9,4	3,1	6,7
6	Mg	340	290	300
7	Pb	0,038	0,048	0,12
8	Ni	0,075	0,077	0,075

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5
9	Mo	0,038	0,097	0,075
10	Ca	600	680	1350
11	Cu	0,37	0,39	0,22
12	Zn	0,75	5,8	3,0
13	Na	110	100	150
14	K	2250	2700	1800
15	Sr	0,15	2,1	9,0
16	Co	<0,01	<0,03	<0,03
17	Cd	<0,01	<0,01	<0,01
18	As	<0,01	<0,01	<0,01
19	Hg	<0,01	<0,01	<0,01

Как видно из таблицы, в результате анализа определено, что листья и стебли ревеня сердцевидного содержат в наибольшем количестве макроэлементы, такие, как фосфор, магний, кальций, калий. Калий, кальций, кремний содержатся в наибольшем количестве в корнях ревеня сердцевидного.

Среди микроэлементов в исследуемых объектах преобладает содержание алюминия и железа.

Содержание тяжелых металлов находится в пределах допустимых норм для ЛРС и пищевых продуктов [146].

Определение количественного содержания каротиноидов и хлорофиллов проводили согласно методике, описанной в Главе 2 [112].

В хлоропластах листьев высших растений присутствуют два хлорофилла (а и б). Кроме хлорофиллов в фотосинтетических мембранах присутствуют красно-желтые пигменты – каротиноиды. Каротиноиды выступают также в роли светособирающего и фотозащитного аппарата.

Известна широкая фармакологическая активность природных растительных пигментов. Хлорофиллы обладают антиоксидантной, антимикробной и антибактериальной активностью. Каротиноиды участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, нормализуют обмен веществ и уровень потребления кислорода тканями организма, повышают устойчивость организма к инфекциям.

Для выделения хлорофиллов и каротиноидов из листьев и стеблей ревеня сердцевидного использовали 96 % этанол Р [147, 148, 149].

Результаты определения количественного содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях и стеблях ревеня сердцевидного спектрофотометрическим методом приведены в таблице 17.

Таблица 17 - Количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях и стеблях ревеня сердцевидного

№ п/п	Вид сырья	Концентрация хлорофиллов С _а , мг/л	Концентрация хлорофиллов С _б , мг/л	Сумма хлорофиллов С _{а+б} , мг/л	Количественное содержание хлорофиллов а (X, мг/г)	Количественное содержание хлорофиллов б (X, мг/г)	Концентрация каротиноидов, мг/л	Количественное содержание каротиноидов, (X, мг/г)
1	Листья	11,49	5,87	17,37	1,45	0,74	1,09	0,14
2	Стебли	3,35	4,36	7,71	0,12	0,16	4,60	0,17

Результаты исследований свидетельствуют о невысоком содержании хлорофилла а и б и каротиноидов в листьях и стеблях ревеня сердцевидного.

3.5 Фармацевтико-технологическое исследование сырья из корней ревеня сердцевидного

Для обоснования выбора рациональной технологии получения экстракта из корней ревеня сердцевидного, которая обеспечивает максимальный выход целевой группы БАВ изучены фармацевтико – технологические параметры сырья с различным размером частиц [118, 119, 150, 151]. Результаты изучения приведены в таблице 18.

Определение выхода экстрактивных веществ в зависимости от используемых экстрагентов (*вода Р* и 30 %, 50 %, 70 % и 95 % *этанол Р*) позволило выбрать оптимальный экстрагент для экстрагирования корней ревеня сердцевидного [119]. Результаты исследования приведены в таблице 19.

Таблица 18 – Фармацевтико – технологические параметры корней ревеня сердцевидного с различным размером частиц

Параметр	Фракции сырья, мм		
	до 0,75	от 0,75 до 1,0	от 1,0 до 1,3
1	2	3	4
Насыпная масса (d _н), г/см ³	0,49±0,01	0,42±0,12	0,40±0,01
Пористость (П _с)	0,58±0,02	0,62±0,15	0,64±0,21
Порозность (П _ж)	0,50±0,11	0,56±0,09	0,62±0,13
Сыпучесть, г/с	1,49±0,12	1,47±0,03	1,33±0,08

Продолжение таблицы 18

1	2	3	4
Угол естественного откоса, град	30 ⁰	32 ⁰	32 ⁰
Коэффициенты поглощения экстрагента			
<i>Вода P</i>	3,0±0,01	3,3±0,01	3,6±0,02
30 % <i>этанол P</i>	2,84±0,12	2,90±0,10	2,90±0,11
50 % <i>этанол P</i>	2,39±0,01	2,42±0,10	2,47±0,02
70 % <i>этанол P</i>	2,40±0,02	2,40±0,02	3,48±0,15
95 % <i>этанол P</i>	2,48±0,15	2,50±0,14	2,52±0,15

Таблица 19 – Выход экстрактивных веществ с использованием различных экстрагентов

Экстрагент	Выход экстрактивных веществ, %		
	Размер измельчения сырья, мм		
	до 0,75	от 0,75 до 1,0	от 1,0 до 1,3
<i>Вода P</i>	31,55±1,12	31,50±1,01	31,48±1,12
30 % <i>этанол P</i>	34,58±1,02	33,47±1,14	33,02±1,12
50 % <i>этанол P</i>	35,78±1,01	35,54±1,22	34,79±1,13
70 % <i>этанол P</i>	32,09±1,14	32,18±1,04	32,15±1,12
95 % <i>этанол P</i>	34,32±1,03	34,02±1,01	32,92±1,14

Примечание: приведены средние данные 5 определений.

Исследования показали, что для экстрагирования корней ревеня сердцевидного приемлемыми являются 30 % и 50 % *этанол P* [119].

3.6 Стандартизация сырья из корней ревеня сердцевидного

Идентификация антраценпроизводных в корнях ревеня сердцевидного

1) 0,5 г измельченных корней ревеня сердцевидного нагревали в течение 15 мин с 25 мл *кислоты хлороводородной разбавленной P*, охлаждали и прибавляли 20 мл *эфира P*. Водный (нижний) слой отбрасывали, а эфирный слой, окрашенный в желтый цвет, встряхивают с 10 мл *раствора аммиака разбавленного P1*. Водный (нижний) слой должен окраситься в интенсивный красно-фиолетовый цвет [152].

2) Определение проводили методом ТСХ, описанным в Главе 2.

На хроматограмме испытуемого раствора корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмолина (R_f около 0,68), могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.

После опрыскивания хроматографической пластинки раствором 100 г/л *калия гидроксида P* в *метаноле P* все зоны должны становиться фиолетовыми.

Допустимые примеси. Корни, почерневшие в изломе не более 5 %, органической примеси не более 0,5 %, минеральной примеси не более 0,5 %.

Потеря в массе при высушивании составляет не более 12 %.

Содержание золы общей не более 10 %.

Содержание золы нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной не более 2 %.

Микробиологическая чистота (категория 4 А по ГФ РК).

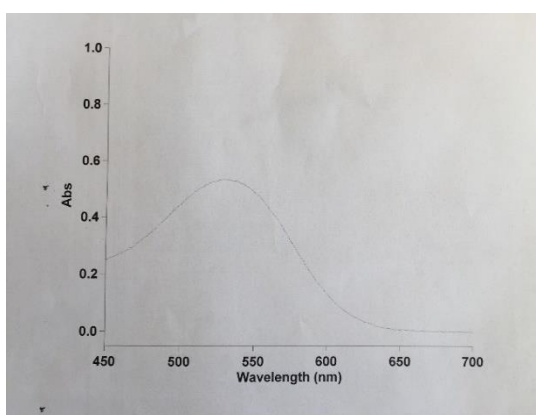
Содержание тяжелых металлов и радионуклидов находится в пределах допустимых норм для лекарственного растительного сырья и пищевых продуктов, соответствуют нормативным требованиям, и сырье ревеня сердцевидного относится к категории безопасных ЛРС.

Количественное определение суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин [101, 102, 103, 107, 152].

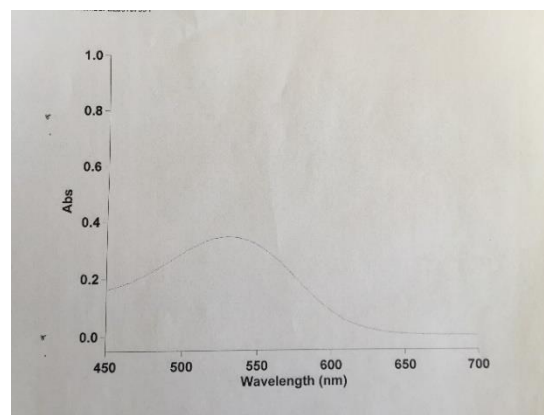
Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин – не менее 2,2 %.

Определение проводили спектрофотометрическим методом, описанным в Главе 2.

Максимум поглощения щелочно-аммиачных спиртовых извлечений корней ревеня сердцевидного наблюдается при длине волны 520 нм, что совпадает с максимумом поглощения щелочно-аммиачного спиртового раствора *СО эмодина* (рисунок 46).



а)



б)

Рисунок 46 – Электронный спектр щелочно-аммиачных растворов спиртовых извлечений *СО эмодина* (а) и корней ревеня сердцевидного (б)

Верификацию методики идентификации антраценпроизводных в корнях ревеня сердцевидного проводили по параметру специфичность. Испытание проводили методом ТСХ. На хроматограмме испытуемого раствора корней ревеня сердцевидного зона эмодина (R_f около 0,68) совпадает с зоной на хроматограмме раствора *СО эмодина*, что подтверждает специфичность методики [153].

Проведение валидации аналитической методики количественного

определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня сердцевидного по характеристикам (специфичность, правильность, линейность) показало, что методика специфична, полученные значения прецизионны и обладают линейной зависимостью в пределах диапазона применения аналитической методики. Установлено содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин – не менее 2,2 % [101, 102, 103, 153].

Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни» (Приложение Д).

В результате комплексного фармакогностического исследования различных органов (корней, листьев, стеблей, семян) ревеня сердцевидного выявлено, что корни содержат наибольшее количество БАВ. Проведен сравнительный анализ содержания основных групп БАВ в корнях ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и фармакопейного вида ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.) (таблица 20).

Таблица 20 – Сравнительный анализ содержания основных групп БАВ в корнях ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и фармакопейного вида ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.)

Корни ревеня тангутского	Корни ревеня сердцевидного
1	2
Содержание производных гидроксиантрацена, в пересчете на реин не менее 2,2 % [87].	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин не менее 2,2 %.
Дубильные вещества пирокатехиновой группы 6-12 % [88]	Содержание суммы окисляемых полифенолов, в пересчете на танин, 24,27 %

Исследования показали, что корни ревеня сердцевидного по содержанию основных групп БАВ (антраценпроизводных и дубильных веществ) не уступают сырью официального фармакопейного вида – ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.).

3.7 Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения сырья из корней ревеня сердцевидного

Испытание проводили на протяжении 24 месяцев (долгосрочные испытания) в соответствии с требованиями, установленными Приказом МЗ СР РК № 680 от 25 августа 2015 г. в условиях: температура 25±2 °С и RH 60±5 % [154, 155, 156]. Испытание стабильности проводилось на трех сериях корней ревеня сердцевидного, упакованного в мешки трехслойные из крафт-бумаги (в соответствии с ГОСТ 2228-81) (таблица 21). Результаты испытания стабильности и установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения трех серии (01RC, 01RC, 01RC) сырья из корней ревеня сердцевидного представлены в Приложениях П, Р, С.

За период испытания стабильности корней ревеня сердцевидного в первичной упаковке в течение 24 месяцев параметры стабильности находились

в пределах регламентируемых норм.

Таблица 21 – Исследование стабильности корней ревеня сердцевидного

Наименование ЛРС	Номер серии	Время сбора	Периодичность исследования, мес.
Корни ревеня сердцевидного	01RC	Апрель 2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
Корни ревеня сердцевидного	02RC	Апрель 2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
Корни ревеня сердцевидного	03RC	Апрель 2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24

Результаты определения количественного содержания антраценпроизводных в пересчете на эмодин в течение периода исследования стабильности представлены на рисунке 47.

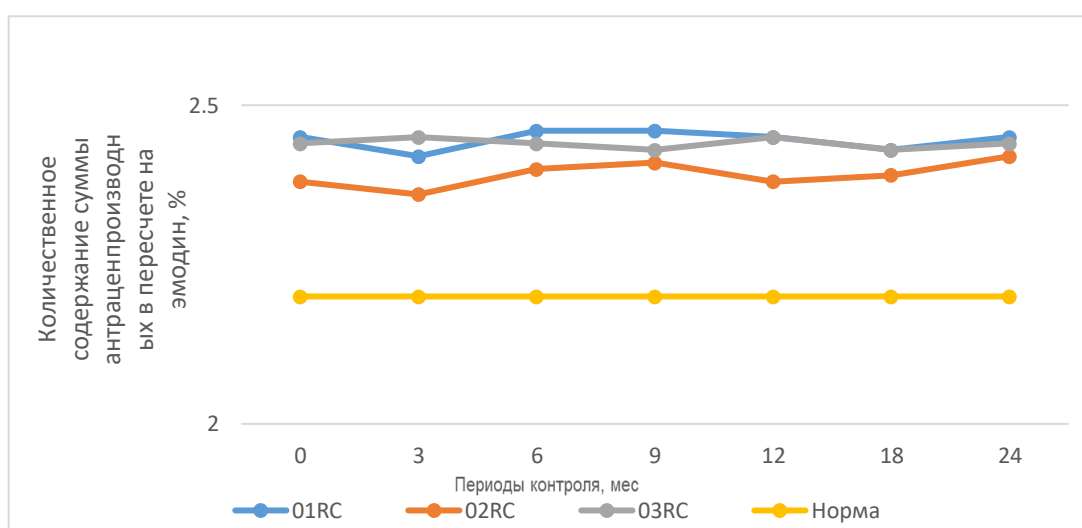


Рисунок 47 – Количественное содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин в корнях ревеня сердцевидного в зависимости от времени и условий хранения

Выводы

В соответствии с современными требованиями стандарта GACP впервые разработана надлежащая технология сбора, заготовки и хранения сырья из ревеня сердцевидного. В результате изучения динамики накопления основных групп БАВ (антраценпроизводных и дубильных веществ) установлен оптимальный период сбора корней – поздней осенью, после осеменения и ранней весной. Определены условия сушки корней: подвяливанием в естественных условиях в течение 24 ч, далее при температуре 50 ± 5 °С в сушильном шкафу, разложив сырье в один слой, периодически переворачивая каждые 60 мин. Заготовку сырья осуществляли на производственном участке фармацевтического завода ТОО «ФитОлеум», г. Есик, РК. Оптимальные условия хранения: температура не выше 25 ± 2 °С и относительная влажность 60 ± 5 %.

Установлены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья из ревеня сердцевидного в сравнительном аспекте с признаками официального вида – ревеня тангутского (*R. palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.). Установленные морфологические признаки: хорошо развитые вертикальные корни с темно-коричневой, поперечноморщинистой поверхностью, 30-40 см в длину, 10-15 см в толщину, корневище короткое; стебли прямые; листья крупные, округлые, длиной до 40 см и шириной до 50 см, с длинным черешком, у основания сердцевидные; цветки мелкие, собранные в сложные, длинные узкометельчатые соцветия; плоды – орешек с тремя ребрами, коричневого цвета, длиной до 15 мм и 10 мм шириной, основание сердцевидное. Установлены анатомические признаки: в поперечном срезе корня в паренхиме коры наблюдаются красно-коричневые включения антраценпроизводных, множественные друзы оксалата кальция, крахмальные зерна округлой формы; клетки верхнего эпидермиса листа продолговато-округлые, клетки нижнего эпидермиса листа меньшие по размеру, округлые, по краю пластинки листа расположены тонкие конусовидные простые волоски; клетки эпидермиса стебля продолговато-округлой формы, в первичной коре обнаружены единичные друзы, проводящие пучки коллатерально открытые; семена состоят из двухслойной плотной, извилистой и утолщенной семенной кожуры, эндосперм с толстой оболочкой.

Методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией в сырье (корнях, листьях, стеблях и семенах) ревеня сердцевидного идентифицированы 22 фенольных соединения (антраценпроизводные, катехины и их галлаты, дубильные вещества, флавоноиды (кверцетин, апигенин, кемпферол) и их гликозиды). Все идентифицированные соединения ранее были обнаружены в других видах рода *Rheum* L., однако большинство представленных компонентов впервые описываются в экстрактах из сырья ревеня сердцевидного. Установлено, что во всех исследуемых органах ревеня сердцевидного из антрахинонов наблюдается наибольшее содержание эмодина. Обнаружено содержание эмодина (1,29 %) и ЭКГ (5,00 %) в экстракте из корней (экстрагент 50 % этанол *P*); рутозида (4,87 %) в водном экстракте из листьев, которые можно считать маркерными соединениями, определяющими видовую принадлежность

ревеня сердцевидного.

Определено количественное содержание основных групп БАВ в сырье ревеня сердцевидного. Гравиметрическим методом установлено, что в стеблях ревеня сердцевидного по сравнению с другими органами наблюдается максимальное содержание суммы водорастворимых полисахаридов ($45,12 \pm 0,06$ %). Титриметрическим методом установлено, что органами, содержащими наибольшее количество свободных органических кислот, являются листья ($1,00 \pm 0,04$ % в пересчете на яблочную кислоту, $0,67 \pm 0,02$ % в пересчете на щавелевую кислоту) и стебли ($1,01 \pm 0,04$ % в пересчете на яблочную кислоту, $0,68 \pm 0,03$ % в пересчете на щавелевую кислоту), а наибольшее содержание аскорбиновой кислоты установлено в листьях ревеня сердцевидного ($0,09 \pm 0,03$ %). Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание фенольных соединений: содержание суммы полифенолов в пересчете на галловую кислоту преобладает в корнях ($22,70 \pm 0,09$ %), а максимальное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин обнаруживается в листьях ревеня сердцевидного ($2,54 \pm 0,08$ %).

Атомно-адсорбционной спектроскопией в сырье из ревеня сердцевидного выявлено содержание 6 макроэлементов (P, Mg, Ca, Na, K, Si) и 8 микроэлементов (Fe, Mn, Ni, Mo, Si, Zn, Al, Pb).

В корнях, листьях и стеблях ревеня сердцевидного методом ионообменной жидкостно-колоночной хроматографии установлен состав и количественное содержание 18 аминокислот; спектрофотометрическим методом определено содержание суммы свободных аминокислот в пересчете на лейцин. Содержание суммы свободных аминокислот преобладает в листьях ревеня сердцевидного ($2,74 \pm 0,08$ %), что в 2,5 раза выше, чем в стеблях, и в 7 раз, чем в корнях.

Спектрофотометрическим методом установлено содержание пигментов в листьях (сумма хлорофиллов достигает $17,37$ мг/г, каротиноидов - $0,14$ мг/г) и стеблях (сумма хлорофиллов достигает $7,71$ мг/г, каротиноидов - $0,17$ мг/г) ревеня сердцевидного.

Для выбора оптимальных условий процесса экстрагирования изучены фармацевтико-технологические параметры сырья из корней ревеня сердцевидного с различным размером частиц (до $0,75$ мм, от $0,75$ мм до $1,0$ мм и от $1,0$ мм до $1,3$ мм). Выбраны оптимальные условия и технологические параметры процесса экстрагирования (экстрагент 30 % этанол *P*).

В результате сравнительного анализа экстрактов установлено, что органом, наиболее обогащенным метаболитами (антраценпроизводными и другими фенольными соединениями), являются корни ревеня сердцевидного. Установлены показатели качества корней ревеня сердцевидного и их критерий приемлемости, проведена стандартизация корня ревеня сердцевидного в соответствии с требованиями ГФ РК. Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни».

В результате долгосрочных испытаний стабильности сырья установлен срок годности 24 мес. при температуре 25 ± 2 °C и относительной влажности 60 ± 5 %.

Фармакогностическое исследование сырья, комплексное фитохимическое

изучение различных органов (корней, листьев, стеблей, семян) ревеня сердцевидного позволило провести идентификацию сырья, установить качество и принадлежность к производящему виду растения *Rheum cordatum* L., а также выявить орган (корни) с наибольшим содержанием БАВ (антраценпроизводных и дубильных веществ).

4 ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СЫРЬЯ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО

4.1 Анализ отечественного фармацевтического рынка слабительных лекарственных препаратов

Антраценпроизводные, содержащиеся в ЛРС, участвуют в окислительно-восстановительных процессах и оказывают слабительное (класс эмодаина), противовоспалительное (восстановленные формы класса эмодаина), психотропное (конденсированные производные антрацена), нефролитическое (класс ализарина) и противоопухолевое (антрациклины) действия. Лекарственные растения, как ревеня тангутский, жостер слабительный, сенна александрийская, крушина ломкая, алоэ древовидный, содержащие производные антрацена, широко применяются как слабительные лекарственные средства [109, 157].

По мнению большинства авторов, слабительные средства растительного происхождения, содержащие антраценпроизводные, по механизму действия относятся к средствам, вызывающие раздражение хеморецепторов слизистой оболочки толстого кишечника [158]. В верхних отделах ЖКТ антраценпроизводные не всасываются: под воздействием микроорганизмов в толстом кишечнике антрагликозиды расщепляются, происходит отщепление сахарной части от молекулы агликона и превращение его в восстановленные формы (антроны или антранолы), которые раздражая рецепторы толстой кишки и задерживая всасывание электролитов и воды, усиливают его перистальтику. Слабительный эффект наступает через 10-12 ч. [158].

Нами проведен анализ отечественного фармацевтического рынка слабительных препаратов с АТХ классификацией А06А за 2012-2016 гг. по данным Консалтингового Агентства «Vi-ORTIS» и государственного Реестра ЛС Казахстана.

В результате анализа структуры отечественного фармацевтического рынка слабительных ЛП установлено, что за исследуемый период общее количество ассортиментных позиций составляет в среднем 39 наименований (таблица 22).

Таблица 22 - Структура отечественного фармацевтического рынка слабительных ЛП за 2012-2016 гг.

Структура рынка	2012 г	2013 г	2014 г	2015 г	2016 г
Общее количество ассортиментных позиций	40	38	43	38	36
Доля зарубежных производителей, %	67	69	72	71	70
Доля отечественных производителей, %	33	31	28	29	30

Последующий анализ по производителям показал, что преобладает доля зарубежных производителей, доля отечественных производителей слабительных препаратов составляет в среднем около 30,2 % за исследуемый период. Импортные препараты данного сегмента поставляются из России, Украины, Чехии, Франции, Германии и Индии [159, 160].

При анализе слабительных ЛП отечественного производства по источникам получения наблюдается, что удельный вес растительных ЛП больше, чем синтетических и составляет за 2012 г. – 69 %, за 2013 и 2014 г. г. – 67 %, за 2015 и 2016 гг. – 73 % (рисунок 48). В ходе анализа нами отмечено широкое применение листьев сенны (кассии остролистной) как основного источника получения отечественных растительных слабительных препаратов [159, 160].

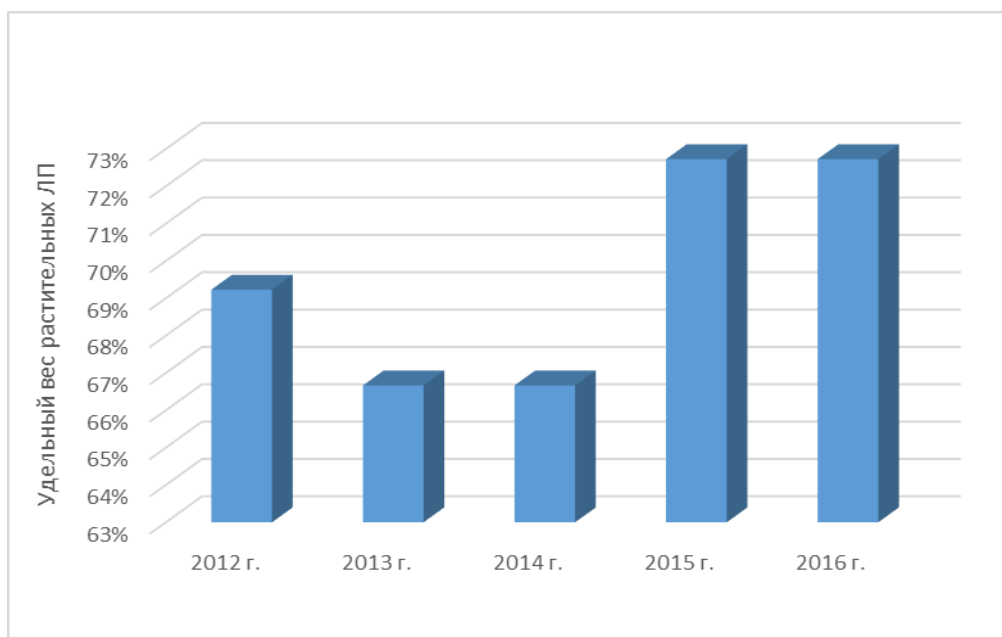


Рисунок 48 – Анализ отечественных слабительных ЛП по происхождению за 2012-2016 гг. Доля растительных препаратов

С целью определения особенностей и тенденций потребления населением Казахстана растительных слабительных препаратов, нами проведен анализ показателей продаж 4-х препаратов в форме таблеток на основе растительных экстрактов: Сенна (Казахстан), Сенадексин (Украина), Алакс (Польша) и Эукарбон (Австрия) за 2012-2016 гг. в натуральном и денежном выражении [159, 160]. Отмечается рост как в денежном, так и в натуральном выражении (рисунки 49 и 50).

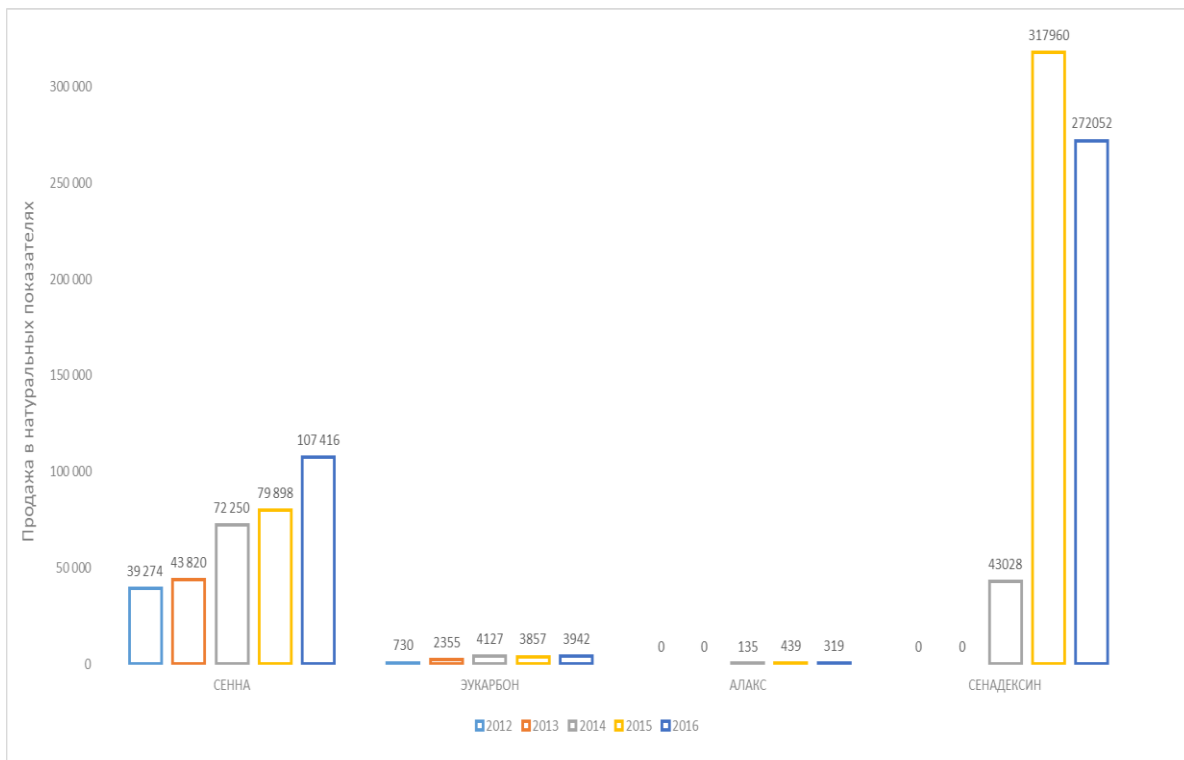


Рисунок 49 – Динамика продаж растительных слабительных ЛП в натуральном выражении

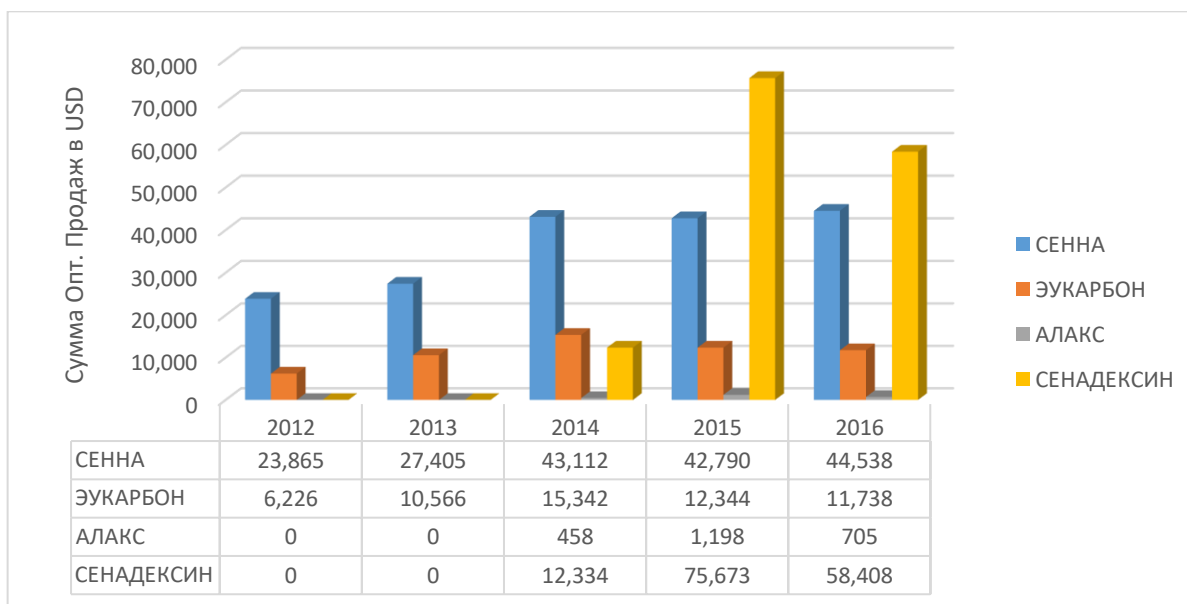


Рисунок 50 – Динамика продаж растительных слабительных ЛП в денежном выражении

4.2 Разработка технологии получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и валидация технологического процесса

Стадия подготовки растительного сырья к процессу экстракции во многом определяет весь последующий процесс производства фитопрепаратов. При выборе степени и характера измельчения и экстракции растительного сырья необходимо учитывать особенности анатомического строения сырья [161, 162, 163].

При изучении анатомического строения корней ревеня сердцевидного наблюдалась их одревеснение и толстостенность клеточной оболочки. Для измельчения корней ревеня сердцевидного нами выбран метод вальцевания, который обеспечивает максимальное вскрытие таких клеток [119]. При измельчении сырья методом вальцевания сырье раздавливается, при этом происходят разрушение воздухоносных полостей, которые приводят к максимальному разрушению растительных клеток и тканей, а за счет одновременного истирания увеличивается удельная площадь поверхности сырья [164, 165, 166].

Фитохимическое изучение сырья ревеня сердцевидного показало, что максимальное извлечение БАВ достигается применением в качестве экстрагента 50 % этанола *P*, а результаты фармацевтико – технологических исследований корней ревеня сердцевидного показали эффективность использования в качестве экстрагента 30 % и 50 % этанола *P* [110, 119]. Литературный анализ известных технологий получения экстрактов слабительного действия из официальных видов ревеня позволил обосновать в качестве экстрагента 30 % этанола *P* [109].

Результаты фармацевтико-технологического изучения полученных фракций из корней ревеня сердцевидного позволили разработать новый способ получения экстракта, способную предотвратить главные проблемы при экстрагировании сырья мелкой дисперсии [119]. В технологическом процессе экстрагирования ЛРС установлен факт увеличения выхода БАВ с уменьшением дисперсности сырья (чем степень измельчения больше, тем скорее протекает процесс диффузии). Однако, применение в технологии мелко измельченного сырья, имеет трудности, которые необходимо преодолеть. Мелкоизмельченное сырье образует с экстрагентом кашицеобразную массу, которая оказывает большое сопротивление прохождению растворителя и в результате процесс экстрагирования затрудняется. С целью устранения этого недостатка процесса нами были использованы для экстрагирования частицы корней ревеня сердцевидного с различной степенью измельчения: 1 слой – вальцованное сырье со степенью дисперсности от 1,0 мм до 1,3 мм; 2 слой – со степенью дисперсности от 0,75 мм до 1,0 мм и 3 слой – со степенью дисперсности до 0,75 мм. Экспериментально установлена высота каждого слоя: нижний (первый) слой – не более 7 см, средний (второй) слой – не более 5 см и верхний (третий) слой – не более 3 см. Оптимальной оказалась высота слоя не более 15 см. При дальнейшем увеличении высоты слоя сырья извлечения получались вязкими, наблюдалась усиление гидростатического сопротивления сырья. Оптимальное

время настаивания сырья - 1 ч для каждого слоя сырья [119].

В сравнительной оценке с традиционной перколяцией рассмотрена возможность получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного вакуум-фильтрационным экстрагированием. Данный способ разработан в ГНЦЛС (Харьков, Украина). Принцип способа заключается в растворении и смыве БАВ с развитой поверхности измельченного вальцеванием сырья в динамически неравновесных условиях. Процесс растворения и вымывания БАВ превосходит процесс молекулярной диффузии, поддерживается разницей в концентрации веществ по всей массе системы, что является движущей силой процесса [164, 165, 166].

В лабораторных условиях в НФаУ (Харьков, Украина) на кафедре промышленной фармации получен экстракт густой из корней ревеня сердцевидного вакуум-фильтрационным экстрагированием и традиционной перколяцией. Сравнительную оценку эффективности методов проводили по выходу экстрактивных веществ и содержанию антраценпроизводных, которое определяли спектрофотометрическим методом [103].

Метод перколяции (фильтрационной экстракции). Процесс проводили в три стадии: намачивание сырья, настаивание и собственно перколяция [161, 162, 163]. 200,0 г корней ревеня сердцевидного загружали в перколятор и заливали 30 % этанолом *P* с учетом коэффициента поглощения сырья до образования «зеркала» и настаивали в течение суток. Далее проводили отбор отпусков и одновременную подачу экстрагента со скоростью 2-3 мл/мин. Отбор отпусков собирали с шагом DER 1:1. Процесс экстрагирования корней ревеня сердцевидного проводили до получения суммарного экстракта DER 1:7.

Оценка эффективности процесса экстрагирования

При экстракции корней ревеня сердцевидного методом перколяции максимальное число объемов экстрагента, необходимое для полного истощения сырья равно 7. При дальнейшем увеличении порций экстрагента выход экстрактивных веществ не повышается, но увеличивается расход экстрагента. Общее время экстракции составляет 36 ч.

В вакуум-фильтрационном экстрагировании корней ревеня сердцевидного установлено, что при получении первых трех сливов сырье наиболее полно обедняется. При этом в извлечение переходит максимальное количество экстрактивных веществ и преобладающая часть действующих веществ – антраценпроизводных.

Сравнительная характеристика технологических показателей и эффективность способов экстракции корней ревеня сердцевидного представлены в таблице 23.

В ходе эксперимента установлена рациональность использования различных фракций вальцованного сырья и интенсификация процесса вакуумированием приемника, который повышает выход БАВ и обеспечивает сокращение времени экстракции. Новизна разработанного способа вакуум-фильтрационного экстрагирования и технологии получения экстракта густого из

сырья ревеня сердцевидного подтверждена патентами на полезную модель РК №4553 и РК №4555 (Приложения А, Б) [167, 168].

Таблица 23 – Основные технологические показатели и эффективность извлечения БАВ из корней ревеня сердцевидного различными методами экстрагирования

Технологические показатели	Способ экстрагирования	
	Вакуум-фильтрационное экстрагирование	Традиционная перколяция
Измельчение сырья	Вальцование в валковых дробилках	Изрезывание
Размер частиц сырья	До 1,3 мм	1-3 мм
Экстрагент	30 % <i>этанол Р</i>	30 % <i>этанол Р</i>
Сырье:экстрагент	1:3	1:7
Время настаивания	1 слой – 1 ч 2 слой – 1 ч 3 слой – 1 ч	24 ч
Скорость экстракции	5-7 л/ч (83-117 мл/мин)	2-3 мл/мин
Общее время экстракции, ч	3,5 ч	36 ч
Выход экстрактивных веществ, %	29,78 %	26,45 %
Содержание суммы антраценпроизводных, в пересчете на эмодин, %	3,80±0,12	2,56±0,08

Технологический процесс получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного состоит из стадий подготовки сырья и экстрагента, получения жидкого извлечения из сырья, очистки, фильтрации, сгущения извлечения, упаковки и маркировки экстракта густого. Технологическая схема получения экстракта густого представлена на рисунке 51.

Корни ревеня сердцевидного измельчали на валковых дробилках и фракционировали до размера частиц: 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм. В экстрактор фильтрационного типа сырье загружали последовательно, каждый слой заливали 30 % *этанолом Р* и настаивали в течение 1 часа. Экстрагирование проводили с использованием вакуума со скоростью около 5-7 л/ч. Полученное извлечение центрифугировали и фильтровали. Отфильтрованное извлечение упаривали под вакуумом [119].

Для проведения валидации процесса в эксперименте использовали одну опытную серию сырья «Ревеня сердцевидного корни», из которых получены три валидационные серии [169, 170, 171].

Разработан валидационный план технологического процесса получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Критическими стадиями технологического процесса являются: подготовка сырья и приготовление экстрагента, получение извлечения из сырья, очистка, фильтрация, упаривание и упаковка.

В соответствии с валидационным планом составлен протокол валидации, согласно которому проведена валидация технологического процесса.

Результаты валидации технологии получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

При получении экстракта густого использовали корни ревеня сердцевидного, измельченные вальцеванием до размера частиц: 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм. Были отобраны по 9 проб с каждой серии (по 3 пробы – сверху, в середине и снизу) и был изучен фракционный состав ситовым анализом. Анализ показал, что размер частиц сырья находится в пределах регламентируемых норм.

Экстрагент 30 % этанол *P* готовили с соблюдением следующих условий: смешивание регламентируемого количества 96 % этанола *P* и воды *P* в течение 30 мин со скоростью смесителя – 15 об/мин. Полученный раствор экстрагента исследовали на содержание этанола, отбор проб осуществляли также с 9 точек. Результаты анализа свидетельствовали стабильности и контролируемости данной операции, RSD не превышает 1 %.

На стадии получения извлечения изучали следующие технологические параметры: высоту и очередность слоя сырья – 1 слой высотой не более 7 см, 2 слой высотой не более 5 см и 3 слой высотой не более 3 см; температуру экстракции +20±2 °С (1 серия), +25±2 °С (2 серия), +30±2 °С (3 серия); время настаивания – каждый слой 1 ч; скорость экстракции – 5-7 л/ч. При оценке температурного режима экстракции RSD не превышает 1 %, контрольные карты Шухарта показали, что все значения находятся в диапазоне 3 σ, индексы C_p и C_{pk} указали на статистическую управляемость процесса (рисунки 52, 53, 54).

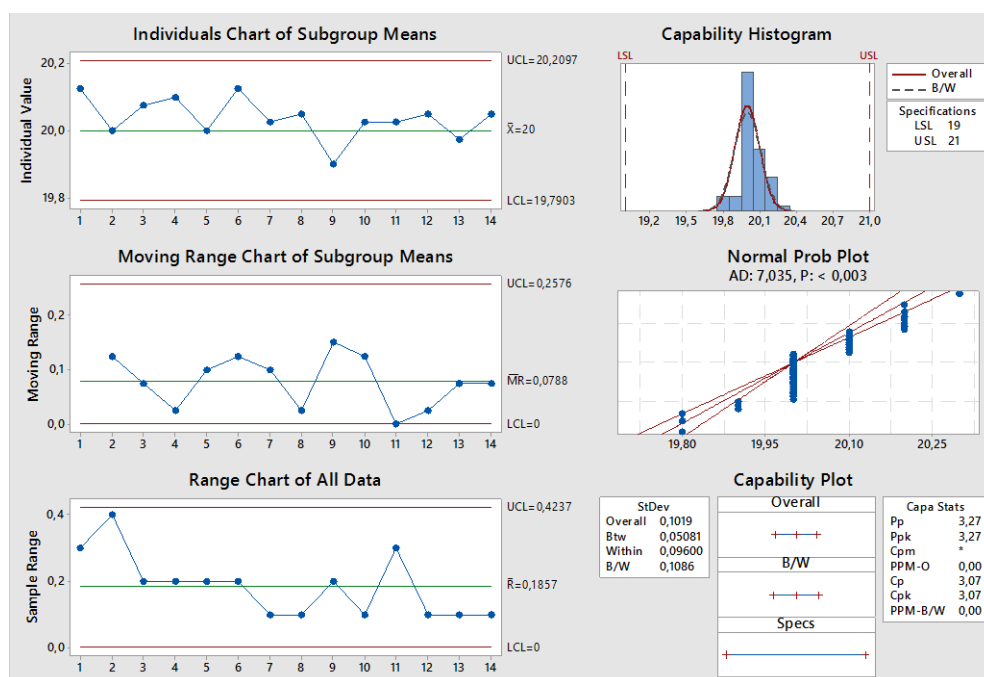


Рисунок 52 – Контрольная карта процесса получения извлечения из сырья, параметр – температура экстракции (серия 1)

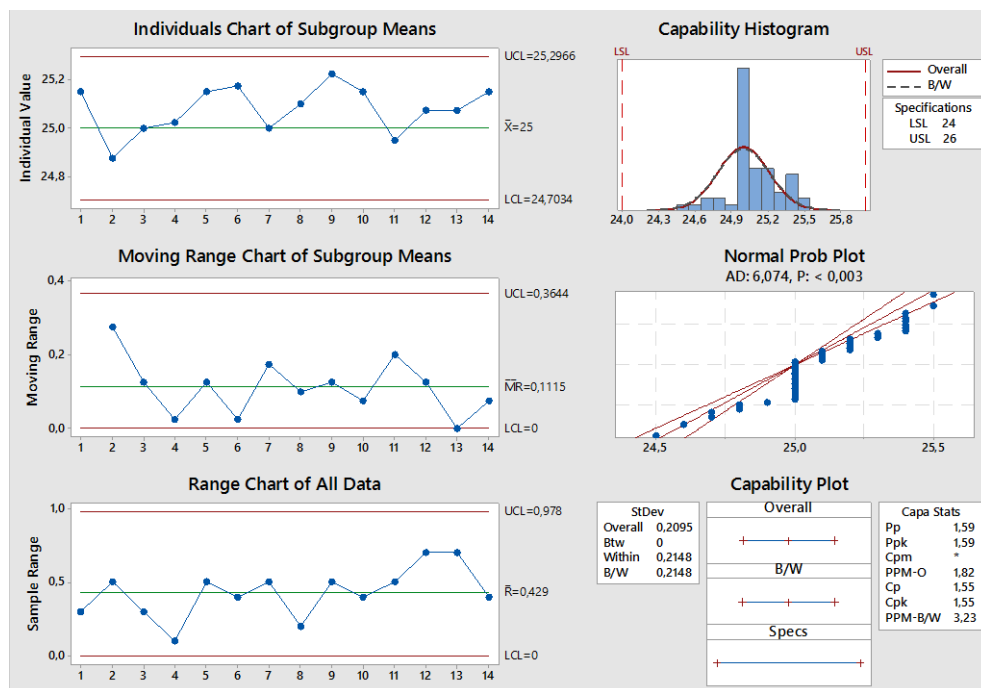


Рисунок 53 – Контрольная карта процесса получения извлечения из сырья, параметр – температура экстракции (серия 2)

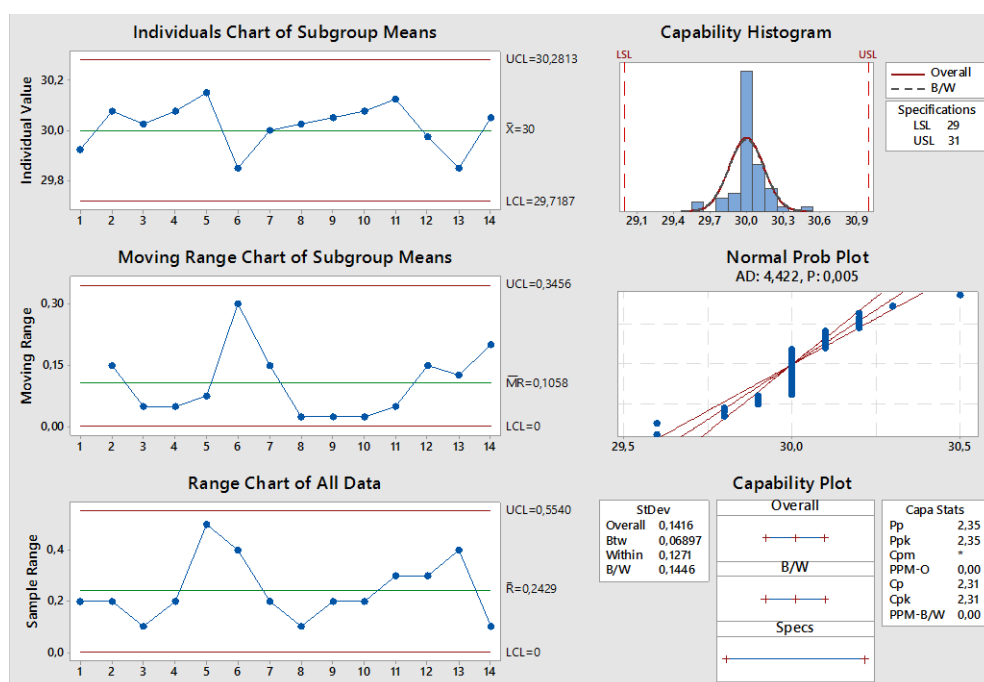


Рисунок 54 – Контрольная карта процесса получения извлечения из сырья, параметр – температура экстракции (серия 3)

В конце процесса вакуум-фильтрационного экстрагирования отбирали пробы (9 проб) для оценки качества полученных извлечений. Внешний вид полупродукта соответствует требованиям ГФ РК. В пробах качественными реакциями и методом ТСХ идентифицированы антраценпроизводные,

определена концентрация этанола и установлено количественное содержание антраценпроизводных. Изучаемые параметры стабильны и находятся в пределах регламентируемых норм. RSD полученных результатов не превышает 1 %, значительные отклонения данных не наблюдаются, данные находятся в пределах 3 σ .

На этапе очистки экстракта центрифугирование проводили при 5000 ± 50 об/мин в течение 30 мин. После процесса фильтрации полупродукт проверяли по показателям качества (9 проб). Сгущение полупродукта проводили под вакуумом.

Полученный экстракт густой фасовали в стеклянные емкости по 50 мл, укупорку флаконов и их маркировку осуществляли согласно проекту НД. Оценивали объем заполнения упаковки, качество укупорки, маркировки и комплектности (рисунок 55) [169, 170, 171].

Все изучаемые показатели качества постоянны, значительных отклонений не наблюдались.

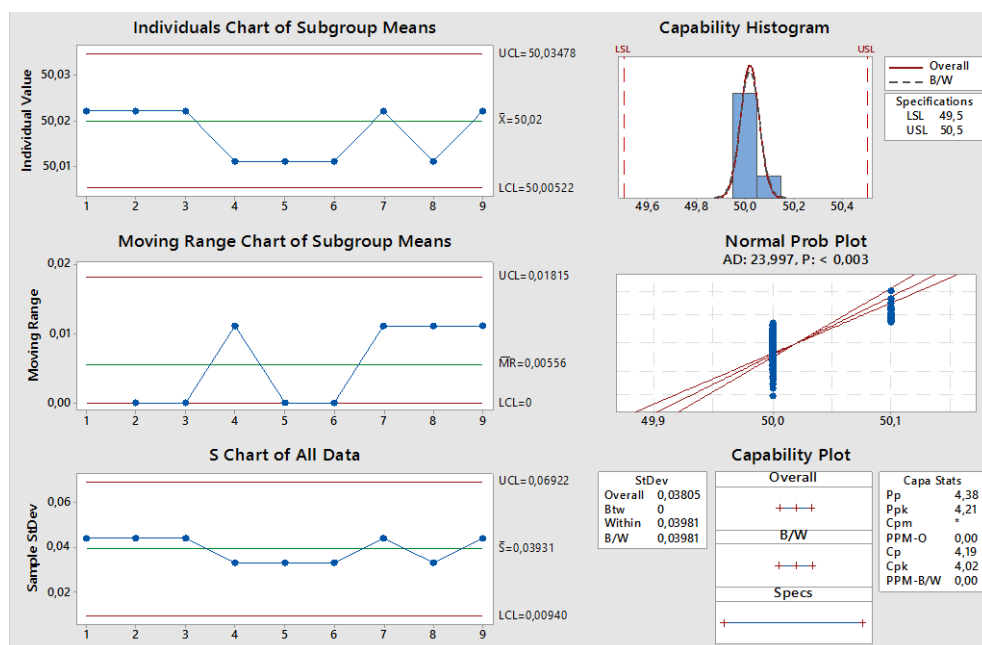


Рисунок 55 – Контрольная карта процесса фасовки экстракта, параметр – объем заполнения упаковки для 3-х серий

4.3 Установление показателей качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критериев приемлемости

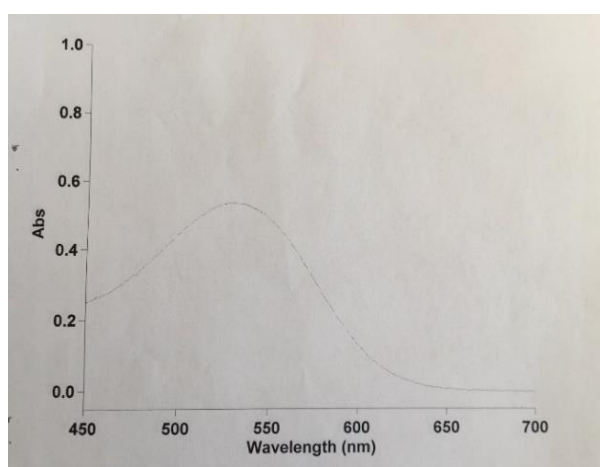
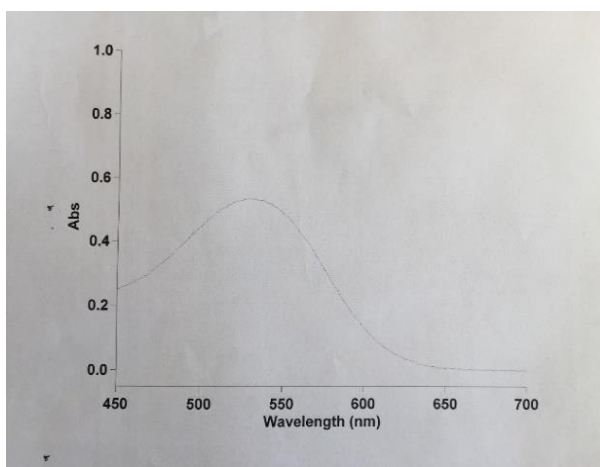
Стандартизацию экстракта ревеня сердцевидного густого проводили в соответствии с требованиями ГФ РК и нормативных документов [101, с.720; 102, с.777-779; 103, с. 34-480]. Определены и установлены критерии показателей качества готового продукта. Внешний вид экстракта должен соответствовать требованиям ГФ РК. В экстракте густом из корней ревеня сердцевидного идентифицировали антраценпроизводные, устанавливали значения потери в массе при высушивании, тяжелых металлов, определяли массу содержимого

упаковки, микробиологическую чистоту и количественное содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин. Проверили качество упаковки и маркировки [172].

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин в густом экстракте ревеня сердцевидного – не менее 3,5 %.

Определение проводили спектрофотометрическим методом, описанным в Главе 2.

Максимум поглощения спектров щелочно-аммиачных спиртовых растворов экстракта густого из корней ревеня сердцевидного совпадает с максимумом поглощения щелочно-аммиачного спиртового раствора *СО* *эмодина* при длине волны 520 нм (рисунке 56).



а)

б)

Рисунок 56 – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора спиртового извлечения *СО* *эмодина* (а) и экстракта густого из корней ревеня сердцевидного (б)

В результате исследований разработана спецификация качества на экстракт густой из корней ревеня сердцевидного (Приложение Ж).

4.4 Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта из корней ревеня сердцевидного

Долгосрочные испытания стабильности проводили на пилотных сериях, полученных на кафедре промышленной фармации НФаУ (Харьков, Украина) (таблица 24). Испытания стабильности экстракта густого проводили при температуре 25 ± 2 °С и относительной влажности 60 ± 5 % в упаковке, предназначенной для хранения и реализации [153, 154, 155]. Экстракт ревеня сердцевидного густой упаковывали в стеклянные банки из оранжевого стекла с винтовой горловиной объемом 50 мл.

Таблица 24 – Программа испытания стабильности

Наименование объекта	№ серии	Дата производства	Периодичность исследования, мес.
Экстракт ревеня сердцевидного густой	01RC18	12.2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	02RC18	12.2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	03RC18	12.2018 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24

В Приложениях Т, У, Ф приведены результаты исследования стабильности параметров качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного в соответствии со спецификацией стабильности.

В течение периода испытания стабильности показатели качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного находятся в пределах регламентируемых норм. Количественное содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин в экстракте в зависимости от времени и условий хранения составляет не менее 3,5 % (рисунок 57).

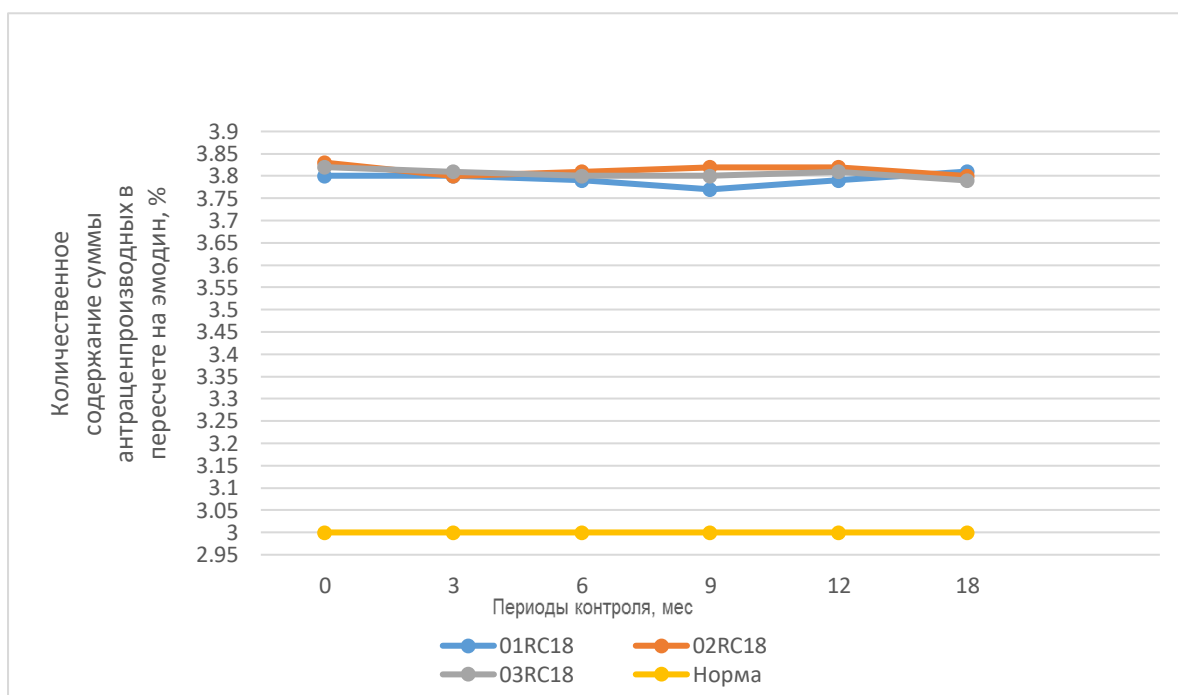


Рисунок 57 – Количественное содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин в зависимости от времени и условий хранения в экстракте ревеня сердцевидного густого

Исследования показывают, что полученный экстракт густой стабилен в течение 18 мес. и сохраняет свои свойства в первичной упаковке в условиях: температура 25 ± 2 °С, относительная влажность 60 ± 5 %. Исследование стабильности продолжается.

4.5 Исследование безопасности, антиоксидантной и противовоспалительной активности экстракта из корней ревеня сердцевидного

Исследование безопасности и изучение противовоспалительной активности экстракта ревеня сердцевидного проводили с использованием методов, описанных в методических руководствах [120, 121].

Материалы исследований № 690 рассмотрены и одобрены ЛЭК АО «Национальный медицинский университет» (выписка из протокола заседания № 1(78) от 30.01.2019 года, Приложение X).

Исследование острой и подострой токсичности экстракта

Исследования по изучению острой и подострой токсичности проводились на здоровых, беспородных белых мышах весом 18-25 г, прошедших предварительную адаптацию в условиях вивария.

При оценке острой токсичности исследуемый спиртовой экстракт ревеня сердцевидного после удаления этанола выпариванием вводили мышам внутрь натошак через желудочный зонд в виде водной суспензии однократно (500 мг/кг, 2000 мг/кг, 5000 мг/кг). Таким же способом, в таких же дозировках подопытным мышам вводили исследуемый экстракт ежедневно в течение 4-х недель для оценки подострой токсичности (таблица 25). Животным контрольной группы вводили *воду Р*.

Таблица 25 – Определение острой и подострой токсичности экстракта из корней ревеня сердцевидного

Результаты эксперимента	Определение острой токсичности				Определение подострой токсичности			
	1- групп па 500 мг/кг	2- групп па 2000 мг/кг	3- групп па 5000 мг/кг	Контрольная группа, вода Р	1- групп па 500 мг/кг	2- групп па 2000 мг/кг	3- групп па 5000 мг/кг	Контрольная группа, вода Р
Количество экспериментальных животных	6	6	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0	0	0	0

В первый день введения экстракта животных наблюдали непрерывно, затем контроль симптомов интоксикации проводили один раз в день. После последнего введения дозы препарата вели клиническое наблюдение за каждым животным в общей сложности на протяжении 14 дней с регистрацией изменений в общем состоянии животных.

Результаты исследований показали, что закономерных патологических изменений в показателях общего состояния у опытных групп животных по сравнению с контрольными не наблюдались. В ходе исследования не были

зафиксированы изменения в показателях потребления корма и воды, состояний кожи и меха, слизистых оболочек и веса, проявления токсичности на внутренних органах экспериментальной группы животных по отношению к животным контрольной группы. Во время проведения исследования летальных случаев в группах животных не наблюдалось, в связи с этим определение LD_{50} не представилось возможным [120, 121, 173, 174].

Экстракт ревеня сердцевидного при многократном пероральном введении в дозе 5000 мг/кг не оказывал токсического действия, летальный исход экспериментальных животных отсутствовал, в связи с чем по классификации К.К. Сидорова (ГОСТ 12.1.007-76) исследуемый экстракт можно отнести к относительно безвредным веществам (VI класс токсичности) [120, 121].

Оценку аллергизирующего свойства проводили на морских свинках реакцией иммунных комплексов. Эксперимент проводили на 2-х группах животных по 6 особей. 5-ти кратным подкожным введением терапевтической и в 10 раз превышающей дозы испытуемого препарата с промежутком в 6 дней вызывали сенсibilизацию животных. В контрольной группе животные получали *воду Р* по той же схеме и в том же объеме.

На выстриженном участке кожи морским свинкам через 10 дней после введения последней сенсibilизирующей дозы вводили внутрикожно в объеме 0,5 мл разрешающую дозу. Рядом на участке кожи животного вводили воду очищенную (контроль на реактивность кожи).

Разрешающую дозу исследуемого экстракта устанавливали на интактных животных. Реакцию контролировали визуально.

Введение разрешающей дозы исследуемого экстракта не вызывало изменений в общем состоянии животных и патологических местных реакций, в связи с чем можно сделать вывод, что исследуемый экстракт ревеня сердцевидного не обладает аллергизирующими свойствами.

Исследование противовоспалительной активности проводили на крысах-самцах (160-220 г). Острое экссудативное воспаление вызывали подподошвенным введением 0,1 мл 2 % водного раствора формалина в заднюю лапу крысы. Выраженность воспаления определяли измерением толщины лапки животного микрометром до введения и через 3, 6, 24 ч. после введения раствора формалина. Исследуемый спиртовой экстракт ревеня сердцевидного после удаления этанола выпариванием, вводили внутрь через желудочный зонд в виде суспензии в *воде Р* в разных концентрациях (25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг) за один час до введения формалина.

Животные разделяли на группы, по 6 особей. Животные контрольной группы получали эквивалентный объем *воды Р*.

1-ой группе животных вводили Ибупрофен в виде суспензии (препарат сравнения).

2-ая группа животных получала экстракт ревеня сердцевидного в концентрации 100 мг/кг.

3-я группа животных получала экстракт ревеня сердцевидного в концентрации 50 мг/кг.

4-я группа животных получала экстракт ревеня сердцевидного в концентрации 25 мг/кг.

Противовоспалительный эффект экстрактов ревеня сердцевидного, оцениваемый по уменьшению отека, выражали в процентах к контролю.

Результаты исследования представлены в таблице 26.

Как видно из таблицы 26, субплантарное введение раствора формалина вызывает выраженный отек лапы у подопытных крыс, о чем свидетельствует увеличение ее объема. Было установлено, что максимальный объем лапы (пик воспаления) отмечается через 3 ч после введения раствора формалина; при этом объем лапы у экспериментальных животных контрольной группы, которые принимали воду очищенную, увеличивался в среднем на 10,61 % ($p < 0,05$). Через 24 ч после введения раствора формалина существенных отличий в размере лапы животных в опытных и контрольной группах не наблюдалось, и размер лапы животных не отличался от размера лапы до эксперимента.

Таблица 26 – Результаты исследования противовоспалительной активности экстрактов из корней ревеня сердцевидного

№ п/п	Исследуемое ЛС	Объем лапы, мм			
		До введения формалина	Через 3 ч, после введения формалина	Через 6 ч, после введения формалина	Через 24 ч, после введения формалина
1	Вода Р	5,09±0,03	5,63±0,11	5,45±0,07	5,27±0,12
2	Ибупрофен в виде суспензии в дозе 50 мг/кг	5,10±0,04	5,31±0,08	5,23±0,21	5,15±0,16
3	Экстракт ревеня сердцевидного 25 мг/кг	5,12±0,13	5,40±0,24	5,37±0,27	5,24±0,14
4	Экстракт ревеня сердцевидного 50 мг/кг	5,17±0,02	5,46±0,09	5,30±0,11	5,22±0,17
5	Экстракт ревеня сердцевидного 100 мг/кг	5,12±0,16	5,37±0,24	5,25±0,29	5,19±0,08

Примечание: статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программы StatPlus 2007.

Внутрижелудочное введение экстрактов ревеня сердцевидного в различных концентрациях и препарата сравнения Ибупрофен в дозе 50 мг/кг препятствовало развитию воспалительной реакции. Активность исследуемых препаратов по замедлению процесса воспаления увеличивалась в ряду экстракт ревеня сердцевидного 25 мг/кг < экстракт ревеня сердцевидного 50 мг/кг < экстракт ревеня сердцевидного 100 мг/кг < ибупрофен в виде суспензии в дозе 50 мг/кг

(рисунок 58). Экстракт из корней ревеня сердцевидного в концентрации 100 мг/кг имеет ингибирующую активность сопоставимую с контрольным препаратом Ибупрофен в дозе 50 мг/кг.

Полученные результаты позволяют рекомендовать исследуемый препарат для дальнейших расширенных неклинических исследований как потенциальное лекарственное растительное средство.

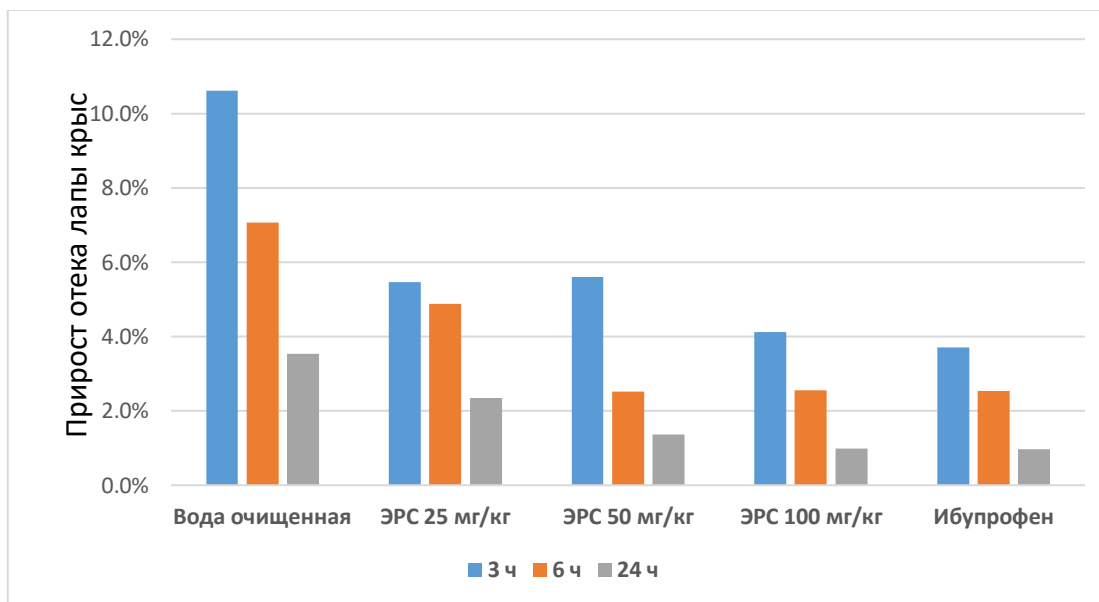


Рисунок 58 – Влияние экстрактов ревеня сердцевидного в различных дозах и препарата сравнения на воспалительную реакцию

Исследование антиоксидантной активности экстрактов из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного

Для определения антиоксидантного потенциала были выбраны две концентрации каждого экстракта: 1000 и 500 мкг/мл. Экстракты, растворенные в ДМСО в количестве 0,1 мл, смешивали с 1,9 мл этанольного раствораДФПГ, приготовленного непосредственно перед испытанием, в концентрации 6 мг/100 мл. Растворы смешивали и хранили в темном месте в течение 30 минут. Затем измеряли поглощение растворов при 515 нм на спектрофотометре Unicam Helios Gamma (Thermo Electron Corporation). В качестве эталона использовали раствор 0,1 мг/10 мл галловой кислоты [76, 110, 175, 176]. Измерения были повторены 6 раз для каждого образца. Результаты представлены в таблице 26.

Для определения «Общего фенольного индекса» была построена калибровочная кривая галловой кислоты для растворов исследуемых экстрактов в ДМСО разной концентрации: 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 350, 400 и 800 мкг/мл. 0,5 мл каждого раствора галловой кислоты в концентрации 500 мкг/мл смешивали с 2,5 мл разбавленного реагента Фолина-Циокальте (0,25 мл реагента Фолина-Циокальте с 4,25 мл очищенной воды) во флаконах из темного стекла. Затем к образцам добавляли 2 мл 7,5 % раствора карбоната натрия и измеряли оптическую плотность через 30 минут при 765 нм. Абсорбцию тестируемых

экстрактов использовали для определения их количества эквивалентов галловой кислоты по схематической калибровочной кривой галловой кислоты [110, 122, 123]. Все эксперименты повторяли 6 раз для каждого экстракта. Результаты представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Антиоксидантная активность и «Общий фенольный индекс» экстрактов из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного

Экстрагент	Орган ревеня сердцевидного	ДФПГ тест, %	Общий фенольный индекс, мг/л
1	2	3	4
96 % этанол Р	Листья	-	-
	Семена	89,80±1,97	460±24,70
	Стебли	-	-
	Корни 2017	92,05±0,39	530,2±37,65
	Корни 04.2018	92,30±0,69	430,2±28,67
	Корни 05.2018	68,13±4,18	720,3±34,22
50 % этанол Р	Листья	89,96±0,45	719,8±26,61
	Семена	89,06±1,54	669,8±19,86
	Стебли	92,74±0,96	540,2±30,74
	Корни 2017	88,48±0,68	480,3±30,07
	Корни 04.2018	89,69±1,63	462±23,56
	Корни 05.2018	83,70±2,08	620,7±39,93
<i>Дихлорметан</i>	Листья	-	-
	Семена	-	-
	Стебли	-	-
	Корни 2017	-	-
	Корни 04.2018	-	-
	Корни 05.2018	-	-
<i>Вода Р</i>	Листья	45,90±1,30	279,8±37,35
	Семена	88,23±1,26	470,3±18,75
	Стебли	21,83±8,42	90,33±9,52
	Корни 2017	82,79±2,07	320±31,55
	Корни 04.2018	91,59±1,11	498±19,71
	Корни 05.2018	90,60±1,00	751,80±34,78
<i>Хлороформ</i>	Листья	-	-
	Семена	-	-
	Стебли	-	-
	Корни 2017	-	-
	Корни 04.2018	21,71±7,36	-
	Корни 05.2018	-	-

Примечание: Статистическая обработка результатов была выполнена с использованием программного обеспечения Statistica 10,0 PL.

Как видно из таблицы, определение антиоксидантной активности экстрактов выявило значительные различия между исследуемыми образцами. Различную антиоксидантную активность (антиоксидантная активность

варьировала от 0 до 92,8 %) показали исследуемые экстракты, в зависимости от используемой морфологической части ревеня сердцевидного и растворителя.

Наиболее эффективным растворителем для извлечения вторичных метаболитов из всех частей растения оказался 50 % *этанол Р*, все образцы имели высокую антиоксидантную активность, со средней активностью в ДФПГ тесте > 90 % и общий фенольный индекс (GAE) в диапазоне от 462 мг/л (образцы корней, собранных в апреле 2017 г) до 720 мг/л (листья).

Водные экстракты исследуемых органов ревеня сердцевидного продемонстрировали переменный уровень антиоксидантной активности: 21,8 % в экстракте из стебля, 91,59 % в экстракте из корней.

Дихлорметан и хлороформ оказались наименее эффективными растворителями для извлечения вторичных метаболитов из исследуемых экстрактов, что было отмечено в результатах как антиоксидантных тестов, так и LC-MS определений.

Установлено, что *вода Р* и 96 % *этанол Р* являются значительно менее эффективными растворителями для извлечения БАВ из надземных частей ревеня сердцевидного: экстракты из листьев и стеблей в 96 % *этанол Р* показали антиоксидантную активность <10 %; водный экстракт из стеблей – 21,83 %; из листьев – 45,90 %. Однако установлено, что эти два растворителя (*вода Р* и 96 % *этанол Р*) очень эффективны при извлечении вторичных метаболитов из семян и корней ревеня сердцевидного. Активность по ингибированию ДФПГ для экстрактов из семян составила - 89,80 % (экстрагент 96 % *этанол Р*) и 88,20 % (экстрагент *вода Р*). Полученные средние значения общего фенольного индекса (GAE) составляли 460 мг/л и 470,3 мг/л для экстракта в 96 % *этанол Р* и *воде Р* соответственно.

Среди всех проанализированных образцов самую высокую антиоксидантную активность показали экстракты из корней ревеня сердцевидного, собранных в апреле 2018 г. в 96 % *этанол Р* и в *воде Р*. Активность в ДФПГ тесте составила для экстракта в 96 % *этанол Р* – 92,30 %, а для водного экстракта – 91,59 %; при этом самое высокое значение общего фенольного индекса (среднее значение составляло 751,8 мг/л) отмечено для водного экстракта из корней, собранных в мае 2018 г.

Результаты изучения антиоксидантной активности экстрактов из корней, листьев, стеблей и семян ревеня сердцевидного, полученные с использованием двух разных методов, тесно связаны и хорошо согласуются с результатами фитохимического исследования сырья методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией [110].

Выводы

Анализ отечественного фармацевтического рынка в сегменте слабительных ЛП за 2012-2016 гг. по данным Реестра лекарственных средств Казахстана и Консалтингового Агентства «Vi-ORTIS» показал выраженную импортозависимость, при этом доля отечественных производителей составляет в среднем 30,2 %. Изучение показателей продаж 4-х растительных слабительных ЛП в форме таблеток (Сенна (Казахстан), Сенадексин (Украина), Алакс (Польша) и Эукарбон (Австрия)) за 2012-2016 гг. показал рост как в натуральном, так и денежном выражении. Результаты анализа подтверждает, что спрос потребителей на растительные ЛП данного сегмента увеличивается и их производство является актуальным. Также установлено, что отечественные растительные слабительные ЛП получены преимущественно из сырья кассии (сенны) остролистной, которая в диком виде не произрастает на территории Казахстана.

Особенности анатомического строения корней ревеня сердцевидного позволили выбрать метод измельчения сырья вальцеванием. Изучены фармацевтико-технологические параметры корней ревеня сердцевидного с различным размером частиц (до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм) и выбраны оптимальные условия и технологические параметры процесса экстрагирования (экстрагент 30 % *этанол Р*). Разработан оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного с использованием различных фракций измельченного вальцеванием сырья и интенсификацией процесса вакуумированием приемника, который позволяет повысить выход экстрактивных веществ и сократить время экстракции. Разработанный оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного успешно апробирован на базе кафедры промышленной фармации НФаУ, г. Харьков, Украина (Акт апробации от 05.12.2018 г.). Новизна способа подтверждена патентами на полезную модель № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья» и № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах», зарегистрированными в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года.

Установлены показатели качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости.

Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного проводятся по основным показателям качества.

Оценка безопасности фитосубстанции показала, что экстракт относится к относительно безвредным веществам (VI класс токсичности) и не оказывает алергизирующего действия. Результаты исследования противовоспалительной активности на модели «формалинового» отека лапы крыс показали, что экстракт густой из корней ревеня сердцевидного в концентрации 100 мг/кг имеет противовоспалительную активность, сопоставимую с контрольным препаратом Ибупрофен в виде суспензии.

Методом ингибирования свободных радикалов ДФПГ установлена высокая антиоксидантная активность экстрактов из корней ревеня сердцевидного – 92,3 % (экстрагент 96 % *этанол Р*) и 91,59 % (водный экстракт). Максимальный «Общий фенольный индекс» (GAE 751,8 мг/л) установлен в водном экстракте из корней ревеня сердцевидного.

Разработка надлежащей технологии получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного позволяет выделить растительную ФС фармакопейного качества с установленной безопасностью и фармакологической активностью.

5 ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА ТАБЛЕТОК С ЭКСТРАКТОМ ГУСТЫМ ИЗ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ СЕРДЦЕВИДНОГО И ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА

Анализ отечественного фармацевтического рынка слабительных ЛП показал целесообразность расширения номенклатуры растительных ЛП, содержащих антраценпроизводные.

5.1 Разработка состава и технологии таблеток, покрытых оболочкой

При разработке таблеток руководствовались концепцией «Качество через разработку» (Quality by Design), основанной на руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» [177].

В качестве лекарственной формы обоснованы таблетки ввиду точности и равномерности дозирования, высокой биодоступности, стабильности при хранении и транспортировании, возможности в них маскировки неприятных органолептических свойств нанесением покрытий, высокой производительности и т.д. Экстракт ревеня сердцевидного густой использовали в качестве АФИ. Физико-химические и технологические свойства данной субстанции позволили определить выбор состава и способа таблетирования через влажную грануляцию, позволяющего достичь положительных технологических характеристик таблетлируемой массы: равномерности фракционного состава, сыпучести, оптимального значения насыпной плотности и угла естественного откоса [178, 179, 180].

Экспериментально установлено содержание эксципиентов в лекарственной форме и изучена их совместимость с активной субстанцией (таблица 28).

Для получения таблеток, покрытых оболочкой использовано оборудование: смеситель таблеточной массы (Dott Bonapace PM-10, Италия), смеситель-гранулятор HLSG (ФармРус), роторный таблеточный пресс (Dott Bonapace, CPR-18, Италия), высокоэффективное оборудование для нанесения пленочной оболочки (Colter BGB-10F, Китай), упаковочная машина (счетная машина IMA TB4, Италия).

Проведено исследование состава полученных гранул с варьированием наполнителя и увлажнителя.

В эксперименте использованы наполнители: микрокристаллическая целлюлоза МКЦ 101, МКЦ 102, лактоза моногидрат, кальция фосфат двухосновной безводный и крахмал прежелатинизированный. Лучшие результаты по насыпной плотности, сыпучести таблетлируемой массы были получены при введении в состав таблеток-ядер МКЦ 102. В качестве подщелачивающего агента использовали наполнитель -магния гидроксикарбонат, способствующий расщеплению антрагликозидов, содержащихся в экстракте ревеня сердцевидного.

Для формирования гранулируемой массы исследованы следующие составы увлажнителей: 10 % раствор Plasdon S-630, 5 % крахмальный клейстер, 1 % и 2 % водный раствор ГПМЦ, и 2 %, 5 %, 10 %, 20 % водные растворы ПВП. Наблюдения показали, что применение 10 % раствора Plasdon S-630 позволило

получить влажную однородную гомогенную массу без образования конгломератов.

Таблица 28 – Характеристика вспомогательных веществ

Наименование	Нормативный документ регламентирующий качество	Норма содержания в лекарственной форме	Назначение Совместимость
Магния гидроксикарбонат	ГФ РК [101]	Не регламентируется До 45 %	Подщелачивающий агент
Натрия кроскармеллоза	ЕФ [87]	Не регламентируется	Разрыхляющее вещество
Микрокристаллическая целлюлоза	ГФ РК [102]	До 90 %	Наполнитель
Plasdone S-630	ЕФ [87]	Не регламентируется Рекомендуется 1-5 %	Связывающее вещество
Магния алюмометасиликат	ЕФ [87]	10-50 %	Адсорбент
Кальция стеарат	ГФ РК [101]	До 1 %	Антифрикционное
Вода очищенная	ГФ РК [101]	Не регламентируется	Растворитель
Спирт этиловый	ГФ РК [101],	Не регламентируется	Растворитель
<i>Opadry</i> белый 85F18422	Спецификация качества	До 4 %	Оболочка пленочная

Использование крахмала картофельного в составе гранулята не обеспечивало распадаемость таблеток, к тому же крахмал снижал прочность таблеток, поэтому исследовали возможность применения более эффективных разрыхлителей – таких, как натрий кроскармеллоза, Polyplasdone XL и натриевый гликолят крахмала. Исследования показали, что применение натрий кроскармеллозы в концентрации 10 % в качестве дезинтегранта позволяет достичь регламентируемой распадаемости.

При разработке состава таблеток с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного одной из проблем при прессовании явилось налипание таблеточной массы на пресс-инструмент. В качестве противоприлипающих и смазывающих веществ в сравнительном аспекте использовали кальция стеарат и магния стеарат в количестве 1 % от массы таблетки. При прессовании серии таблеток, в состав которых входил кальция стеарат налипание таблеточной массы к пуансонам не наблюдалось [181, 182].

Таким образом, нами экспериментально разработаны 50 моделей таблетуемых масс с применением вспомогательных веществ в различных вариациях и с содержанием активной субстанции в дозе 300 мг. Изучением технологических свойств таблетуемых масс из них выбраны 4 модели,

которые соответствовали предъявляемым требованиям (таблица 29). Далее изучали показатели качества (распадаемость, стойкость к раздавливанию и истираемость) полученных таблеток-ядер [183, 184, 185] (таблица 30).

Таблица 29 – Составы выбранных моделей таблетлируемых масс

Ингредиенты	Количество ингредиентов на одну таблетку, мг			
	1	2	3	4
Экстракт корня ревеня густой	300,0	300,0	300,0	300,0
Магния гидроксикарбонат	128,40	128,40	128,40	128,40
Натрия кроскармеллоза	60,0	60,0	-	-
Polyplasdone XL	-	-	60,0	60,0
Микрокристаллическая целлюлоза 102	48,0	-	48,0	-
Лактоза моногидрат	-	48,0	-	48,0
Plasdone S-630	3,60	3,60	3,60	3,60
Магния алюмометасиликат	54,0	54,0	54,0	54,0
Кальция стеарат	6,0	6,0	6,0	6,0

Таблица 30 – Технологические характеристики оптимальных составов таблетлируемых масс и полученных таблеток-ядер

Показатель	Модели			
	1	2	3	4
Таблетлируемой массы				
Фракционный состав, %				
Размер гранул: более 1,0 мм	58,41±0,1	56,32±0,1	56,67±0,1	55,41±0,1
1,0-0,7 мм	21,80±0,1	20,68±0,1	24,09±0,1	24,73±0,1
0,7-0,5 мм	9,35±0,1	11,57±0,1	8,35±0,1	9,13±0,1
0,5-0,25 мм	6,27±0,1	6,35±0,1	6,42±0,1	6,56±0,1
0,25-0,18 мм	2,85±0,1	2,97±0,1	3,15±0,1	2,85±0,1
<0,18 мм	1,32±0,1	2,11±0,1	1,32±0,1	1,32±0,1
Насыпная плотность, г/см ³	0,55±0,02	0,52±0,01	0,53±0,02	0,51±0,01
Сыпучесть, г/с	7,24±0,03	6,07±0,03	7,12±0,01	5,15±0,03
Угол естественного откоса, °	29±1,00	29±0,09	25±0,09	31±1,07
Таблеток-ядер				
Распадаемость, мин	3	3	6	4
Стойкость к раздавливанию, Н	85	75	85	80
Истираемость, %	0,6	0,8	1,1	1,0

Изучение показателей качества (распадаемости, стойкости к раздавливанию и истираемости) полученных таблеток-ядер позволило выбрать окончательный состав таблетки (модель 1).

Для покрытия полученных таблеток-ядер выбраны следующие составы пленочного покрытия:

– Aquarius Preferred HSP BPP 218011 White (Colorcon), состав ГПМЦ (гипромеллоза), кополивидон, полиэтиленгликоль 6000 (макрогол 6000), глицерил каприлокапрат, полидекстроза, титана диоксид (E171).

– *Opadry White 85F18422*, состав: поливиниловый спирт, титана диоксид E 171, макрогол 4000, тальк.

Большая однородность водного пленочного покрытия, гладкая поверхность таблетки и улучшенный глянец позволил выбрать *Opadry White 85F18422* [186].

Для нанесения пленочного покрытия *Opadry White 85F18422* готовили 20 % суспензию. Взвешенное количество плёночного покрытия с помощью миксера суспендировали в достаточном количестве воды Р. Полученные на стадии таблетирования таблетки-ядра с темными вкраплениями покрывали плёночной оболочкой в коатере с перфорированным барабаном при технологических параметрах, представленных в таблице 31.

Таким образом, в таблице 32 представлен состав таблетки, покрытой оболочкой на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, удовлетворяющий всем предъявляемым требованиям [178, 179, 180].

Таблица 31 – Технологические параметры нанесения покрытия

Заданные технологические параметры	Оболочка пленочная <i>Opadry</i> белый 85F18422
1	2
Загрузка (г)	2400,0
Температура на входе °С	50-55
Температура на выходе °С	40-45
Давление воздуха (бар)	2,0
Скорость покрытия мл/мин	15,0
Количество пленочной дисперсии (г)	500,0
Скорость входящего воздуха, об/мин	1250
Скорость выходящего воздуха, об/мин	1250

Таблица 32 – Состав таблетки, покрытой оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

Состав ядра	Содержание	
	мг	мас. %
1	2	3
Экстракт корня ревеня густой	300,0	48,08
Магния гидроксикарбонат	128,40	20,58
Натрия кроскармеллоза	60,0	9,62
Микрокристаллическая целлюлоза 102	48,0	7,69
Plasdone S-630	3,60	0,58
Магния алюмометасиликат	54,0	8,65
Кальция стеарат	6,0	0,96
Суммарно: ядро таблетки	600,0	

Продолжение таблицы 32

1	2	3
Масса оболочки	24,0	3,85
Состав оболочки: поливиниловый спирт, титана диоксид Е 171, макрогол 4000, тальк		
Масса таблетки, покрытой оболочкой	624,0	100,0

Готовый продукт представляет собой круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, диаметром $13\pm 0,2$ мм, высотой $4,2\pm 0,2$ мм.

Технологическая схема получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного представлена на рисунке 59 и включает стадии: подготовка исходного сырья и материалов, смешивание эксципиентов, приготовление увлажнителя и увлажнение, влажное гранулирование, сушка, сухое гранулирование, опудривание, таблетирование, обеспыливание, покрытие оболочкой и глянцеование, упаковка готовых таблеток.

В смеситель загружали и перемешивали вспомогательные вещества – МКЦ 102, магния гидроксикарбонат и натрия кроскармеллозу. Экстракт ревеня сердцевидного густой растворяли в 30 % этаноле *P*, смешивали с увлажнителем до получения вязкой однородной массы и при постоянном перемешивании порциями вводили в смесь вспомогательных веществ. Смешанную массу с оптимальной влажностью подвергали гранулированию и сушке при температуре 40-50°C до остаточной влажности 2,5-3,0 %. Полученную массу вновь подвергали гранулированию и опудривали магния алюмометасиликатом и кальция стеаратом. Массу подвергали таблетированию и покрывали пленочной оболочкой [178, 179, 180].

Технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта ревеня сердцевидного апробирована и валидирована в отделе фармацевтических разработок (R&D) ТОО «Вива Фарм» (Приложения И, Ц).

Таким образом, разработан рациональный состав и оптимальная технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна подтверждена патентом на полезную модель №4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием», зарегистрированным в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года (Приложение В) [187].

5.2 Установление показателей качества таблеток, покрытых оболочкой, и их критериев приемлемости

Установлены показатели качества готовых таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости, разработана спецификация качества (Приложение К).

5.3 Валидация процесса получения таблеток, покрытых оболочкой

На всех этапах апробации технологии получения и контроля качества

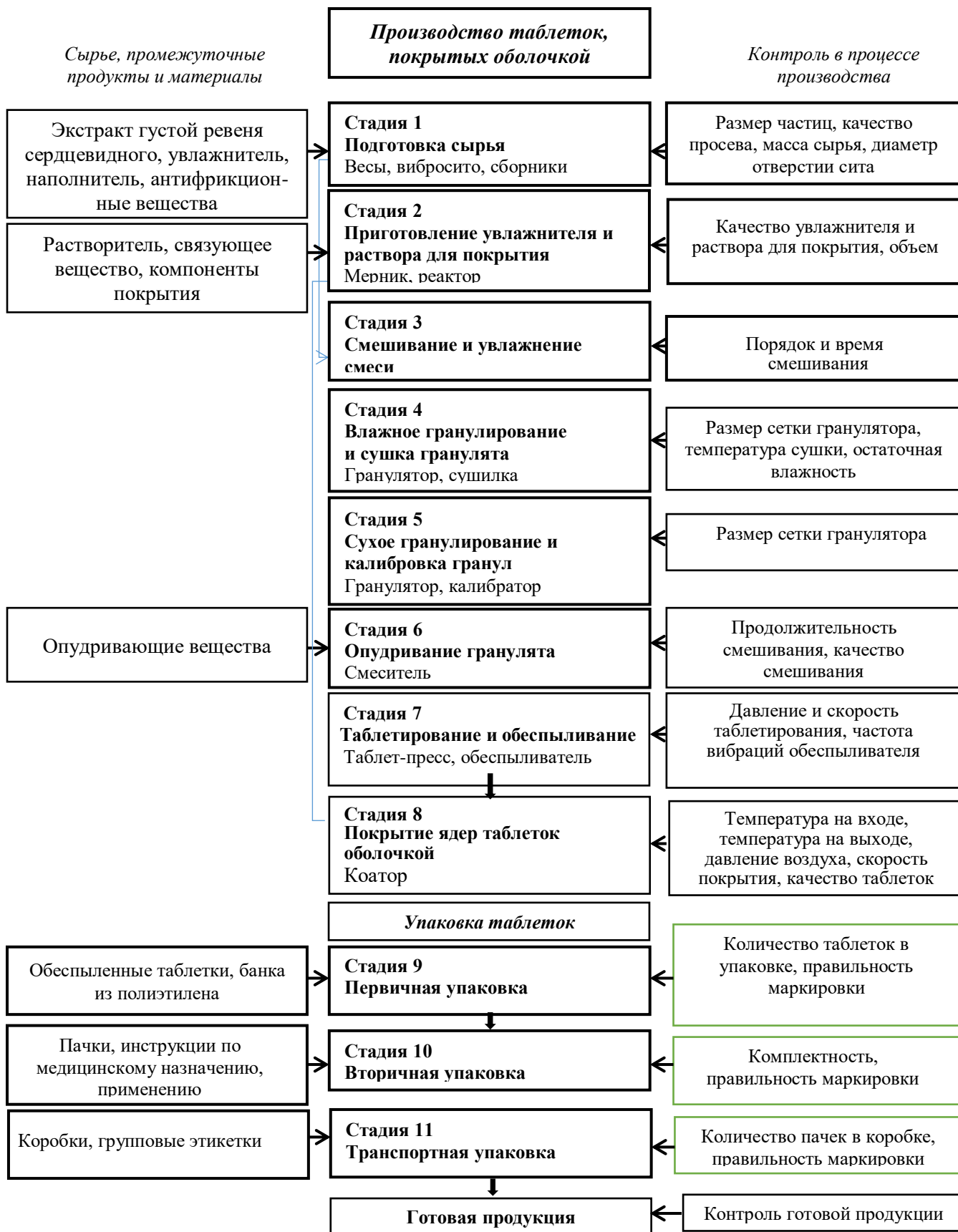


Рисунок 59 – Технологическая схема получения таблеток, покрытых оболочкой

таблеток, покрытых оболочкой на основе экстракта ревеня сердцевидного были оценены возможные риски и определены контрольные точки и технологические параметры [169].

Валидация технологического процесса получения таблеток, покрытых оболочкой проведена на трех последовательно полученных пилотных сериях в объеме 500 таблеток каждая (01RC19, 02RC19, 03RC19). На начальном этапе валидации технологического процесса проведена квалификация оборудования и валидация используемых аналитических методик. Определены критические стадии в технологическом процессе получения таблеток, покрытых оболочкой на основе экстракта ревеня сердцевидного (таблица 31).

На стадии подготовки сырья проведено исследование качества исходного сырья, которое полностью удовлетворяло требованиям ГФ РК и национальных стандартов.

При приготовлении увлажнителя и суспензии для покрытия таблеток-ядер контролировали время и скорость смешивания и однородность полученных полупродуктов. Технологические параметры за время работы оборудования находились в строго заданном диапазоне.

Смешивание эксципиентов и увлажнение смеси проводили с контролем скорости и времени смешивания сыпучих материалов, скорость увлажнения контролировали по скорости подачи увлажнителя. Качество полученных масс показало однородность и требуемую вязкость. Процесс смешивания сухих компонентов на стадиях 3 и 6 показал стабильность контролируемых параметров.

Для влажного и сухого гранулирования контролировали размер отверстий и скорость гранулирования. В готовых гранулах определяли количественное содержание антраценпроизводных и фракционный состав гранул. Пробы были отобраны с 9 точек (сверху-3, в середине-3 и снизу-3) в трех повторностях (таблица 33).

Таблица 33 – План валидации процесса получения таблеток, покрытых оболочкой на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

Стадии технологического процесса	Технологические параметры	Регламентируемые нормы	Количество проб
1	2	3	4
Стадия 1 Подготовка сырья	Качество сырья Масса используемого сырья	В соответ. с ГФ РК ± 0,05 кг	1 1
Стадия 2 Приготовление увлажнителя и суспензии для покрытия ядер таблеток	Скорость смешивания Время смешивания Однородность	20 об/мин 30 мин В соответствии с НД	10 1 9
Стадия 3	Скорость смешивания	В соответ. с НД	10

Продолжение таблицы 33

Смешивание и увлажнение смеси для таблетирования	Время смешивания	В соответствии с НД	1
	Скорость увлажнения		10
Стадия 4 Влажное гранулирование	Размер отверстий	В соответствии с НД	1
	Скорость		10
Стадия 5 Сухое гранулирование	Остаточная влажность	В соответствии с НД	10
	Количественное содержание		10
	Размер отверстий		1
	Скорость		10
	Фракционный состав		9
Стадия 6 Опудривание	Скорость смешивания	В соответствии с НД	10
	Время смешивания		1
Стадия 7 Таблетирование и обеспыливание	Размер пуансон	В соответствии с НД	1
	Давление		10
	Скорость таблетирования		10
	Качество готовых ядер		30
	Частота вибраций обеспылителя		9
	Скорость потока воздуха		1
Стадия 8 Покрывание ядер таблеток оболочкой	Температура на входе		10
	Температура на выходе		10
	Давление воздуха		1
	Скорость покрытия		1
	Скорость входящего воздуха		1
	Скорость выходящего воздуха		1
	Качество таблеток		30
Стадия 9 Фасовка таблеток в банки	Температура	В соответствии с НД	30
	Качество банок		
	Количество таблеток в банке		
	Маркировка		

Процессы увлажнения, влажного и сухого гранулирования проходили строго в заданных регламентом пределах, качество полученного на выходе полупродукта удовлетворяло требованиям нормативного документа, при этом влажность массы для таблетирования не превышала 3 %, количественные показатели содержания антраценпроизводных находились в заданных пределах (рисунок 60).

При опудривании задавали параметры скорости и времени смешивания.

Таблетирование проводили используя регламентированный размер и форму пуансонов, задавая скорость таблетирования, давление таблеточного пресса и объем наполнения отверстия. Качество полученных ядер оценивали в соответствии с НД. На стадии таблетирования исследовали следующие фармацевтико-технологические параметры: средняя масса и отклонение от средней массы, количественное содержание антраценпроизводных в пересчете

на эмодин, растворение и распадаемость таблеток. Отбор проб осуществляли по 10 единиц в начале, в середине и в конце процесса. Распадаемость таблеток не превышала 3-5 мин, растворение за 45 мин составляло 91-92 %, количественное

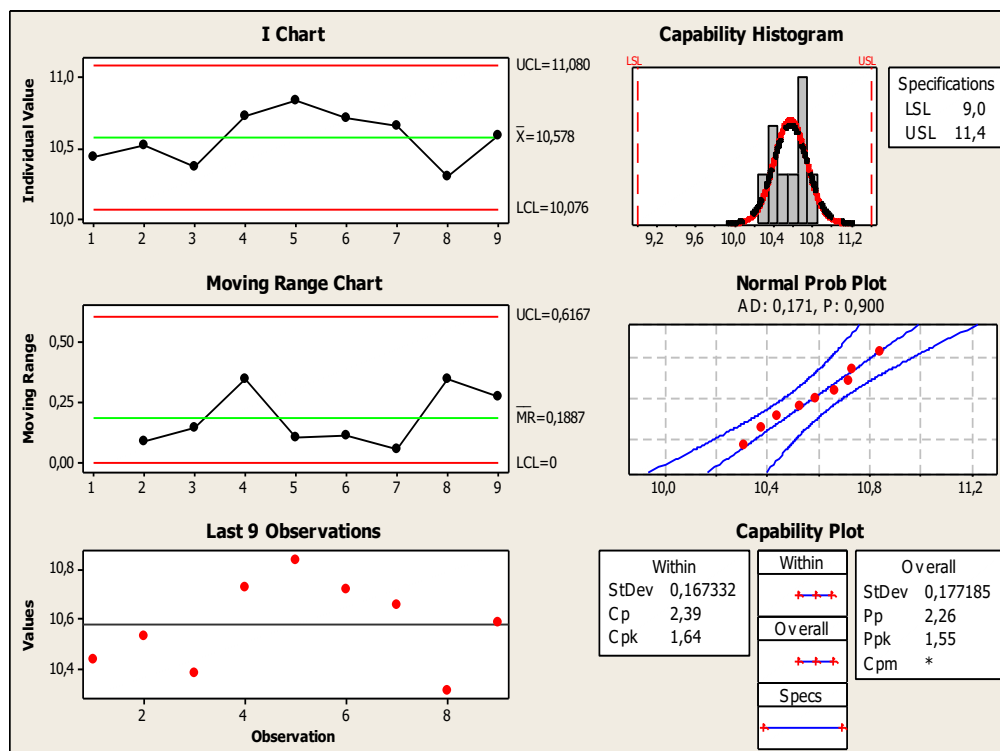


Рисунок 60 – Контрольная карта процесса сухого гранулирования, параметр - количественное содержание суммы антраценпроизводных в гранулах

содержание антраценпроизводных в пересчете на эмодин составляло от 9,0 до 11,4 мг/таб. Относительное стандартное отклонение между значениями не превышает 2 %. На основании результатов исследования можно судить о валидности процесса таблетирования (рисунок 61). Обеспыливание проводили при заданных параметрах, учитывая частоту вибраций обеспыливателя и скорость потока воздуха. Проведен сравнительный анализ ядер до обеспыливания и после по внешнему виду и массе ядра. Значения массы таблеток-ядер находятся в установленных пределах и варьируют в диапазоне от 570 мг до 630 мг (рисунок 62). RSD между значениями не превышает 2 %.

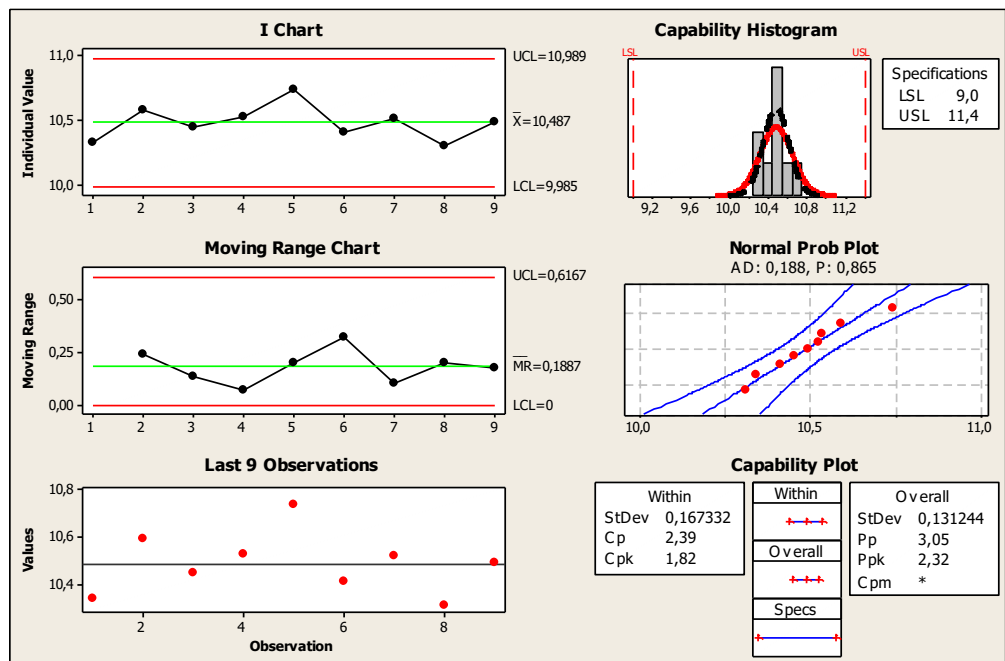


Рисунок 61 – Контрольная карта процесса таблетирования, параметр – количественное содержание суммы антраценпроизводных в ядрах таблеток

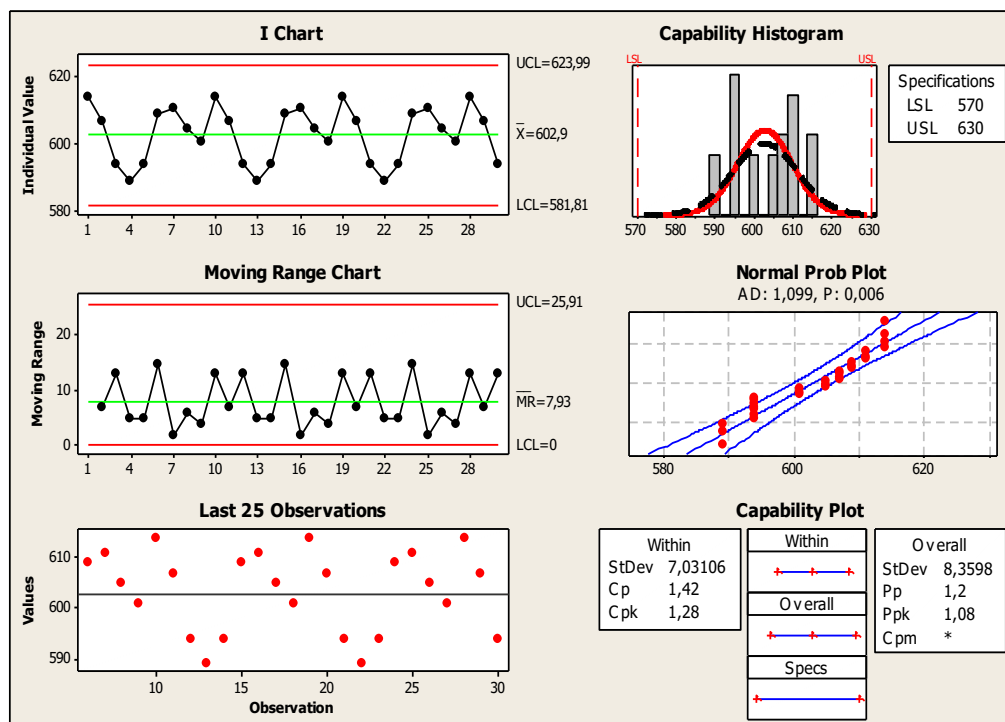


Рисунок 62 – Контрольные карты процесса таблетирования, параметр – качество таблеток-ядер (однородность масс таблеток-ядер)

Обеспыленные таблетки-ядра покрывали пленочным покрытием в соответствии с параметрами, указанными в регламенте, качество таблеток соответствуют требованиям ГФ РК. Процесс нанесения пленочного покрытия является стабильным и наблюдается полная контролируемость процесса по всем заданным параметрам, учитывая наихудший случай. Отбор проб готового продукта осуществляли по заданной схеме с 9 точек. Полученные результаты показали стабильность и статистическую управляемость данной операции: масса таблеток, покрытых оболочкой, варьируется в пределах от 592,8 мг до 655,2 мг; RSD не превышает 2 %, контрольные карты Шухарта показывают то, что полученные значения находятся в диапазоне 3 σ , индексы пригодности процесса удовлетворяют требованиям $C_p (1,27) \geq C_{pk} (1,11) \geq 1,1$ (рисунок 63).

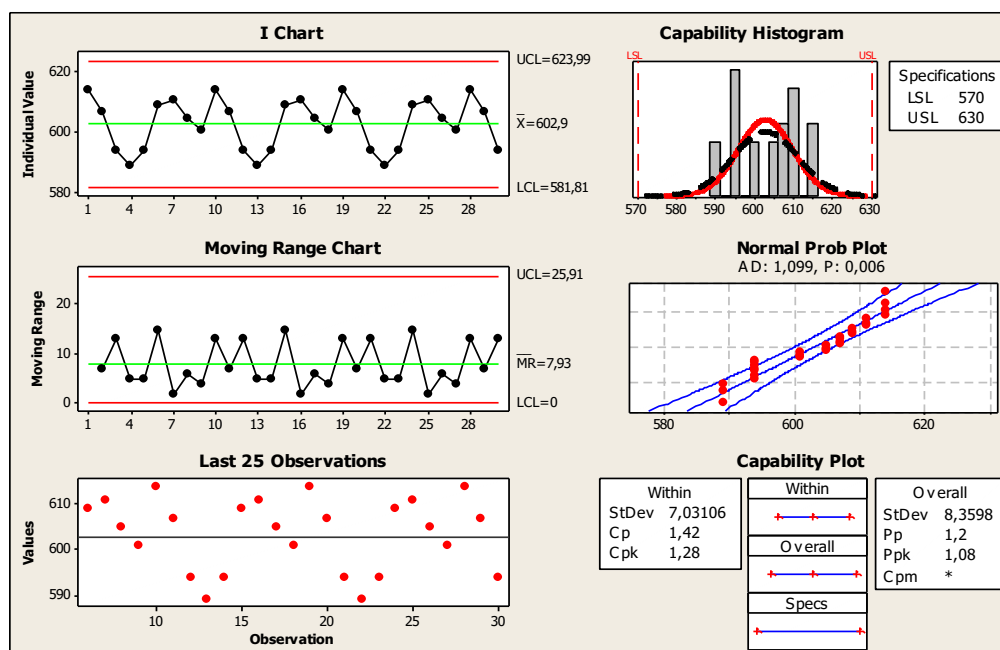


Рисунок 63 – Контрольная карта процесса покрытия ядер-таблеток оболочкой, технологический параметр – качество таблеток, покрытых оболочкой (однородность масс таблеток, покрытых оболочкой)

Таким образом, успешно проведена валидация технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного.

5.4 Испытание стабильности, установление срока годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой

Долгосрочные испытания стабильности таблеток, покрытых оболочкой, проводили в первичной упаковке, предназначенной для хранения и реализации на трех пилотных сериях в следующих условиях: температура 25 ± 2 °C, относительная влажность 60 ± 5 % (таблица 34).

Таблица 34 – Испытания стабильности таблеток, покрытых оболочкой

№ серии	Объем серии, шт.	Дата выпуска	Порядок исследования, мес
01RC19	500	01.2019 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
02RC19	500	01.2019 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
03RC19	500	01.2019 г.	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24

В течение 18 мес. проведены испытания стабильности, установление срока годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой. Долгосрочные испытания стабильности продолжаются (Приложения Ш, Щ, Э).

5.5 Технико-экономическое обоснование производства таблеток, покрытых оболочкой

Для подтверждения целесообразности получения таблеток, покрытых оболочкой в промышленном масштабе рассчитано ТЭО производства [188].

Полная себестоимость единицы продукции составляет 473,46 тг. Установлена стоимость одной единицы продукции (20 таблеток в упаковке) 624,97 тг при рентабельности проекта 32 %. Стоимость аналогичных импортных препаратов на отечественном рынке составляет более 1000 тг (таблица 35).

Таблица 35 – Расчет стоимости одной единицы продукции

А. ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ СЕБЕСТОИМОСТЬ				10 000 ед.прод.	
Наименование	Ед. изм.	Норма расхода	Цена (тг)	Стоимость	
1	2	3	4	5	
ОСНОВНОЕ СЫРЬЕ					
1	Экстракт корня ревеня густой	кг	62,4	20000,00	1 248 000,00
2	Магния гидроксикарбонат	кг	26,7072	1200,00	32 048.64
3	Натрия кроскармеллоза	кг	12,48	5000,00	62 400,00
4	Микрокристаллическая целлюлоза 102	кг	9,984	2000,00	19 968,00
5	Plasdone S-630	кг	0,7488	6500,00	4 867,20
6	Магния алюмометасиликат	кг	11,232	1680,00	18 869,76
7	Кальция стеарат	кг	1,248	700,00	873,60
8	Спирт этиловый		6,7392	720,00	4 852.22
9	Вода очищенная	л	19,968	130,00	2 595,84
10	Opadry White 85F18422		4,992	3000,00	14 976,00
Итого основное сырье					1 409 451.26
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ					
1	Контейнеры с крышечкой	шт.	10000,00	45,00	450000
2	Коробка с инструкцией и этикеткой	шт.	10000,00	35,00	350000
3	Этикетка	шт.	10000,00	8,00	80000
4	Гофра-короб	шт.	1000,00	120,00	120000
5	фирменный скотч	шт.	2,00	150,00	300,00
6	Этикетка групповая	шт.	800	7	5600

Продолжение таблицы 35

1		2	3	4	5
7	Амортизация основных средств			100000	100000
8	Другие вспомо.материалы			5000	5000
Итого вспомогательные материалы					1 110 900,00
ДРУГИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ РАСХОДЫ					
1	З\плата + отчисления				100 000,00
2	Прочие расходы				10 000,00
Итого других расходов					110 000,00
ВСЕГО ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ СЕБЕСТОИМОСТЬ					2 630 351,26
Б. ПОЛНАЯ СЕБЕСТОИМОСТЬ					
Производственная себестоимость					2 630 351,26
Административные расходы				50 %	1 315 175,63
Коммерческие расходы				30 %	789 105,38
ВСЕГО ПОЛНАЯ СЕБЕСТОИМОСТЬ					4 734 632,28
Полная себестоимость единицы продукции					473,46
В. РАСЧЕТНАЯ МИНИМАЛЬНАЯ ЦЕНА РЕАЛИЗАЦИИ					
Полная себестоимость					4 734 632,28
Минимальная доходность (рентабельность)				32 %	1515082,33
ВСЕГО РАСЧЕТНАЯ МИНИМАЛЬНАЯ ЦЕНА 10 000 ед. прод					6 249 714,60
Стоимость одной единицы продукции, 20 таблеток в уп.					624,97

Рассчитана производственная мощность выпускаемой продукции – 462 200 упаковок в год. При стоимости единицы продукции 624,97 тг, стоимость годового объема готовой продукции составляет - 288 861 134 тг. Проведены сметные расчеты стоимости закупаемого оборудования и реконструкции производственной площадки. Минимальные капитальные вложения составляют 285 млн.тг. Чистая прибыль составляет – 92 435 562, 9 тг. При рентабельности 32 %, окупаемость проекта составит 3 года 1 мес.

Выводы

Основываясь на принципах концепции «Качество через разработку» (Quality by Design) теоретически и экспериментально обоснован и разработаны рациональный состав и оптимальная технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта из корней ревеня сердцевидного.

В качестве лекарственной формы выбраны таблетки. Физико-химические и технологические свойства растительной ФС определили выбор состава и способ таблетирования через влажную грануляцию. Исследования показали обоснованность применения в качестве наполнителя МКЦ 102; подщелачивающего агента – магния гидроксикарбоната, увлажнителя – 10 % раствора Plasdon S-630, разрыхляющего вещества – натрия кроскармеллозы, антифрикционных веществ магния алюмометасиликата и кальция стеарата. С целью маскировки неприятных органолептических свойств, для сохранения свойств таблеток и придания механической защиты разработана оптимальная технология пленочного покрытия таблеток-ядер суспензией *Opadry White 85F18422*. Выбран состав таблетки, покрытой оболочкой.

Проведена апробация технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, в отделе фармацевтических разработок ТОО «Вива Фарм». Установлены показатели качества таблеток, покрытых оболочкой, и их критерии приемлемости. Разработана спецификация качества таблеток, покрытых оболочкой. В течение 18 мес проведены испытания стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой. Долгосрочные испытания стабильности продолжаются.

Установлена стоимость одной единицы продукции (20 таблеток в упаковке) 624,97 тг при рентабельности проекта 32 %.

Рациональный состав, оптимальная технология таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, соответствие показателей их качества фармакопейным требованиям и результаты ТЭО позволяют рекомендовать данный проект отечественным производителям для внедрения в производство.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа посвящена фармакогностическому изучению, стандартизации сырья из ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) и надлежащей разработке ЛС на его основе.

Анализ литературных данных выявил, что официальные виды растений рода ревень (*Rheum* L.) не произрастают на территории Казахстана. Оценка перспективности изучения отечественных видов растений данного рода показала, что ревень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.) представляет научный и практический интерес как возобновляемый источник растительного сырья для получения ЛП.

Результаты анализа отечественного фармацевтического рынка в сегменте слабительных ЛП за 2012-2016 гг. показал выраженную импортозависимость, при этом доля отечественных производителей составляет в среднем 30,2 %. Изучение объема продаж 4-х растительных слабительных ЛП в форме таблеток продемонстрировало рост как в натуральном, так и денежном выражениях, что подтверждает увеличение спроса потребителей и, соответственно, перспективность разработки и целесообразность производства отечественных растительных слабительных ЛП.

В соответствии с современными требованиями стандарта GACP впервые разработана технология сбора, заготовки и хранения сырья из ревеня сердцевидного. В результате изучения динамики накопления основных групп БАВ (антраценпроизводных и дубильных веществ) установлен оптимальный период сбора корней – поздней осенью, после осеменения, и ранней весной. Заготовку сырья осуществляли на производственном участке фармацевтического завода ТОО «ФитОлеум», г. Есик, РК.

Определены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья ревеня сердцевидного в сравнении с признаками официального вида.

Впервые проведено фитохимическое исследование сырья (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного и идентифицированы 22 фенольных соединения (антраценпроизводные, катехины и их галлаты, дубильные вещества, флавоноиды (кверцетин, апигенин, кемпферол) и их гликозиды). Все идентифицированные соединения ранее были обнаружены в других видах растения рода ревень (*Rheum* L.), однако большинство компонентов впервые выделены из сырья ревеня сердцевидного. Отмечено содержание эмолина (1,29 %), эпикатехин галлата (5,00 %) в экстракте из корней на основе 50 % этанола *P* и рутозида (4,87 %) в водном экстракте из листьев, которые можно считать маркерными соединениями, определяющими видовую принадлежность ревеня сердцевидного.

Определено количественное содержание основных групп БАВ (антраценпроизводных, полисахаридов, флавоноидов, дубильных веществ, органических кислот, аминокислот, хлорофиллов и каротиноидов), установлено содержание 19 макро- и микроэлементов, 18 аминокислот в сырье ревеня сердцевидного.

В результате сравнительного анализа экстрактов установлено, что органом, наиболее обогащенным метаболитами (антраценпроизводными и другими фенольными соединениями), являются корни ревеня сердцевидного. По результатам исследования проведена стандартизация корня ревеня сердцевидного в соответствии с требованиями ГФ РК.

Комплексное фармакогностическое исследование различных органов (корней, листьев, стеблей, семян) ревеня сердцевидного позволило провести идентификацию сырья, установить качество и принадлежность к производящему виду растения *Rheum cordatum* L., а также выявить орган (корни) с наибольшим содержанием БАВ (антраценпроизводных).

Установлены показатели качества корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости. Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни».

В результате долгосрочных испытаний стабильности сырья установлен срок годности 24 мес. (температура 25 ± 2 °С и относительная влажность 60 ± 5 %).

Учитывая особенности анатомического строения корней ревеня сердцевидного, использовали метод измельчения сырья вальцеванием, который обеспечивает максимальное вскрытие клеточных стенок. Для выбора оптимальных условий процесса экстрагирования изучены фармацевтико-технологические параметры сырья из корней ревеня сердцевидного с различным размером частиц (до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм). Выбраны оптимальные условия и технологические параметры процесса экстрагирования (экстрагент – 30 % этанол *P*). Оценка критериев эффективности процесса подтвердила вакуум-фильтрационное экстрагирование как оптимальный способ по сравнению с традиционной перколяцией. Разработан оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного с использованием различных фракций измельченного вальцеванием сырья и интенсификация процесса вакуумированием приемника, который позволяет повысить выход БАВ и сократить время экстракции. На кафедре промышленной фармации НФаУ (г.Харьков, Украина) апробирована технология получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного (Акт апробации от 05.12.2018 г.). Новизна подтверждена патентами на полезную модель № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья» и № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах», зарегистрированными в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года. Установлены показатели качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости, разработана спецификация качества.

Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного проведены по основным показателям качества.

В результате исследования безопасности установлено, что экстракт густой из корней ревеня сердцевидного относится к относительно безвредным

веществам (VI класс токсичности) и не оказывает алергизирующего действия. Специфические фармакологические исследования показали, что экстракт густой из корней ревеня сердцевидного в концентрации 100 мг/кг имеет противовоспалительную активность, сопоставимую с активностью препарата сравнения Ибупрофен в виде суспензии.

Методом ингибирования свободных радикалов ДФПГ установлена высокая антиоксидантная активность экстрактов из корней ревеня сердцевидного – 92,3 % (экстрагент 96 % этанол *P*) и 91,59 % (водный экстракт). Максимальный «Общий фенольный индекс» (GAE 751,8 мг/л) установлен в водном экстракте из корней ревеня сердцевидного.

Основываясь на принципах концепции «Качество через разработку» (Quality by Design), теоретически и экспериментально обоснованы и разработаны рациональный состав и оптимальная технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна подтверждена патентом на полезную модель № 4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием», зарегистрированным в Государственном реестре полезных моделей РК 19.12.2019 года. Проведена апробация технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, в отделе фармацевтических разработок ТОО «Вива Фарм», г. Алматы, РК (Акт апробации). Установлены показатели качества таблеток, покрытых оболочкой, и их критерии приемлемости. Разработана спецификация качества на таблетки, покрытые оболочкой.

В течение 18 мес. проведены испытания стабильности, установление срока годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой. Долгосрочные испытания стабильности продолжаются.

Установлена стоимость одной единицы продукции (20 таблеток в упаковке) 624,97 тг при рентабельности проекта 32 %.

Рациональный состав, оптимальная технология таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, соответствие показателей их качества фармакопейным требованиям и результаты ТЭО позволяют рекомендовать данный проект отечественным производителям для внедрения в производство.

Таким образом, в результате последовательного решения поставленных задач впервые проведено полномасштабное исследование ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) как перспективного источника растительного сырья.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Полученные результаты в рамках выполнения исследований по теме диссертации «Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)» имеют прикладное значение и могут быть рекомендованы отечественным производителям:

- результаты исследований корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) рекомендовать для включения в ГФ РК;

- разработанный новый способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного с использованием различных фракций измельченного вальцеванием сырья и интенсификацией процесса вакуумированием рекомендовать отечественным производителям, выпускающим растительные ФС;

- рациональный состав, оптимальную технологию получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного рекомендовать отечественным производителям для внедрения в производство.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Xiao P.G., He L.Y., Wang L.W. Ethnopharmacologic study of Chinese rhubarb // *J Ethnopharmacol.* – 1984. – 10(3). – P. 275-293.
- 2 Гаммерман А.Ф. Курс фармакогнозии. – Ленинград: Медицина, 1967. – 235 с.
- 3 Тахтаджяна А.Л. Жизнь растений. Цветковые растения. – Москва: Просвещение. – 1980. – Т.5(1). – С. 382–385.
- 4 Байтенов М.С. Флора Казахстана в 2-х т. – Т.2. Родовой комплекс флоры. – Алматы: Гылым. – 2001. – 280 с.
- 5 Гемеджиева Н.Г., Саякова Г.М., Жумашова Г.Т. Обзор современного состояния изученности казахстанских видов р. *Rheum* L. (*Polygonaceae* Juss.) // Фармация Казахстана. – 2015. – № 12(175). – С. 22–28.
- 6 Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана: Справочное издание. – Алматы. – 2014. – 200 с.
- 7 Лозина-Лозинская А.С. Систематический обзор дикорастущих видов рода *Rheum* L. Флора и систематика высших растений: труды Ботанического института АН СССР. – М., Л. – 1936. – С. 67-141.
- 8 Лозина-Лозинская А.С. Род Щавель – *Rumex* L; Род Ревень – *Rheum* L. Флора СССР. – 1936. – Т. 5. – С. 444-501.
- 9 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. – 1995. – 990 с.
- 10 Высочина Г.И. Антрахиноны и биологическая активность видов рода *Rheum* L. (*Polygonaceae*) (обзор) // Химия растительного сырья. – 2018. – №4. – С 29–41. DOI: 10.14258/jcprm.2018043785.
- 11 He J., Sun J., Wang L., Luo Y., Gao W., Guo H., Zhao H. Chemistry, pharmacology and processing method of rhubarb (*Rheum* species): a review // *J. Food Bioact.* – 2019;8: P. 42-50.
- 12 Wang X. M., Ren Y. *Rheum tanguticum*, an endangered medicinal plant endemic to China // *Journal of Medicinal Plants Research.* – 2009. – Vol. 3(13). – P.1195-1203.
- 13 Huiyan X., Xiaofeng Z., Huan W., Li P.A.N. HPLC determination of anthraquinones from various parts of *R. tanguticum*, *R. undulatum* and *R. spiciforme* // *Acta Bot. Boreali-Occidental Sinica.* – 2003. – 23(2). – P. 328-331.
- 14 Ye M., Han J., Chen H., Zheng J., Guo D. Analysis of Phenolic Compounds in Rhubarbs Using Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry // *J Am Soc Mass Spectrom* 2007. – 18. – P. 82–91.
- 15 Jin W., Ge R.-L., Wei Q.-J., Bao T.-Y., Shi H.-M. Tu P.-F. Development of high-performance liquid chromatographic fingerprint for the quality control of *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf // *J. Chromatogr.* – 2006. – 1132(1-2). – P. 320-324.
- 16 Xu Qing Q.Y., Su X.J., Luo W.S. Chemical constituents in *Rheum palmatum* // *Chin. Tradit. Herb. Drugs.* – 2009. – 40(04). – P. 533-536.
- 17 Wang A., Li J., Li J. Chemical constituents of *Rheum emodi* // *Chin. Tradit.*

Herb. Drugs. – 2010. – 41(3). – P. 343-347.

18 Gao L., Xu X., Yang J. Chemical constituents of the roots of *Rheum officinale* // Chem. Nat. Compd. – 2013. – 49(4). – P. 603–605.

19 Tan J. Research on the Anti-viral Chemical Constituents of *Rheum officinale* Bail // Hubei Traditional Chinese Medicine, Wuhan. – 2006.

20 Hesse O. Rhapontic root and Austrian rhubarb. J fuer Praktische Chemie (Leipzig) – 1908. – 77. – P. 321–352.

21 Wei Y., Wu X., Zhang C., Li C. Studies on Chemical Constituents of *Rheum glaberrimum* Sam // J. Chin. Med. Mater. – 2005. – 28(8). – P. 658–660.

22 Malik S., Sharma N., Sharma U.K., Singh N.P., Bhushan S., Sharma M. Qualitative and quantitative analysis of anthraquinone derivatives in rhizomes of tissue culture-raised *Rheum emodi* Wall. // Plants Journal of Plant Physiology. – 2010. – 167(9). – P. 749–756.

23 Matsuda H., Tomohiro N., Hiraba K., Harima S., Ko S., Matsuo K., Yoshikawa M., Kubo M. Study on anti-Oketsu activity of rhubarb II. Anti-allergic effects of stilbene components from *Rheum undulatum* Rhizoma (dried rhizome of *Rheum undulatum* cultivated in Korea) // Biol. Pharm. Bull. – 2001. – 24(3). – P. 264-267.

24 Zheng Q.X., Wu H.F., Guo J., Nan H.J., Chen S.L., Yang J.S., Xu X.D. Review of Rhubarbs: Chemistry and Pharmacology // Chinese Herbal Medicines. – 2013. – 5(1). – P. 9-32.

25 Ko S.K. A new stilbene diglycoside from *Rheum undulatum* // Arch. Pharmacol. Res. – 2000. – 23(2). – P. 159 -162.

26 Zhu T., Liu X., Wang X., Cao G., Qin K., Pei K., Zhu H., Cai H., Niu M., Cai B. Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC-Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies // J. Sep. Sci. – 2016. – 39(15). – P. 3081–3090.

27 Liselotte K., Riddhi P., Armin P., Gottfried R., Brigitte, K. Anthrone C-glucosides from *Rheum emodi* // Cheminform. – 2004. – 35(37). – P. 391.

28 Xiang L., Liu X., Fan G. Chemical constituents from *Rheum nanum* Siev. ex Pall.(II) // Chin Tradit Herb Drugs. – 2005. – 36. – P. 1306–1309.

29 Singh P., Pant G.J.N., Rawat M. Phytochemistry and Biological Activity Perspectives of *Rheum Species* // Natural Products Journal. – 2016. – 6(2). – P. 84-93.

30 Singh S.S., Pandey S.C., Singh R., Agarwal S.K. 1,8-Dihydroxy-anthraquinone derivatives from rhizomes of Wall // Indian J. Chem. – 2005. – 43B. – P. 1494-1496.

31 Cun Z., Li L., Yong-Qing X., Guo-Fang T., Dong-Dong C., Yun W., Yu-Tian L., Wen-Qian H. Two new anthraquinone glycosides from the roots of *Rheum palmatum* // J. Asian Nat. Prod. Res. – 2010. – 12(12). – P. 1026-1032.

32 Holzschuh L., Kopp B., Kubelka W. Physcion-8-O-beta-D-gentiobioside, a new anthraquinone glycoside from rhubarb roots // Planta Med. – 1982. – 46(3). – P. 159-161.

33 Yamagishi T., Nishizawa M., Ikura M., Hikichi K., Nonaka G.-I., Nishioka I. New Laxative Constituents of Rhubarb. Isolation and Characterization of Rheiniosides A, B, C and D // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 1987. – 35(8). – P. 3132-3138.

34 Dequeker R., Lemli J., Cuveele J. (). Anthraquinone drugs. VII. Densitometric

determination of the sennidins, rheidins and rhein in the root of rhubarb // *Planta Med.* – 1964. – 12(1). – P. 51-56.

35 Lemli J., Bequeker R., Cuveele J. Sennidin C, Reidin B and Reidin C, heterodianthrones of the fresh roots of rhubarb // *Pharm. Weekbl.* – 1964. – 99. – 613.

36 Zwaving J. Separation and isolation of anthraquinone glycosides of *Rheum palmatum* // *Planta Med.* – 1965. – 13(4). – P. 474-484.

37 Krenn L., Pradhan R., Presser A., Reznicek G., Kopp B. Anthrone C-glucosides from *Rheum emodi* // *Chem. Pharm. Bull.* – 2004. – 52(4). – P. 391-393.

38 Suresh Babu K., Tiwari A.K., Srinivas P.V., Ali A.Z., China Raju B., Rao J.M. Yeast and mammalian α -glucosidase inhibitory constituents from Himalayan rhubarb *Rheum emodi* Wall.ex Meisson // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2004. – 14(14). – P. 3841-3845.

39 Oshio H., Imai S., Fujioka S., Sugawara T., Miyamoto M., Tsukui M. Investigation of Rhubarbs. III. New purgative constituents, sennosides E and F // *Chem. Pharm. Bull.* – 1974. – 22(4). – P. 823-831.

40 Nonaka G., Nishioka I., Nagasawa T., Oura H. Tannins and related compounds. I. Rhubarb (1) // *Chem. Pharm. Bull.* – 1981. – 29(10). – P. 2862-2870.

41 Komatsu K., Nagayama Y., Tanaka K., Ling Y., Cai S.Q., Omote T., Meselhy M.R. Comparative study of chemical constituents of rhubarb from different origins // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 2006. – 54(11). – P. 1491-1499.

42 Shikishima Y., Takaishi Y., Honda G., Ito M., Takeda Y., Kodzhimatov O.K., Ashurmetov O. Phenylbutanoids and stilbene derivatives of *Rheum maximowiczii* // *Phytochemistry*. – 2001. – 56(4). – P. 377-381.

43 Ko S.K., Lee S.M., Whang W.K. Anti-platelet aggregation activity of stilbene derivatives from *Rheum undulatum* // *Arch. Pharmacol Res.* – 1999. – 22(4). – P. 401-403.

44 Zheng D., Han H.H., Ma Y.G., Ma Z.C. Identification of the new chemical constituents of *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. J. // *Qinghai Normal Univ. (Nat. Sci.)*. – 2005(2). – P. 36-37.

45 Li J., Li J., He W. Studies on the non-anthraquinones of Hotao rhubarb (*Rheum hotaoense*) // *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. – 1998. – 29. – P. 721-722.

46 Aburjai T.A. Anti-platelet stilbenes from aerial parts of *Rheum palaestinum* // *Phytochemistry*. – 2000. – 55(5). – P. 407-410.

47 Lu K., Tong W., Hu R. Studies on the chemical constituents of rheum's Callus // *Chin. Tradit. Herb. Drugs*. – 1998. – 29. – P. 438-440.

48 Ham I.-H., Oh I.-S., Whang W.-K., Kim I.-H. Pharmac constituents of Korean cultivated Rhubarb leaves-the flavonoids from leaves // *Yakhak Hoeji*. – 1994. – 38(4). – P. 410-417.

49 Kashiwada Y., Nonaka G., Nishioka I. Tannins and related compounds. XLVIII. Rhubarb. (7). Isolation and characterization of new dimeric and trimeric procyanidins // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 1986. – 34(10). – P. 4083-4091.

50 Wang J.-B., Kong W.-J., Wang H.-J., Zhao H.-P., Xiao H.-Y., Dai C.-M., Xiao X.-H., Zhao Y.-L., Jin C., Zhang L. Toxic effects caused by rhubarb (*Rheum palmatum* L.) are reversed on immature and aged rats // *J. Ethnopharmacol.* – 2011. – 134(2). –

P. 216–220.

51 Kashiwada Y., Nonaka G.-I., Nishioka I. Galloylsucroses from rhubarbs // *Phytochemistry*. – 1988. – 27(5). – P. 1469-1472.

52 Ghorbani A., Amiri M.S., Hosseini A. Pharmacological properties of *Rheum turkestanicum* Janisch // *Heliyon*. – 2019. – 5(6). – e01986.

53 Li F, Wang S.C., Wang X., Ren Q.Y., Wang W., Shang G.W., Zhang L., Zhang S.H. Novel exploration of cathartic pharmacology induced by rhubarb // *China J Chin Mater Med*. – 2008. – 33(4). – P. 481-484.

54 Tang D.X., Tan Z.H., Liang Y.Y., Cheng L., Huang L. The inducing diarrhea effects and its mechanisms of anthraquinon from *Rheum palmatum* L. // *Shenzhen Med. Mat. Med. Res*. – 2007. – 18(6). – P.1312-1314.

55 Shi Y.Q., Fukai T., Sakagami H., Kuroda J., Miyaoka R., Tamura M., Yoshida N., Nomura T. Cytotoxic and DNA damage-inducing activities of low molecular weight phenols from rhubarb // *Anticancer Research*. – 2001. – Vol. 21 (4A). – P. 2847–2853.

56 Chen Y.-Ch., Shen Sh.-Ch., Lee W.-R., Hsu F.-L., Lin H.-Y., Ko Ch.-H., Tseng Sh.-W. *Biochemical Pharmacology*. – 2002. – vol. 64 (12). – P. 1713–1724.

57 Li M., Zhang H.L., Lin Y., Li Y.J., Zhang C.H., Zhou H.J., Effects of emodin on mRNA expression of apoptosis-inducing factor and endonuclease G of Rat CBRH-7919 cells // *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*. – 2009. – 20(3). – P. 193-196.

58 Yeh F.T., Wu C.H., Lee H.Z., Signaling pathway for aloe-emodin- induced apoptosis in human H460 lung nonsmall carcinoma cell // *Int J Cancer*. – 2003. – 106(1). – P. 26-33.

59 Fu Z.L., Liu X.N., Zhang C.Y., Jin X.D., Zheng X.Z. Inhibition effect of aloe-emodin on human gastric cancer cell line SGC-7901 // *J Mudanjiang Med Coll*. – 2006. – 27(4). – P. 8-11.

60 Xiao B.X., Guo J.M., Liu D.H., Zhang S., Liu X., Relationship between antiproliferation effects of aloe-emodin on growth of gastric cancer cells and cell cycle arrest // *Chin Tradit Herb Drugs*. – 2008. – 39(5). – P. 729-732.

61 Pecere T., Gazzola M.V., Mucignat C., Parolin C., Vecchia F.D., Cavagqioni A., Basso G., Diaspro A., Salvato B., Carli M., Palu G., Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors // *Cancer Res*. – 2000. – 60(11). – P. 2800-2804.

62 Pecere T., Sarinella F., Salata C., Gatto B., Bet A., Dalla Vecchia F., Diaspro A., Palumbo M., Palu G., Involvement of p53 in specific anti-neuroectodermal tumor activity of aloe-emodin // *Int J Cancer*. – 2003. – 106(6). – P. 836-847.

63 Huang Q., Lu G., Shen H.-M., Chung M.C.M., Ong Ch.N. Anti-cancer properties of anthraquinones from rhubarb // *Medicinal Research Reviews*. – 2007. – vol. 27 (5). – P. 609–630.

64 Kumar D.R.N., George V.C., Suresh P.K., Kumar R.A. Cancer-specific chemoprevention and anti-metastatic potentials of *Rheum emodi* rhizome ethyl acetate extracts and identification of active principles through HPLC and GC-MS analysis // *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2015. – Vol. 28 (1). – P. 83–93.

65 Rajkumar V., Guha G., Kumar R.A. Apoptosis Induction in MDA-MB-435S,

Hep3B and PC-3 Cell Lines by *Rheum emodi* Rhizome Extracts // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2011. – 12. – P. 1197-1200.

66 Hanzlicek A.S., Roof C.J., Sanderson M.W., Grauer G.F. The Effect of Chinese Rhubarb, *Rheum officinale*, with and without Benazepril on the Progression of Naturally Occurring Chronic Kidney Disease in Cats // J. Vet. Internal Med. – 2014. – 28. – P. 1221–1228.

67 Chen D.C., Ma L.Q., Liu S.Z. Effect of rhubarbs on intestinal flora and bacterial translocation in rats with sepsis // Chin Critical Care Med. – 2009. – 21(1). – P. 17-20.

68 Kosikowska U., Smolarz H.D., Malm A. Antimicrobial activity and total content of polyphenols of *Rheum* L. species growing in Poland // Central European Journal of Biology. – 2010. – Vol. 5 [doi:10.2478/s11535-010-0067-4].

69 Kim J.-E., Kim H.-J., Pandit S., Chang K.-W., Jeon J.-G. Inhibitory effect of a bioactivity-guided fraction from *Rheum undulatum* on the acid production of *Streptococcus mutans* biofilms at sub-MIC levels // Fitoterapia. – 2011. – Vol. 82 (3). – P. 352-356.

70 Hu B., Zhang H., Meng X., Wang F., Wang P. Aloe-emodin from rhubarb (*Rheum rhabarbarum*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophages // J. Ethnopharmacol. – 2014. – Vol. 153 (3). – P. 846-853.

71 Chauhan N.S., Kaith Balbir S., Mann S. K. Anti-inflammatory Activity of *Rheum australe* Roots // International Journal of Pharmacognosy. – 2008. – 30(2). – P. 93-96.

72 Xiong H.R., Luo J., Hou W., Xiao H., Yang Z.Q. The effect of emodin, an anthraquinone derivative extracted from the roots of *Rheum tanguticum*, against herpes simplex virus *in vitro* and *in vivo* // J Ethnopharmacol. – 2011. – 133(2). – P. 718-723.

73 Ho T.-Y., Wu Sh.-L., Chen J.-Ch., Li Ch.-Ch., Hsiang Ch.-Y. Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction // Antiviral Research. – 2007. – Vol. 74 (2). – P. 92-101.

74 Babu K.S., Srinivas P.V., Praveen B., Kishore K.H., Murty U.S., Rao J.M. Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi* // Phytochemistry. – 2003. – 62. – P. 203-207.

75 Agarwal S.K., Sudhir S.S., Sushma V., Kumar S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi* // Journal of Ethnopharmacology. – 2000. – 72 (1-2). – P. 43-46.

76 Mishra S.K., Tiwari S., Shrivastava A., Srivastava S., Boudh G.K., Chourasia S.K. Antidyslipidemic effect and antioxidant activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi* rhizomes in dyslipidemic rats // J Nat Med. – 2014. – 68(2). P.363-371.

77 Zhao Y. Neuroprotective effects of Chrysophanol against inflammation in middle cerebral artery occlusion mice // Neurosci. Lett. – 2016. – 630. – P. 16-22.

78 Gu J.-W., Hasuo H., Takeya M., Akasu T. Effects of emodin on synaptic transmission in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons *in vitro* // Neuropharmacology. – 2005. – Vol. 49 (1). – P. 103-111.

79 Raj R., Louis H-L., Thandapilly S.J., Movahed A., Zieroth S., Netticadan T.

Potential of resveratrol in the treatment of heart failure // Life Sciences. – 2014. – Vol. 95. Issue 2. – P. 63-71.

80 Johnson W.D., Morrissey R.L., Osborne A.L., Kapetanovic I., Crowell J.A., Muzzio M., McCormick D.L. Subchronic oral toxicity and cardiovascular safety pharmacology studies of resveratrol, a naturally occurring polyphenol with cancer preventive activity // Food and Chemical Toxicology. – 2011. – Vol. 49. Issue 12. – P. 3319–3327.

81 Lesjak M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives // J. Funct. Food. – 2018. – 40. – P. 68-75.

82 Godoy J.A. Quercetin exerts differential neuroprotective effects against H₂O₂ and A β aggregates in hippocampal neurons: the role of mitochondria // Mol. Neurobiol. – 2017. – 54(9). – P. 7116–7128.

83 Porras D., Nistal E., Martínez-Flórez S., Pisonero-Vaquero S., Olcoz J.L., Jover R., González-Gallego J., García-Mediavilla M.V., Sánchez-Campos S. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation // Free Radic. Biol. Med. – 2017. – 102. – P. 188-202.

84 Cai Y., Sun M., Xing J., Corke H. Antioxidant phenolic constituents in roots of *Rheum officinale* and *Rubia cordifolia*: structure-radical scavenging activity relationships // J Agric Food Chem. – 2004 – 52(26). – P. 7884-7890.

85 The Japanese Pharmacopoeia. 17th ed. Tokyo, 2016. 2630 p.

86 Pharmacopoeia of the people's republic of China. Pekin, 2005. Vol. 1. 668 p.

87 European Pharmacopoeia. 7th ed. 2010. 4034 p.

88 Государственная Фармакопея СССР. – Одиннадцатое издание. - Вып. 2. – М.: Медицина, 1990. – 352 с.

89 Zhumashova G.T., Sakipova Z.B., Sayakova G.M. Prospects of use of *Rheum cordatum* Losinsk. // Фармация Казахстана. – 2018. - №1. – P. 41-45.

90 Красная книга Казахстана. – Изд. 2-е, переработанное и дополненное. Том 2: Растения (кол. авт.). – Астана, ТОО «Арт Print XXI». – 2014. – С. 80-81.

91 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. – Л., 1984/1985. – С. 272–277.

92 Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства Гречишные (Polygonaceae Juss.). Сообщ. V. Род Ревень – *Rheum* L. // Turczaninowia. – 2012. – 15 (1). – С. 92–97.

93 Чумбалов Т.К. Нургалиева Г.М. Флавоноиды *Rheum tataricum* L. // Химия природных соединений. – 1967. – № 5. – С. 345–346.

94 Гемеджиева Н.Г., Курбатова Н.В., Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. К ботаническим и фитохимическим исследованиям *Rheum tataricum* L. из Южного Прибалхашья // Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология. Медицина. География». – 2017. – № 2(86). – С. 40-47.

95 Музычкина Р.А. Природные антрахиноны. Биологические свойства и физико-химические характеристики. – Монография. – Москва: Фазис, 1998. – 864 с.

96 Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. Абилов Ж.А. Качественный и

количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. – Монография. – Алматы: Қазақ университеті, 2004. – 288 с.

97 Chikezi C.P., Ojiako O.A. Herbal medicine: yesterday, today and tomorrow // Altern Integr Med. – 2015. – №4 // <https://www.omicsonline.org/open-access/herbal-medicine-yesterday-today-and-tomorrow-2327-5162-1000195>.

98 Сермухамедова, О.В., Омарова Р.А., Сакипова З.Б. и др. Обзор казахстанского рынка лекарственных средств растительного происхождения // Фармация Казахстана. – 2015. – №6. – С. 7–12.

99 Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Дударенкова М.Р., Саньков А.А. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных слабительных лекарственных препаратов, представленных на Российском рынке // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. - №1(51). – С. 135- 137.

100 Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Саньков А.А. Сравнительное слабительное действие препаратов, содержащих антрагликозиды // Медицинский альманах. – 2015. – № 3(38). – С. 220-222.

101 Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2009. – Т. 2. – 804 с.

102 Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2014. – Т. 3. – 872 с.

103 Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2008. – Т. 1. – 592 с.

104 Пермяков А. И. Микротехника – М., 1988. - С. 11-18, 28-29.

105 Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. и др. Справочник по ботанической микротехнике (Основы и методы). - М., МГУ. – 2004. – 312 с.

106 Вехов В.Н., Лотова Л.И., Филин В.Р. Практикум по анатомии и морфологии высших растений. – Москва: МГУ. – 1980. – 560 с.

107 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Кисличенко В.С., Новосел Е.Н., Курбатова Н.В., Алдасугурова Ч.Ж. Фармакогностический анализ корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Вестник КазНМУ. – 2020. – №1. – С. 521-524.

108 Колісник Ю.С. Фармакогностичне дослідження *Capsella bursa pastoris* (L.) Medik.: дис. ... канд. фарм. наук. – Харьков. 2016. – 163 с.

109 Ковалев В.Н., Попова Н.В., Кисличенко В.С. и др. Практикум по фармакогнозии: учебное пособие для студ. вузов. – Харьков: Изд-во НФаУ; Золотые страницы. – 2003. – 512 с.

110 Zhumashova G., Kukula-Koch W., Koch W., Baj T., Sayakova G., Shukirbekova A., Głowniak K., Sakipova Z. Phytochemical and Antioxidant Studies on a Rare *Rheum cordatum* Losinsk. Species from Kazakhstan. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019;2019. ID 5465463.

111 Колесник Ю.С., Кисличенко В.С., Кузнецова В.Ю. Изучение свободных аминокислот в траве пастушьей сумки // Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики: Міжнар. наук.-практ. конф. – Львів: Львівська

медична спільнота, 2013. – С. 100 – 102.

112 Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaves extracts in different solvents // *Biochem. Soc. Trans.* – 1983. – Vol. 11, № 5. – P. 591 – 592.

113 Зайцева Н.В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rúmx confértus* Willd.): дис. ... канд. фарм. наук. – Самара. 2014. – 139 с.

114 Чекман И.С., Сырвая А.О., Новикова И.В. Аминокислоты – наноразмерные молекулы: клиничко-лабораторные исследования. Харьков, 2014. – 154 с.

115 Шилова И. В., Краснов Е. А., Барановская Н. В. и др. Аминокислотный и минеральный состав надземной части *Atrage ne speciosa* Weinm. // *Хим.-фармац. журн.* – 2002. – Т. 36, № 11. – С. 36 – 38.

116 Хавезов И., Цалев Д. Атомно-адсорбционный анализ. – Л.: Химия, 1983. – 144 с.

117 Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие: 2-е изд., перер. и доп. / Под ред.. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2009. – 560 с.

118 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Саякова Г.М. Изучение технологических и фармакопейных параметров сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // *Вестник Башкирского государственного медицинского университета.* – 2018. – №4. – С. 77-84.

119 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н., Омаркулова Н.С. Разработка технологии получения экстракта из корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // *Медицина (Алматы).* – 2019. – №10-11(208-209). – С. 52-57. DOI: 10.31082/1728-452X-2019-208-209-10-11-52-57.

120 Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1-ая. – Москва, 2012. – 944 с.

121 Хабриева Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2005. – 832 с.

122 Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. «Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent» *Methods in Enzymology.* – 1999. vol. 299. – P. 152–178.

123 Kukula-Koch W., Aligiannis N., Halabalaki M., Skaltsounis A. L., Glowniak K., Kalpoutzakis E. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb // *Food Chemistry.* – 2013. vol. 138. – №1. P. 406–413.

124 WHO Guidelines on Good Practice for the cultivation and harvesting (GACP) of medicinal plants. – Geneva: World Health Organization, 2003 – P. 9–21.

125 Кукенов М.К., Аверина В.Ю., Гемеджиева Н.Г. Лекарственные растения Казахстана и их использование. – Алматы: Гылым, 1996. – С. 21–23.

126 Кокорева И.И., Отрадных И.Г., Съедина И.А. Антропогенное влияние на природные популяции редких эндемичных видов Северного Тянь-Шаня. –

Алматы, 2017. – 152 с.

127 Жумашова Г.Т., Айдосов А., Сакипова З.Б., Саякова Г.М. Разработка технологии сбора, заготовки и хранения лекарственного растительного сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Акановские чтения: актуальные вопросы медицины и здравоохранения: Наука и медицина: современный взгляд молодежи: V Междунар. науч.-практич. конф. – Алматы, 2018. – С. 211.

128 Zhumashova G.T., Sakipova Z.B. Development of the processing technology of *Rheum cordatum* Losinsk. raw material // Фармация Казахстана. – 2020. – №2. – С. 16-19.

129 Гринкевич Н.И., Ладыгиной Е.Я. Фармакогнозия. Атлас: учеб. пособие – М.: Медицина, 1989. – 512 с.

130 Мамонов Л.К., Музычкина Р.А. Введение в фитохимические исследования и выявление биологической активности веществ растений. – Алматы: «Школа XXI века», 2008. – 216 с.

131 Шмыгарева А.А. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды: дис. ...доктора фарм. наук. – Самара, 2017. – 354 с.

132 Han L., Wang P., Wang Y. et al. Rapid discovery of the potential toxic compounds in *Polygonum multiflorum* by UHPLC/Q-Orbitrap-MS-based metabolomics and correlation analysis // Frontiers in Pharmacology. – 2019. – vol. 10. – P. 329.

133 Lin L., Lin H., Yin X. et al. Characterization of the constituents in rat plasma after oral administration of radix *Polygoni multiflori* extracts by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry // Biomedical Chromatography. – 2015. – vol. 29. – №10. – P. 1541–1547.

134 Narayanan S., Jadhav A. P. Simultaneous estimation of aloe emodin and emodin from *Rheum emodi*, *Cassia alata* and aloes by HPTLC // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015. – vol. 77. – №6. – P. 783–787.

135 Tripathi B., Bhatia R., Pandey A. et al. Potential Antioxidant Anthraquinones Isolated from *Rheum emodi* Showing Nematicidal Activity against *Meloidogyne incognita* // Journal of Chemistry. – 2014. Article ID 652526, 9 pages.

136 Chang J. B., Lane M. E., Yang M., Heinrich M. Disentangling the complexity of a hexa-herbal Chinese medicine used for inflammatory skin conditions-predicting the active components by combining LC-MS-based metabolite profiles and in vitro pharmacology // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – vol. 9. – P. 1091.

137 Kukula-Koch W., Koch W., Angelis A., Halabalaki M., Aligiannis N. Application of pH-zone refining hydrostatic countercurrent chromatography (hCCC) for the recovery of antioxidant phenolics and the isolation of alkaloids from Siberian barberry herb // Food Chemistry. – 2016. – vol. 203. – P. 394–401.

138 Koch W., Kukula-Koch W., Komsta Ł. Black tea samples origin discrimination using analytical investigations of secondary metabolites, antiradical scavenging activity and chemometric approach // Molecules. – 2018. – vol. 23. №3. –

P. 513.

139 Бурлака І.С., Кисличенко В.С., Поздняков В.В. Дослідження полісахаридів та органічних кислот трави куничника звичайного та щучника дернистого // Укр. мед. альм. – 2011. – Т. 14, № 2. – С. 50 – 52.

140 Жумашова Г.Т., Кисличенко В.С., Новосел Е.Н., Сакипова З.Б. Определение органических кислот в сырье ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: II Міжнар. науч.-практ. інтернет- конф. – Харків, 2020. – Х.: НФаУ, 2020. – С. 61-62 с.

141 Маматова А.С. Фармакогностическое, фармакотехнологическое изучение полыни *Artemisia gmelinii* и создание на ее основе фитосубстанций: дис. ...PhD док. – Алматы. 2018. – 185 с.

142 Kislichenko V.S., Novosel E.N., Sakipova Z.B., Mamatova A.S., Terninko I.I. Comparison of the amino – acid compositions of *Artemisia gmelinii* and *A. Absinthium* // Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52, №3. – P. 571 – 573.

143 Burda N.Ye., Dababneh M.F., Klivniak V.M. The element composition study of thick extract from *Tribulus terrestris* L. herb // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – №7 (6). – P. 2200 – 2202.

144 Бурда Н.Є., Журавель І.О. Вивчення елементного складу грибів кордіцепс, шіїтаке, рейши та майтаке // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – 2016. – Вип. 26. – С. 308 – 312.

145 Dovgal E., Dababneh M.F., Kyslychenko V.C. The element composition study of Cattail fruits // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research – 2016. – Vol. 8 (9). – P. 167 – 168.

146 Жумашова Г.Т. Изучение элементного состава сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Медицинская наука XXI века – взгляд в будущее: междунар. науч.-практич. конф. (67-ая годовичная), посвященная 80-летию ТГМУ им. Абуали ибни Сино и «Годам развития села, туризма и народных ремесел (2019-2021)». – Душанбе, 2019. – С. 26-27.

147 Бурлака І.С., Кисличенко В.С. Пігменти трави щучника дернистого і трави куничника звичайного // Укр. журн. клін. та лаб. медицини. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 14 – 16.

148 Колісник, Ю. С., Кисличенко В. С., Кузнєцова В. Ю. Пігменти трави грициків звичайних (*Capsella bursa pastoris*) // Фармац. журн. – 2013. – № 1. – С. 75 – 77.

149 Туманов В. Н., Чирук С. Л. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза. – Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 2007. – 62 с.

150. Чуешов В.И., Гладух Е.В., Сайко И.В. и др. Технология лекарств промышленного производства: учеб. для студ. высш. учеб. завед: Пер. с укр. В 2 ч. – Винница: Нова Книга, 2014. – ч. 1. – 696 с.

151 Чуешов В.И., Гладух Е.В., Сайко И.В. и др. Технология лекарств

промышленного производства: учеб. для студ. высш. учеб. завед: Пер. с укр. в 2 ч.– Винница: Нова Книга, 2014. – ч. 2. – 664 с.

152 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Саякова Г.М., Пархатқызы Н., Турдиева К. Разработка критериев стандартизации корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Астана Медициналық журналы. – 2018. – № 4. – С. 287-291.

153 Тулегенова А.У. Верификация фармакопейных методик // <http://dari.kz> 10.10.2016.

154 Тулегенова А.У. Некоторые аспекты испытания стабильности лекарственных средств (сообщение 1) // Фармация Казахстана. – 2006. - №3. – С. 29-31.

155 Тулегенова А.У. Некоторые аспекты испытания стабильности лекарственных средств (сообщение 2) // Фармация Казахстана. – 2006. - №4. – С. 38-40.

156 ICH Q1A (R2). Stability Testing of New Drug Substances and Products. – 2nd edition. – Geneva: ICH, 2003. – 25 p.

157 Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.

158 Аляутдин Р.Н. Фармакология. – 4-е изд. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 832 с.

159 Zhumasova G.T., Sakipova Z.B., Sayakova G.M., Jankulov D.M. A marketing analysis of the Kazakhstani pharmaceutical market of laxatives // Вестник КазНМУ. – 2018. – №1. – С. 310-317.

160. Zhumasova G.T. Review of the Kazakhstani pharmaceutical market of laxatives // Наука и образование в современном мире: Междунар. науч.-практич. конф. – Караганда.: Изд-во Болашак баспа, 2018. – т. 2. – С. 213-217.

161 Рубан Е.А. Практикум по промышленной технологии лекарственных средств для студентов спец. Фармация. – Х.:НФаУ, 2015. – 389 с.

162 Чуешов В.И. и др. Промышленная технология лекарств: практич. руководство: В 2 т. Т.1. – Х.:НФаУ, 2002. – 560 с.

163 Чуешов В.И. и др. Промышленная технология лекарств: практич. руководство: В 2 т. Т.2 – Х.:НФаУ, 2002. – 716 с.

164 Сампиев А.М., Давитавян Н.А., Староверова В.В. Разработка технологии получения сухого экстракта из травы стальника полевого // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 1 (162). – С. 124-127.

165 Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., ВоловикВ.Г. Некоторые аспекты технологии получения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья // Фармаком. – 2003. – №4. – С. 27–32.

166 Давитавян Н.А. Разработка технологии и нормирование качества жидкого и сухого экстрактов травы стальника полевого: автореф....канд. фарм. наук:15.00.01. – Пятигорск, 2007. – 24 с.

167 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н., Кисличенко В.С., Гладух Е.В. Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья

// Полезная модель Патент № 4555 Республика Казахстан, заявл. №2019/0006.2; 03.01.2019; опубл. 20.12.2019, бюл. №51.

168 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н., Саякова Г.М., Кисличенко В.С., Гладух Е.В. Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах // Полезная модель Патент № 4553 Республика Казахстан, заявл. №2019/0004.2; 03.01.2019; опубл. 20.12.2019, бюл. №51.

169 Береговых В.В. Валидация в производстве лекарственных средств. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2010. – 286 с.

170 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н. Разработка и валидация технологии получения фитосубстанции из сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Modern science. Management and standards of scientific research: Междунар. онлайн конф. – Прага, 2020. – С. 63.

171 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н. Валидация технологического процесса получения экстракта из лекарственного растительного сырья ревеня сердцевидного // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2020. – № 3, С.85-90.

172 Жумашова Г.Т. Разработка критериев стандартизации экстракта ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.) // Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога: Міжнар. науково-практич. конф. – Харків: Вид-во НФаУ, 2018. – № – С. 60-61.

173 Амиркулова М.К., Сатбаева Э.М., Сейталиева А.М. и др. Изучение острой и подострой токсичности экстракта цистанхе // Вестник КазНМУ. – 2014. – №5. – С. 13–15.

174 Караубаева А.А., Амиркулова М.К., Сатбаева Э.М. и др. Доклинические исследования субстанции каолинита алексеевского месторождения для производства лекарственных и косметических средств // Вестник КазНМУ. – 2017. – №3. – С. 338–340.

175 Yakovlev G.P., Blinova K.F., Eds. Encyclopedic Dictionary of Medicinal Plants and Animal Products: Tutorial, SP: SPCPA Publishing House, 2002.

176 Lee S.K., Mbwambo Z.H., Chung H., Luyengi L., Gamez E.J.C., Mehta R. G. et al. Evaluation of the antioxidant potential of natural products // Comb. Chem. High Throughput Screen. – 1998. – №1. – P. 35–46.

177 ICH Q8: Фармацевтическая разработка / пер. с англ. – К.: Виалек, 2008. – 40 с.

178 Zhumasova G.T., Sakipova Z.B. Development of the composition and technology of coated tablets with *Rheum cordatum* Losinsk. Extract // Вестник Авиценны. – 2020. - №1. Том 22. – С. 106-111. doi: 10.25005/2074-0581-2020-22-1-106-111.

179 Жумашова Г.Т., Пархатқызы Н., Алимжанова Г.Е., Сакипова З.Б. Разработка рационального состава таблеток с экстрактом ревеня сердцевидного // IV Глобальная наука и инновации 2019: Центральная Азия: Междунар. науч.-практич. конф. – Астана, 2019. – С. 158-159.

180 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б. Фармацевтическая разработка таблеток,

покрытых оболочкой с экстрактом ревеня сердцевидного // Инновации в здоровье нации: VII Всерос. науч.-практич. Конф. с Междунар. участием. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФА, 2019. – С. 182-185.

181 Ходжава М.В., Демина Н. Б., Скатков С.А., Кеменова В.А. Влияние скользящих веществ на качество таблетированных лекарственных средств // Фармация. – 2011. - №7. – С. 31-34.

182 Парамонов Д.А. Смазывающие вещества в производстве твердых лекарственных форм // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2014. - №2 (7). – С. 46-50.

183 Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / под ред. Шохина И.Е. – М.:Перо, 2015. – 320 с.

184 Hanson R., Gray V. Handbook of Dissolution Testing. -3rd ed. – Hockessin: DE. Dissolution Technologies, 2004. – 540 p.

185 Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate release Solid Oral Dosage Forms. – Rockville: FDA/CDER, 2007. – 68 p.

186 Ковшель А.Ю., Флисюк Е.В. Разработка состава и режима нанесения пленочного покрытия для таблеток бетагистина пролонгированного высвобождения // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – № 2(11). – С. 84-88.

187 Жумашова Г.Т., Сакипова З.Б., Ибрагимова Л.Н., Кисличенко В.С., Гладух Е.В. Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием // Полезная модель Патент № 4554 Республика Казахстан, заявл. №2019/0005.2; 03.01.2019; опубл. 20.12.2019, бюл. №51.

188 Сермухамедова О.В., Сакипова З.Б., Евтушенко Е.Н., Куатова А.Н. Технично-економичеcкое обоснование внедрения в производство лекарственных препаратов из растительного сырья // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. Управление, экономика и обеспечение качества в фармации. – 2017. – № 2(50). – С. 46–52.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Патент на полезную модель № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах»


ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**
№ 4553

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL

 (21) 2019/0004.2
(22) 03.01.2019

Қазақстан Республикасы Пайдалы модельдер мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Utility Models of the Republic of Kazakhstan: 19.12.2019

(54) Рауғаш тамырынан фармацевтикалық және тағамдық өнімдерде қолданылатын экстракт алу тәсілі
Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах
Method of obtaining an extract from rhubarb for use in pharmaceutical and nutrition products

(73) "С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті" коммерциялық емес акционерлік қоғамы (KZ)
Некоммерческое акционерное общество "Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова" (KZ)
"S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University" Non-Commercial Joint-Stock Company (KZ)

(72) Жумашова Гульсим Тоқановна (KZ)	Zhumashova Gulsim Tokanovna (KZ)
Сакипова Зуриядда Бектемировна (KZ)	Sakipova Zuriyadda Bektemirovna (KZ)
Ибрагимова Лилия Николаевна (KZ)	Ibragimova Liliya Nikolayevna (KZ)
Саякова Галия Мырзағалиевна (KZ)	Sayakova Galiya Myrzagaliyevna (KZ)
Кисличенко Виктория Сергеевна (UA)	Kislichenko Viktoria Sergeevna (UA)
Гладух Евгений Владимирович (UA)	Gladukh Yevgeniy Vladimirovich (UA)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed by EDS

Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 4553
(51) A61K 36/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0004.2

(22) 03.01.2019

(45) 20.12.2019, бюл. №51

(72) Жумашова Гульсим Токановна (KZ); Сакпшова Зуриядда Бектемировна (KZ); Ибрагимова Лиля Николаевна (KZ); Саякова Галия Мырзагалиевна (KZ); Кисличенко Виктория Сергеевна (UA); Гладух Евгений Владимирович (UA)

(73) Некоммерческое акционерное общество "Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова"

(56) KZ 13308 A, 15.08.2003

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЯ РЕВЕНЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

(57) Полезная модель относится к фармации, в частности к технологии производства фармацевтических и пищевых продуктов растительного происхождения.

Техническим результатом заявляемого способа является увеличение выхода биологически активных веществ и улучшение качества целевого продукта.

Технический результат достигается тем, что в способе получения экстракта из корней ревеня сырье измельчают вальцеванием, разделяют на фракции с различным размером частиц и загружают первый слой из частиц самого крупного размера в экстрактор фильтрационного типа, в качестве растворителя используют спирт этиловый в концентрации 20-95%, который заливают в экстрактор и настаивают первый слой в течение 1 часа. Загружают второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа, затем добавляют третий слой сырья с наименьшим размером частиц и заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа. Проводят вакуум-фильтрационное экстрагирование с отбором растворителя с помощью вакуума со скоростью около 5-7 л/ч или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем.

Очистку полученного экстракта осуществляют центрифугированием, отстаиванием или ультратонкой фильтрацией и удаляют часть растворителя из очищенного извлечения под вакуумом до содержания сухого остатка в экстракте не менее 70 мас. %.

(19) KZ (13) U (11) 4553

Полезная модель относится к фармации, в частности к технологии производства фармацевтических и пищевых продуктов растительного происхождения.

Известен способ получения экстракта из растительного сырья - травы валерианы [Патент Российской Федерации №2098115, МПК А61К 35/78, опубл. 10.12.1997]. Он включает измельчение сырья вальцеванием до величины частиц не более 1 мм и экстрагирование растворителем - 65-75 % этиловым спиртом при температуре 20-25°C путем вакуум-фильтрационного экстрагирования с отбором экстрагента с помощью вакуума со средней скоростью около 15 л/ч с последующим удалением части растворителя в вакуум-выпарительном аппарате при температуре 70-80°C, отстаиванием в течение 5 ч при температуре не выше +10°C, фильтрованием и сушкой фильтрата на распылительной сушке. Выход целевого продукта до 26 % от массы растительного сырья.

Недостатком способа является недостаточная пористость слоя тонкоизмельченного сырья, что ухудшает процесс экстракции и уменьшает выход биологически активных веществ. Сушка водного фильтрата на распылительной сушке при высокой температуре влияет на структуру термолабильных молекул в экстракте, что ухудшает качество экстракта и его активность при применении.

В качестве наиболее близкого аналога выбран способ получения экстракта из корней ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах [Предварительный патент Казахстан № 13308, МПК А61К 35/78, опубл. 15.08.2003]. Он заключается в измельчении сырья и экстрагировании растворителем - подсолнечным маслом. При этом измельченный свежий корень ревеня татарского заливают подсолнечным маслом и выдерживают в течение 4-х месяцев при температуре 20°C, после чего доводят объем масляного экстракта до 100 л путем добавления растворителя и выдерживают в течение 96 часов при температуре 70-75°C.

Недостатком данного способа является длительность процесса экстракции и значительная потеря извлекаемых веществ. Выдерживание при температуре 70-75°C влияет на структуру термолабильных молекул в экстракте, что ухудшает качество экстракта и его активность при применении.

Задачей полезной модели является разработка способа получения экстракта из корней ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах, позволяющего повысить выход биологически активных веществ и улучшить качество целевого продукта.

Техническим результатом заявляемого способа является увеличение выхода биологически активных веществ и улучшение качества целевого продукта.

Технический результат достигается тем, что в способе получения экстракта из корней ревеня сырье измельчают вальцеванием, разделяют на фракции с различным размером частиц и загружают первый слой из частиц самого крупного размера в

экстрактор фильтрационного типа, в качестве растворителя используют спирт этиловый в концентрации 20-95%, который заливают в экстрактор и настаивают первый слой в течение 1 часа. Загружают второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа, затем добавляют третий слой сырья с наименьшим размером частиц и заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа. Проводят вакуум-фильтрационное экстрагирование с отбором растворителя с помощью вакуума со скоростью около 5-7 л/ч или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем.

В предпочтительном варианте осуществления способа измельченное сырье разделяют на фракции с размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм. Кроме того, первый слой сырья размером частиц от 1,0 мм до 1,3 мм образуют высотой не более 7 см, второй слой сырья размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм образуют высотой не более 5 см и третий слой сырья размером частиц до 0,75 мм образуют высотой не более 3 см.

К тому же очистку полученного экстракта осуществляют центрифугированием, отстаиванием или ультратонкой фильтрацией и удаляют часть растворителя из очищенного извлечения под вакуумом до содержания сухого остатка в экстракте не менее 70 мас. %.

В предлагаемом способе получения экстракта из корней ревеня для увеличения пористости слоя сырья и улучшения контакта частиц сырья с растворителем измельченное сырье разделяли на фракции с различным размером частиц, что позволяет повысить эффективность процесса экстрагирования и увеличение выхода биологически активных веществ.

Способ осуществляют следующим образом.

Для приготовления экстракта используют сырье, в виде высушенных корней ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk., заготовленное согласно руководству ГАРП «Надлежащая практика культивирования и сбора лекарственных растений».

Высушенные корни ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk. измельчают вальцеванием в валковых дробилках для тонкого помола, предусматривающий измельчение сырья путем раздавливания и истирания. Измельченное сырье разделяют на фракции с различным размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм при помощи вибросита. Затем сырье загружают последовательно в экстрактор фильтрационного типа. Первый слой из самого крупного размера частиц от 1,0 мм до 1,3 мм с высотой слоя не более 7 см заливают спиртом этиловым в концентрации 20-95% и настаивают в течение 1 часа. Затем добавляют второй слой со средним размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм с высотой слоя не более 5 см, заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа. После этого загружают третий слой сырья с наименьшим размером частиц до 0,75 мм с высотой слоя не более 3 см и заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа. Далее проводят вакуум-

фильтрационное экстрагирование с отбором растворителя с помощью вакуума со скоростью около 5-7 л/ч. Очистку осуществляют центрифугированием. Полученный экстракт сливают в емкость центрифуги, шрот отжимают, отжим объединяют с экстрактом, центрифугируют при 5000:10000 об./мин и фильтруют. Шрот и осадок, полученный при центрифугировании выгружают и сбрасывают в приемник отходов. Жидкий экстракт собирают в накопитель и часть растворителя удаляют под вакуумом до содержания сухого остатка в экстракте не менее 70 мас.% для получения экстракта густого.

Готовый экстракт густой ревеня сердцевидного представляет собой вязкую желтовато-бурую массу со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.

Определение экстрактивных веществ в экстракте густом проводили по методике описанной в Государственной Фармакопее Республики Казахстан. Выход экстрактивных веществ составляет 29,78%.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

1. Способ получения экстракта из корней ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах, включающий измельчение сырья, экстрагирование сырья растворителем, **отличающийся** тем, что сырье измельчают вальцеванием и разделяют на фракции с различным размером частиц, затем загружают последовательно в экстрактор фильтрационного типа первый слой из частиц самого крупного размера, в качестве растворителя используют спирт этиловый в концентрации 20-95%, который заливают в

экстрактор, первый слой настаивают в течение 1 часа, затем добавляют второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым, настаивают в течение 1 часа, после этого загружают третий слой сырья с наименьшим размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают в течение 1 часа, затем проводят вакуум-фильтрационное экстрагирование с отбором растворителя с помощью вакуума со скоростью около 5-7 л/ч или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем, затем осуществляют очистку полученного экстракта и удаляют часть растворителя из очищенного извлечения.

2. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что измельченное сырье разделяют на фракции с размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм.

3. Способ по п. 2, **отличающийся** тем, что первый слой сырья размером частиц от 1,0 мм до 1,3 мм образуют высотой не более 7 см.

4. Способ по п. п. 2 или 3, **отличающийся** тем, что второй слой сырья размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм образуют высотой не более 5 см.

5. Способ по любому из п. п. 2 - 4, **отличающийся** тем, что третий слой сырья размером частиц до 0,75 мм образуют высотой не более 3 см.

6. Способ по любому из п. п. 1 - 5, **отличающийся** тем, что очистку осуществляют центрифугированием, отстаиванием или ультратонкой фильтрацией.

7. Способ по любому из п.п. 1 - 6, **отличающийся** тем, что удаляют часть растворителя из очищенного извлечения под вакуумом до содержания сухого остатка в экстракте не менее 70 мас. %.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Патент на полезную модель № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья»


ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**
№ 4555

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL

 (21) 2019/0006.2
(22) 03.01.2019

Қазақстан Республикасы Пайдалы модельдер мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Utility Models of the Republic of Kazakhstan: 19.12.2019

(54) Ұсақталған өсімдік шикізатынан экстракт алу тәсілі
Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья
Method of obtaining an extract from crushed plant material

(73) "С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті" коммерциялық емес акционерлік қоғамы (KZ)
Некоммерческое акционерное общество "Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова" (KZ)
"S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University" Non-Commercial Joint-Stock Company (KZ)

(72) Жумашова Гүльсим Токановна (KZ)	Zhumashova Gulsim Tokanovna (KZ)
Сакипова Зуриядда Бектемировна (KZ)	Sakipova Zuriyadda Bektemirovna (KZ)
Ибрагимова Лилия Николаевна (KZ)	Ibragimova Liliya Nikolayevna (KZ)
Кисличенко Виктория Сергеевна (UA)	Kislichenko Viktoriya Sergeevna (UA)
Гладух Евгений Владимирович (UA)	Gladukh Yevgeniy Vladimirovich (UA)



ЭЦҚ кол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed by EDS

Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 4555
(51) A61K 31/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0006.2

(22) 03.01.2019

(45) 20.12.2019, бюл. №51

(72) Жумашова Гульсим Токановна (KZ); Сакипова Зуриядда Бектемировна (KZ); Ибрагимова Лилия Николаевна (KZ); Кислиценко Виктория Сергеевна (UA); Гладух Евгений Владимирович (UA)

(73) Некоммерческое акционерное общество "Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова" (KZ)

(56) RU 1133720, 09.07.1995.

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

(57) Полезная модель относится к фармацевти, в частности к технологии получения фармацевтических и пищевых продуктов растительного происхождения.

Техническим результатом заявляемого способа является увеличение выхода биологически активных веществ.

Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья, включает экстрагирование спиртом этиловым в экстракторе фильтрационного типа. Отличие предлагаемого способа заключается в том, что перед экстрагированием измельченное сырье разделяют на три фракции с крупным, средним и мелким размером частиц, загружают в экстрактор фильтрационного типа первый слой с самым крупным размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, затем добавляют второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, после этого загружают третий слой с наименьшим размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, причем каждый слой настаивают в течение 10-60 мин, после настаивания слой сырья заливают спиртом этиловым до образования зеркала с последующим фильтрационным экстрагированием с отбором спирта этилового с помощью вакуума или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем.

(19) KZ (13) U (11) 4555

Полезная модель относится к фармации, в частности к технологии получения фармацевтических и пищевых продуктов растительного происхождения.

Известен способ получения настоек и экстрактов [Авторское свидетельство СССР №1133720 МПК А61К 35/78, опубл. 09.07.1995]. Он включает измельчение сырья вальцеванием до частиц менее 1 мм и экстрагирование растворителем - спиртом этиловым в концентрации 70 % путем вакуум-фильтрационного экстрагирования.

Недостатком способа является недостаточная пористость слоя тонкоизмельченного сырья, что ухудшает процесс экстракции и уменьшает выход биологически активных веществ.

В основу полезной модели положена задача создания способа получения экстракта из измельченного растительного сырья, позволяющего повысить выход биологически активных веществ и соответственно качество целевого продукта.

Техническим результатом заявляемого способа является увеличение выхода биологически активных веществ.

Технический результат достигается тем, что в способе получения экстракта из измельченного растительного сырья, включающем экстрагирование спиртом этиловым в экстракторе фильтрационного типа, согласно полезной модели перед экстрагированием измельченное сырье разделяют на три фракции, с крупным, средним и мелким размером частиц, загружают в экстрактор фильтрационного типа первый слой с самым крупным размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, затем добавляют второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, после этого загружают третий слой с наименьшим размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, причем каждый слой настаивают в течение 10-60 мин, после настаивания слой сырья заливают спиртом этиловым до образования зеркала с последующим фильтрационным экстрагированием с отбором спирта этилового с помощью вакуума или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем.

В предпочтительном варианте осуществления способа измельченное сырье разделяют на фракции с размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм. Кроме того, первый слой сырья с размером частиц от 1,0 мм до 1,3 мм образуют высотой не более 7 см, второй слой сырья образуют размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм высотой не более 5 см и третий слой сырья размером частиц до 0,75 мм образуют высотой не более 3 см.

Способ осуществляют следующим образом.

В качестве сырья использовали высушенные корни ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk, заготовленные согласно руководству GACP «Надлежащая практика культивирования и сбора лекарственных растений».

Сырье измельчают в валковых дробилках для тонкого помола, предусматривающий измельчение сырья путем раздавливания и истирания.

Измельченное сырье фракционируют при помощи вибросита на фракции с размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм, от 1,0 мм до 1,3 мм. Затем в экстрактор фильтрационного типа загружают первый слой сырья с самым крупным размером частиц от 1,0 мм до 1,3 мм слоем высотой не более 7 см, заливают спиртом этиловым с концентрацией 20-95% и настаивают в течение 60 мин. После этого в экстрактор добавляют второй слой сырья со средним размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм слоем высотой не более 5 см и заливают спиртом этиловым и настаивают в течение 60 мин. После этого в экстрактор загружают третий слой сырья с наименьшим размером частиц до 0,75 мм слоем высотой не более 3 см и заливают спиртом этиловым и настаивают в течение 60 мин. После настаивания слой сырья заливают спиртом этиловым до образования зеркала. Следующим этапом проводят процесс вакуум-фильтрационного экстрагирования с отбором спирта этилового с помощью вакуума со скоростью 5-7 л/час. Полученный экстракт сливают в емкость центрифуги, шрот отжимают, отжим объединяют с экстрактом, центрифугируют при 5000:10000 об./мин и фильтруют. Жидкий экстракт собирают в накопитель. Для получения экстракта густого часть спирта этилового удаляют под вакуумом до содержания сухого остатка в экстракте не менее 70 мас. %.

Определение экстрактивных веществ в экстракте проводили по методике описанной в Государственной Фармакопее Республики Казахстан. Выход экстрактивных веществ составляет 29,78%.

Полученный экстракт имеет фармакопейное качество и может использоваться для дальнейшего производства различных продуктов в пищевой и фармацевтической промышленности.

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

1. Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья, включающий экстрагирование спиртом этиловым в экстракторе фильтрационного типа, *отличающийся* тем, что перед экстрагированием измельченное сырье разделяют на три фракции, с крупным, средним и мелким размером частиц, загружают в экстрактор фильтрационного типа первый слой с самым крупным размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, затем добавляют второй слой со средним размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, после этого загружают третий слой с наименьшим размером частиц, заливают спиртом этиловым и настаивают, причем каждый слой настаивают в течение 10-60 мин, после настаивания слой сырья заливают спиртом этиловым до образования зеркала с последующим фильтрационным экстрагированием с отбором спирта этилового с помощью вакуума или с помощью наложения давления на слой жидкости над сырьем.

2. Способ по п.1, *отличающийся* тем, что измельченное сырье разделяют на фракции с размером частиц до 0,75 мм, от 0,75 мм до 1,0 мм и от 1,0 мм до 1,3 мм.

3. Способ по п. п. 1 или 2, *отличающийся* тем, что первый слой сырья с размером частиц от 1,0 мм до 1,3 мм образуют высотой не более 7 см.

4. Способ по любому из п.п. 1-3, *отличающийся* тем, что второй слой с размером частиц от 0,75 мм до 1,0 мм образуют высотой слоя не более 5 см.

5. Способ по любому из п.п. 1 - 4, *отличающийся* тем, что третий слой сырья с размером частиц до 0,75 мм образуют с высотой слоя не более 3 см.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Патент на полезную модель № 4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием»

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 4554

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2019/0005.2

(22) 03.01.2019

Қазақстан Республикасы Пайдалы модельдер мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Utility Models of the Republic of Kazakhstan: 19.12.2019

(54) Іш өткізгіш қаспette не өсімдік материалдарынан жасалған фармацевтикалық құрам
Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием
Pharmaceutical composition from herbal substances with laxative effect

(73) «С. Ж. Асфендияров ағындағы Қазақ ұлттық медицина университеті» коммерциялық емес акционерлік қоғамы (KZ)
Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова» (KZ)
"S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University" Non-Commercial Joint-Stock Company (KZ)

(72) Жумашова Гүлсім Токановна (KZ) Zhumashova Gulsim Tokanovna (KZ)
Сакипова Зуриядда Бектемировна (KZ) Sakipova Zuriyadda Bektemirovna (KZ)
Ибрагимова Лилия Николаевна (KZ) Ibragimova Liliya Nikolayevna (KZ)
Кисличенко Виктория Сергеевна (UA) Kislichenko Viktoria Sergeevna (UA)
Гладух Евгений Владимирович (UA) Gladukh Yevgeniy Vladimirovich (UA)



ЭЦҚ кол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed by EDS

Е. Оспанов
Y. Osranov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 4554
(51) A61K 36/00 (2006.01)
A61K 36/708 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01)
A61P 1/10 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0005.2

(22) 03.01.2019

(45) 20.12.2019, бюл. №51

(72) Жумашова Гульсим Токановна (KZ); Сакипова Зуриядда Бектемировна (KZ); Ибрагимова Лилия Николаевна (KZ); Кисличенко Виктория Сергеевна (UA); Гладух Евгений Владимирович (UA)

(73) Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова» (KZ)

(56) Фитолакс фирмы ЗАО «Эвалар» (Россия), 2014 г.

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ОБЛАДАЮЩАЯ СЛАБИТЕЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ**

(57) Полезная модель относится к области фармации, а именно к лекарственным средствам растительного происхождения, которые обладают слабительным действием.

Техническим результатом является расширение ассортимента лекарственных средств из растительного сырья, обладающего слабительным действием.

Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладает слабительным действием, содержит активную субстанцию и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Отличие фармацевтической композиции заключается в том, что в качестве активной субстанции содержит спиртовый экстракт корня ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk. и в качестве вспомогательных веществ: магния гидроксикарбонат, натрия кроскармеллозу, микрокристаллическую целлюлозу 102, Plasdone S-630, магния алюмометасиликат и кальция стеарат.

Кроме того, фармацевтическая композиция выполнена в форме таблеток, покрытых оболочкой.

(19) KZ (13) U (11) 4554

Полезная модель относится к области фармации, а именно к лекарственным средствам растительного происхождения, которые обладают слабительным действием.

Наиболее широко на практике применяются слабительные растительные средства на основе листьев сенны, коры крушины, плодов жостера слабительного и корня ревеня, содержащие производные антрацена, вызывающие химическое раздражение рецепторов слизистой оболочки кишечника. По локализации действия они относятся к препаратам, действующие преимущественно на моторику толстого кишечника. [Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х томах. Т.1. - 10-е изд. М.: "Медицина", 1986, с.369, 370].

Известен препарат "Похудин" из растительного сырья [Патент Российской Федерации № 2235552 МПК А61К 35/78, опубл. 10.09.2004]. Он поддерживает функцию органов пищеварения, нормализует обмен веществ и обладает слабительным действием. Препарат содержит сухой концентрат экстракта кукурузных рылец, сухой концентрат сока сельдерея, овес измельченный, сухой концентрат настоя плодов фенхеля, сухой концентрат сока свеклы, сухой концентрат настоя корня ревеня, магния сульфат, крахмал, стеарат кальция, тальк, сахар, цинкасульфат, лимонную кислоту, кальция глюконат и желатин, взятые в определенном соотношении при следующем соотношении компонентов на таблетку массой 0,55 г, г:

Сухой концентрат настоя плодов фенхеля 0,000007 - 0,00006

Сухой концентрат сока сельдерея 0,00060 - 0,00360

Сухой концентрат сока свеклы 0,0003 - 0,0024

Сухой концентрат экстракта кукурузных рылец 0,00020 - 0,00160

Сухой концентрат настоя корня ревеня 0,000015 - 0,00009

Магния сульфат 0,0050 - 0,0200

Цинка сульфат 0,0025 - 0,0100

Лимонная кислота 0,0050 - 0,0200

Желатин 0,00007 - 0,0005

Кальция глюконат 0,0500 - 0,1250

Овес измельченный 0,0500 - 0,1250

Крахмал 0,0200 - 0,1000 Стеарат кальция 0,0055

Тальк 0,0050 - 0,0125

Сахар - Остальное

Недостатком известного препарата является его сложность.

Известна фармацевтическая композиция «Фитолак» из растительного сырья, в виде таблеток, обладающая слабительным действием (www.evalar.ru). Таблетки содержат порошок абрикоса 170 мг, экстракт сенны 105 мг, экстракт подорожника 7,5 мг, экстракт укропа 0,1 мг, фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества: фруктозу, целлюлозу микрокристаллическую, диоксид кремния аморфный и стеарат кальция растительного происхождения, кроскармеллозу, ароматизатор натуральный "Клубника".

Композиция обладает мягким послабляющим действием, но состоит из большого числа компонентов, что ограничивает обеспечение надлежащего качества, безопасности и эффективности конечного продукта.

Задачей полезной модели является создание нового лекарственного средства из растительного сырья, обладающего слабительным действием.

Техническим результатом является расширение ассортимента лекарственных средств из растительного сырья, обладающего слабительным действием.

Технический результат достигается тем, что в фармацевтической композиции из растительного сырья, обладающей слабительным действием, содержащей активную субстанцию и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, согласно полезной модели в качестве активной субстанции содержится спиртовой экстракт корня ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk.

К тому же фармацевтическая композиция в качестве вспомогательных веществ содержит: магния гидроксикарбонат, натрия кроскармеллозу, микрокристаллическую целлюлозу 102, Plasdone S-630, магния алюмометасиликат и кальция стеарат.

Кроме того, фармацевтическая композиция выполнена в форме таблеток, покрытых оболочкой.

Ревень сердцевидный - многолетнее травянистое растение семейства Грешичных *Polygonaceae* Juss, который произрастает по щебнистым и каменистым склонам от Чу-Илийских гор до Западного Тянь-Шаня.

Разработка фармацевтической композиции, обладающей слабительным действием, содержащей экстракт ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk. обусловлена высоким содержанием антраценпроизводных класса эмодин, которые повышают тонус и перистальтику толстого кишечника и обуславливают слабительный эффект.

Фармацевтическую композицию получают следующим образом.

Экстракт ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk. получают измельчением корней вальцеванием в валковых дробилках и экстрагированием растворителем - этиловым спиртом путем вакуум-фильтрационного экстрагирования.

В смеситель загружают предварительно просеянные и взвешенные вспомогательные вещества - магния гидроксикарбонат, натрия кроскармеллозу и микрокристаллическую целлюлозу 102 и перемешивают. Увлажнитель готовят из экстракта ревеня сердцевидного растворяя его в спирте этиловом и добавляют Plasdone S-630 до получения вязкой гомогенной массы. В смесь вышеуказанных вспомогательных веществ порционно вводят увлажнитель постоянно перемешивая. Полученную влажную массу пропускают через гранулятор и сушат при температуре 40-50°C до остаточной влажности 2,5-3,0%. Высушенную массу гранулируют и опудривают магния алюмометасиликатом и кальция

стеаратом. Далее полученную массу таблетуют на таблетпрессе и покрывают оболочкой любым удобным способом.

Полученные таблетки имеют массу 624 мг±10%.

В таблице приведен состав фармацевтической композиции в форме таблетки покрытые оболочкой.

Состав ядра	Содержание	
	мг	мас.%
Густой экстракт корня ревеня	300,0	48,08
Магния гидроксикарбонат	128,40	20,58
Натрия кроскармеллоза	60,0	9,62
Микрокристаллическая целлюлоза 102	48,0	7,69
Plasdone S-630	3,60	0,58
Магния алюмометасиликат	54,0	8,65
Кальция стеарат	6,0	0,96
Суммарно: ядро таблетки	600,0	
Масса оболочки	24,0	3,85
Масса таблетки, покрытой оболочкой	624,0	100,0

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

1. Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием, содержащая активную субстанцию и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, **отличающаяся** тем, что в качестве активной субстанции содержит спиртовой экстракт корня ревеня сердцевидного *Rheum cordatum* Losinsk.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, **отличающаяся** тем, что содержит в качестве

вспомогательных веществ - магния гидроксикарбонат, натрия кроскармеллозу, микрокристаллическую целлюлозу 102, Plasdone S-630, магния алюмометасиликат и кальция стеарат.

3. Фармацевтическая композиция по п.п.1 и 2, **отличающаяся** тем, что выполнена в форме таблеток.

4. Фармацевтическая композиция по п.п.1 и 2, **отличающаяся** тем, что выполнена в форме таблеток, покрытых оболочкой.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Акт внедрения технологии сбора, заготовки и хранения сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.) ТОО «ФитОлеум»

АКТ ВНЕДРЕНИЯ № 1

Г. Есик

«20» май 2018г.

результатов PhD диссертационной работы Жумашовой Г.Т.

1. Наименование: внедрение технологии сбора, заготовки и хранения лекарственного растительного сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.).

2. Название организации: ТОО «ФитОлеум», РК, г. Есик, ул. Маметовой, 25.

3. Область применения: фармацевтическое производство.

4. Основное содержание внедрения, разработанного в рамках выполнения диссертационной работы: технология сбора, заготовки и хранения корней ревеня сердцевидного состоит из следующих технологических стадий: сбор сырья, обработка сырья, сушка сырья, упаковка в мешки, склад (хранение).

5. Формы и методы внедрения: на основании динамики накопления биологически активных веществ установлены оптимальные сроки сбора корней (ранней весной и поздней осенью после осеменения).

6. Технологическая схема заготовки корней из ревеня сердцевидного представлена на рисунке 1.

Ингредиенты	Стадия	Контрольные точки
Корни ревеня сердцевидного	Стадия 1. Сбор сырья. Очистка, промывка, обработка	Фармакогностические признаки Визуальный осмотр, органолептическая оценка
Корни ревеня сердцевидного	Стадия 2. Сушка сырья Сушилки	- температура, - период ворошения, - контроль в соотв. с ГФ РК; - степень высушенности
Цельное высушенное сырье, мешки из крафт-бумаги	Стадия 3. Упаковка в мешки Ручной труд	- масса, контроль на соответствие ГФ РК, качество упаковки
Упакованное цельное высушенное сырье	Хранение	- температура; - влажность; - МБЧ

Рисунок 1 - Технологическая схема заготовки корней ревеня сердцевидного

7. Эффективность внедрения: внедрение технологии сбора, заготовки и хранения в рамках требований международных надлежащих практик GACP и GMP, обеспечить качество, эффективность и безопасность лекарственных средств, увеличит номенклатуру и конкурентоспособность, снизит импортозависимость, предоставит возможность отечественным производителям выход на внешние рынки.

Директор ТОО «ФитОлеум»  А.Ш. Курдоглы

Начальник производства  Г.Б. Наден

Руководитель ОКК  И.В. Переверзева

Протокол №1

От «06» 05 2018г.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д
Спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни»

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
Определение	Высушенные корни дикорастущего травянистого растения ревеня сердцевидного (<i>Rheum cordatum</i> Losinsk.), собранные ранней весной и/или поздней осенью.	ГФ РК I, т. 1.
Идентификация: А.	Куски корней, покрытые темно-бурой, поперечноморщинистой пробкой с проводящими элементами. Поверхность разреза светло-коричневая, свежий излом зернистый с оранжевыми или розоватыми прожилками. Порошок коричневого цвета.	ГФ РК I, т. 1
В.	В поперечном срезе корня в паренхиме коры наблюдаются красно-коричневые включения антраценпроизводных, множественные друзы оксалата кальция, крахмальные зерна одиночные и собранные группами от 5 до 20. Форма крахмальных зерен - округлые.	ГФ РК I, т. 1
С. - эмодины антраценпроизводные - эмодин	<p>Окрашивания эфирного слоя желтого цвета в красно-фиолетовый при добавлении раствора аммиака</p> <p>Исследование проводили в системе растворителей <i>кислота муравьиная безводная</i> <i>P</i> – <i>этилацетат</i> <i>P</i> – <i>петролейный эфир</i> <i>P</i> (1:25:75).</p> <p>На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.</p> <p>После опрыскивания хроматографической пластинки раствором 100 г/л <i>калия гидроксида</i> <i>P</i> в <i>метаноле</i> <i>P</i> все зоны должны становиться фиолетовыми.</p>	<p>Качественная реакция В соответствии с НД РК Тонкослойная хроматография ГФ РК I, т. 1, 2.2.27</p>
Посторонние примеси		
– корней, почерневших в изломе	Не более 5 %	ГФ РК I, т. 1, 2.8.2
- органической примеси	Не более 0,5 %	ГФ РК I, т. 1, 2.8.2
– минеральной примеси	Не более 0,5 %	ГФ РК I, т. 1, 2.8.2
Потеря в массе при высушивании	Не более 12,0 %	ГФ РК I, т. 1, 2.2.32

Общая зола	Не более 10,0 %	ГФ РК I, т. 1, 2.4.16
Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной	Не более 2,0 %	ГФ РК I, т. 1, 2.8.1
Микробиологическая чистота	Должна соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 4 А. В 1 г не более 10000 аэробных бактерий, не более 100 дрожжевых и плесневых грибов и не более 100 энтеробактерий. Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	ГФ РК I, т.1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13
Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	ГФ РК I, т.1, 2.4.8,
Количественное определение:		
- суммы антраценпроизводных (в пересчете на эмодин)	Не менее 2,2 %	ГФ РК I, т. 1, 2.2.25
Упаковка	В мешках из крафт- бумаги	В соответствии с НД
Маркировка	См. утвержденный макет упаковки	В соответствии с НД РК
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90	ГОСТ 17768-90
Хранение	В сухом защищенном от света месте, при температуре не более 25 °С.	В соответствии с НД РК

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Акт апробации технологии получения и методик контроля качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

УТВЕРЖДАЮ

Директор по научно-технологической работе ИФаУ
Ирина Владимировна

«05» декабря 2018 г.



АКТ АПРОБАЦИИ

технологии получения и методик контроля качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного

Результаты диссертационной работы PhD - докторанта Жумашовой Г.Т. по теме «Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)» успешно использованы при апробации технологии получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного согласно разработанному проекту технологического регламента и методикам проекта спецификации качества.

В результате проведенного исследования установлено:

- полное воспроизведение технологии, описанной в проекте регламента;
- изготовленные образцы соответствуют требованиям проекта спецификации качества, методики контроля качества воспроизводимы.

Ответственные за внедрение: _____ Гладух Е.В.
_____ Жумашова Г.Т.

Сгенерировано с помощью

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж
 Спецификация качества на
 «Экстракт густой из корней ревеня сердцевидного»

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
Описание	Вязкая желтовато-бурая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.	ГФ РК I, т. 1
Идентификация: - эмодины антраценпроизводные - эмодин	<p>Окрашивания эфирного слоя желтого цвета в красно-фиолетовый при добавлении раствора аммиака</p> <p>Исследование проводили в системе растворителей <i>кислота муравьиная безводная P – этилацетат P – петролейный эфир P</i> (1:25:75). На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции. После опрыскивания хроматографической пластинки раствором 100 г/л <i>калия гидроксида P</i> в <i>метаноле P</i> все зоны должны становятся фиолетовыми.</p>	<p>Качественная реакция В соответствии с НД РК Тонкослойная хроматография ГФ РК I, т. 1, 2.2.27</p>
Потеря в массе при высушивании	Не более 25,0 %.	ГФ РК I, т. 1, 2.2.32
Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	ГФ РК I, т. 1, 2.4.8
Масса содержимого упаковки	Не менее 50,0 г	В соответствии с НД
Микробиологическая чистота	<p>Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.</p> <p>В 1 г не более 10000 аэробных бактерий, не более 100 дрожжевых и плесневых грибов и не более 100 энтеробактерий. Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.</p>	<p>ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 ГФ РК I, т. 2, 2.6.13</p>
Сухой остаток	Не менее 70 %	ГФ РК I, т. 1,
Количественное определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 3,5 %	ГФ РК I, т. 1, 2.2.25

Упаковка	По 50 г препарата в стеклянные банки для лекарственных средств из оранжевого стекла <i>класса I</i> (ГФ РК I, т. 1, 3.2.1) с винтовой горловиной, укупоривают навинчиваемыми полипропиленовыми крышками с контролем первого вскрытия (ГФ РК I, т. 1, 3.2.2).	В соответствии с НД
Маркировка	См. утвержденный макет упаковки	В соответствии с НД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90	ГОСТ 17768-90
Хранение	При температуре не выше 15 °С	В соответствии с НД
Срок хранения		В соответствии с НД
Основное фармакологическое действие	Слабительное действие	В соответствии с НД

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Акт апробации технологии получения таблеток, покрытых оболочкой

УТВЕРЖДАЮ
Директор производственного участка
ТОО «ВИВА ФАРМ»
Лапузенка А.О.
«21» сентября 2020 г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Результаты диссертационной работы PhD докторанта Жумашовой Г.Т. на тему «Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)» были использованы при апробации технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом из корней ревеня сердцевидного, согласно разработанного проекта технологического регламента и проекта методик контроля качества.

В результате проведенного исследования установлено полное воспроизведение технологии, которая изложена в проекте регламента, а подготовленные образцы отвечают требованиям проекта методик контроля качества на лекарственную форму в рамках фармацевтической разработки.

Ответственные за внедрение:

Начальник отдела
фармацевтических разработок

Кадырбай А.

PhD докторант

Жумашова Г.Т.

«21» 10 - 2020 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Спецификация качества таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
Описание	Круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, диаметром $13 \pm 0,2$ мм, высотой $4,2 \pm 0,2$ мм.	Визуальный ГФ РК I, т. 1, общая статья "Таблетки"
Идентификация: - эмодины антраценпроизводные - эмодин	Окрашивания эфирного слоя желтого цвета в красно-фиолетовый при добавлении раствора аммиака Исследование проводили в системе растворителей <i>кислота муравьиная безводная R – этилацетат R – петролейный эфир R</i> (1:25:75). На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции. После опрыскивания хроматографической пластинки раствором 100 г/л <i>калия гидроксида R</i> в <i>метаноле R</i> все зоны должны становятся фиолетовыми.	Качественная реакция В соответствии с НД РК Тонкослойная хроматография ГФ РК I, т. 1, 2.2.27
Средняя масса и отклонение от средней массы	Средняя масса таблеток $624 \pm 31,2$ мг	ГФ РК I, т. 1, 2.9.5
Распадаемость	Не более 30 мин в <i>воде R</i>	ГФ РК I, т. 1, 2.9.1
Потеря в массе при высушивании	От 3 до 7 %	ГФ РК I, т. 1, 2.2.32
Растворение	Не менее 75 % за 45 мин	ГФ РК I, т. 1, 2.9.3
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В. В 1 г не более 10000 аэробных бактерий, не более 100 дрожжевых и плесневых грибов и не более 100 энтеробактерий. Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 ГФ РК I, т. 2, 2.6.13
Количественное определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	От 9,0 до 11,4 мг/таб	Спектрофотометрический метод ГФ РК I, т. 1, 2.2.25.

Упаковка	По 20 таблеток помещают в банку из полиэтилена высокой плотности с контрольным кольцом первого вскрытия.	В соответствии с НД
Маркировка	В соответствии с утвержденным макетом упаковки	В соответствии с НД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90	ГОСТ 17768-90
Хранение	При температуре не выше 25 °С	В соответствии с НД
Срок хранения		В соответствии с НД
Основное фармакологическое действие	Слабительное действие	

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

статья в международном журнале, входящем в базу данных
Scopus и Web of Science

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТЕРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІ
«ҰЛТТЫҚ МЕМЛЕКЕТТІК ҒЫЛЫМИ-
ТЕХНИКАЛЫҚ САРАПТАМА ОРТАЛЫҒЫ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КОМИТЕТ НАУКИ
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ГОСУДАРСТВЕННОЙ
НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ»

050026, Қазақстан Республикасы
Алматы қ., Бөгенбай батыр қош., 221
Тел.: +7 (727) 378-05-09
Email: info@ncste.kz http://www.ncste.kz
dir@inti.kz

050026, Республика Казахстан
г. Алматы, ул. Бөгенбай батыра, 221
Тел.: +7 (727) 378-05-09
Email: info@ncste.kz http://www.ncste.kz
dir@inti.kz

Исх №: 3909/10-01-05

«13» 10 2020

**Казахский национальный
медицинский университет
им. С.Д. Асфендиярова**

На № 4737-10-01-20-09
от 29.09.2020 г.

АО «Национальный центр государственной научно-технической экспертизы» предоставляет информацию о наличии публикации докторанта **Жумашовой Гульсим Токановны** в научном издании, входящем в международные информационные ресурсы **Web of Science** (Clarivate Analytics) и **Scopus** (Elsevier).

«**Oxidative Medicine and Cellular Longevity**» (United States), ISSN 1942-0900, входит в **Web of Science Core Collection** и **Scopus** с 2008 года по настоящее время. Предметная область – **клеточная биология; биохимия, генетика и молекулярная биология: биохимия, клеточная биология, старение.**

Статья **Жумашовой Г.Т.:**

Zhumashova G., Kukula-Koch W., Koch W., Baj T., Sayakova G., Shukirbekova A., Glowniak K., Sakipova Z. Phytochemical and Antioxidant Studies on a Rare Rheum cordatum Losinsk. Species from Kazakhstan // **Oxidative Medicine and Cellular Longevity.** – 2019. - V. 2019. – Article number 5465463.

Статья **выявлена** в базах **Web of Science Core Collection** и **Scopus**. В момент ее опубликования в 2019 году журнал «**Oxidative Medicine and Cellular Longevity**» имел **Impact Factor** за 2018 год **равный 4,868**, **квартиль** по клеточной биологии – **Q2** и имел **CiteScore** за 2018 год **равный 6,4**, **процентиль** по биохимии – **78**; по старению – **69**; по клеточной биологии – **65**.

Вице-президент

Буркитбаев Ж.
8 (727) 378-05-66

А. Гаухар

Бланк сериальк номерс жарамсыз болып табылады. Жауап қайтарғанда міндетті түрде бланк № және күні қарастылу керек.
Бланк без серийного номера не действителен. При ответе обязательно ссылаться на наш № и дату.

005815

ПРИЛОЖЕНИЕ М

Идентификация дикорастущего ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.)

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІ
Қазақстан Республикасы Білім және ғылым
Министрлігі ғылым Комитетінің
шаруашылық жүргізу құқығындағы
Республикалық мемлекеттік кәсіпорныны
«Ботаника және фитоинтродукция
институты»



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И
НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КОМИТЕТ НАУКИ
Республиканское государственное
предприятие на праве хозяйственного
ведения «Институт ботаники и
фитоинтродукции» КН Министерства
образования и науки Республики Казахстан

050040, Алматы к., Тимирязев к., 36 «Д»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

№ 06-09/471

050040, г. Алматы, ул. Тимирязева 36 «Д»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

« 16 » __ноября__ 2017г.

Декану Школы Фармации
КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова
Сакиповой З.Д.

Уважаемая Зурияда Бектемирова!

В ответ на Ваше письмо об оказании содействия в идентификации дикорастущих растений рода: *Berberis* L., *Rheum* L., *Iris* L., *Thymus* L. и *Ferula* для научных исследований в области фармакогностического анализа вышеуказанных объектов сообщаем, что в результате идентификации выявлено, что представленные объекты соответствует следующим видам лекарственных растений:

- *Berberis ilirnsis* M. Pop. (Чарынский каньон, Алматинская область)
- *Rheum cordatum* Losinsk (Чуйская долина)
- *Iris alberti* Regel (Алматинская область)

Генеральный директор



Ситпаева Г.Т.

ПРИЛОЖЕНИЕ Н

Разрешение на сбор сырья дикорастущего
ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.)



Ректору НАО «Казахский национальный
медицинский университет
имени С.Д. Асфендиярова»
Т. Нургожину

В ответ на Ваше письмо №2111-10-01-20-09 от 11.05.2020 акимат Кордайского района сообщает, что не возражает сбору растительного сырья и гербарного материала ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* L.), произрастающего на территории Кордайского района (Чу-Илийские горы, перевал Кордай), в целях проведения научных исследований PhD-докторантом Школы фармации Жумашовой Г. Т. и магистрантом Пархатқызы Н.

И.о. руководителя аппарата
акима Кордайского района

А.Каспакбаев

ПРИЛОЖЕНИЕ П

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.), серия 1

Упаковка: мешки из крафт-бумаги.						Серия: 01RC Дата начала испытания: 05.2018 г. Дата окончания испытания: 05.2020 г.		
Температура: 25 ± 2 °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Высушенные корни дикорастущего травянистого растения ревеня сердцевидного (<i>Rheum cordatum</i> Losinsk.), собранные ранней весной и/или поздней осенью.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация:	А. В соответствии со спецификацией В. В соответствии со спецификацией	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст
Качественные реакции: - эмодин	С. На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Посторонние примеси: – корней, почерневших в изломе – органической примеси – минеральной примеси	Не более 5,0 % Не более 0,5 % Не более 0,5 %	1,25 0,08 0,12	1,25 0,08 0,12	1,27 0,07 0,11	1,26 0,07 0,11	1,27 0,08 0,11	1,27 0,08 0,11	1,27 0,07 0,11
Потеря в массе при высушивании	Не более 12,0 %	10,3 %	10,5 %	10,8 %	8,1 %	8,0 %	8,0 %	8,2 %
Микробиологическая чистота	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13	+						+
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 2,2 %	2,45	2,42	2,46	2,46	2,45	2,43	2,45

ПРИЛОЖЕНИЕ Р

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.), серия 2

Упаковка: мешки из крафт-бумаги		Серия: 02RC Дата начала испытания: 05.2018 г. Дата окончания испытания: 05.2020 г.						
Температура: 25 ± 2 °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Высушенные корни дикорастущего травянистого растения ревеня сердцевидного (<i>Rheum cordatum</i> Losinsk.), собранные ранней весной и/или поздней осенью.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация:	А. В соответствии со спецификацией В. В соответствии со спецификацией	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст
Качественные реакции: - эмодин	С. На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Посторонние примеси: – корней, почерневших в изломе – органической примеси – минеральной примеси	Не более 5,0 %	1,30	1,30	1,28	1,27	1,27	1,30	1,30
	Не более 0,5 %	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
	Не более 0,5 %	0,10	0,10	0,11	0,11	0,10	0,10	0,10
Потеря в массе при высушивании	Не более 12,0 %	10,3 %	10,5 %	10,8 %	8,1 %	8,0 %	8,0 %	8,2 %
Микробиологическая чистота	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13	+						+
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 2,2 %	2,38	2,36	2,40	2,41	2,38	2,39	2,42

ПРИЛОЖЕНИЕ С

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения корней ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.), серия 3

Упаковка: мешки из крафт-бумаги.		Серия: 03RC Дата начала испытания: 05.2018 г. Дата окончания испытания: 05.2020 г.						
Температура: 25 ± 2 °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Высушенные корни дикорастущего травянистого растения ревеня сердцевидного (<i>Rheum cordatum</i> Losinsk.), собранные ранней весной и/или поздней осенью.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Идентификация:	А. В соответствии со спецификацией В. В соответствии со спецификацией	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст	соответст соответст
Тонкослойная хроматография: - эмодин	С. На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст
Посторонние примеси: – корней, почерневших в изломе – органической – минеральной примеси	Не более 5,0 % Не более 0,5 % Не более 0,5 %	1,28 0,06 0,11	1,29 0,06 0,10	1,30 0,05 0,11	1,29 0,05 0,11	1,30 0,05 0,11	1,30 0,05 0,11	1,30 0,05 0,10
Потеря в массе при высушивании	Не более 12,0 %	10,3 %	10,5 %	10,8 %	8,1 %	8,0 %	8,0 %	8,2 %
Микробиологическая чистота	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13	+						+
Количеств. определение: - суммы антраценпрозводных в пересчете на эмодин	Не менее 2,2 %	2,44	2,45	2,44	2,43	2,45	2,43	2,44

ПРИЛОЖЕНИЕ Т

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, серия 1

Показатели		Нормы		Периоды контроля, мес.					
				0	3	6	9	12	
Упаковка: стеклянные банки для лекарственных средств из оранжевого стекла класса I с винтовой горловиной, укупоренные навинчиваемыми полипропиленовыми крышками с контролем первого вскрытия		Температура: (25 ± 2) °С. Относительная влажность: 60±5 %		Серия: 01RC18 Дата начала испытания: 12.2018 г. Дата окончания испытания:					
Описание	Вязкая желтовато-бурая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается	
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст		
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст		
Потеря в массе при высушивании	Не более 25,0%	15,9	16,0	15,7	15,7	16,0	15,9		
Масса содержимого упаковки	Не менее 50,0 г	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0		
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+							
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 3,5 %	3,8	3,8	3,79	3,77	3,79	3,81		

ПРИЛОЖЕНИЕ У

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, серия 2


Показатели		Нормы		Периоды контроля, мес.					
				0	3	6	9	12	18
Упаковка: стеклянные банки для лекарственных средств из оранжевого стекла класса I с винтовой горловиной, укупоренные навинчиваемыми полипропиленовыми крышками с контролем первого вскрытия		Температура: (25 ± 2) °С. Относительная влажность: (60±5) %		Серия: 02RC18 Дата начала испытания: 12.2018 г. Дата окончания испытания:					
Описание	Вязкая желтовато-бурая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается	
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст		
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст		
Потеря в массе при высушивании	Не более 25,0%	15,8	15,8	16,0	15,7	15,8	15,5		
Масса содержимого упаковки	Не менее 50,0 г	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0		
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+							
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 3,5 %	3,83	3,8	3,81	3,82	3,82	3,8		

ПРИЛОЖЕНИЕ Ф

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, серия 3

Показатели		Нормы		Периоды контроля, мес.					
				0	3	6	9	12	18
Упаковка: стеклянные банки для лекарственных средств из оранжевого стекла класса I с винтовой горловиной, укупоренные навинчиваемыми полипропиленовыми крышками с контролем первого вскрытия		Температура: (25 ± 2) °С. Относительная влажность: (60±5) %		Серия: 03RC18 Дата начала испытания: 12.2018 г. Дата окончания испытания:					
Описание	Вязкая желтовато-бурая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом, без постороннего привкуса и запаха.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Потеря в массе при высушивании	Не более 25,0 %	15,3	15,3	15,7	15,9	15,8	15,9		
Масса содержимого упаковки	Не менее 50,0 г	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0		
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+							
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	Не менее 3,5 %	3,82	3,81	3,8	3,8	3,81	3,79		

ПРИЛОЖЕНИЕ X
Одобрение Локальной этической комиссии
Выписка из протокола заседания № 1 (78) от 30.01.2019 года

	«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №1 (78)

ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА
Заседания № 1 (78)
Локальная этическая комиссия (ЛЭК)
АО «Национальный медицинский университет»

Дата заседания: 30 января 2019 года.


Присутствовали:

Заместитель председателя: Жусупов Б.С. - проректор по исследовательской деятельности
Секретарь: Тажиева А.Е.

Члены Локальной Этической Комиссии (ЛЭК):

1. **Балмуханова А.В.** - д.м.н., профессор, руководитель департамента науки и инноваций
2. **Айтхожин Г.К.** – д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней №3;
3. **Супиев Т. К.** - д.м.н., профессор кафедры «Стоматология детского возраста»;
4. **Устенова Г.О.** - д. фарм.н., зав. кафедры «Технология лекарств и инженерных дисциплин»;
5. **Рахимов К.Д.** – д.м.н., профессор, академик НАН РК, заведующий кафедрой Клинической фармакологии;
6. **Салиев Т.М.** - директор Научно-исследовательского института фундаментальной медицины им. Б.А. Атчабарова;
7. **Аймаханова А.Ш.** - канд. физ.-мат. наук, и.о. заведующего кафедрой «Биостатистика и основы научного исследования»;
8. **Батырбаева Д.Ж.** - к.м.н., заведующая научной клинико-диагностической лабораторией НИИФМ им. Б. Атчабарова;
9. **Сатбаева Э.М.** - к.м.н., ассоциированный профессор, заведующая кафедрой «Фармакология», директор центра экспериментальной фармакологии НИИ ФМ им. Б. Атчабарова;
10. **Нысанова Б.Ж.** – к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии;
11. **Касенов Б.Ж.** - к.м.н., доцент кафедры «Патологическая физиология»;
12. **Сейталиева А.М.** – к.м.н., доцент кафедры фармакологии;
13. **Фахрадиев И.Р.** - заведующий лабораторией экспериментальной медицины Научно-исследовательского института фундаментальной медицины им. Б.А. Атчабарова, онколог, общий хирург, эндовидеохирург, докторант кафедры "Клиническая анатомия и оперативная хирургия";
14. **Испаева Г.Б.** – д.ю.н., профессор кафедры медицинского права АО «Национальный медицинский университет»;
15. **Есжанова П.Р.** – к.х.н., ассоц. профессор кафедры «Технология и безопасность пищевых продуктов» НАО «КазНАУ» (неаффилированное лицо).

Число голосов, принадлежащим членам ЛЭК, принявшим участие в заседании по вопросам повестки дня - «10». Кворум для проведения заседания Комиссии имеется. Из 17 членов ЛЭК присутствуют 10. Заседание Комиссии признано правомочным принимать решения по всем вопросам повестки дня.

	«ЎЛТТИҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТИ» АКЦИОНЕРЛИК ҚОҒАМЫ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»		
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №1 (78)	Редакция: 1 Страница 2 из 5

ПОВЕСТКА ДНЯ

Дата: 30.01.2019г.

Рассмотрение материалов исследования: Заявка, регистрац. №690. Диссертационное исследование на соискание степени PhD по специальности 6D110400- «Фармация» (экспериментального исследования доклинического исследования) на тему: «**Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)**». Главный исследователь: Жумашова Г.Т. PhD докторант 2-го года обучения по специальности 6D110400- «Фармация». Научный консультант: Сакипова З.Б. д.фарм.н., профессор.

Перечень документов, представленных на экспертизу:

1. Заявка с протоколом исследования;
2. Аннотация НИР;
3. Сведения об исследователях (резюме);

Эксперт №1:

Дизайн исследования: дизайн представлен, описаны этапы исследования, количество животных и т.д. **Рекомендации эксперта:** Необходимо конкретизировать количество экспериментальных животных, так как в протоколе исследования указано в одном пункте общее количество 20 голов, в другом – 24, в таблице В-6 100 голов. **Ответ заявителя:** Оценка острой токсичности (при однократном введении) будет проведена на беспородных белых мышах (масса 18-25 г.), при однократном введении исследуемого вещества в дозах 500 мг/кг, 2000 мг/кг, 5000 мг/кг натошак. Животные будут разделены на 4 группы по 6 особей (табл. 1).

Таблица 1. Оценка острой токсичности (при однократном введении)

Оценка острой токсичности	1-группа 500 мг/кг	2- группа 2000 мг/кг	3-группа 5000 мг/кг	4-группа контроль- ная группа	Количество беспород- ных белых мышей
	6	6	6	6	24

Оценка подострой токсичности (при многократном введении) будет проведена на беспородных белых мышах (масса 18-25 г.), при введении исследуемого вещества в течение 3-4 недель в дозах 500 мг/кг, 2000 мг/кг, 5000 мг/кг натошак. Животные будут разделены на 4 группы по 6 особей (табл. 2).

Таблица 2. Оценка подострой токсичности (при многократном введении)

Оценка подострой токсичности	1- группа 500 мг/кг	2- группа 2000 мг/кг	3- группа 5000мг /кг	4-группа Контрольная группа	Количество беспород- ных белых мышей
	6	6	6	6	24

Оценка алергизирующего свойства проводится реакцией иммунных комплексов на морских свинках. Сенсибилизирующая доза испытуемого препарата - терапевтическая и в 10 раз превышающая (2 группы животных по 6 штук). Контрольным животным (6 штук) по той же схеме и в том же объеме вводят растворитель (табл.3).


	«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №1 (78)
		Редакция: 1 Страница 3 из 5

Таблица 3. Оценка алергизирующего свойства

Алергизирующие свойства	1 группа - контрольная	2 группа – терапевтическая доза испытуемого препарата	3 группа – 10 раз превышающая доза испытуемого препарата	Количество крыс
	6	6	6	18

Изучение противовоспалительной активности препарата. Исследование проводится на крысах-самцах массой 160-220 г. Животные разделяют на 3 группы по 6 особей: 1 группа - контрольная, 2 группа животных, которые получают препарат сравнения (ибупрофен в виде суспензии) и 3 группа животных, которые получают исследуемое вещество (табл.4).


Таблица 4. Изучение противовоспалительной активности

Противовоспалительный эффект	1 группа - контрольная	2 группа препарат сравнения	3 группа исследуемое вещество	Количество крыс
	6	6	6	18

В форму В-6 Лабораторные животные и условия их содержания внесены изменения и дополнения: Вид –мыши, крысы, морские свинки; порода – беспородные; пол – обоих полов
Масса тела – мыши–18-25 г, крысы - 160-220 г, морские свинки - 250-300г. Общее количество – мыши – 48 шт., крысы – 18 шт., морские свинки – 18 шт. Источник получения – виварий НИИ ФМ им. Б. Атабаева. Период акклиматизации – 2 недели. Идентификация – отбор животных по массе, полу и маркировка. Рандомизация – случайный отбор животных в каждой группе. Количество животных в группе мыши -6 штук, крысы- 6 штук, морские свинки – 6 штук. Размеры клетки –площадь дна: для мышей– 30-40 см², морские свинки – 300 см². Материал клетки – пластмасса, металл. Рацион – стандартный. Температура воздуха - 20±2⁰С, влажность воздуха - 60%. **Замечания эксперта:** В протоколе исследования указано, что исследуемый препарат вводится животным в течение 30 дней при изучении его токсичности, но на 14-е сутки проводится забой животных, после чего изучают состояние внутренних органов, т.е. приведено не корректное описание методики. **Ответ заявителя:** Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой и подострой токсичности должна составлять не менее 14 дней, после последнего введения дозы. На 14-е сутки после последнего введения дозы проводится забой животных, после чего изучают состояние внутренних органов. **Заключение эксперта:** Рекомендовать к одобрению с поправками.

Эксперт №2:

Актуальность темы: Принятые Правительством меры по организации фармацевтической отрасли Республики Казахстан послужили основой позитивных изменений в сфере производства фармацевтических препаратов и медицинской техники. На сегодняшний день фармацевтическая промышленность Казахстана имеет стабильную тенденцию роста. Ежегодно объемы медикаментов, производимых в Казахстане, возрастали на 10%, а в 2000 году рост составил более 35%. В 1997 году выпущено медикаментов на сумму 9 миллионов долларов США, в 1998 году - 10 миллионов, в 1999 году - 11,5 миллионов, к концу 2000 года - 16 миллионов долларов США. Доля продукции отечественных производителей на фармрынке

	«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №1 (78)
		Редакция: 1 Страница 4 из 5

республики планомерно увеличивается: к концу 2000 года она возросла до 6 %. В настоящее время на мировом рынке фармпрепаратов доля средств растительного происхождения составляет более 40 %. Причем в последние годы проявляется выраженная тенденция к ее увеличению и по прогнозам Всемирной организации здравоохранения в течение ближайших десяти лет доля фитопрепаратов в общем объеме лекарственных средств составит более 60 %.

Цель научно-исследовательской работы: Разработка состава, технологии и критериев стандартизации фитопрепаратов на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rh.cordatum* Losinsk.) и исследование их безопасности и эффективности. Задачи научно-исследовательской работы: 1. Определить острую, подострую токсичность и аллергизирующего действия экстракта из сырья ревеня сердцевидного *Rh.cordatum* Losinsk; 2. Провести экспериментальные фармакологические испытания (определение противовоспалительной активности) экстракта из сырья ревеня сердцевидного *Rh.cordatum* Losinsk; Планируемое начало и длительность исследования: февраль-май 2019 г., длительность 120 дней. Длительность проведения: 120 дней. Научная новизна: Впервые будет проведена оценка безопасности фитосубстанции на основе сырья ревеня сердцевидного *Rh.cordatum* Losinsk. и будут получены данные о фармакологических исследованиях. Теоретическая и практическая значимость проведенных анализов: На основании проведенных исследований будет установлена характерная выраженность.


Рекомендации эксперта по протоколу исследования: Документы исследования описаны в полном объеме, имеются следующие замечания: В Школе фармации АО «Национальный медицинский университет», г. Алматы совместно с Люблинским медицинским университетом (Польша) и Национальным фармацевтическим университетом (Украина, Харьков) проводятся полномасштабные исследования по изучению ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.), где в качестве сырья изучается ремень сердцевидный, как источник биологически активных веществ (БАВ).

Замечания эксперта: В чем заключается новизна данной работы? **Ответ заявителя:** Научная новизна данного исследования определяется тем, что впервые: Будут проведены фармакогностические исследования и стандартизация сырья ранее неизученного отечественного вида - ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.); Будет разработана оптимальная технология получения экстракта ревеня сердцевидного фармакопейного качества для применения в качестве субстанции; Будут проведены исследования по разработке технологии фитопрепаратов на основе субстанции.

Замечания эксперта: В п. Содержание животных имеется информация, что необходим период акклиматизации - приспособления живых организмов к новым условиям существования, к новым биоценозам. Также указано, что применительно к лабораторным животным период акклиматизации после перемещения животных из питомника в виварий должен составлять не менее 2 недель. Уточните, откуда будете брать животных? **Ответ заявителя:** Для исследований применяют здоровых половозрелых животных, полученных из сертифицированных питомников. Перед экспериментами животные должны пройти карантин в течение 10-14 дней и содержаться на стандартном рационе вивария. Получение животных от не сертифицированных производителей не допускается (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1-ая. Под ред. Миронова А.Н. - Москва, 2012, - 14 с.).

Заключение эксперта: Рекомендовать к одобрению без рассмотрения на заседании ЛЭК после устранения замечаний.

Принятое решение: Одобрить проведение исследования после устранения замечаний, без повторного рассмотрения ЛЭК.

	«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №1 (78)

Решение ЛЭК с рекомендациями экспертов по устранению замечаний было своевременно передано заявителю. Замечания устранены, ответы на вопросы экспертов предоставлены в полном объеме.

ПОСТАНОВИЛИ: Локальная этическая комиссия АО Национального медицинского университета считает представленные документы согласно рекомендациям экспертов ЛЭК соответствующими установленным этическим требованиям.

РЕШЕНИЕ ЛЭК: ОДОБРИТЬ проведение исследования: №690. Диссертационное исследование на соискание степени PhD по специальности 6D110400- «Фармация» (экспериментального исследования доклинического исследования) на тему: «Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)». Главный исследователь: Жумашова Г.Т. PhD докторант 2-го года обучения по специальности 6D110400- «Фармация». Научный консультант: Сакипова З.Б. д.фарм.н., профессор.

Заключение об одобрении ЛЭК действует один год, с 30 января 2019 года по 30 января 2020 года. По истечении указанного срока необходимо представить в ЛЭК отчет о выполненной работе за год, не позднее 30 января 2020 года. Ответственность за представление в ЛЭК отчета по исследованию возлагается на главного исследователя Г.Т. Жумашову PhD докторанта 2-го года обучения по специальности 6D110400- «Фармация» и ее научного консультанта д.фарм.н., профессора З.Б. Сакипову.

Зам. председателя ЛЭК



Б. Жусупов

Секретарь ЛЭК



ҚОЛЫН ВАСТАЙМЫН
«Ұлттық медицина университеті»
акционерлік қоғамының қағаздық құжаттары мен құжаттамасын
ету болімінің басшысы
ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Руководитель отдела документационного обеспечения
АО «Национальный медицинский университет»

ПРИЛОЖЕНИЕ Ц
Письмо Генеральному директору ТОО «Вива Фарм»

«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА
УНИВЕРСИТЕТІ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ



АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

050012, Алматы қаласы, Төле би көшесі, 94 үй
телефон: +7 /727/ 292-78-85, 292-79-37, 338-70-30
факс: +7 /727/ 292-13-88, e-mail: info@kaznmu.kz

050012, город Алматы, улица Төле би, д. 94
телефон: +7 /727/ 292-78-85, 292-79-37, 338-70-30
факс: +7 /727/ 292-13-88, e-mail: info@kaznmu.kz

07 ИЮН 2019 № 2697-04-01-09

**Генеральному директору
ТОО "ВИВА ФАРМ"
Инебековой С.К.**

Уважаемая Салтанат Кабылтаевна!

В рамках меморандума о сотрудничестве между Национальным медицинским университетом имени С.Д. Асфендиярова и ТОО "ВИВА ФАРМ" просим Вашего разрешения на проведение научного исследования по теме диссертации «Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)» PhD докторанта Жумашовой Г.Т. под руководством доктора фармацевтических наук, профессора Сакиповой З.Б. на базе отдела фармацевтических разработок (R&D).

**Проректор по
исследовательской деятельности**



Б. Жусупов

Исп. Сакипова З.Б.
Тел: 87772350202

023651

ПРИЛОЖЕНИЕ Ш

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного, серия 1

Упаковка: банка из полиэтилена высокой плотности с контрольным кольцом первого вскрытия						Серия: 01RC19 Дата начала испытания: 01.2019 г. Дата окончания испытания:		
Температура: 25 ± 2 °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, диаметром 13±0,2 мм, высотой 4,2±0,2 мм.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68), могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Средняя масса и отклонение от средней массы	624±31,2 мг	638,2	638,0	639,1	640,1	638,2	638,0	
Потеря в массе при высушивании	От 3 до 7 %	5%	5%	6%	5.5%	6%	5%	
Растворение	Не менее 75 % за 45 мин	91%	91%	92%	91%	90%	90%	
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+						
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	От 9,0 до 11,4 мг/таб	10,6	10,9	10,9	11,0	11,1	10,8	

ПРИЛОЖЕНИЕ III

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного, серия 2

Упаковка: банка из полиэтилена высокой плотности с контрольным кольцом первого вскрытия						Серия: 02RC19 Дата начала испытания: 01.2019 г. Дата окончания испытания:		
Температура: 25 ±) °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						
		0	3	6	9	12	18	24
Описание	Круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, диаметром 13±0.2 мм, высотой 4.2±0.2 мм.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R_f около 0,68), могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Средняя масса и отклонение от средней массы	624±31,2 мг	638,5	638,2	640,1	639,8	635,2	640,2	
Потеря в массе при высушивании	От 3 до 7 %	5 %	5 %	6 %	5,5 %	6 %	5 %	
Растворение	Не менее 75 % за 45 мин	91 %	91 %	92 %	91 %	90 %	90 %	
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+						
Количеств. определение: суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	От 9,0 до 11,4 мг/таб	10,9	10,7	11,0	10,9	10,9	11,2	

ПРИЛОЖЕНИЕ Э

Результаты испытаний стабильности, установления сроков годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного, серия 3

Упаковка: банка из полиэтилена высокой плотности с контрольным кольцом первого вскрытия								Серия: 03RC19 Дата начала испытания: 01.2019 г. Дата окончания испытания:
Температура: 25 ± 2 °С. Относительная влажность: 60±5 %								
Показатели	Нормы	Периоды контроля, мес.						24
		0	3	6	9	12	18	
Описание	Круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, диаметром 13±0.2 мм, высотой 4.2±0.2 мм.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	Испытание стабильности установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения продолжается
Идентификация:	В соответствии со спецификацией	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Тонкослойная хроматография - эмодин	На хроматограмме испытуемого раствора из корней ревеня сердцевидного наблюдается зона эмодина (R _f около 0,68) оранжевого цвета, могут обнаруживаться другие зоны адсорбции.	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	соответст	
Средняя масса и отклонение от средней массы	624±31,2 мг	642,5	641,7	640,2	641,4	638,6	640,8	
Потеря в массе при высушивании	От 3 до 7 %	5 %	5 %	6 %	5,5 %	6 %	5 %	
Растворение	Не менее 75 % за 45 мин	91 %	91 %	92 %	91 %	90 %	90 %	
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 3 В.	+						
Количеств. определение: - суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин	От 9,0 до 11,4 мг/таб	11,1	10,7	10,9	11,0	10,9	10,9	