

по оси абсцисс – образцы исследуемого препарата;
по оси ординат - % подавления репродукции вирусов

Рисунок 2 - Профилактическое действие растительного препарата *S.O.*

Исследуемый препарат *S.O.*, полученный из казахстанского растения семейства *Caryophyllaceae*, обладает ярко выраженным иммуностимулирующим и профилактическим эффектом, что было показано в ходе проведения данного эксперимента. Это указывает на возможность применения полученного препарата *S.O.*, для создания отечественных препаратов, обладающих иммуностимулирующей активностью.

1. «Терапия гриппа у детей: клинический опыт сезона 2009 -2010 года», М.С. Илюхина, В.М. Кондюков, О.Р. Савенкова, Ю.А. Савостьянова, Э.Э. Локшина.
2. «Виферон: современные возможности в профилактике гриппа и других ОРВИ у часто болеющих детей». Т.А. Чеботарева, В.В. Малиновская, Л.Н. Мазанкова, С.К. Каряева, О.В. Паршина, Т.С. Гусева, В.В. Лазарев, З.Д. Калоева.
3. Дидковский Н.А., Малашенкова И.К. Принципы иммунокорректирующей терапии вторичных иммунодефицитов, ассоциированных с хронической вирусно-бактериальной инфекцией //РМЖ, 2002, т.10, №21.
4. Grienke U, Schmidtke M, von Grafenstein S, Kirchmair J, Liedl KR, Rollinger JM. Influenza neuraminidase: a druggable target for natural products // Nat.Prod.Rep. – 2012. – Jan. 7;29 (1). – P.11-36.
5. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии //Аллергия, астма и клиническая иммунология, 2001. – С. 10-15.
6. Урбах, В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях /В.Ю. Урбах. — М., 1975. — 295 с.

Зерттеу барысында *Caryophyllaceae* тұқымдасына жататын қазақстандық өсімдігінен алынған *S.O.* препаратының иммунды күшейткіш және алдын алу белсенділік қасиеттері анықталынды.

During the study it was shown that a preparation *S.O.*, derived from Kazakhstan plant of the family *Caryophyllaceae* possesses immunopotentiating and prevention activity.

A.C. Турмагамбетова, П.Г. Алексюк, И.А. Зайцева, А.П. Богоявленский, В.Э. Березин
ИЗУЧЕНИЕ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ *DIANTHUS CARYOPHYLLUS*
И *STELLARIA MEDIA*

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК)

В настоящей работе изучалась антивирусная активность препаратов полученных из растений сем. Caryophyllaceae. В результате исследований выявлено 2 соединения, обладающие выраженной антивирусной активностью.

Социальная значимость инфекционных заболеваний растет во всем мире. Это определяет необходимость разработки новых противoinфекционных препаратов. Сложность разработки эффективных и в то же время безопасных средств для лечения инфекционных заболеваний заключается в том, что это поливалентный, весьма динамичный процесс с множеством альтернативных и перекрещивающихся путей, существующих как на уровне внутриклеточных взаимодействий сигнальных каскадов, так и на уровне регуляции продукции медиаторов воспаления. При этом процесс воспаления должен рассматриваться как комплексный, местный и общий патологический процесс, возникающий в ответ на повреждение клеточных структур организма или действие патогенного раздражителя и проявляющийся в реакциях направленных на устранение продуктов повреждения, а если возможно, то и агентов (раздражителей), а также приводящий к максимальному для данных условий восстановлению в зоне повреждения [1, 2]. В

соответствие с этим, влияние только на одну мишень патогенеза либо не сопровождается достаточным фармакологическим эффектом, либо вызывает ряд побочных явлений [3].

В последние годы поиск новых противовирусных препаратов во многом связан с веществами растительного происхождения, т.к. растения вырабатывают большое количество сложных химических соединений, обладающих различными видами биологической активности. Среди биологически активных веществ, применяемых для создания лекарственных препаратов, используются алкалоиды, изопреноиды, сапонины, фенольные соединения и их производные. Многие вещества, входящие в перечисленные классы химических соединений, обладают иммуностимулирующей, антимикробной и противовирусной активностью. Важным достоинством лекарственных препаратов, полученных на основе веществ растительного происхождения, является их меньшая токсичность и менее выраженные побочные свойства по сравнению с синтетическими химиопрепаратами. В связи с этим препараты, созданные на основе растительного сырья, являются весьма перспективными и могут быть использованы с большим успехом, чем фармпрепараты, основанные на химических соединениях [4-6].

Целью данной работы было определение противовирусной активности препаратов полученных из казахстанских растений родов *Dianthus* и *Stellaria* (сем. *Caryophyllaceae*).

Материалы и методы

Вирусы и вирусные антигены. В работе был использован вирус гриппа, штамм A/FPV/Rostock/34 (H7N1).

Вирус выращивали в аллантоисной полости 9-10 дневных куриных эмбрионов. Титр вируса в аллантоисной жидкости составлял 10^7 - 10^9 ИД₅₀/мл.

Растительное сырье. Для получения растительных экстрактов использовали корни и стебли растений семейства *Caryophyllaceae*.

Инфекционность вируса. Инфекционный титр ортомиксовирусов определяли титрованием на куриных эмбрионах методом предельных разведений. О наличии вируса судили по реакции гемагглютинирующей активности. Титр инфекционности вируса высчитывали по методу Рида и Менча [7].

Гемагглютинирующую активность вируса определяли по стандартной методике с использованием 1% взвеси куриных эритроцитов [8].

Качественные биохимические реакции. Раствор растительного экстракта наносили на фильтровальную бумагу, высушивали и обрабатывали 0,2%-м раствором нингидрина в бутиловом спирте, что позволяло определить наличие аминокислот с чувствительностью 1-5 мкг. Повторная обработка той же фильтровальной бумаги раствором метилового красного в этаноле (рН красителя устанавливалась с помощью NaOH таким образом, чтобы на бумаге раствор сразу давал оранжевое окрашивание) позволяла обнаружить в растительном экстракте наличие органических кислот (красные пятна) с чувствительностью около 25 мкг. Третья обработка той же фильтровальной бумаги 3,5-динитросалицилатом с последующим нагреванием при 105 °С позволяла определить восстанавливающие (черные пятна) и невосстанавливающие (серо-зеленые пятна) сахара с чувствительностью от 15 до 60 мкг. Нанесение растительного экстракта на фильтровальную бумагу с последующей обработкой 0,5%-ным раствором йода в хлороформе позволяло обнаружить основания и липиды в виде коричневых пятен. Обработка фильтровальной бумаги с нанесенным растительным экстрактом 2%-ным раствором FeCl₃ в метаноле позволяла определить стероиды в виде пурпурных пятен [9].

Хроматография растительных экстрактов. Фракционирование частично очищенных растительных экстрактов проводили с помощью хроматографии высокого давления на системе HPLC фирмы "Agilent technologies" с помощью полупрепаративной колонки "Zorbax C18", 5μ, 9,4x250 мм. Разделение проводили в градиенте 0,1% Trifluoroacetic acid (TFA) – 80% Acetonitrile (ACN). На колонку наносили до 10 мг материала. Процесс фракционирования контролировали спектрофотометрически при 208, 254 нм (поглощение сапонинов) и 353 нм (поглощение большинства окрашенных полифенольных соединений).

Вирусингибирующие свойства соединений изучали в экспериментах с ортомиксовирусами на куриных эмбрионах. Противовирусную активность определяли методом «скрининг-тест», рассчитанным на нейтрализацию вируса в количестве 100 ЭИД₅₀ заданными концентрациями препаратов. Критерием противовирусного действия считали отличие титра вируса по сравнению с контролем. При этом, как правило, учитывалось только полное подавление инфекционности вируса [10].

Математическая обработка результатов. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [11].

Результаты и обсуждения

Растительные препараты были получены методами этилацетатной, спиртовой и водной экстракции из растений родов *Dianthus* и *Stellaria* (сем. *Caryophyllaceae*).

Всего было получено 6 растительных препаратов. Качественный анализ этих препаратов показал наличие трех основных групп соединений для каждого из растений: гидрофобные соединения (обогащенная смесь веществ эквистероидной и терпеноидной природы); амфифильные соединения (обогащенная смесь гликолипидов с углеводородными цепями различной длины); водорастворимые

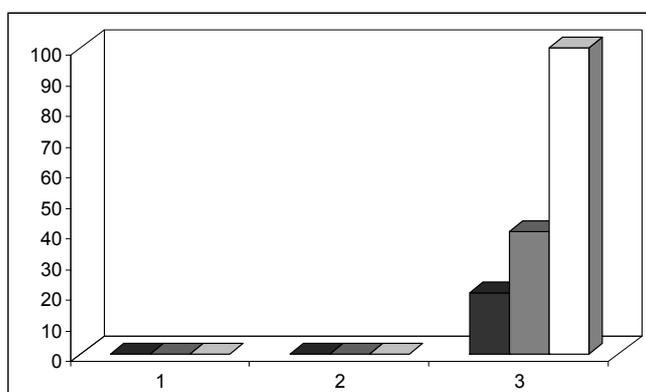
низкомолекулярные соединения (обогащенная смесь флавоноидов и тритерпенов). Наличие в препаратах гидрофобных, амфифильных и водорастворимых соединений определяли с помощью качественных биохимических реакций и методом ВЭЖХ.

Полученные растительные препараты были использованы для дальнейшего изучения их антивирусной активности. Тестирование антивирусных свойств препаратов проводили на модели вируса гриппа птиц (штамм A/FPV/Rostock/34 (H7N1)).

Вирус в дозе 100 ЭИД₅₀ смешивали с исследуемыми препаратами и инокулировали в куриные эмбрионы. Вирусингибирующую активность оценивали по способности препаратов подавлять гемагглютинирующую активность вируса через 24 часа инкубации при 37 °С. Антивирусная активность препаратов была исследована в диапазоне доз от 0.05 до 5 мг на 1 кг веса.

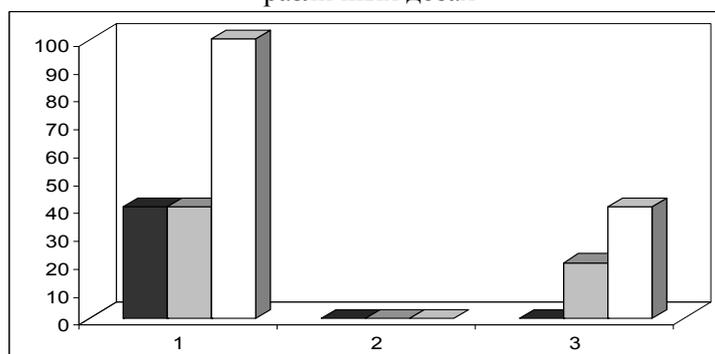
В результате проведенных экспериментов было установлено, что препараты гидрофобных и амфифильных соединений полученные из растений *Dianthus caryophyllus* и амфифильные соединения из растения *Stellaria media* не обладали способностью подавлять репродукцию вируса гриппа в исследуемом диапазоне доз (рис. 1 и 2). Вирусингибирующая активность препарата водорастворимых соединений растения *Stellaria media* в исследуемом диапазоне доз не превышала 40%. В то же время показано, что препараты водорастворимых соединений из растения *Dianthus caryophyllus* и гидрофобных соединений из растения *Stellaria media* в дозе 5 мг на кг веса полностью подавляли репродукцию вируса гриппа (рис.1-2).

Таким образом, по результатам испытаний 6 препаратов, выделенных из казахстанских растений родов *Dianthus* и *Stellaria*, выявлено 2 соединения, обладающие антивирусной активностью: водорастворимые соединения растения *Dianthus caryophyllus* и гидрофобные соединения растения *Stellaria media*.



Примечание – по оси ординат вирусингибирующая активность в процентах, по оси абсцисс растительные препараты: 1- гидрофобные соединения, 2 – амфифильные соединения, 3 - водорастворимые соединения. 1 ряд - доза 0.05 мг/кг, 2 ряд - доза 0.5 мг/кг, 3 ряд - доза 5.0 мг/кг.

Рисунок 1 - Вирусингибирующая активность растительных препаратов, выделенных из казахстанского растения *Dianthus caryophyllus*, при обработке вируса гриппа птиц A/FPV/Rostock/34 препаратами в различных дозах



Примечание – по оси ординат вирусингибирующая активность в процентах, по оси абсцисс растительные препараты: 1- гидрофобные соединения, 2 – амфифильные соединения, 3 - водорастворимые соединения. 1 ряд - доза 0.05 мг/кг, 2 ряд - доза 0.5 мг/кг, 3 ряд - доза 5.0 мг/кг.

Рисунок 2 - Вирусингибирующая активность растительных препаратов, выделенных из казахстанского растения *Stellaria media*, при обработке вируса гриппа птиц A/FPV/Rostock/34 препаратами в различных дозах

В результате проведенных исследований, получены следующие результаты:

1. Из казахстанских растений родов *Dianthus* и *Stellaria*, выделено 6 препаратов для изучения антивирусной активности.

2. Проведен скрининг 6 растительных препаратов на наличие антивирусной активности. По результатам испытаний выявлено 2 соединения, обладающие выраженной антивирусной активностью: водорастворимые соединения *Dianthus caryophyllus* и гидрофобные соединения *Stellaria media*. Указанные соединения перспективны для последующей разработки средств противовирусной терапии.

1 Майборода А.А., Кирдей Е.Г., Семинский И.Ж., Цибель Б.Н. Иммуный ответ, воспаление: Учебное пособие по общей патологии. – М.: МЕДпрессинформ.- 2006. – 112 с.

2 Шубич М.Г., Авдеева М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса // Архив патологии – 1997. – № 2. – С.308.

3 Ramakrishnan S, Grebe R, Singh M, Schmid-Schönbein H. Influence of local anaesthetics on the aggregation and deformability of erythrocytes // Clin Hemorheol Microcirc.- 1999.- Vol.20, №1.-P. 21-26.

4 Ashfaq UA, Masoud MS, Nawaz Z, Riazuddin S. Glycyrrhizin as antiviral agent against Hepatitis C Virus // J Transl Med.- 2011.- Vol.18, №9.- P. 112.

5 Rehman S, Ashfaq UA, Riaz S, Javed T, Riazuddin S. Antiviral activity of Acacia nilotica against Hepatitis C Virus in liver infected cells// Virol J.- 2011.- Vol.12, №8.- P. 220.

6 Li A, Xie Y, Qi F, Li J, Wang P, Xu S, Zhao L. Anti-virus effect of traditional Chinese medicine Yi-Fu-Qing granule on acute respiratory tract infections//Biosci Trends.- 2009.- Vol.3, №4.-P. 119-23.

7 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // Amer.J.Hyg.- 1938.-Vol. 27.- P. 493-497.

8 Закстельская Л.Я., Шендерович С.Ф. Метод удаления неспецифических ингибиторов геммагглютинации из диагностических и постинфекционных сывороток // Вопросы вирусологии.-1979.- №5.- С. 560-561.

9 Бердимуратова Г.Д., Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Тулегенова А.У. Биологически активные вещества растений // Выделение, разделение, анализ. – Алматы: Атамұра.- 2006. – 438 с.

10 Макарова Н. В., Бореко Е. И., Моисеев И. К. и др. Противовирусная активность адамантансодержащих гетероциклов // Химико-фармацевтический журнал: Научно-технический и производственный журнал / Центр химии лекарственных средств - ВНИХФИ. — 2002. — №1. — С. 5-7

11 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях.- М.: Медицина,- 1975.- 296с.

Жұмыста *Caryophyllaceae* тұқымдасына жататын өсімдіктерден алынған препараттардың вирусқа қарсы белсенділігі қарастырылды. Зерттеу барысында вирусқа қарсы белсенділікке ие 2 қоспа анықталды.

In this paper we studied the antiviral activity of preparations obtained from plants of the family *Caryophyllaceae*. Was revealed the 2 compounds with expressed antiviral activity

УДК 576.8.097.29:664.633.1

В.В. Ремеле

МИКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗЕРНА ОСНОВНЫХ КУЛЬТУР КАЗАХСТАНА (ТОО «КазНИИ переработки сельскохозяйственной продукции», г. Астана)

Представлены результаты многолетнего микологического мониторинга зерна нормального и пониженного качества основных культур Казахстана: пшеницы, кукурузы, ячменя, риса, подсолнечника, ржи, овса и проса.

Зерно, как продукт, сконцентрировавший в себе многие питательные вещества, является благоприятным субстратом для развития микроорганизмов. Каждая зерновая масса представляет комплекс живых организмов, обязательным компонентом которого являются микроорганизмы: бактерии, грибы, актиномицеты, дрожжи. Только 1 г зерновой массы содержит от нескольких десятков тысяч до нескольких сотен тысяч и миллионов микроорганизмов. Накопление специфической для каждого растения микобиоты начинается в процессе его формирования в поле. Источниками микроорганизмов служат почва, растительные остатки, складские помещения, оборудование. Развитие микроскопических грибов на зерне в период созревания, послеуборочной обработки и хранения приводит к потерям сухого вещества, снижению пищевой ценности, биологических, технологических и семенных достоинств, самосогреванию и полной порче зерна. Кроме того, грибы могут выделять чрезвычайно опасные для животных и человека вещества – микотоксины [1, 2, 3].

Поэтому изучение микроскопических грибов каждой сельскохозяйственной культуры, сведение до минимума вызываемых ими потерь и опасности загрязнения зерна микотоксинами является первоочередной задачей специалистов, работающих в области производства, хранения и переработки зерна.

Материалы и методы исследований

Материалы исследований – пробы зерна урожаев 1986-2011 г.г., отобранные в соответствии с ГОСТ 13586.3-83. на предприятиях АПК Казахстана. Всего исследовано 3480 проб зерна, из которых: 793 пробы кукурузы, 1901 – пшеницы, 395 – ячменя, 134 – риса, 82 – подсолнечника, 89 – ржи, 70 – овса и 16 – проса.