

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
На правах рукописи

**ШОЕВ СУХБАТУЛЛО ХИДОЯТУЛЛОЕВИЧ**

**ЭКСТРАКЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ  
АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ  
ПРИРОДНОГО МУМИЁ**

02.00.03 – Органическая химия

Диссертация на соискание учёной  
степени кандидата химических наук

Научный руководитель:  
доктор химических наук,  
профессор Халиков  
Ширинбек Халикович.

ДУШАНБЕ – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	3-9
-----------------------	-----

### ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Учёные Древнего Востока о мумиё. Применение мумиё в народной медицине.....	10
1.2. Современные высказывания учёных о мумиё на основе научных наблюдений.....	16
1.3. О компонентном составе мумиё.....	27
1.4. Физические и химические свойства мумиё.....	36
1.5. Применение мумиё при острой лучевой болезни.....	45

### ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

II.1. Приготовление чистого мумиё из горного мумиё-сырца.....	52
II.2. Получение метанольного экстракта мумиё.....	54
II.3. Фракционирование метанольной экстракции мумиё.....	54
II.4. Титрометрическое определение 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина (аминазин).....	55
II.5. Потенциометрическое определение 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина аминазина).....	56
II.6. Получение этанольного экстракта мумиё.....	59
II.7. Количественное определение витамина D <sub>3</sub> .....	59
II.8. Построение калибровочной кривой при определении содержания витамина D <sub>3</sub> в мумиё.....	60
II.9. Качественные реакции на витамин D <sub>3</sub> .....	61
II.10. Возгонка витамина D <sub>3</sub> .....	61
II.11. Получение смеси карбобензоксиаминокислот.....	62
II.12. Гидрирование карбобензоксиаминокислот.....	63

II. 13. Хроматографическое исследование аминокислот.....	63
II. 14. Определение общего количества аминокислот в мумиё.....	64
II. 15. Построение калибровочной кривой глицина.....	65
II. 16. Экстракция гормона тестостерона из мумиё.....	67

### **ГЛАВА III. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

III. 1. Общая характеристика, физические свойства и химический состав мумиё.....	69
III.2. Экстракция и хроматографическое исследование органических компонентов мумиё .....	70
III. 3. Спектрометрическое исследование хроматографического экстракта мумиё.....	74
III.4. Качественные реакции на стероиды и серосодержащие ароматические соединения мумиё .....	78
IV. Выделение и исследование отдельных алифатических, ароматических и гетероциклических соединений.....	78
IV.1. Выделение 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина (аминазина) из мумиё и его исследование.....	79
IV.2. Определение аминазина в мумиё визуальным и потенциометрическим методом титрования.....	84
IV.3. Выделение витамина D из экстракта мумиё и его идентификация... ..	86
IV.4. Извлечение и исследование свободных аминокислот мумиё .....	91
IV.5. Выделение гормона тестостерона из мумиё и его идентификация.....	97
IV.5.1. Качественные реакции на тестостерон.....	97
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>101</b>
<b>ЛИТЕРАТУРА.....</b>	<b>103-110</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Современная научная медицина охватывает комплекс достижений многочисленных отраслей естествознания, в особенности таких наук как химия, биология и физиология. За последние десятилетия в области медицины были внедрены сотни высокоэффективных химических препаратов, приносящих большую пользу человечеству. Из многочисленных лекарственных препаратов, применяемых в медицине для лечения различных заболеваний и профилактики многих болезней, можно выделить природные лечебные средства, изготавливаемые из всевозможных природных источников - растений, животных и минералов.

Большинство активных препаратов были получены из органических материалов различными способами, в том числе и химическими методами синтеза. Кроме того, большинство найденных народом лечебных средств изучаются и используются в медицинской науке и в клинической практике. В этом отношении мумиё занимает особое место среди многочисленных средств.

Достоверно установлено, что любые виды мумиё имеют ту или иную биологическую активность и лечебные свойства. Мумиё не токсично, не мутагенно, не канцерогенно. При применении безвредны даже дозы гораздо выше терапевтических. Никто не отрицает, что мумиё – перспективное средство лечения. Этому свидетельствует использование его в качестве лекарственного препарата в народной медицине более трёх тысяч лет и оно считается надежным лекарственным средством, излечивающим организм от многих заболеваний.

Многие исследования, направленные на изучение областей применения мумиё в комплексной патогенетической терапии, выявили большую терапевтическую эффективность его при различных заболеваниях. Все медицинские доводы о мумиё и результаты экспериментальной терапии свидетельствуют о том, что мумиё (особенно

среднеазиатское) обладает целебным действием при лечении переломов, ран, повреждений и заболеваний периферических нервов, мышц, повышает защитные силы организма, стимулирует регенеративные процессы в ране и сокращает сроки лечения и многие другие патологические процессы. Кроме того многочисленные экспериментальные клинические исследования мумиё указывают на репаративные свойства его как биогенного стимулятора, оказывающего благоприятное влияние на организм.

Следует отметить, что из-за богатого состава мумиё, механизм действия его на живой организм представляется весьма сложным и до конца не изученным. С точки зрения химика мумиё - это вещество сложного минерало - органического происхождения. Результаты химических и спектральных анализов свидетельствуют о наличии присутствующих в составе мумиё более 25 микроэлементов, минеральных солей, окисей металлов и т.д. Если говорить об органической составляющей мумиё, то она представляет собой комплекс различных простых и сложных соединений, включающих в себя такие группы, как гидроксильная, карбонильная, аминная, а также сопряжённые и ароматические системы.

Следует отметить, что установить подлинность мумиё на основе химического анализа отнюдь не просто, а задача весьма сложная, длительная и трудновыполнимая. Несмотря на все трудности и сложности, химикам всё-таки удалось с помощью различных методов исследования выяснить неорганическую природу основополагающих компонентов мумиё. Что касается сложной органической части мумиё, то она остаётся до конца не изученной загадкой. Имеются достоверные результаты по изучению ряда органических кислот, фосфолипидов, углеводов, но нет абсолютно ясной картины по поводу достоверного подтверждения той версии, что в составе мумиё присутствуют бальзамические вещества,

эфирные масла, стероиды, полифенолы и витамины, которые на самом деле являются биологически активными компонентами, относящимися к ароматическим и гетероциклическим соединениям. И пока они не будут детально изучены и охарактеризованы, как были ранее изучены неорганические компоненты состава мумиё, невозможно будет судить о роли каких-либо отдельных микроэлементов или отдельных составляющих органических компонентов в повышении биологической активности мумиё. Но факт остается фактом, за 50 лет, прошедших со времен возрождения интереса к мумиё, накоплено больше научных данных о мумиё, нежели их было добыто за все предшествующие века. К сожалению, работ по разновидностям мумиё и районам их распространения до сих пор нет. Нет также единого чистого научного подхода относительно стандартизации, по которому можно было бы судить о качестве мумиё, о его однородности и идентичности. Существует быстрый и простейший способ экспертизы, основанный на цветных реакциях, подтверждающих качество отдельных классов соединений. Гораздо более надёжным способом экспертизы является определение биологической активности мумиё как субстанции или определение хотя бы не менее двух биологически активных компонентов, относящихся к стероидным или гормональным соединениям. Это, конечно, является фундаментально сложной задачей. Поэтому рано или поздно приходится браться и за эту часть работы. Мы считаем, что раскрытие структурной организации и биологической активности мумиё заключается в исследовании сложных биологически активных органических компонентов. В связи с этим данное исследование было направлено на поиск конкретных и сложных по структуре органических соединений-выделение, идентификацию и установление их структуры и свойств экстракционным способом и другими физико-химическими методами.

## **Цель работы**

-экстракционно-хроматографическими и химическими методами извлечь органические компоненты, обладающие биологическими свойствами из природного мумиё. Провести идентификация и в индивидуальном порядке охарактеризовать выделенных веществ. Физико-химическими методами анализов установить истинную структуру каждого полученного вещества, в отдельности идентифицировав с эталоном (оригиналом).

## **Задача исследования**

- экстрагирование органических компонентов из мумиё органическими и водно-спиртовыми экстрагентами.

-хроматографическими и спектральными методами изучить метанольный и этанольный экстракты мумиё и выявить структурно функциональные особенности присутствующих компонентов.

- получить и идентифицировать 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазин (аминазин), витамин D<sub>3</sub>, гормон тестостерон из спиртового экстракта мумиё;

-путем реакции ацилирования карбобензоксидом извлечь из экстракта мумиё комплекс карбобензоксидов аминокислот, прогидрировав их, получить свободные аминокислоты;

- дать качественные и количественные характеристики выделенных соединений путём комплексных физико-химических исследований;

- охарактеризовать присутствие капропорфирина и витамина B<sub>12</sub> УФ- и ИК-спектральными анализами.

**Научная новизна.** Впервые в результате проведённых экспериментальных работ из состава мумиё традиционными методами выделены и исследованы такие важные биологически активные органические компоненты как 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазин (аминазин или хлорпромазин), холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>), гормон тестостерон и свободные аминокислоты: глицин, аланин, валин, пролин и

гистидин. УФ- и ИК-спектральными методами определены капропорфирины и витамин В<sub>12</sub>, присутствующие в мумиё.

Для обнаружения функциональных групп, характеристических свойств и выяснения строения углеродного скелета веществ также использовали качественные и количественные реакции.

Исследован процесс экстракции органических компонентов разными экстрагентами, с использованием способов сбора и анализа экстракта после перехода компонентов из твёрдой фазы в жидкую.

На основе интерпретации полученных результатов разработаны условия выделения отдельных компонентов из мумиё.

Изучены физико-химические свойства всех выделенных из мумиё биологически активных соединений, установлены их структура, функциональные особенности и выделенные соединения сопоставили с оригиналами.

Разработаны титрометрический и потенциометрический способы титрования, способствующие количественному определению аминазина в мумиё, с использованием видоизменённой нами формулы.

$$m = \frac{N \cdot V \cdot (E_x \cdot a)}{1000}$$

Сублимационным превращением из мумиё выделен однородный витамин Д<sub>3</sub>, который идентичен витамину Д<sub>3</sub>-эталону.

Найдены методы определения гормона тестостерона в экстракте мумиё и выделения его в чистом виде хроматографическим методом, с применением проявителя м-динитробензола.

**Практическая значимость работы** заключается в том, что на основе проведённых исследований разработан способ экстракции конгломератного комплекса органических компонентов из мумиё, содержащий алифатические, ароматические и гетероциклические соединения.



### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- получение из мумиё отдельных органических компонентов путём экстракции, сублимации и хроматографии;
- исследование выделенных из мумиё биологически активных компонентов физико-химическими и потенциометрическими методами анализов.
- структурно-функциональное исследование полученных компонентов- аминазина, (2-хлор-10-(3-диметиламинопропил))- фенотиазина, витамина D<sub>3</sub>, гормона тестостерона из спиртового экстракта мумиё и аминокислоты.

**Апробация работы.** Основные результаты докладывались и обсуждались на Республиканской конференции и в материалах научно-теоретической конференции профессорско-преподавательского состава и студентов, посвящённой «17-й годовщине независимости республики Таджикистан» (Душанбе, 2008 г.), «Новые теоретические и прикладные исследования химии в высших учебных заведениях республики Таджикистан» (Душанбе, 2010 г.), на Международной конференции «Синтез, выделение и изучение комплексных свойств новых биологически активных соединений», посвящённой 50-летию кафедры органической химии и 70-летнему юбилею доктора химических наук, профессора Халикова Ширинбека Халиковича (Душанбе, 2011 г.), на Республиканской конференции «Перспективы синтеза в области химии и технологии гетеросоединений», посвящённой 20-летию кафедры высокомолекулярных соединений и химической технологии и научно-исследовательской лаборатории «Химия глицерина» (Душанбе, 2012 г.); в материалах за X международной научно – практической конференции «Найновите научни постижения-2014», т.29, София «Бял ГРАД-БГ» ООД-2014,-С.35-40.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 4 статьи в научных журналах рекомендованных ВАК РФ и 4 тезиса докладов в материалах конференций.

**Вклад автора** заключается в постановке задачи исследования, определении путей и методов их решения, получении и обработке большинства экспериментальных данных, анализе и обобщении результатов экспериментов, формулировке основных выводов и положений диссертации.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 87 наименований, изложена на 110 стр. компьютерного набора, иллюстрирована 17 рисунками и 14 таблицами.

## **ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

### **1.1. УЧЁНЫЕ ДРЕВНЕГО ВОСТОКА О МУМИЁ.**

#### **ПРИМЕНЕНИЕ МУМИЁ В НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЕ**

Мумиё пока ещё является загадкой для человечества. Оно плохо изучено, а происхождение его попросту неизвестно. Мумие, как лекарственное средство, известно восточной народной медицине более трёх тысяч лет и применяется для лечения различных тяжёлых заболеваний. До нас дошло много легенд и преданий о чудодейственной силе мумиё. Удалось обнаружить более 70 источников [1-10] (трактаты, рукописи) с сообщениями о высокоэффективных лечебных свойствах мумиё. Это рукописи на арабском, персидском, турецком, китайском, индийском, татарском, азербайджанском языках, авторами которых являются медики Ближнего, Среднего Востока и Тибета. Рукописи изданы в Индии, Иране, Турции, Афганистане и других странах.

Народные лекари и поныне считают мумиё панацеей, причём особенно эффективной при лечении переломов костей. Среди широких народных масс Востока бытует твёрдое убеждение, что мумиё служит лекарством при многих заболеваниях, а также способствует быстрому сращению костей.

Такое представление о лечебных свойствах мумиё получило отражение во многих произведениях прозы и поэзии. Безусловно, эти источники не лишены гиперболизации, иногда наивны и далеки от научной медицины. Тем не менее, литературные свидетельства многих стран на протяжении многих веков нельзя не признать убедительными.

Коротко остановимся на высказываниях некоторых авторов. Касаясь термина мумиё, Мухаммад Азам-хан Мустафа Абади, Абдул Мумин Мухаммад Мумин Хусайн [11-12], писавшие на персидском языке, и Давуд ад-Дарира Антаки [6], писавший на арабском, указывают, что это слово

греческого происхождения и в переводе означает «сохраняющее тело». Такие же объяснения дает Мухаммад Хади Алукайли Хадихан Мухаммад Хусайн, а значительно позднее Мавлави Мухаммад Хусайн.

Мухаммад Хусайн Аляви в книге «Карабадини кабир» [9], изданной на персидском языке, утверждает, что слово мумиё означает «защищающее организм». Арабское название мумиё «хафиз ал-аджсод» переводится как «сохраняющее тело». Имеются и другие толкования.

То, что у иранцев называется «мумиё», говорит Мухаммад Хусайн, арабы именуют «аракул-джибол», т.е. горный пот. Это же название приводит в своей рукописи и Хамид Эфенди. Некоторые авторы, указывает Мухаммад Хусайн, считают, что мумиё, как и воск, размягчается и расплавляется, и поэтому называли его «мум-ойин», или «воскообразный» (воск-«мум»; от этого слова, якобы, и произошло название мумиё). Гиясаддин ибн Джалаладдин в трактате, написанном на персидском языке, указывает, что в Иране источник мумиё находится недалеко от местечка Ойин. Предполагается, что от сочетания слов «мум»-мягкий и названия местечка Ойин и образовалось название «мум-ойин». Об этом же пишет Гиясаддин в книгах «Бурхан» и «Рашиди». Беруни указывает, что в Иране близ пещеры расположено селение Абин. К нему и восходит название мумийа, т.е. абинский воск («мум-абин»).

Разные народы употребляли другие названия этого природного лекарства. В Бирме мумиё известно под названием «чао-туи» (кровь горы), в Монголии и Тибете-«брагшун» (сок скалы), в Туркмении-«мумногай», в Таджикистане-«зогх», «асиль», «кием», в Иране-«дараби», в Индии-«шаладжид», Бурятии-«барахшином» (каменное масло) и т.д. Таким образом, происхождение термина «мумиё» трактуется по-разному. Столь же различны сообщения об источниках и внешнем виде мумиё. Беруни пишет: «Его (мумиё) привозят из области Мах; оно похоже на смолу». Это

вещество, по заключению Беруни, есть камедь, вытекающая из некоего камня в горах.

Мухаммад Хусаин Аляви, Мухаммад Ходи Алукаймин и Ходихон Мухаммад Хусаин (1271) отмечали, что на месте многолетней добычи мумиё в скале образовалось углубление до 3-4 аршин. Яма прикрывалась большим камнем. Раз в год камень сдвигали усилиями 50-60 человек. Один из них опускался на дно колодца, где скапливалась вода.

Её поверхность была покрыта тонкой пленкой маслянистого вещества, толщиной от 1 до 1,5 см, а на стенках колодца, ближе ко дну, это вещество скапливалось в виде чешуи. Содержимое колодца (вода, маслянистое вещество, песок, камни) извлекали и кипятили в котле. Маслянистое вещество после затвердения снимали с поверхности воды. Каждый из участников этой работы брал некоторое количество мумиё для лечебных целей, а остальное, около 600-1200 граммов мумиё, отправлялось в распоряжение султана. Султан его хранил в виде различных фигурок в своей сокровищнице.

Мухаммад Мумин отмечал, что в фармакопее Восточной медицины «Тухбаратул мумин» описано, что в древние времена трупы мумифицировались путём обработки мумиё, мёдом, смолой дегтем и другими веществами. Такие трупы сохранялись в течение долгого времени в могилах, обнажались сильными бурями и уносились потоком воды, выбрасывались на берега морей, рек. Автор считал, что мумифицированные трупы равноценны минеральному мумиё, и его называли человеческим мумиё.

Мухаммад Агзамхон в своём сочинении «Мухити Агзам» описывает нижеследующие способы для определения качества мумиё.

У кур делается закрытый перелом большеберцовой кости одной из ног. Затем перелом лечится лекарственным мумиё, приготовленным путем смешивания 0,5 г мумиё с маслом красной розы. (Последнее готовится так:

лепестки розы смачиваются водой, затем добавляется одно из растительных масел. Затем кипятится. После испарения воды остаток фильтруется через ткань). Смесь закапывается в горло птицы и одновременно смазывается место перелома, после чего отломки фиксируются мягкой повязкой. Если мумиё качественное, то заживление переломов наступает через 16-24 часа.

Ибн ал-Байтар в «Собрании простых лекарств» писал о мумиё следующее: «Оно находится в стране Аблония, граничащей со страной Акандрион (видимо, Александрия А.Ш.). Добывается в горах, названных «поражённые громом». Это затвердевшая на берегах жидкость, превратившаяся в смолу. От нее исходит запах смолы, смешанной с горным потом (подобие шаладжида)». «Мумиё», по словам автора, называют лекарство, известное как «кафр аль-яхуд» и «мумиё кабури».

В древности поэты воспевали его в стихах и песнях. Ценные сведения о его лечебных свойствах современные исследователи находят в старинных медицинских трактатах Индии, Тибета, Монголии, Средней Азии. Слово «мумиё» употреблялось еще до возникновения арабской культуры. Оно встречается в трудах Аристотеля, который впервые, 2500 лет тому назад, описал лечебные свойства мумиё, а также указал, как проверяется качество и подлинность этого вещества. Аристотель назначал мумиё при лечении врожденной глухоты, рекомендуя полоскание раствором мумиё с желчью животного или в смеси с соком винограда. При кровотечении из носа рекомендовал закапывать в каждую ноздрю смесь мумиё с камфорой, а для лечения заикания - смазывать язык смесью мумиё с мёдом. Абубакр Раби ал-Бухари (X в.) в учебнике по медицине [1], для изучающих врачебное искусство, предлагал мумиё как средство для лечения костных переломов, вывихов, ран и других травм. Мухаммед Табиб (XII в.) [13] в трактате «Лаззатул-нисо», посвящённом вопросам сексологии, гигиены половой жизни, а также отдельным вопросам

акушерства и гинекологии, подчеркивал способность мумиё благотворно влиять на половую активность, рекомендуя для этого использовать 0,2-0,3 г мумиё в смеси с мёдом. Медики древности (Разеи, Авиценна, Бируни) описывали способы добычи и применения этого средства при самых различных заболеваниях - переломах, вывихах, полиомиелите, мигрени, эпилепсии, параличе лицевого нерва, отравлениях, язвах желудочно-кишечного тракта, воспалительных заболеваниях мочевого пузыря, туберкулёзе и др.

Многочисленные исторические легенды про мумиё сопровождаются стихотворениями, рассказами и преданиями, которые из далёкого прошлого дошли до наших дней в многочисленных вариантах (Мухаммад Хусейн Шерази, 1762; [9] Саид Мухаммад Хон, [14] 1892; [2] Мавлави Мухаммад Хусейн Бурхан, 1888) [4]. Чаще всего история нахождения мумиё и применения его в качестве все исцеляющего лекарства начинается легендой: «В древние времена жил в Иране царь Фаридун. Однажды несколько военачальников этого царя выехали на охоту. Один из охотников выследил джейрана. Стрела попала в спину животного и насквозь пронзила его. Но джейран не упал, а побежал прочь от охотника. Тогда охотник второй стрелой попал ему в ногу. Джейран захромал, но продолжал бежать. Наконец джейран достиг пещеры в скалистой горе и исчез в ней. Сколько ни старались охотники, они не могли найти раненого джейрана и ни с чем вернулись обратно. На следующей неделе эти же военачальники опять вышли на охоту и, следуя за своей добычей, случайно доехали до того места, где на прошлой неделе потеряли раненого джейрана. Там они увидели джейрана с торчащей стрелой в спине. Он ел траву около пещеры, будто с ним ничего не случилось. Охотники устроили облаву и поймали его живым. Они осмотрели рану и увидели в глубине и вокруг неё какое-то чёрное воскообразное вещество. Зайдя в пещеру, охотники нашли в ней такое же вещество. Они собрали его и преподнесли

царю Фаридуну, рассказав о случившемся. Фаридун приказал своим мудрецам изучить это вещество и выяснить, какими свойствами оно обладает. Мудрецы исследовали пещеру и, придя к царю, доложили: «Из трещин скал просачивается какое-то чёрное жидковатое вещество, оно накапливается вокруг трещин и капает вниз. Это вещество лижут животные и клюют птицы, отчего исцеляются от болезни, особенно пораненное место или переломленные кости». Тогда царь Фаридун приказал поставить часового для охраны пещеры, а вход в неё заложить большим камнем. Вход открывали один раз в год с тем, чтобы снять накопившееся в щелях пещеры мумиё и после соответствующей обработки отправить его в царскую сокровищницу. Место, где расположена пещера, находится на севере Ирана и называется Дороб, поэтому иранское мумиё получило название «мумиё-доробий» (мумиё-доробинское). Особую славу приобрел препарат в период раннего средневековья при расцвете Сасанидской культуры (1X-X вв.), когда освобожденные от многовекового арабского ига народы начали развивать физику, математику, философию, астрономию, геологию, литературу искусство и медицину. Именно в этот период появились такие знаменитые представители таджикско-персидской медицины, как Абуали ибн Сино, Абубакр Раби аль-Бухари (умер в 984-г.), Мухаммад Закариё Рази (1X-X вв.) [15] и многие другие, в трактатах и произведениях которых, наряду с другими лечебными средствами, описывается и мумиё. Найденное в горах Таджикистана природное вещество мумиё, о лечебных свойствах которого писал Абуали ибн-Сино в своем «Каноне врачебной науки» [16], наконец стало достоянием учёных. Появилась возможность изучить природу и лечебные показания этого удивительного дара природы.



## **1.2. СОВРЕМЕННЫЕ ВЫСКАЗЫВАНИЯ УЧЁНЫХ О МУМИЁ НА ОСНОВЕ НАУЧНЫХ НАБЛЮДЕНИЙ**

В настоящее время природа мумиё, его происхождение, физиологическое и лечебное действие привлекают к себе большое внимание исследователей. Обсуждение этих вопросов вышло далеко за пределы специальных медицинских изданий, найдя себе отклик в общей прессе: в газетах, журналах, живо заинтересовав широкий круг читателей. Мумиё и в прошлом было окружено ореолом славы, легенд, связанных с приписыванием ему чудесных лечебных свойств. Мумиё (его синонимы в отечественной литературе - «горный бальзам», «горная смола» и др.), как теперь установлено современными исследованиями, представляет собой сложное по своей химической структуре образование, добываемое в некоторых горных районах мира, в частности, в бывшем Советском Союзе, особенно в Средней Азии. О высокоэффективных лечебных свойствах мумиё свидетельствует древняя восточная литература, хранящаяся в библиотеках Института востоковедения АН УзССР, и в библиотеке «Навои» управления духовенства Средней Азии и Казахстана, в отделах Востока центральной библиотеки им. В. И. Ленина в г. Москве, в Ленинграде, (Санкт-Петербург), Душанбе и в г. Баку. Большой экспериментальный материал по вопросам о действии мумиё на различные физиологические системы организма позволил ещё в 1965 году подвести итоги работ, проведённых в этой области. Результаты их были представлены и рассмотрены на 1-ом Всесоюзном симпозиуме по проблемам мумиё, организованном в г. Душанбе, материалы которого явились основой, давшей возможность перейти к клиническим наблюдениям. На 2-ом Всесоюзном симпозиуме, проведённом в 1972 году по инициативе Пятигорского института курортологии и физиотерапии, было отмечено, что мумиё-сложный биологический препарат, ценнейшее средство, и возможности для его клинического изучения весьма реальны. В

1978 в г. Ташкенте по инициативе Минздрава УзССР был проведён 3-Всесоюзный симпозиум по вопросам экспериментально-морфологических исследований действия мумиё на регенерацию нервов, сердечной мышцы и костей. Мумиё-природная смесь органического и неорганического происхождения, хорошо растворимого в воде вещества, которое образуется в трещинах скал, пустотах, нишах в виде плёнок, корок, наростов чёрных, тёмно-коричневых и коричневых смолоподобных масс с примесью песка, щебня. Очищенное от примесей и экстрагированное мумиё представляет собой однородную массу тёмно-коричневого цвета, эластичной консистенции, с блестящей поверхностью, своеобразным ароматическим запахом и горьковатым вкусом. Удельный вес 2-2.5; температура плавления  $80^{\circ}\text{C}$ ; pH-6.7-7.5% раствора, при хранении повышается до 7.5. При хранении мумиё постепенно затвердевает за счёт потери влаги. Легко растворяется в воде (1/8), очень малорастворим в 95% спирте (1/4500) и эфире (1/10000). Водные растворы имеют бурю окраску. В своём составе имеет органическую и неорганическую части и содержит около 30 - макро и микроэлементов, около 10 различных окисей металлов, силикатные группы двуокиси кремния, фосфорный ангидрид, различные органические вещества и кислоты. Каждая составная часть способна влиять на соответствующие процессы организма и ускорять регенерацию различных тканей. Микроэлементы оказывают существенное влияние на белковый, углеводный, жировой, минеральный обмен, на окислительно-восстановительные процессы, на процессы регенерации; участвуют в процессах размножения и роста, кроветворения и иммуногенеза. Результатом является неспецифическое стимулирующее действие на весь организм, а также местное действие на заживление ран. Стимулирующее действие проявляется и на клеточном уровне, в результате происходит интенсивное деление, увеличение количества клеток, усиление обмена нуклеиновых кислот и общего белка. В результате комплексных

исследований в Институте геохимии и аналитической химии им. Вернадского выведена единая формула для разных образцов мумиё:  $\text{CaSi}[(\text{K}, \text{Na}) \text{C}_4\text{H}_{10}\text{SiH}_2\text{O}]$ . Согласно этой химической формуле горный бальзам представляет собой своеобразный природный минерал со стабильной органической частью молекулы. Ведущие компоненты минеральной части мумиё находятся в хорошо растворимой форме. Это очень важно, т.к. человеческий организм может получать с препаратом мумиё все необходимые недостающие микро- и макроэлементы. В 1955 г. впервые в нашей стране, на основании этнографических сведений и медицинских рукописей, А. Ш. Шакиров начал изучение фармакологических свойств мумиё и обнаружил довольно широкие возможности его лечебного действия. Химические и спектральные исследования мумиё показали, что его состав необычайно богат микроэлементами (особенно кремнием, алюминием, железом, кальцием, марганцем, кобальтом, магнием, свинцом, титаном, никелем), а также различными аминокислотами и жирными кислотами. Проведённые исследования в какой-то мере пролили свет и на природу происхождения мумиё. Однако, по этому вопросу в литературе до сих пор имеются самые противоречивые мнения. Ряд учёных считает, что мумиё, или, как его иногда называют, «горный воск», «кровь горы», «пот скалы», «клей камня», вырабатывают дикие медоносные пчёлы, носящие название «мумиё асиль» (мумийон, мумийна). Некоторые учёные относят мумиё к виду геологической породы, возникающей в трещинах горных скал. Современные экспедиции добывают мумиё в глубоких пещерах, гротах, расположенных на большой высоте (2860–3000 м), в местах, недоступных для проникновения животных и птиц и неблагоприятных для роста даже таких растений, как лишайники. Обнаружение в составе мумиё «мумифицированных» экскрементов различных грызунов с примесью веществ растительной природы и продуктов жизнедеятельности

микроорганизмов дало основание считать, что мумиё имеет животное происхождение. Отсюда следует, что:

- все виды мумиё имеют органическое происхождение;
- материалом для образования мумиё служат: микроэлементы, почвенные микроорганизмы, растения, животные и продукты их жизнедеятельности.

На высокогорье, в условиях уменьшенного содержания кислорода, сильнейших ветров, резких перепадов температур, повышенного ультрафиолетового излучения, а также в жарких сухих местностях деятельность микроорганизмов, обеспечивающих разложение органических остатков, резко снижена. В силу этого создаются условия, при которых биомассы животного или растительного происхождения не разрушаются микроорганизмами, а с течением времени мумифицируются и полимеризуются. В одних местах, не доступных влаге, они затвердевают, а в других - растворяются почвенными водами, рассеиваясь или образуя в пустотах натечные структуры. В Средней Азии, особенно в Узбекистане и Таджикистане, качественное сырьё - чистого мумиё называют «асилом».

Мумиё асиль - горькая на вкус твёрдая масса, хорошо растворимая в воде, тёмно-коричневого или чёрного цвета, с гладкой поверхностью, отполированной временем. Мумиё - малотоксичное вещество, при нагревании легко размягчается. Лучшим мумиё асиль считается мумиё черного цвета, блестящее, с легким запахом нефти. Оно испытывается так: берётся небольшой кусочек мумиё и кладется на ладонь, если от теплоты руки он начинает слегка плавиться, делается мягким, подобно воску, значит мумиё хорошего качества. Если от тепла ладони мумиё не размягчается - качество его считается низким. Самое же лучшее доказательство - быстрое лечебное действие, особенно при переломах костей. В образовании мумиё задействовано множество сил: и погодно-

климатических, и микробиологических, и представителей растительного царства, и животных и, наверное, ультрафиолетовые излучений, поэтому мумиё далеко не простое вещество.

Появилась возможность изучить природу и лечебные показания этого удивительного дара природы. Имеющиеся в литературе сведения говорят о том, что мумиё является сложным по составу продуктом биоорганоминеральной природы, содержащий более двадцати элементов и сумму органических соединений. На основании данных научных экспедиций в места нахождения мумиё и результатов его химического исследования было сделано предположение о животном происхождении мумиё. Жидкие экскременты диких животных и грызунов в благоприятных условиях и, в первую очередь, исключая присутствие воды, претерпевают изменения, в результате чего образуется продукт мумиё. Знание этих процессов позволит воссоздать полную картину образования мумиё в природных условиях. Микробиологические исследования показали наличие в нём некоторых представителей смешанной флоры. Дальнейшие исследования привели к открытию в мумиё определённого вида гриба. В литературе мы не нашли сведений о микрофлоре мумиё. Материалом для микробиологических исследований послужили образцы мумиё, полученные из Памира, из Зеравшанской долины и других местностей. От каждого образца была отделена однограммовая навеска, которая растворялась в стерильной дистиллированной воде. Отстоявшийся водный раствор мумиё образует два слоя: нижний-осадочный состоит из грубых частиц серовато-коричневого цвета и верхний-надосадочный слой мутной жидкости желтовато-коричневого цвета. Высевы проводились из надосадочного слоя на питательную среду, содержащую синовиальную жидкость, агар, сусло (сокращенно САС). На скошенной поверхности среды САС через 2-4 недели вырастали единичные мелкие пушистые колонии гриба определённого вида. Серовато - дымчатая ветвистая

грибница выступает пушистым слоем над поверхностью питательной среды. На концах ответвлений микроскопически видны шаровидные образования тёмно - коричневого цвета. Под воздушным мицелием питательная среда уплотнена и имеет тёмно - коричневую окраску. Колонии постепенно сливаются и покрывают всю поверхность среды. Среда равномерно прорастает плотным тёмно - коричневым слоем, поверхность которого блестящая и бугристая. Отделить участок уплотнённой среды САС платиновой петлей не удаётся. На жидкой среде, содержащей синовиальную жидкость и сусло, вырастают колонии одноимённого гриба, закрывающие просвет пробирки и образующие на поверхности среды плотную пленку тёмно - коричневого цвета. Тёмно - коричневое уплотнение среды САС происходит под влиянием роста и развития гриба. Микроскопированием были обнаружены разветвлённые нитевидные и споровые формы гриба тёмно - зелёной окраски. Нитевидные формы имеют сегментированное строение. Сегменты гриба различной формы (овальной, шаровидной, яйцевидной и прямоугольной) соединены между собой в цепочки, образующие нитевидные ответвления. На концах ответвлений обнаруживаются шаровидные или яйцевидные образования. Люминесцентной микроскопией в падающем и проходящем свете при применении светофильтров СС-4, СС-8 и ЖС-18 обнаружено сине - фиолетовое свечение элементов гриба. Наличие грибов в составе природного мумиё и образование тёмно - коричневого уплотнения среды САС, в результате их роста и развития, даёт основание считать, что грибы принимают участие в образовании мумиё. Изучением мумиё, испытанием действия его на различные системы организма занимались различные институты и лаборатории стран, мира, особенно в Средней Азии. Как мы упомянули, в 1965 г. в г. Душанбе проходил 1 Межреспубликанский симпозиум по экспериментальному изучению мумиё, созданный по инициативе Таджикского государственного медицинского института им.

Абу Али ибн Сино. Учёные республик Средней Азии, Москвы и других городов поделились опытом применения мумиё. Выступавшие рассказали о благотворном влиянии этого природного бальзама на деятельность желудка, функции некоторых эндокринных органов, печени, об антибактериальном действии его при инфекциях, о дозировке и методах применения. На симпозиуме были представлены многочисленные исследования по влиянию мумиё на периферическую кровь (Н.А. Щелковский, Н. К. Шелковская, О. И. Андреева, В.А. Савенко, Э. М. Кран и др.), М. Л. Кузьминова с соавт. (1965) [17] методом серийного разведения водного раствора мумиё установили, что в концентрации 2.5% этот препарат оказывает бактерицидное действие на кишечную палочку и паратифозные бактерии. Бактериостатическое и бактериолизитическое действие мумиё изучал У. В. Сидиков (1965) [18] на штаммах гемолитических стафилококков и синегнойных палочек из гнойного, отделяемого при отитах и из ран, очага. В бактериологической лаборатории Узбекского научно - исследовательского института травматологии и ортопедии продолжалось изучение действия мумиё - асиль на некоторых возбудителей инфекций. Устанавливалось содержание микроорганизмов в самом веществе мумиё, антимикробная эффективность его в лабораторных условиях, исследовали действие мумиё на микрофлору в зависимости от длительности применения, определяя концентрации его растворов. Действие мумиё на организм животных при кислородном голодании изучали в Центральной научно - исследовательской лаборатории кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии Таджикского государственного медицинского института. Подопытных и контрольных кроликов помещали в барокамеры. У контрольных животных на высоте 7000-9000 м наблюдались явления кислородного голодания, сопровождавшиеся судорогами. У кроликов, получавших мумиё, судорожная реакция на этой высоте, как правило, отсутствовала. Таким

образом, было установлено, что мумиё повышает сопротивляемость организма при пониженном содержании кислорода в воздухе, усиливает реактивность кроветворной системы и снижает чувствительность центральной нервной системы к недостатку кислорода в крови. Аналогичные исследования проведены в Центральной лаборатории Таджикского госмединститута. Подопытным мышам и крысам давали мумиё, после чего их в состоянии наркотического сна помещали в широкогорлые стеклянные банки с притёртой пробкой. В других банках находились животные, не принимавшие мумиё. Контрольные животные погибали через 15 мин., подопытные - через 1 час. 7 мин. Это объясняется усилением интенсивности окислительных процессов под влиянием мумиё. Любопытны сообщения об испытании мумиё при лучевой болезни. Эксперименты показали, что мумиё «резко улучшает течение лучевой болезни, оказывая стимулирующее действие на весь организм» (А. А. Аджи - Моллаев, С. Ю. Никадамбаев, А. Ш. Шакиров) [19].

В. Д. Рогозкин, Т. Тухтаев (1965) применяли мумиё при острой лучевой болезни [20] у мелких лабораторных животных и собак. Авторы пришли к выводу, что в определённых дозах этот препарат повышает выживаемость животных, сглаживает картину лучевого поражения, благотворно влияет на восстановление показателей крови.

Р. М. Хаитов (1965) изучал [21] особенности заживления переломов костей в условиях длительного воздействия на организм ионизирующей радиацией и инсоляцией. В одной из серий опытов для стимулирования консолидации переломов у кроликов, подвергшихся длительному воздействию гамма - облучения в малых дозах, испытывалось влияние мумиё. Исследования показали, что мумиё способствует нормализации не только сепаративной регенерации костной ткани в облучённом организме, но и состава крови. При использовании мумиё ускорялся процесс консолидации переломов.



В. Н. Исмаилова (1969) [22-23] на основании наблюдений за регенерацией костных переломов у мышей и кроликов при применении мумиё делает вывод, что этот препарат может быть использован в практической медицине.

Р.Ю. Омиров (1969) [24] изучал характер и темпы посттравматической регенерации костной ткани у животных при хроническом воздействии малыми дозами гексахлорана, метилмеркаптофоса. Оказалось, что мумиё обладает выраженным стимулирующим действием на все периоды формирования костной мозоли.

З. И. Ибрагимов с соавт. (1969) [25] наблюдали ускоренное повышение уровня в крови и костном регенерате животных меди, марганца, железа и кобальта при введении мумиё.

Е. Т. Шишкова (1969) [26] изучала влияние субтоксических (50 мг/кг веса) доз мумиё на здоровый организм животных и при угнетении функции коры надпочечников большими дозами кортизона. При этом установлено, что мумиё обладает кумулятивными свойствами, медленно выводится из организма желудочно-кишечным трактом, дыхательными путями, почками и кожей. Наиболее активным выделительным органом для мумиё является кожа, ибо в ней сильнее всего выражены тканевые реакции. Автор отмечает, что мумиё усиливает секрецию слизистых оболочек дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, повышает проницаемость стенок сосудов, стимулирует пролиферацию клеток соединительной ткани. Обнаруженные в органах циркуляторно - дистрофические и пролиферативные изменения под влиянием мумиё относятся к обратимым процессам. Тканевые реакции в органах животных, возникающие под действием мумиё, по-видимому, могут объяснить эффективность этого препарата при лечении различных заболеваний (усиление секреции желудочно-кишечного тракта - при анацидном гастрите, стимуляция пролиферативных процессов - при лечении ран и переломов и

т.д.). Е. Т. Шишкова предполагает, что мумиё окажется эффективным средством в комплексной терапии постинфарктных состояний, инфекционных и других заболеваний. Н. А. Щелковский с сотр. (1965) [27] наблюдали снижение остаточного азота и общего белка в сыворотке крови животных при внутрисосудистом введении экстракта мумиё. В. И. Козловская (1972) [28] изучала влияние мумиё на периферические нервные структуры и гладкую мускулатуру. Р. М. Максудов (1967, 1970) [29-30] изучал действие препаратов Fe-H, Fe-H-2, Fe-H-3, Co-H, Co-H-B и мумиё на процессы регенерации костной ткани при закрытых переломах костей облучённых и необлучённых животных. Наиболее эффективными стимуляторами процесса заживления перелома оказались Fe-H-2 и мумиё. Автор рекомендует внедрить их в практику здравоохранения.

Т. М. Тухтаев (1972) [31] проводил экспериментальные исследования по влиянию мумиё на кроветворение, биохимические показатели крови и кроветворных органов (костный мозг и селезёнка) у здоровых животных и при кратковременном, а также длительном облучении. Введение мумиё способствовало увеличению количества лейкоцитов в периферической крови, ядродержащих клеток костного мозга и селезенки, стимулировало элементы миелоидного ряда.

Ю. К. Василенко, Л. С. Тимакова (1972) [32] испытывали влияние кавказского мумиё на некоторые функционально - структурные показатели органов пищеварения при патологии печени. Водный раствор мумиё вводили в желудок из расчета 7.5 мг на 100 г веса в течение 3 недель. В результате в тканях тонкой кишки усиливалось потребление кислорода ( $P \leq 0.05$ ), а в тканях толстой кишки нормализовалось выделение углекислоты. Мумиё способствовало активации компенсаторных процессов без заметного восстановления структурных нарушений в ткани. В. В. Карпова, А. Л. Шинкаренко (1972) [33] изучали влияние кавказского мумиё на содержание лейкоцитов кроликов. Мумиё и его гуминовые

кислоты способствовали восстановлению состава периферической крови при экспериментальной лейкопении. Общее количество лейкоцитов, лимфоцитов и гемоглобина увеличивалось уже на 3-й день после введения мумиё и кислот, а на 12-й день достигало нормы.

Ю. Н. Нуралиев с 1960 г. [34-35] изучал действие мумиё при язвенной болезни желудка на функции головного мозга, антигистаминовые и противовоспалительные свойства этого препарата (Нуралиев, 1960, 1968, 1969, 1970, 1972). Разносторонние экспериментальные исследования осуществляли Ю. Н. Нуралиев, Е. И. Малыгина (1972), Г. П. Медник (1973) [35]. Они установили, что однократное и многократное введение мумиё в дозах 25-500 мг/кг несколько повышает содержание гликогена в печени (от  $10 \pm 1$  до  $15 \pm 22$  % против  $9 \pm 12$  в контроле). Это может свидетельствовать о положительном влиянии препарата на функции печени.

К. Ваккасов с сотр. (1971) [36] в опытах на собаках, лягушках, белых крысах, кроликах наблюдал антикоагулянтное действие мумиё. При назначении больным с тромбофлебитами и трофическими язвами этот препарат понижал свертываемость крови, удлинял время рекальцификации оксалатной плазмы, понижал толерантность плазмы к гепарину, удлинял гепариновое (от 34 до 102 %) и тромбиновое (от 25 до 220 %) время. Следовательно, мумиё обладает явным антикоагулянтным и сосудорасширяющим действием.

Памирское мумиё представляет весьма интересный и показательный объект для изучения. В течение двух лет авторами проводились наблюдения на Юго-Восточном Памире (бассейны рек Аксу-Мургаб и Аличур) - области с высокогорным пустынным климатом и абсолютными отметками рельефа от 3500 до 5000 м и более. Мумиё здесь обнаружено относительно недавно, по количеству находок с каждым годом заметно увеличивается. По морфологическим особенностям на Юго-Восточном

Памире выделяются в основном три группы местонахождений: 1) пещеры, 2) трещины, возникающие, как правило, в зонах дробления горных пород после их частичного выветривания 3) сравнительно небольшие ниши, выработанные ветром и водой. В распределении указанных разновидностей мумиё известную роль играют места обитания животных. Мумиё архаров и киков накапливается в разных частях скалистых склонов и крупных пещерах; мумиё грызунов чаще обнаруживается в нижних частях пологих склонов и нередко в трещинах среди небольших выходов коренных пород.

### **1.3. О КОМПОНЕНТНОМ СОСТАВЕ МУМИЁ**

Индийский учёный Чопре считает мумиё продуктом растительного происхождения. В пользу этого свидетельствует присутствие в некоторых образцах смол, камеди и растительных остатков. Возможно, из повреждённых стволов некоторых деревьев, например, арчи или тутовника, выделяется жидкость, которая, стекая на землю и просачиваясь в трещины горных пород, смывается дождевыми водами и уносится по путям фильтрации воды. Вместе с водой смола просачивается в пустоты. Вода испаряется, а смолоподобная масса остается. Некоторые исследователи высказывают версии о зоологическом происхождении мумиё. Так, К. Дьяков (1963) [37] высказал предположение, что мумиё - ископаемый мёд с примесью пчелиного яда. "В прошлом, пишет он, большая часть территории Средней Азии была дном моря. Среди моря было множество островов, на которых благоухала жизнь. Много тысяч лет назад территория Средней Азии поднялась за очень короткий промежуток времени. Земная кора растрескалась. При этом миллионы диких пчёл, гнездившихся в расщелинах, пещерах, в дуплах больших деревьев, очутились под завалом. Древесина и остатки насекомых превратились в неузнаваемые вещества. Ведь мёд, как и нефть, без доступа воздуха не

разлагается". Химический и спектральный анализ выявил у мумиё 25 микроэлементов (молибден, кальций, барий, фосфор и др.) и большое количество органических веществ. Мумиё индийское, бирманское, японское, монгольское и др. имеют сходный качественный состав, но различаются соотношением отдельных частей. Разновидности мумиё (кавказское, узбекское, таджикское, алтайское и др.) могут существенно отличаться по своим свойствам. По внешнему виду мумиё похоже на смолу, поверхность его блестящая, цвет от жёлто - коричневого до чёрного. Кусочки мумиё при разминании размягчаются, специфический запах напоминает нефть, вкус горький. В воде мумиё растворяется без осадка, окрашивая её в коричневый цвет. В институте химии АН Таджикской ССР академиком К. Т. Порошиным с сотрудниками в составе Зеравшанского мумиё найдены гиппуровая кислота, воск и ряд аминокислот, что привело к открытию быстро размножающихся грибковых культур, по-видимому, способствующих биосинтезу составных веществ мумиё. Суммируя вышеизложенный материал, можно сделать некоторые общие выводы о закономерностях образования и распространения Памирского мумиё. Мумиё формируется в определённой природной обстановке из помёта грызунов, архаров и киков, в результате аэробного брожения с участием плесневых грибов и биологически активной мочи этих животных (замечено, например, что некоторые виды грызунов стремятся оставить помёт в одном и том же месте и поэтому посещают его продолжительное время). Учитывая то, что процесс разложения помёта сам по себе может привести (и приводит) к образованию экстракта мумиё, без обязательной длительной его миграции и практически без участия геологических агентов, можно предположить, что скорость накопления этого уникального продукта достаточно велика и вряд ли может исчисляться многими веками, как полагают некоторые авторы, для других районов Средней Азии. Изученные образцы

представляли собой твёрдое образование с блестящей поверхностью от жёлто-коричневого до чёрного цвета в зависимости от местонахождения. Консистенция мумиё зависит от присутствия в нём влаги и температуры воздуха. Вкус горький. В бензоле, хлороформе, метиловом, этиловом спиртах и, особенно, воде частично растворяется и заметно набухает. При выпаривании водного раствора мумиё, после фильтрации, образуется липкая масса. При повышении и понижении температуры воздуха оно становится мягким, вязким и мажущим. По удельному весу мумиё в 2-2.5 раза тяжелее воды. В воде растворяется с небольшим осадком в виде эмульсии, окрашивая её в цвет пива. При температуре 196-200<sup>0</sup> часть мумиё плавится, а остальная не изменяется даже при нагревании до 300<sup>0</sup>.

Спектральному анализу были подвергнуты местный и зарубежный образцы мумиё, а также смолообразное органическое вещество (искусственное мумиё). Существенной разницы в качественном составе зарубежных и местных образцов не обнаружено. Минеральный состав смолообразных органических веществ также почти одинаков. Установлено, что мумиё содержит 26 микроэлементов: кремний, алюминий, кальций, натрий, калий, железо, магний, фосфор, барий, стронций, бор, марганец, ванадий, серебро, медь, свинец, цинк, висмут, никель, кобальт, олово, бериллий, хром, молибден, серу, титан. Качественный состав минеральной части образцов мумиё из разных местонахождений неодинаков, однако, существенной разницы не отмечено. В мумиё содержатся в значительном количестве следующие минеральные вещества: окись алюминия ( $Al_2O_3$ ), окись железа ( $Fe_2O_3$ ), окись титана ( $TiO_2$ ), окись кальция ( $CaO$ ), окись свинца ( $PbO$ ), окись магния ( $MgO$ ), двуокись кремния ( $SiO_2$ ), фосфорный ангидрид ( $P_2O_5$ ), окись бария ( $BaO$ ), окись марганца ( $MnO$ ), окись калия ( $K_2O$ ), окись натрия ( $Na_2O$ ), следы окиси стронция и окиси магния. Наличие в мумиё стронция и бериллия, как и окиси кальция, фосфора, калия, в какой-то мере объясняет

его положительное действие на регенерацию костей. Присутствие в мумиё молибдена, кальция, магния, стронция, фосфора, большого количества (32.82%) органических веществ в виде карбонатов и серы в виде сульфатов, видимо, связано с проявлением вулканизма. В мумиё содержатся углерод, водород и азот, т.е. элементы, являющиеся основой органической жизни.

М. Л. Кузьминовой и соавт. (1963) [38] было установлено, что мумиё в виде 2.5% раствора оказывало бактерицидное действие в отношении кишечной палочки и паратифозных бактерий. Наиболее чувствительными к действию мумиё оказались тифозные и дизентерийные бактерии флекснера, а также стафилококки. Губительное действие мумиё по отношению к этим микробам проявилось в концентрациях 0.08%. Дизентерийные бактерии Зойне и дифтерийные палочки по чувствительности к воздействию мумиё занимали промежуточное место. По предположению авторов, лечебные свойства мумиё при некоторых инфекционных заболеваниях связаны с его бактерицидными свойствами. По данным У. В. Сидикова (1965) [39], мумиё только в разведениях 1-2% оказывает бактериостатическое и бактерицидное действие в отношении гемолитического и негемолитического стафилококка. Однако, в опытах на животных с стафилококковой инфекцией, вызываемой гемолитическим стафилококком, мумиё даже в дозах 140 мг/кг веса оказалось неэффективным (У. В. Сидикова, М. И. Орзуев, 1965). При бактериологическом исследовании неочищенных образцов зеравшанского мумиё были выявлены воздушные сапрофитные микроорганизмы, такие как сарацины, микрококки, тетракокки, воздушная споровая палочка и плесень. Патогенные микробы отсутствовали. Остер и соавт. (1980) [40] изучали антимикробное действие мумиё в отношении возбудителей раневой инфекции (золотистый стафилококк, штамм 209-р, пирогенный стрептококк, вульгарный протей, синегнойная палочка и кишечная

палочка). Антимикробное действие мумиё изучалось при концентрациях от 0.1 до 50 % водного раствора. Результаты экспериментов показали, что 0.1-3% раствор мумиё не оказывает особого влияния на рост и размножение возбудителей раневой инфекции. Уменьшение интенсивности роста у стрептококков отмечается лишь с добавлением 5 % раствора, а у стафилококков после 7-10 % растворов, что выражается в последующем снижении количества колоний по мере нарастания концентрации мумиё. Снижение интенсивности роста вульгарного протей, кишечной и синегнойной палочки наблюдается с повышением концентрации мумиё до 15 %.

Аналогичные результаты были получены при ассоциации стафилококка с вульгарным протеем, кишечной и синегнойной палочки. По данным Н. Р. Остера и соавт. (1980) [40] мумиё в концентрациях 0.001-1% раствора не проявляет противомикробного действия. Бактериостатическое действие препарата проявляется только в высоких разведениях (5-10% раствор) и оно обусловлено высокой осмотической (гипертоничность) активностью указанных концентраций раствора мумиё. Так, факт, что мумиё только в больших разведениях (более 3% раствор) подавляет рост микробов, позволяет утверждать, что мумиё, скорее всего, не оказывает противомикробного действия. Однако, при лечении инфицированных ран, ожогов и ряда других воспалительных процессов применение мумиё (местно и внутрь) в большинстве случаев способствует улучшению состояния или выздоровлению больных. Подобное явление, с одной стороны, связано с усилением иммунологических реакций организма больного (А. Ш. Шакиров и соавт, 1973) [41-42], а с другой с его, защитными адаптогенными свойствами, благодаря которым повышается резистентность организма к различным экстремальным воздействиям (Н. Ю. Нуралиев, 1972) [43]. В связи с этим произвольно возникал вопрос, как влияет мумиё на биологические свойства патогенных



микроорганизмов. Чтобы ответить на этот вопрос, Н. М. Шаматов и соавт. (1980) [44] на 40 штаммах патогенных стафилококков, из которых 38 штаммов обладали высокой вирулентностью, токсигенностью и устойчивостью ко многим антибиотикам, изучали характер действия мумиё на основные биологические свойства этих микроорганизмов, и, в первую очередь, на их токсигенность и агрессивность. Внутри области скопления мумиё размещаются на куполах над кранитоидами высокого калиевого потенциала (это характерно для конечной стадии остывания земной коры). На явный геологический генезис мумиё указывает не только само наличие, но и достаточно высокие содержания бензольного битумоида (до 10%). Также значительно (до 12%) содержание калия в форме арканита ( $K_2SO_4$ ). Кроме того, в мумиё обнаружено более двадцати групп биологически активных веществ, в том числе, жирные кислоты, эфирные масла, витамины, камеди, воски и другие соединения, которые могли образоваться абиогенным путём на втором и более позднем этапах возникновения жизни. Этот путь образования органических веществ на Земле (ещё задолго до появления на ней самой жизни) был впервые высказан А. И. Опариным. Эти-то вещества вместе с водой (гидротермальный генезис), попадая в протоокеан и соединяясь там с некоторыми простейшими веществами, давали начало образованию аминокислот, цепей белков и нуклеиновых кислот. Таким образом, химическая эволюция и геологические процессы могли привести к образованию протомумиё, которое, растворившись, могло давать значительные концентрации в отдельных рифовых зонах Мирового океана. Таким образом, на определенном этапе существования Земли некоторые акватории могли насыщаться неким протобульоном, содержащим водорастворимый комплекс кислородсодержащих соединений углерода. Затем из него выделялись многомолекулярные системы, явившиеся предпосылкой для возникновения пробы фонтанов. Исходя из современных представлений об

эволюции Вселенной (как последовательном образовании из горячих диффузионных пылегазовых туманностей твёрдых остывающих планетных тел, можно предположить, что на последних стадиях эволюции очаги глубинной калиевой гранитизации продуцировали из метана, аммиака, углекислоты и паров воды по глубинным разломам "протомумиё" - минерально-органический бульон, который под влиянием различных видов энергии (ультрафиолет, радиоактивность, электромагнитные поля, гравитация и др.) служил матрицей приформировании примитивных белков и нуклеиновых кислот, с дальнейшим объединением их в многомолекулярные комплексы (протоклетки или пробионты). Что же о био- и зоогипотезах происхождения мумиё, то действительная их роль в образовании вторичного мумиё. Так, высотная зональность (от долин до высокогорья) обуславливает самую различную растительность от древесной, кустарниковой, травянистой до полного её отсутствия. А это говорит лишь о геоботаническом совпадении ареалов растительности и мумиё, но не о прямой связи между ними. Вторичны и зоогенные признаки. Оказалось, что копрогенное (вторичное) мумиё чаще находят в низко- и среднегорье, а в высокогорье же оно почти не встречается, за исключением мест с благоприятным климатом для растительности и соответственно грызунов, точнее, териоживотных. Они то, привлекаемые углеводно-белковым составом газово-жидких и газопылевых эманаций мумиё, и использует его метеорные (вызванные туманами, дождями) растворы в пищу. А относительная простота организации этих животных обуславливает и гнездование их тут же, вблизи источника мумиё. В природе это явление называется литофанией, то есть поеданием земель. К этому явлению относится и потребление зверюшками солонцовых глин, да и человеком - соли тех же глин. Источником же мумиё в самом общем смысле могут являться: 1) либо силикатный слой земной коры, продуцирующий из ископаемого органического вещества тектономеха-

нохимическими процессами углеводородное дыхание Земли; 2) либо так называемые трубы дегазации мантии Земли, где поверхностный силикатный слой может выполнять лишь роль химического катализатора в природном синтезе углеводородов, кислорода - и азотсодержащих соединений (типа углеводов, аминокислот, белков, азотистых оснований и т.д.). Так или иначе, но химический состав органической составляющей экстракта мумиё (50 % углерода и 10 % водорода), а также наличие твёрдых парафиновых углеводородов, позволило создателям геологического словаря (1972) отнести мумиё к группе альгаритов, т.е. продукту бактериальной переработки озокеритов или парафинистых нефтей.

Определено, что точная диагностика альгаритов возможна лишь при наличии переходных форм, сохранивших значительную часть исходных углеводородов. Иными словами, мумиё, возможно, является одним из рассеянных природных многообразных углеводородов. Первичное (не окисленное) сухое мумиё представляет собой жёлто-серую пыль на плоскостях скальных трещин. Эта пыль легко гидролизуется (осмоляется) при контакте с метеорными водами и в таком виде переотлагается водотоками в различные горные полости.

Ю. Константинов [45] в своей книге под названием «Мумиё природное лекарство» на основе всестороннего изучения и анализа, проведённых исследований учёными разных стран относительно природного мумиё, пишет, что мумиё как горный бальзам представляет собой природный минерал со стабильной органической частью молекулы.

В монографии Н.И.Даникова «Целебное мумиё» [46] отмечается, что в результате многочисленных исследований учёные пришли к выводу, что мумиё как средство народной медицины необходимо внедрить в медицинскую практику, что и наблюдается сегодня, медицина взяла на вооружение этот ценнейший дар природы.

В книге «Осторожно мумиё» [47], написанной Елисеевым Ю.Ю., отмечается, что – в последние годы на страницах газет и журналов часто встречается название «мумиё», которое еще называют чудодейственным бальзамом, эликсиром жизни. Действительно, такое мнение существовало в прошлом у народов Востока, да и теперь мумиё как лечебное средство широко применяется в некоторых азиатских странах. Это и привлекло внимание отечественных медиков, заставило их заняться изучением горного бальзама.

В написанной в литературе Савиных М. «Энциклопедии мумиё» [48] приводятся морфологические типы рудных тел: сводный тип, жильный, прожилковый, сталактит – сталагмитовый, лепёшковидный, завесовый, натечный, гроздевидный, колитоидный, шаровидный, плёночный (корковый), пробковый тип и бесформенный.

В монографии «Природа, которая лечит» [49], автором которой является Алевтина Корзунова, отмечается, что мумиё является уникальным биологически активным веществом, созданный природой, в составе которого органические компоненты находятся в сочетании с минеральными соединениями, придающими ему разнообразные целебные свойства.

Современные исследователи Ш.Х.Халиков и С.В.Алиева в своей брошюре «Мумиё»[50] приводят экспериментальные подтверждения о присутствии в мумиё аминазина и витамина Д<sub>3</sub>[45-50].

#### **1.4. ФИЗИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МУМИЁ**

По данным рентгеноструктурного анализа в этом веществе отмечаются известь, гидраты железа и марганца, гидрослюды, сильвин, галет (каменная соль). Пути течения вещества прослеживаются пещерными натечными агрегатами водных окислов железа, марганца, меди, землистых форм гипса и ангидрида, плотного сноповидного

арагонита, пузыристыми корками извести. Физическая плотность смолистого первичного мумиё составляет  $1,8 \text{ г/см}^3$  и оно практически немагнитное. Встречающееся значительно чаще вторичное мумиё загрязнено растительными остатками, соответствующими современным растительным ассоциациям с соответствующей высокогорной растительностью, мхами, лишайниками. Помимо этого в составе вторичного мумиё обнаруживаются куколки и остатки насекомых, обломки костей и хитиновых тканей млекопитающих (зубы, шерсть, кости и т.д.). Физическая плотность вторичного мумиё меньше, чем у первичного -  $1,4 \text{ г/см}^3$ . Оно так же немагнитное. Среднеазиатские исследователи Шакиров А.Ш., Хазанович Р.А., Хакимов З.Н., Умаров А.У. [51, 52, 53, 54] считают, что мумиё является комплексом кислородосодержащих солей соединений углерода с гидроксильными, карбонильными и альдегидными группами. Неорганическая составляющая мумиё может отражаться формулой  $\text{CaSi}(\text{K,Na})_5\text{C}_{25}\text{H}_5\text{O}_{26}$  с органической составляющей  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ . Характерно отсутствие непосредственной связи между атомами углерода и металла. Соотношение высокомолекулярных и низкомолекулярных соединений составляет по массе 1:5. ИК - спектры препаратов мумиё имеют много общего со спектром гумусовых веществ [55].

По мнению многих геохимиков, основная часть мумиё состоит из низкомолекулярных водорастворимых тёмно - окрашенных соединений типа фульвокислот и продуктов биологической и химической деструкции органической биомассы, среди которых проявляются фенольные вещества. Образцы мумиё для изучения представляли собой твёрдое образование с блестящей поверхностью от жёлто - коричневого до чёрного цвета в зависимости от местонахождения. На вкус обычно горький. В бензоле, хлороформе, метиловом, этиловом спиртах растворяется частично. При выпаривании водного раствора мумиё после фильтрации образуется липкая масса. При повышении и понижении температуры воздуха оно становится мяг-

ким, вязким и мажущим. По удельному весу мумиё в 2-2.5 раза тяжелее воды. В воде растворяется с небольшим осадком в виде эмульсии, окрашивая её в цвет пива, в присутствии влаги набухает. Виды мумиё: золотое мумиё - красного цвета; серебряное - белого цвета; медно-вишневого цвета; тёмно – коричнево - чёрного цвета и т.д. При понижении температуры мумиё становится мягким, мажущим, на сухом воздухе сгущается и уплотняется. При нагревании размягчается, разжижается. Удельный вес в 1.5-2 раза тяжелее воды, рН 1% -ного раствора 6.5-7.0. Под действием 20% -ной серной кислоты обнаруживается запах фруктовой эссенции, особенно при нагревании. При растирании с водой образует густой экстракт, горящий без копоти, оставляя 3.6% золы. На воздухе экстракт сгущается, становится плотным, но при нагревании размягчается, разжижаясь. Запах мумиё специфический, довольно резкий, вкус своеобразный, горький или горьковатый. На 40-60% мумиё растворяется в водно - спиртовом растворе, причём в раствор переходит в основном чёрная масса, скрепляющая гранулы, тогда как содержимое гранул почти не растворяется. Чистое мумиё встречается в виде сосулек, натёков и накоплений около горных трещин. Этот вид продукта в основном состоит из совершенно чистого мумиё, и лишь иногда в нём можно найти незначительные примеси почвенных пород. Растительные или животные примеси полностью отсутствуют. Как правило, первичные источники мумиё труднодоступны, в силу чего и сохраняют свою чистоту.

При температуре 196-200<sup>0</sup> часть мумиё плавится, а остальная не изменяется даже при нагревании до 300<sup>0</sup>. Водные вытяжки и экстракты в органических растворителях дают почти нейтральную реакцию (рН 6.5-7). При кислотном разложении пробы мумиё появляется нефтеподобный продукт. При определении активности методом электромагнитного резонанса в 0.1 г мумиё установлена вероятность наличия незначительного числа свобод-

ных радикалов органических веществ. По физическим свойствам мумиё отличается от озокерита, смолы, церезина, битумов и альгоритов.

Спектральному анализу были подвергнуты местный и зарубежный образцы мумиё, а также смолообразное органическое вещество (искусственное мумиё). Существенной разницы в качественном составе зарубежных и местных образцов не обнаружено (табл. 1 и 2). Минеральный состав смолообразных органических веществ также почти одинаков. Установлено, что мумиё содержит 26 микроэлементов: кремний, алюминий, кальций, натрий, калий, железо, магний, фосфор, барий, стронций, бор, марганец, ванадий, серебро, медь, свинец, цинк, висмут, никель, кобальт, олово, бериллий, хром, молибден, серу, титан. Полярнографическим методом произведен анализ на молибден (Mo), свинец (Pb) и фосфорный ангидрид (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Фосфорный ангидрид определяли цитратным методом Бехтера-Венгера. Свинец содержится в количестве 0.038%, молибден - 0.025, фосфорный ангидрид - 2.97. Спектральным анализом установлены следы бария. Сожжением навески 4.59 мг мумиё (по методу М. Коршуна) определено содержание углерода (32.82 %) и водорода (5.57 %).

Качественный состав минеральной части образцов мумиё из разных местонахождений неодинаков, однако существенной разницы не отмечено. В мумиё содержатся в значительном количестве следующие минеральные вещества: окись алюминия (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), окись железа (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), окись титана (TiO<sub>2</sub>), окись кальция (CaO), окись свинца (PbO), окись магния (MgO), двуокись кремния (SiO<sub>2</sub>), фосфорный ангидрид (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), окись бария (BaO), окись марганца (MnO), окись калия (K<sub>2</sub>O), окись натрия (Na<sub>2</sub>O), следы окиси стронция и окиси магния.

Таблица 1 (а,б,в)

**Результаты спектрального анализа мумиё (а)**

Образец	Элементы								
	Si	Al	Ca	Na	K	Fe	Mg	P	Ba
Заграничный	5	5	5	5	5	3	5	3	2
Местный	4	5	5	5	5	3-4	5	4	2-3
Смолообразное органическое вещество	3-4	3	4	3	3	2	4	-	1

**(б)**

Образец	Элементы								
	Sr	B	Mn	Be	V	Ti	Au	Cu	Pb
Заграничный	2	2	2	сл	-	3	сл	1	1
Местный	сл	-	2-3	-	1	2	1	1	2-3
Смолообразное органическое вещество	2	-	2	1	1	1	1	1	-

**(в)**

Образец	Элементы							
	Zn	Bi	Ni	Co	Sn	Cr	Mo	S
Заграничный	2	2	1	1	1	-	-	1
Местный	2	-	1	-	1	сл	1	1
Смолообразное органическое вещество	-	2	1	-	-	-	-	1

Примечание. 5 - более 1 %, 4 - около 1%, 3 - около 0.1%, 2 - около 0.001 %, Сл - 0.0001%.

Необходимо остановиться на интересных данных, полученных Ю. И. Колесниченко и В. И. Ищенко (1966) [56]. Различные виды мумиё подвергали химическому анализу, данные которых приведены в табл.1(в). Авторами проводился также спектральный анализ вышеприведённых



образцов мумиё. В исследуемых образцах обнаружены: К, Na, Ca, Si, Mg, Co, Ti, Va, Ba, Mn, Al, Fe, P, Cr, Cu.

Серебро обнаружено в мумиё Монголии, Индии и Бирмы: Be, Cd, Ni- в мумиё Индии и Бирмы. Результаты анализа приведены в табл 2.

Таблица 2

Результаты химического анализа одного из видов мумиё (по А. Ш. Шакирову и А. М. Мирзорахимову, 1963) [51]

№	Вещество	Содержание в %%
1	2	3
1.	Влага	6.94
2.	Окись кальция	7.29
3.	Окись натрия	0.68
4.	Окись алюминия	3.96
5.	Окись кремния	2.82
6.	Окись магния	2.28
7.	Окись титана	0.04
8.	Окись серы	1.42
9.	Закись фосфора	4.06
10.	Окись калия	9.13
11.	Окись железа	0.06
12.	Свинец	0.038
13.	Молибден	0.025
14.	Окись фосфора	2.97

Исходя из данных химического и спектрального анализов, авторы делают вывод об общности состава различных образцов мумиё, что подтверждает общность их происхождения.

Химическое исследование состава мумиё, используемого нами в эксперименте в своё время, было проведено в Институте химии АН Таджикской ССР под руководством академика К.Т. Порошина [65].

Элементарный и спектральный анализы (Н.П.Петров, С.Б. Давидянц и др., 1964-1966) показали, что мумиё представляет собой сложный продукт органоминеральной природы. В нём содержится 50-60% углерода, 5 - 10 % водорода, 4-5 % азота и ряд элементов с количественным преобладанием пороодообразующих: Са, Mg, Fe, Al, Na, K и др. [53-58].

Далее авторы отмечают, что минералогический состав образцов мумиё, полученных из различных мест залегания, различается качественно и количественно между собой и объясняют этот факт различным составом тех горных пород, из которых они были образованы. Большое внимание авторы уделяли изучению органической части мумиё. Последняя была разделена на ряд фракций: петролейно - эфирную-0.5 %; хлороформную - 2%; метанольную - 64.7 %; кисло- метанольную -31.8 %.

Фракция петролейного эфира была обработана метиловым спиртом. Только 80.1 % данной фракции было растворено в последнем, а остальная часть (19.9 %) выпала в осадок в виде серовато-белой массы. После многократной перекристаллизации из спиртово-эфирной смеси было получено аморфное вещество (Т.пл. - 68-70 °С; С – 74.46 %; Н – 13.97 %; О- 11.57 %; к.ч. – 3.56 мг/г (К.Ч.- (кислотное число) - количество мг КОН, израсходованного на нейтрализацию 1г вещества при индикаторе фенолфталеине); Ч.О.-155.3 мг/г (Ч.О. - число омыления - количество мг КОН, израсходованного на омыление 1г вещества).

Наличие в мумиё стронция и бериллия, как и окиси кальция, фосфора, калия, в какой-то мере, объясняет его положительное действие на регенерацию костей. Присутствие в мумиё молибдена, кальция, магния, стронция, фосфора, большого количества (32.82 %) органических веществ в виде карбонатов и серы в виде сульфатов, видимо, связано с проявлением

вулканизма. В мумиё содержатся углерод, водород и азот, т.е. элементы, являющиеся основой органической жизни. Данные анализа органической части мумиё на углерод и водород представлены в табл. 5. Они соответствуют результатам предварительных исследований.

Таблица 3

Химический состав мумиё (по В.Н. Исмаиловой, 1964) [58]

№	Элементы	Содержание в %
1.	Кремний	1.0-3.0
2.	Алюминий	0.03-0.1
3.	Кальций	0.3-1.0
4.	Калий	10.0
5.	Железо	1.0-3.0
6.	Магний	3.0-10.0
7.	Ванадий	0.001-0.003
8.	Фосфор	0,1
9.	Марганец	0.003-0.01
10.	Титан	0.001-0.003
11.	Хлор	следы
12.	Свинец	0.001-0.003
13.	Олово	0.03-0.1
14.	Цинк	0.5

Таблица 4

Результаты химического анализа различных образцов мумиё  
(по Ю.И. Колесниченко и В.И. Ищенко, 1966) [56]

№	Образцы и их числовые показатели (в %)				
	Индийские	Бирманские	Непальские	Монгольские	
1.	Бензойная кислота	5.6	5.2	4.1	4.2
2.	Гиппуровая кислота	3.8	4.7	5.2	5.0
3.	Жирные кислоты	3.0	2.3	1.0	2.4
4.	Смолы и воскообразные вещества	4.1	3.1	4.1	3.9
5.	Камеди	8.1	7.0	5.2	3.6
6.	Альбумины	12.3	6.3	2.9	4.0
7.	Растительные остатки и минеральные в-ва	24.1	32.1	30.6	26.2
8.	Влага	10,2	2,7	11,0	9,3

Таблица 5

Результаты спектрального анализа различных образцов мумиё (по Ю.И. Колесниченко и В.И. Ищенко, 1966)

№т\р	Элементы	Образцы и их числовые показатели (в мг %)			
		Индийские	Бирманские	Непальские	Монгольские
1.					
2.	Марганец	11.8	11.8	8.0	4.4
3.	Медь	1.7	4.2	0.8	1.8
4.	Алюминий	428.0	492.0	4590.0	624.0
5.	Железо	202.0	158.0	151.0	155.0
6.	Фосфор	200.0	514.0	550.0	232.0
7.	Хром	1.1	1.0	1.3	8.0

Таблица 6

Содержание углерода и водорода в органической части мумиё

Навеска, мг	CO <sub>2</sub> , мг	H <sub>2</sub> O, мг	C, %	H, %	Остаток, мг
3900	4670	1980	32.68	5.68	1.130
4920	6020	2380	33.41	5.41	1.415
4720	5765	2230	33.36	5.29	1.390

В табл.7. приведены показатели, полученные при макроопределении азота из пробы мумиё по методу Дюма в научно - исследовательском институте химии и технологии хлопковой целлюлозы г. Ташкента. Колебания в содержании азота, по - видимому, связаны с различным количеством азотсодержащего органического вещества в каждом образце мумиё.

Соотношение содержания H, C, O и N имеет следующий вид

N	O	C	H
4	48.0	46.4	7.6

Интерес представляло сопоставление минерального состава мумиё и воды тёплых минеральных источников Арашана, расположенных по осевой линии Чаткальского хребта, на южном склоне в верховьях ущелья Арашан, выходящего на Ахангаранское плато.

Н.П.Петров и И.В. Рубанов [59] обнаружили в минеральных источниках анионы молибденовой кислоты ( $\text{MoO}_4^{---}$ ), угольной кислоты ( $\text{HCO}_3^{--}$ ), кремниевой кислоты ( $\text{HSiO}_3^{--}$ ), кислотного остатка ( $\text{SO}_4^{-}$ ), хлоранион ( $\text{Cl}^-$ ) и катионы ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$  и  $\text{Ca}^{++}$ ). Мумиё содержит те же элементы, что и минеральные источники, но, кроме того, оно включает такие ценные элементы, как стронций и фосфор, которых нет в минеральных водах. Можно предположить, что мумиё является твёрдым продуктом тех же процессов, что обуславливают образование тёплых минеральных источников Арашана.

Таблица 7

Содержание азота в органической части мумиё

Навеска, мг	Температура, °С	Давление (исправленное), мм.рт.ст.	Содержание азота, %
6.980	27	736.5	3.76
3.610	28	732.2	3.61
6.250	30	725.5	4.43
3.770	30	725.3	5.08

Этими авторами также установлено, что рН мумиё Арашана составляет 5.8, а температура их при выходе на поверхность равна 37°. Они давно используются в народной медицине для лечения различных заболеваний и устранения осложнений травм, в том числе переломов костей.

Блинова К.Ф., Сировежко Н.В. в книге «Изучение препаратов растительного и синтетического происхождения» [60] приводят факты о

присутствии в мумиё стероидных соединений, представляющих ферментативные и гормональные свойства.

Давидянц С.Б. и Порошин К.Т. провели серию исследований по содержанию в мумиё некоторых аминокислот в комплексе с металлами и органическими полифункциональными соединениями [61, 62, 63]. Кроме того, они изучали наращивание грибковых бактерий в среде, содержащей мумиё.

Мумиё также подвергался изучению газохроматографическим методом. Авторы статьи Дмитриев Н.Т., Машихин В.А. и Степанов Э.В. [60.а.] описывают сложный состав мумиё, состоящего из различных отдельных компонентов, трудно отделяемых друг от друга.

## **1.5. ПРИМЕНЕНИЕ МУМИЁ ПРИ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ**

Первое использование препарата мумие для лечения острой лучевой болезни было проведено С. Ю. Никодамбаевым в 1964 году [19]. У кроликов, облученных в дозе 250 р, автор обнаружил положительное влияние мумиё на течение острой лучевой болезни. Препарат вводился по 0,1 г/кг с первых по 10-е сутки после облучения. У леченых животных в конце опыта количество лейкоцитов и эритроцитов не только нормализовалось, но и увеличивалось по сравнению с исходным уровнем. Кроме того, в начале лучевой болезни у леченых кроликов было выявлено незначительное снижение активности щелочной фосфатазы сыворотки крови.

Однако, следует отметить, что проведённых работ недостаточно, чтобы окончательно судить о возможности применения препарата мумиё при лучевой болезни, так как эти работы выполнены на малом количестве животных, при малой дозе облучения, и в основном, на мелких лабораторных животных. Кроме того, не изучены закономерности изменений показателей периферической крови, костного мозга и селезёнки

под действием препарата мумиё при острой лучевой болезни, не определены оптимальные дозы и сроки введения препарата в зависимости от тяжести лучевой болезни; отсутствуют данные о лечебном применении препарата мумиё на крупных лабораторных животных и не исследована возможность применения препарата мумиё в сочетании с другими лечебными средствами при тяжелых лучевых поражениях. Нет экспериментальных данных по механизму действия мумиё не только у облучённых, но и необлучённых животных. Также не изучено влияние препарата мумиё на различные функции организма, в частности, на эндокринную систему и печень при острой лучевой болезни. В связи с чем перед автором были поставлены задачи изучения эффективности препарата мумиё при острой лучевой болезни тяжелой степени на разных видах животных.

Эксперименты по изучению эффективности препарата мумиё были проведены на 400 мышах, 650 крысах и 101 собаке. Использовали животных обоих полов.

Все животные были разбиты на две группы: леченую и контрольную, одинаковые по весу и возрасту и находившиеся в течение всего периода наблюдения. Подопытные и контрольные животные подвергались тотальному однократному облучению на гамма - установке  $Co^{60}$ Эго-2 при мощности 168-204 р/мн. Дозы облучения для мышей составляли 600, 700 р; для крыс - 600, 650, 750 р; для собак - 250 и 300 р. Наблюдение за мышами и крысами осуществляли в течение 30 суток, а за собаками - в течение 45 суток после облучения.

Препарат мумиё вводили перорально, в виде водного раствора. Контрольные животные получали только физиологический раствор - в том же объёме, что и подопытные.

Об эффективности препарата мумиё судили на основании клинического течения острой лучевой болезни, выживаемости животных, продолжительности их жизни и гематологических данных.

В периферической крови у собак и крыс определяли количество эритроцитов и лейкоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови, концентрацию гемоглобина в г %, абсолютное число ретикулоцитов, тромбоцитов по общепринятой методике. Изучали лейкоцитарную формулу. Кроме того, у собак определяли скорость оседания эритроцитов в мм/час.

У части крыс определяли абсолютное количество ядродержащих клеток костного мозга правой бедренной кости и производили микроскопию мазков - отпечатков для подсчёта костно - мозговых элементов (миелограмма), а также митотического индекса (на 2000 клеток).

Производили взвешивание селезёнки. Определяли отношение веса селезёнки в миллиграммах к весу животных в граммах. Определяли содержание общего количества ядродержащих клеток селезёнки, анализировали лиенограмму.

Для взятия отпечатков костного мозга и селезёнки, а также для определения общего количества ядродержащих клеток костного мозга и селезёнки крыс забивали путем декапитации.

Морфологический состав периферической крови у крыс исследовали до облучения и в различные сроки после него.

Исследование периферической крови у собак производили до облучения и на третьи, седьмые, 12-е, 20-е, 30-е, 45-е сутки после облучения.

Определение количества эритроцитов и гемоглобина производили на шведском приборе «Целлоскоп-101». Лейкоцитарную формулу, миелограмму и лиенограмму изучали по мазкам, окрашенным по



Паппенгейму. В мазках периферической крови подсчитывали 200 клеток, в мазках-отпечатках костного мозга и селезенки-500 клеток.

Статистическую обработку всех показателей производили по критерию Стьюдента и непараметрическому критерию Х. Достоверными считали средние величины при  $P \leq 0.05$ .

Положительное действие мумиё обнаружено и при острой лучевой болезни. Введение мумиё облучённым животным увеличивало выживаемость, удлиняло продолжительность жизни, и отмечались, менее выраженные проявления клинических симптомов заболевания.

Наибольшее лечебное действие (увеличение выживаемости до 35%) препарат мумиё оказывал при введении по 1 г/кг с 1-5-х по 25-е сутки мышам, облученным в дозе 600-700 р и крысам-0.5 г/кг с 3-5-х по 25-е сутки после облучения в дозе 650-750 р.

Обнаружено, что при указанном назначении препарата мумиё, лучевое заболевание протекает в более лёгкой форме, чем у контрольных животных. Вялость, взъерошенность шерсти, понос, явления геморрагического синдрома у леченых животных наблюдались реже, чем у контрольных.

Изучение влияния препарата мумиё на кроветворение показало, что он способствует восстановлению состава периферической крови при острой лучевой болезни. При введении препарата мумиё происходит стимуляция преимущественно элементов миелоидного ряда.

Аналогичная картина имеет место и в костном мозге и селезёнке. Например, на 10-е, 15-е и 20-е сутки при подсчёте количества клеток костного мозга бедренной кости число лимфоцитов у леченых животных в среднем в 2-3 раза больше, чем у контрольных.

Изучение лечебной эффективности препарата при острой лучевой болезни позволило выявить следующие особенности его действия.

1. Наибольшая эффективность мумиё обнаруживается при неабсолютных смертельных поражениях.

2. Оптимальная лечебная доза препарата тем меньше, чем выше организация животных.

3. Препарат мумиё должен назначаться с периода проявления первых признаков регенерации в системе крови.

Эти особенности действия препарата мумиё в какой-то степени напоминают влияние при острой лучевой болезни таких лечебных препаратов, как витамины, гормоны и т.п, так как известно, что лечебный эффект указанных препаратов обнаруживается при длительном введении их в дозах, близких к физиологическим, и в основном при неабсолютно смертельных лучевых поражениях (СД<sub>30-80</sub>) (В. Д. Рогозкин и сотр., 1960, 1964) [64]. В настоящее время механизм действия препарата мумиё на пострadiационное восстановление гемопоэза не представляется достаточно ясным.

Проведённые экспериментальные исследования показали, что основное лечебное действие препарата мумиё связано со стимулирующим влиянием его на гемопоэз, особенно лимфопоэз. Говоря о благоприятном действии препарата мумиё на лимфопоэз при лучевой болезни и подчеркивая возможное значение этого феномена для нормализации всего кроветворения в целом, нельзя не учитывать, естественно, и той большой роли, которую играет эта система в формировании нормальной иммунологической реактивности.

На основании ряда исследований установлено, что при воздействии ионизирующего излучения угнетается как естественный, так и искусственный иммунитет (Schecymeister, 1953; И.А.Пигалев, 1955;[66] Н.Н. Клемпарская, 1958;[67] В.Л. Троицкий и др., 1958;[68] Р.В.Петров, 1962;[69] и др.), антителообразование в селезёнке и лимфатических узлах (К.Benjamin, E.Stuka, 1908;[70] A.Lowen, 1909; [71] E.Frankel, K.Schilling, 1963), [72] а также наблюдается уменьшение барьерфиксирующей способности лимфоидных органов (Р.В. Петров, 1957, 1962; [73] М.А.

Туманян и др., 1958) [74]. Оказывая благоприятное влияние на лимфопоез, препарат мумиё может повышать и купировать указанные выше патологические процессы.

Следует подчеркнуть, что сведения о стимуляторах лимфопоеза крайне малочисленны. В то же время, поиски подобных препаратов, безусловно, важны, так как известно, что лимфоидные элементы крови являются более чувствительными к действию проникающих излучений, чем другие клетки крови, и лимфопоез очень медленно восстанавливается после лучевых поражений (М.Ф.Александров, 1955; [75] Т.В.Каляева, 1960; [76] Н.И. Шмелева, 1962; [77] Н.К.Евсеева, 1965; Klug, 1965) [78].

Полученные данные являются важными о большой значимости процессов, ведущих к нормализации лимфоидной ткани при лучевой болезни и роли этой ткани в образовании различных клеток крови (Максимов, 1927; Заварзин и др., 1946, 1947) [79]. Роль лимфоидной ткани в образовании различных клеток крови широко обсуждается в литературе. Доказано, что клетки лимфоидной ткани способны превращаться в ретикулярные и затем в юные и зрелые плазматические клетки (Заварзин и др., 1946; Mc.Millan, Engelbart, 1960) [80].

В результате анализа процесса пострadiационного восстановления кроветворения у морских свинок В.Д. Рогозкин и др. (1966) [81] показали, что родоначальными клетками гемопоэза являлись ретикулярные клетки и лимфоциты. На основании изучения механизма восстановления костного мозга при локальных облучениях, О.И. Белоусова и др. (1966) [82] утверждают, что лимфоциты, вероятно, без деления дифференцируются в ретикулярные клетки, что и определяет дальнейшее восстановление кроветворения костного мозга. Кроме того, этими авторами выдвинута гипотеза о возможной трансформации ретикулярных клеток в эритроидные, минуя стадию гемоцитобласта. На правомерность такого суждения косвенно указывают и материалы настоящего исследования.

Установлено, что под влиянием препарата мумиё наблюдалась не только стимуляция лимфопоэза, но и полное восстановление количества эритробластов в костном мозге, без существенного увеличения числа гемоцитобластов. Весьма вероятно, что под действием препарата мумиё происходит дифференциация ретикулярных клеток прямо в эритроидные.

Стимулирующее влияние препарата мумиё, по-видимому, может быть связано с нормализацией функции нейро - эндокринной системы, обмена веществ, особенно нуклеинового обмена в кроветворных клетках, и изменением концентрации микроэлементов в тканях, необходимых для осуществления нормального процесса кроветворения.

## ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Индивидуальность полученных веществ контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol UV-254, (Чехословакия) и Мегк (Германия). Бумажная хроматография (БХ) проводилась на бумаге FN-14 (Германия) в следующих системах: метанол-вода (98:2), метанол - уксусная кислота - вода (МУВ) (95:3:2), бутанол - уксусная кислота - вода (БУВ) (4:1:1), хлороформ - метанол - уксусная кислота (ХМУ). (90:10:5). Проявителем служили пары йода и 0.5% раствор нингидрина в ацетоне, смесь, состоящая из равных объёмов 20%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и раствора КJ, раствор м-динитробензола и раствор бензидина в 2 % уксусной кислоте и УФ - излучение пластинок.

Хроматографическое фракционирование аминазина и других органических компонентов осуществляли на автоматическом ЛКВ - хроматографе, на колонке (2.6x40 см) с сефадексом LH - 20 (25 - 100 мкм) со скоростью 30 капель/мин, снабженной Uvikord-S при 276 нм. В качестве элюента использовали смесь метанол - вода (98:2). Температуру плавления определяли на приборе Voetus (Германия), ВЭЖХ проводили на хроматографе Altex - 340 (Beckman, США) с использованием обращённо-фазовой колонки Ultrasphere (5мкм, 10x250 мм) и детектора, Spectroflow-757 (Kratos, США). ИК- спектры снимали на приборе спекорд-75 (Германия), Iaffinity-1 (SHIMADZU), УФ- спектры снимали на спектрофотометре Hitachi-330 (Япония). Потенциометрические измерения осуществляли на цифровом рН-метре (милливольтметре) типа рН 150, используя платиновый электрод ЭПЛ-02 в паре с хлорсеребряным электродом ЭВЛ-ИМ4. Растворители удаляли на роторном испарителе при 40-50<sup>0</sup>С. Для эталона использовали аминокислоты L-ряда фирмы «Reanal» (Венгрия) и тестостерон, выделенный и очищенный из ампулы для

инъекций. Электрофорез проводили 5% - ной уксусной кислотой на хроматографической бумаге, при pH 3-4. Гидрирование проводили в присутствии Pd/C (Merck) (5 и 10 % по весу). Аминокислотный анализ осуществляли на приборе Hitachi - 635 (Япония), после обработки 6 н. HCl с 2 % фенолом при 95 - 100<sup>0</sup>C в течение 12 ч. Углерод и водород были анализированы на приборе VarioMICROCHNS.

В работе использовали водный экстракт природного мумиё «Асил» и этанол - метанольные экстракты.

## **II.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЧИСТОГО МУМИЁ ИЗ ГОРНОГО МУМИЁ-СЫРЦА**

Способ экстрагирования мумиё водой заключается в следующем. Измельчённое сырьё заливают на 6 часов десятикратным количеством теплой воды (40-50<sup>0</sup>C), затем после многократного сцеживания и фильтрования извлекают водный экстракт, воду отгоняют либо в вакуум-выпарном аппарате при 50 - 55<sup>0</sup> и при разряжении 600 - 650 мм рт.ст, либо выпариванием на низком огне при температуре 70-80<sup>0</sup>C.

Экстракт высушивают в вакуум - сушильном аппарате или в обычном сушильном шкафу до остаточной влаги не более 5%. Получаемый таким образом экстракт представляет собой гигроскопический порошок светло - серого цвета с характерным запахом мумиё и резко жгучим вкусом, растворимый в холодной и горячей воде.

**Испытание на подлинность:** 0.1 г препарата растворили в 5 мл воды и отфильтровали. Раствор экстракта не изменяется при добавлении разбавленных щелочей, светлеет и образует обильный бурый осадок при добавлении разбавленных кислот.

К 0.05 г препарата прилили 5 мл воды и несколько капель раствора хлорида окисного железа: образуется тёмно-зелёная окраска.

0.05 г препарата растворили в 5 мл спирта, нагрели в течение 2-3 минут при температуре не выше 50<sup>0</sup> и отфильтровали. К фильтрату добавили 10 капель 5 % - ного раствора щелочи и нагревали ещё 3-5 минут. Затем прибавили 5-10 капель диазотированной сульфаниловой кислоты: образуется тёмно - красная окраска.

При добавлении к 1 мл раствора экстракта нескольких капель раствора иодида калия (проба на ртуть) должен образовываться красный осадок, растворимый в избытке реактива. Признаков на образование красного осадка не наблюдалось.

## **II. 2. ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА МУМИЁ**

К 0.6 г мумиё, полученного по методике [II.1], добавили 5 мл метанола, перемешивали в течение 2 ч и оставили стоять при комнатной температуре. Нерастворившуюся часть отфильтровали. Метанольную часть упаривали в вакууме на роторном испарителе, остаток высушили в вакууме. Получили 0.24г (40 %) светло - коричневого гигроскопического порошка. В качестве растворителя экстракта использовали также этанол.

## **II. 3. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ МЕТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА МУМИЁ**

Фракционирование. а) 0.040г метанольного экстракта мумиё хроматографировали на колонке с сефадексом LH - 20. Фракции собирали по 5 мл. Образовавшие отдельные пики (в разделе - обсуждение результатов, рис.5, стр.80) фракции объединили, упарили, остаток, получили соответственно три фракции: 0.022 г (1); 0.008 г (2); 0.008 г (3) аморфных веществ. Качественные реакции с раствором PdCl<sub>2</sub> (окрашивание раствора в вишнёво - красный цвет), с раствором разбавленной (1:1) азотной кислоты (розовое окрашивание, постепенно переходящее в красное) и с раствором FeCl<sub>3</sub> (красный цвет, переходящий в вишнево - красный после добавления воды) подтверждают присутствие аминазина во фракции 1.

Параллельно проводили контрольные реакции с аминазином (эталоном). Фракцию 1, содержащую 2-хлор - 10 - (3-диметил-аминопропил)-фенотиазин (аминазин), хроматографировали на бумаге в системе МУВ (95:3:2), проявитель 0.5 % раствор нингидрина в ацетоне. В качестве метки использовали аминазин - эталон; обнаружили три пятна с  $R_f$  0.53; 0.67; 0.73. Вещество с  $R_f$  0.73 соответствовало аминазину. Точно такое же значение  $R_f$  имеет аминазин - эталон.

б) Из 0.020 г экстракта фракции 1, содержащей аминазин, полученный по методике (II.3.а), повторным хроматографированием (рис.6. стр.81) выделили две отдельные фракции: фр.1 (0.01 г), фр. 2 (0.008 г) аморфных продуктов.

в) 0.008 г фракции 2 (II. 3. б) заново фракционировали (условия опыта такие же, что и ранее, рис.7. стр.82), получили 0.003 г маслообразного аминазина, метанольный раствор которого насыщали газообразным HCl и обрабатывали серным эфиром. Получили светло - серый порошок с т. пл. 192-195<sup>0</sup>С (лит.т. пл. 195-198<sup>0</sup>С),  $R_f$  0.91, МУВ (95:3:2). УФ-спектр (метанол,  $\lambda_{max}$ ,) 262,310 нм.

Найдено в % : С 64.08, Н 5.89, N 9.09.

Вычислено в %: С 64,00; Н 6; N 9.100.

#### **II.4. ТИТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 2-ХЛОР-10-(3-ДИМЕТИЛАМИНОПРОПИЛ)-ФЕНОТИАЗИНА (АМИАЗИНА)**

0.016 г метанольного экстракта мумиё растворили в 3 мл ацетона, прибавляли 0.25 мл ацетата окисной ртути (II) (насыщенный раствор в лед. CH<sub>3</sub>COOH) и 0.05 мл индикатора метилоранжа (насыщенный раствор в ацетоне). Титровали 0.1 н. HClO<sub>4</sub> от жёлтого до оранжевого цвета. Средний объём хлорной кислоты после трёхкратного титрования аминазина в смеси составляет 0.45 мл (на холостой опыт израсходовали 0.04 мл раствора HClO<sub>4</sub>). Количество аминазина в % вычисляли по формуле:



$$X (\%) = \frac{V \cdot N_s \cdot E_x \cdot 100}{1000 \cdot g} \quad (\text{А})$$

V- объём HClO<sub>4</sub>, израсходованной на титрование вещества, мл

N<sub>s</sub>- нормальная концентрация HClO<sub>4</sub>

E<sub>x</sub>-эквивалентный вес аминазина, г

E<sub>x</sub>= M · K ;K-коэффициент пересчёта

M- атом . вес Cl

g- навеска вещества, г.

$$X = \frac{0.41 \cdot 0.098 \cdot 35.5 \cdot 100}{16} = 8.9\%$$

$$(\text{Б}) \quad m = \frac{N_{\text{HClO}_4} \cdot V_{\text{HClO}_4} \cdot E_x}{1000}$$

$$m = \frac{0.41 \cdot 0.098 \cdot (35.5 \cdot 0.1)}{1000} = 0.0014 \text{ г} = 1.4 \text{ мг}$$

$$K = \frac{\text{экв. масса хлора } 35.5}{\text{экв. масса аминазина } 355.5} = 0.1$$

Содержание аминазина в смеси составило 0.0014 г. Количество аминазина в 16 мг метанольного экстракта мумиё составляет 1.4 мг.

## II. 5. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 2-ХЛОР-10-(3-ДИМЕТИЛАМИНОПРОПИЛ)-ФЕНОТИАЗИНА (АМИНАЗИН)

а) 0.021 г сухого экстракта мумиё растворили в 20 мл ацетона, содержащего 0.25 мл раствора ацетата окисной ртути (II). стакан с раствором поместили на электромагнитную мешалку, опустили в него электроды марки ЭВЛ-1 М-4 (вспомогательный) и ЭПЛ (платиновый, индикаторный) и перемешивали. За изменением окислительно-восстановительного потенциала следили во время титрования с использованием цифрового милливольтметра рН-150. Титровали раствор из микробюретки

0.1 н.  $\text{HClO}_4$ . После прибавления титранта фиксировали изменение потенциала по шкале рН-метра. По мере приближения к точке эквивалентности (ТЭ) титрант прибавляли по каплям, а измерение проводили через 20-30 с. Конечную точку титрования определили по наибольшему скачку потенциала. Результаты титрования приведены в таблице 8.

Таблица 8

Результаты потенциометрического титрование раствора 2-хлора-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиозина (аминазина) 0.1  $\text{HClO}_4$

Добавление титранта 0.098N $\text{HClO}_4$ ,	Значение потенциала, мВ	Изменение значения потенциала, мВ
0.1	347	-
0.2	409	12
0.3	419	10
0.5	486	67 Т.ЭКВ.
0.6	496	40
0.7	525	29
0.8	560	35
0.9	600	40
1	600	0
1.1	600	0

$$X (\%) = \frac{0.5 \cdot 0.098 \cdot 35.5 \cdot 100}{21} = 8.28\%$$

$$m = \frac{0.5 \cdot 0.098 \cdot 35.5}{1000} = 1.73\text{мг}$$

Процентное содержание аминазина вычисляли по формуле (А), приведённой в методике 11.4. (А)

Количество аминазина в мг вычисляли по формуле (Б), приведенной в методике 11.4. (Б)

Проверочные расчёты: а) Количество аминазина, исходя из процентного содержания, вычисляли по формуле (А.11.4).

$$21\text{мг}-----100\%$$

$$X-----8.28\%$$

$$X=1.73\text{мг}$$

б) Количество аминазина в экстракте мумиё:

$$21\text{мг}-----1.73\text{мг}$$

$$400\text{мг}-----X$$

$$X= 32.95\text{мг}.$$

в) Количество аминазина в 1 г водного экстракта мумиё составляет 32.95 мг или 3.2 мг %.

$$1000\text{ мг}-----32.95\text{ мг}$$

$$100\text{ мг}-----X$$

$$X=3.2\text{ мг \%}.$$

б) Достоверность полученных результатов (11.4.А., 11.4.Б) проверили с помощью аминазина- эталона.

Взяли 2.5 мг чистого аминазина эталона растворили в 0.5 мл воды, прибавили 0.04мл (СН<sub>3</sub>СОО)Hg и 15мл метилоранжа. Титровали 0.098N хлорной кислотой до оранжевого цвета. На титрование израсходовали 1.3 мл хлорной кислоты. Измерение проводили три раза и взяли среднее значение, равное 1.40 мл. На холостой опыт (титрование в отсутствие вещества) было израсходовано 0.68 мл НСlО<sub>4</sub>. Таким образом, 1.40 мл-0.68 мл=0.72мл НСlО<sub>4</sub> на 2.5 мг аминазина.

$$2.5\text{ мг}-----0.72\text{ мл}$$

$$X-----0.5\text{ мл}$$

$$X= 1.73\text{ мг}$$

## **II. 6. ПОЛУЧЕНИЕ ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА МУМИЁ**

К 2 г мумиё, полученного по методике [II.I], добавили 8 мл этанола, перемешивали в течение 2 ч. и оставили при комнатной температуре, не растворившуюся часть отфильтровали. Этанольную часть упарили в вакууме на роторном испарителе, остаток высушили в вакууме. Получили 0.84 г (42%) светло - коричневого гигроскопического порошка. В качестве растворителя можно использовать также метанол.

## **II. 7. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА D<sub>3</sub>**

0.84 г сухого этанольного экстракта растворили в 30 мл эфира, добавили осушитель сульфат натрия и высушивали в течение 30 мин. Затем отфильтровали, используя бумажный фильтр. Эфир отгоняли на водяной бане, из сухого остатка взяли 100 мг экстракта, растворили в 5 мл хлороформа (20 мг/мл). Из полученного раствора взяли 1 мл, добавили 3 капли ацетилхлорида и 6 мл раствора хлорида сурьмы (III). Через каждые 5-6 мин. измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ-26 при 260 нм в кюветах с толщиной слоя в 1 см относительно смеси из 1 мл хлороформа, 6 мл раствора хлорида сурьмы (III) и трёх капель ацетилхлорида. Оптическая плотность (средняя) раствора составила 0.55.

Содержание витамина D<sub>3</sub> в испытуемой пробе установили по калибровочной кривой, построенной по спиртовому раствору витамина D<sub>2</sub> (рис.1) Содержание витамина D<sub>3</sub>, с оптической плотностью 0.52, рассчитывали по калибровочному графику, которая соответствовала 1.2 мг витамина D<sub>3</sub>. Затем рассчитали содержание витамина D<sub>3</sub> на 5 мл исследуемого раствора, которому соответствовало 6.00 мг витамина D<sub>3</sub>. Таким образом, из 1 г мумиё получали 0.42 г этанольного экстракта, из 0.1 г экстракта выделяли 6.00 мг витамина D<sub>3</sub>, а в 1 г мумиё содержится 0.024г витамина D<sub>3</sub>, составляющего 2.4 %.

## II. 8. ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ВИТАМИНА D<sub>3</sub> В МУМИЁ

20 мг витамина D<sub>2</sub> растворили в спирте в мерной колбе на 10 мл, концентрация полученного раствора витамина D<sub>2</sub> составила 2 мг/мл. Из приготовленного раствора пипеткой перенесли 5 мл в мерную колбу на 10 мл, довели спиртом до метки. Получили раствор с концентрацией 1 мг/мл. Из этого раствора пипеткой переносили 5 мл в мерную колбу на 10 мл, доводили объём до метки, получали раствор с концентрацией 0.5 мг/мл.

Путем разбавления исходного раствора, каждый раз вдвое, получили серию растворов (всего 6 растворов) с концентрацией 2; 1; 0.5; 0.25; 0.125; 0.0625 мг/мл. Построили калибровочную кривую, откладывая значения оптической плотности (A) растворов при 500 нм по оси ординат, и значения 2; 1; 0.5; 0.25; 0.125 и 0.0625 концентрации витамина по оси абсциссы (рис.1).

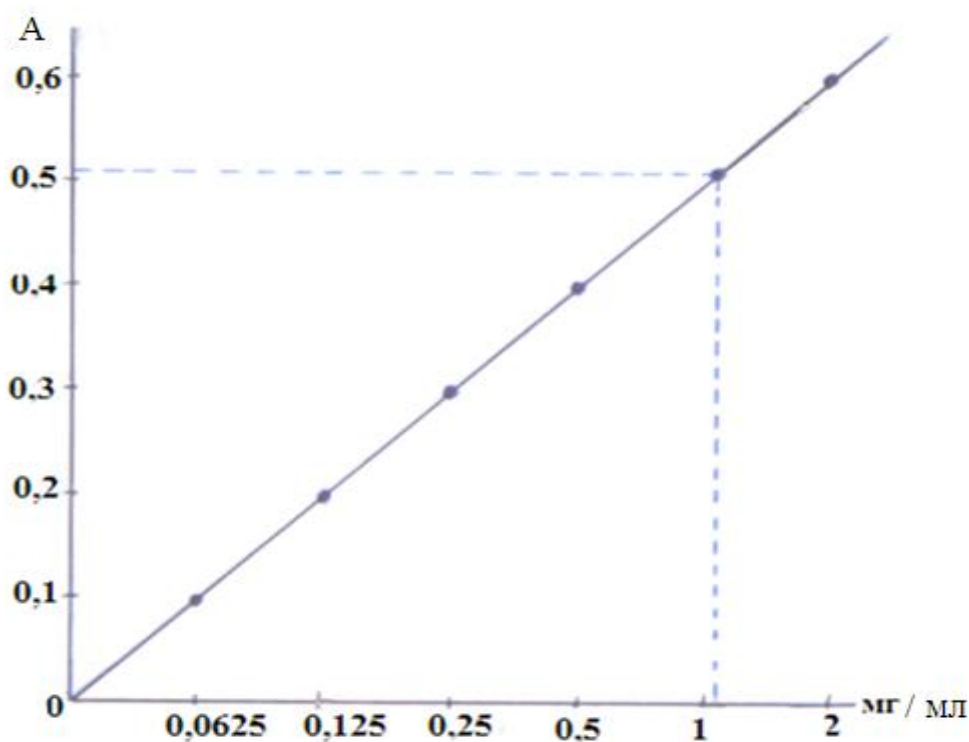


Рис. 1. Калибровочная кривая, построенная на основе витамина D<sub>2</sub>, для определения содержания витамина D<sub>3</sub> в мумиё.

## II. 9. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ВИТАМИН D<sub>3</sub>

В сухую пробирку налили 1 мл спиртового раствора витамина D<sub>3</sub>, полученного из мумиё, добавили раствор брома в хлороформе (1:60). Раствор принял зелёновато-голубую окраску, свидетельствующую о наличии в растворе витамина D<sub>3</sub>.

Опрыскивание хроматограммы хлороформным раствором пентахлорида сурьмы даёт коричневатую - синюю окраску, характерную для витаминов группы D. Для сравнения в качестве эталона взяли витамин D<sub>2</sub>, дающий такую же окраску. В работе использовали водную экстракцию природного мумиё «асил» и этанол - метанольные экстракты мумиё.

## II. 10. ВОЗГОНКА ВИТАМИНА D<sub>3</sub>

1г мумиё растворили в 20 мл 1 М растворе NaHCO<sub>3</sub> и при интенсивном перемешивании (условия Шоттен - Баумана) прибавили 5 мл карбобензоксихлорид (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OCOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), чтобы связать компоненты разрушенного комплекса за счёт освободившихся первичных, вторичных аминов и других нуклеофильных групп. Перемешивание продолжали в течение 8-10 ч и содержимое экстрагировали эфиром для удаления избытка карбобензоксихлорида. Раствор подкисляли бн. HCl до pH 3-3.5. Выпавший маслообразный продукт экстрагировали хлороформом. Хлороформ отгоняли, остаток подвергли возгонке под вакуумом, в специально собранном приборе (рис.2). Получили 23.25 мг (2.33%) белых кристаллов в виде тонких игл с температурой плавления 83-85<sup>0</sup>С (прибор Voetus, Германия).

Найдено в % С 86.80, Н 9.38; Вычислено в % (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) С 86.40, Н 9.40.

Обработка опрыскиванием хроматограммы, содержащей витамин D<sub>3</sub>, раствором пентахлорида сурьмы даёт коричневатую-синюю окраску, характерную для витаминов группы D. Эталон для сравнения служил витамин D<sub>2</sub>, дающий аналогичную окраску. ТСХ - анализ витамина

D<sub>3</sub> проводили на силуфоле UV-254, R<sub>f</sub> 0.84 (н. бутанол - уксусная кислота - вода, 4:1:1), R<sub>f</sub> 0.66 (пиридин - изоамиловый спирт, 1:1), R<sub>f</sub> 0.94 (метанол-вода, 98:2). Зоны вещества проявляли парами йода. В масс-спектре обнаружены интенсивные пики ионов с m/z 384 (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O), 229 (C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>O), 124 (C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O), 107 (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>), 105 (C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>), 95 (C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>), 93 (C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>), 81 (C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>), 79 (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>).

По физико - химическим данным, выделенное нами соединение соответствует витамину D<sub>3</sub> (холекальциферол). Вывод о достоверности полученных результатов, а именно о наличии витамина D<sub>3</sub> в мумиё, сделали также на основе рассмотрения УФ-; ИК- и Масс- спектров. ИК-спектры вещества содержат характеристическую полосу поглощения C=O в области 1740-1715 см<sup>-1</sup>. УФ-спектр 268 нм,  $[\alpha]_{585\text{нм}}^{20}$  (с 1.3 CHCl<sub>3</sub>) (Polomate-S, Германия).

## **II. 11. ПОЛУЧЕНИЕ СМЕСИ КАРБОБЕНЗОКСИАМИНОКИСЛОТ (КБЗ)**

1 г мумиё растворили в 20 мл 1 М NaHCO<sub>3</sub>, перемешали на магнитной мешалке до полного растворения и порциями в течение 4-5 минут прибавили по частям карбобензоксихлорид (свежеперегнаный)[88]. Перемешивание продолжали в течение 6 ч. и оставили на ночь. На следующий день перемешивание продолжали ещё 2 ч. Раствор перенесли в делительную воронку и экстрагировали 40 мл серного эфира, чтобы удалить непрореагировавший карбобензоксихлорид и другие эфирорастворимые продукты реакции. Эфирный слой отделили, а водный слой подкислили до pH 3-3,5 6 н HCl.

Постепенно выпавшую массу вместе с раствором перенесли в делительную воронку и экстрагировали хлороформом три раза по 15 мл. Объединив все порции хлороформа, массу высушили с помощью сухого

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали на роторном испарителе, получили 0.035г (3,5 %) маслообразного продукта.

## **II. 12. ГИДРИРОВАНИЕ КАРБОБЕНЗОКСИАМИНОКИСЛОТ**

0,1947г смеси карбобензоксидных аминокислот растворили в 20мл метанола, содержащего 0,3 мл CH<sub>3</sub>COOH и гидрировали над Pd/C до полного отщепления карбобензоксидных групп (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OCO-). Контроль за процессом снятия защитной группы вели с помощью ТСХ. Для полного снятия защитной группы с аминокислот потребовалось 12ч. Объём израсходованного водорода составил 22мл. Растворитель упарили в вакууме, остаток два раза переосаждали из метанола эфиром, получили 0,0861 г (44,2%) маслообразного продукта. В одном грамме мумиё содержится 0,4 % свободных аминокислот. Хроматографический анализ на бумаге в системе А показал пять окрашенных нингидрином пятен с R<sub>f</sub> 0.14; 0.17; 0.26; 0.47; 0.34, соответствующих Гис, Гли, Ала, Вал, Про на основе сравнения R<sub>f</sub> свободных аминокислот, взятых в качестве метки (стандарта) для сравнения.

Аминокислотный анализ прогидрированного продукта показал:

Гли (0.99) (I); Ала (0.97) (I); Вал (0.98) (I); Про (0.96) (I); Гис (0.95) (I).

ИК - спектр полученных смесей аминокислот, снятый в таблетке с KBr, идентичен ИК - спектру смеси свободных аминокислот, взятых для сравнения в качестве стандарта.

## **II.13. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АМИНО-КИСЛОТ**

Двумерную хроматографию прогидрированного продукта проводили на хроматографических пластинках в системе А и Б. В качестве стандарта взяли смесь соответствующих аминокислот из Гли, Ала, Вал, Про, Гис, заранее изученных для определения R<sub>f</sub> в отдельности. Анализируемый продукт растворили в минимальном объёме метанола и нанесли на



хроматографическую пластину в левом нижнем углу, обозначив точкой с плюсом. Симметрично у правого и верхнего краёв пластины нанесли 2 мкг стандарта смеси аминокислот в метаноле, как «свидетель». Пластинку подсушивали на воздухе при комнатной температуре. Расположение аминокислот на хроматограмме устанавливали путем обработки раствором нингидрина, ориентируясь на «свидетель» (рис. 14. стр.94).

Для сравнения определяли  $R_f$  каждого хроматографического пятна продукта и стандарта. По величине  $R_f$ , которое совпадало с  $R_f$  контрольных аминокислот, можно было судить об их идентичности.

#### **II.14. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АМИНОКИСЛОТ В МУМИЁ**

1г обезвоженного мумиё растворили в 15 мл воды, прибавили 75мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты. Выпавший осадок отфильтровали, промыли два раза 2 мл 20 % трихлоруксусной кислоты. Фильтрат и промывные воды объединили и пропустили через КУ-2. Элюаты объединили и концентрировали выпариванием на вакууме досуха. Сухой остаток перенесли в мерную колбу на 20 мл и довели объём до метки. Взяли 0.1 мл раствора в пробирку, прибавили 1.9 мл воды, 1 мл нингидринового реактива и поставили в кипящую воду на 15мин., используя каплеуловитель. Содержимое охлаждали, прибавили 5 мл 95 % спирта и определяли оптическую плотность на приборе ФЭК - 56 в кювете толщиной 1см при длине волны ( $\lambda$ ) 580 нм. Среднее значение плотности раствора было равно 0.06. Согласно калибровочному графику, построенному по глицину (рис. 2), оно соответствует 0.0022 мг/мл или 0.35 % от сухого веса мумиё, взятого для анализа.

## II. 15. ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ ГЛИЦИНА

15.652 мг глицина и 5 мг нингидрина поместили в мерную колбу на 5 мл, содержимое растворили в 3 мл 50 % спирта при нагревании, затем прибавили до метки 50 % спирта, получили раствор, содержащий 3,125 мг/мл глицина. Взяли 1 мл раствора и разбавили 50 % спиртом до метки, получили раствор с концентрацией 0,652 мг/мл. Полученный раствор разбавили, получив разные концентрации: 3.125, 0.625, 0.125, 0.025, 0.005, 0.001 мг/мл. Оптическую плотность растворов измерили на фотоколориметре ФЭК - 56 в кювете, с толщиной слоя 1 см, при длине волны 580 нм (табл.9). На основе полученных данных построили калибровочную кривую (рис. 2).

Таблица 9

Зависимость оптической плотности от концентрации глицина в 50 % спирте

Концентрация, мг/мл	Оптическая плотность, А 580 нм
3.125	0.45
0.625	0.35
0.125	0.25
0.025	0.15
0.005	0.085
0.001	0.035

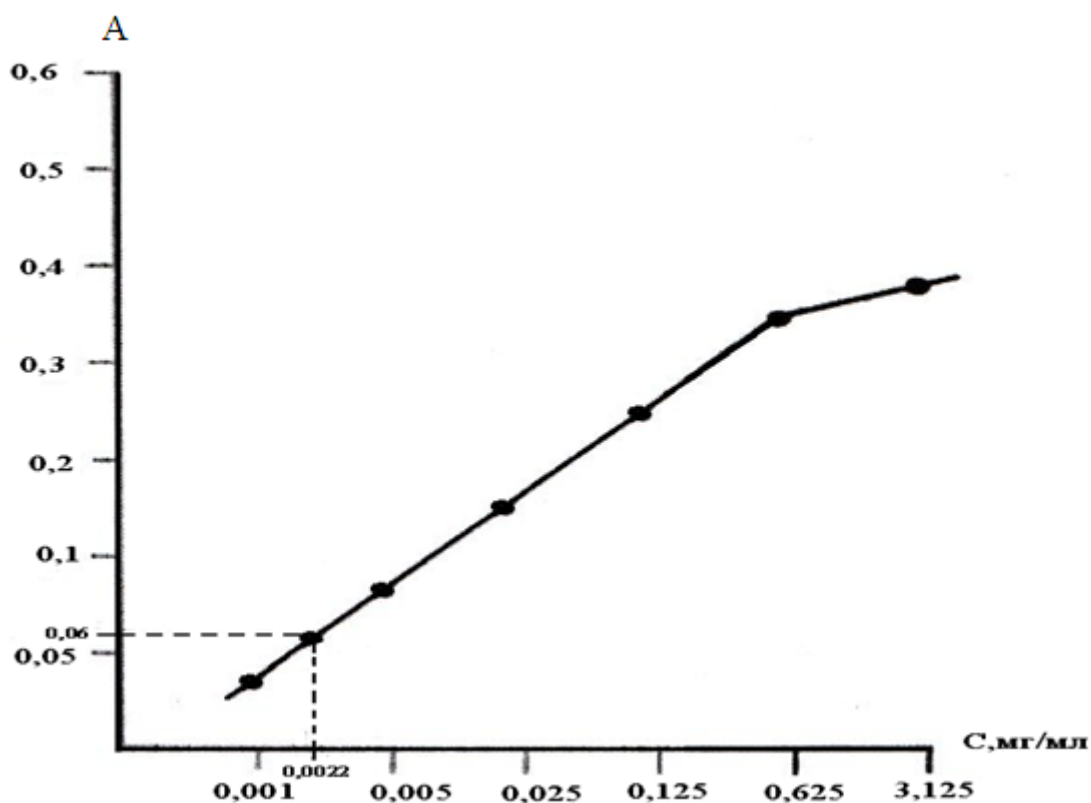


Рис. 2. Калибровочная кривая, построенная на основе концентрации глицина, для определения содержания аминокислот в мумиё.

## II. 16. ЭКСТРАКЦИЯ ГОРМОНА ТЕСТОСТЕРОНА ИЗ МУМИЁ

40мг органического экстракта мумиё, полученного по методике (II.1), пропустили через колонку, наполненную целлюлозой, и продукт элюировали смесью метанол-вода (98:2); получили 3-фракции. Все фракции были проверены на присутствие гормона тестостерона с помощью спиртового раствора м-динитробензола, дающего ярко-пурпурную окраску. Только фракция (1) дала соответствующую окраску на содержание тестостерона. Фракцию (1) упарили и получили 16мг маслообразного продукта. Содержимое перенесли на полоску хроматографической бумаги в виде линии и хроматографировали в системе хлороформ-метанол-вода (100:40:7). Небольшую полоску из этой хроматограммы вырезали ножницами, высушили и проявили раствором м-динитробензола. Проявилось пурпурно окрашенное пятно с  $R_f$  0.55. Из

непроявленной полоски данной хроматограммы вырезали поперечную линию, соответствующую окрашенной линии проявленной полоски, содержащей тестостерон и ножницами размельчили на маленькие куски, перенесли в пробирку и залили этанолом. Время от времени пробирку встряхивали, затем спиртовой элюат упарили и получили 2мг (0,5%) прозрачной массы полукристаллического продукта. Повторяя данный опыт несколько раз, получили достаточное количество продукта для дальнейшего исследования. После высушивания в вакууме обработкой абс. эфиром, маслообразный продукт оставили в холодильнике на некоторое время. Продукт постепенно закристаллизовался. Отдельные кристаллы плавил на аппарате Боитуса, т.пл. 150-152<sup>0</sup>С. (лит. 150-152<sup>0</sup>С). Чтобы убедиться окончательно, часть полученного вещества смешали с пропионовым ангидридом (микросинтез) при 100-110<sup>0</sup>С, с последующей перекристаллизацией из метанола. Получили тестостеронпропионат – кремнево - сероватый кристаллический продукт с т.пл. 162-164<sup>0</sup>С.

### III. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

#### III. 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МУМИЁ

Первичное мумиё, темно - коричневое, янтарное или вино - жёлтое, канифольноподобное, молекулярно - дисперсное, пластичное, клейкое вещество, иногда хрупкое. Оно даёт стекловато - раковистый излом с многочисленными остроугольными просвечивающими мелкими обломками, с характерным ярким восковым или смоляным блеском.

Под оптическим прибором при многократном увеличении можно увидеть игольчатые кристаллы. Удельный вес мумиё колеблется от 1.8 до 2.2. На морозе при  $-20^{\circ}\text{C}$  не замерзает, сохраняя летучесть и пластичность. Плавится в интервале  $80-200^{\circ}\text{C}$  (с разложением), при  $150 - 200^{\circ}\text{C}$  выделяет пары воды и углекислый газ. При  $350 - 400^{\circ}\text{C}$  начинается полный распад, и идут сложные химические превращения. На открытом пламени мумиё сгорает без копоти, оставляя тёмно сероватую золу. При длительном хранении мумиё твердеет из-за потери воды. Мумиё неплохо растворяется в воде в соотношениях 1:7, 1:9; значительно хуже в этиловом спирте (1:70), в эфире (1:7000), метаноле (1:60), плохо в хлороформе. Растворимость увеличивается в смеси этанол-вода, метанол-вода, в смеси органических растворителей. Водный раствор коричневатого цвета, при стоянии постепенно темнеет. На вкус горьковатый, запах особо специфический, придающий частично запах навоза. pH свежеприготовленного водного раствора колеблется от 6.7 до 7.0. Постоявший подобный раствор имеет pH 8.

В результате химического и спектрального анализов было установлено, что в составе мумиё присутствуют 20 микроэлементов: Si, Al, Ca, Na, K, Fe, Mg, P, Ba, S, Be, Mn, V, Ti, Ag, Cu, Zn, Bi, Co, Sr, Sn, Cr, Ga, Mo и т.д. Из оксидов металлов: двуокись кремния, фосфорный ангидрид,

оксиды алюминия, железа, титана, кальция, свинца, магния, бария, марганца, калия, натрия и оксид стронция.

Если говорить об органической составляющей части, мумиё представляет собой комплекс соединений с различными простыми и сложными соединениями, включающие в себя такие функции как гидроксильная, карбонильная, карбоксильная, аминая, двойные связи и т.д., группы, относящиеся к предельным, непредельным, ароматическим и гетероциклическим соединениям.

На самом деле, мумиё, по меньшей мере, содержит влагу, минеральную часть, аминокислоты, органические кислоты, белки, липиды, углеводы, клетчатку, восковое вещество, алкалоиды и многие другие соединения. Изучая все опубликованные материалы относительно физико-химического исследования состава мумиё, мы пришли к выводу, что неорганический и минеральный состав мумиё изучен достаточно и подробно. Что касается его органического состава, то он изучен поверхностно и имеется недостаточно достоверных результатов по содержанию и изучению ряда органических компонентов, таких как: белки, липиды, углеводы, органические кислоты, стероиды, фосфолипиды, аминокислоты и др. Однако, много ещё неизученных компонентов, среди которых бальзамические вещества, эфирные масла, стероиды, полифенолы и витамины, которые являются биологически активными соединениями. Наше исследование было направлено на выделение отдельных органических соединений и изучение этой части мумиё[84,85,86,87].

### **III. 2. ЭКСТРАКЦИЯ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ МУМИЁ**

Для экстракции органических компонентов из водного экстракта мумиё использовали полярные и неполярные гомогенные и гетерогенные растворители со следующими соотношениями: петролейный эфир + бензол

+ метанол (90:10:30), дистиллированная вода + метанол(1:1), дистиллированная вода + этанол (1:1), метанол + вода (98:2), этанол + метанол (1:1), хлороформ +гептан (1:4). Следует отметить, что из всех вышеприведённых экстрагентов наилучшими для мумиё оказались смесь метанол + вода (98:2) и этанол + вода (98:2), а также метанол + этанол (1:1).

Для исследования экстрактов мумиё мы использовали жидкостную, адсорбционную, распределительную и ситевую хроматографию. В первую очередь, использовали бумажную, тонкослойную и колоночную хроматографию. Бумажную хроматографию проводили на хроматографической бумаге (матовая) Марки «М» (filtrak), производства Германии. Тонкослойную хроматографию проводили на готовых пластинках SilufolUV-254 (Чехословакия), колоночную хроматографию проводили на стеклянных колонках (30x1 см и 49x2 см) с использованием сорбентов и сефадексов. Проявителями хроматограммы являются растворы нингидрина, бензидина, пары йода, йодистый калий и хлористый палладий.

Нингидриновый раствор готовили в ацетоне или этаноле от 0.5 до 0.75%. Бензидиновый проявитель готовили в 2% уксусной кислоте. Хромато-грамму насыщали в камере газообразным хлором, вынимая из камеры, проветривали, а затем смачивали раствором бензидина. Камеру с порошкообразным йодом готовили путём растворения кристаллического йода в эфире. Раствор хлорида палладия готовили, растворив 0.5 г  $\text{PdCl}_2$  в 50 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и 50 мл ацетона, и к раствору добавляли 2 капли конц.  $\text{HCl}$ .

Из природного сырья мумиё экстракцией (водой) получали водорастворимый мумиё, который представляет собой гигроскопический порошок тёмно-коричневого цвета. Из этого полученного водного экстракта криогенным способом, и тщательно высушив в вакууме, получили чистый мумиё с 30%-ным выходом. Отсюда взяли определённое количество экстракта, обработали экстракционной системой из

петролейного эфира + бензола + метанола (90:10:30), настаивая в течение суток с периодическим перемешиванием и один час постоянного перемешивания. После фильтрования, фильтрат промыли водой, высушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали в вакууме; получили сухой экстракт из органических компонентов с 27 % - ным выходом.

Подобное экстрагирование проводили с этанолом, при этом раствор имел тёмно-коричневый цвет. Выход экстракта составлял 24 % от сухой массы мумиё, взятого для экстрагирования. Точно такой же результат получили при экстрагировании мумиё метанолом. В отличие от этанола метанол оказался лучшим экстрагентом при одинаковых условиях. Метанольный экстракт получился с 30 % - ным выходом.

Экстрагирование мумиё смесью метанол + вода (98:2), которое проводили отстаиванием в течение 24 ч, дало сухой экстракт с выходом 37 %.

Лучший результат при экстрагировании мумиё смесью метанол +  $\text{H}_2\text{O}$  (98:2) получили при 4-х кратном увеличении объёма растворителя и постоянном перемешивании в течение 3-х часов. При таком экстрагировании из 2-х граммов мумиё получили 1.26 г экстракта в сухом виде, выход которого составил около 50%.

Из всех приведённых экстрагентов наиболее лучшим экстрагентом оказалась смесь метанол + вода (98:2) т.к. во всех случаях выход экстракта количественно больше. Полученный экстракт из вышеприведённой экстракционной системы петролейный эфир + бензол + метанол (90:10:30) (небольшое количество) пропустили через колонку (30x1 см), наполненную слоями  $\text{CaCO}_3$ , сахарозы и  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , залитыми смесью петролейного эфира+ бензола (4:1). Между слоями адсорбентов поместили кружочки фильтровальной бумаги. Органические компоненты экстракта мумиё элюировали данным элюентом в 30-и пробирках по 5 мл со скоростью одна капля в 4 сек. После расхода 120 мл элюента (выхода элюата из



колонки) осторожно отделили носители друг от друга, перенесли в отдельные конические колбочки и каждую в отдельности обработали смесью, состоящей из эфира + н. бутанола (68:1.68) для извлечения адсорбированных реагентов. Затем эфир упаривали, оставшийся элюат - н. бутанол - использовали для снятия спектра в УФ области поглощения 200-400нм на спектрофотометре «Хитачи - 332».

Элюат из слоя  $Al_2O_3$  показал спектры поглощения, имеющие чёткие максимумы поглощения в УФ - области 336, 298, 259, 250 нм. Элюат из сахарозного слоя показал спектры с максимумами поглощения в области 277, 220, 303, 274, 269, 224, 208 нм. Элюат из слоя  $CaCO_3$  не показал никаких спектров.

Параллельно этанольный экстракт (160 мг) растворили в хлороформе, нерастворившуюся часть отделили, хлороформную вытяжку пропустили через колонку (350x2мм), наполненную силикагелем марки 100/160 и элюировали хлороформом в 40 пробирках, Хлороформные элюаты спектрофотометрировали при длине волны 530 нм на спектрофотометре СФ-26. Определили оптическую плотность, получили две фракции, упаривая которые, выделили по 16 и 11.5 мг вещества, соответственно. Параллельно (85 мг) этанольного экстракта пропустили через такую же колонку, но в качестве элюента использовали этанол. Элюат собирали в 40 пробирок, определили их оптическую плотность при длине волны 280 нм, и сгруппировали пробирки с элюатами; получили 3-фракции (пробирки 1-16, 17-20, 27-40). После концентрирования фракций получили 20 мг, 40 мг и 20 мг вещества, соответственно. Приготовили этанольный раствор с 0,0035 мг/мл этих фракций и сняли спектры поглощения в УФ- и видимой области (500-200 нм) на приборе СФ-332, «Хитачи». Были получены следующие результаты: в I-фракции выявляются максимумы поглощения в области 350, 270, 200 нм; во II- фракции- 270, 250, 200 нм, в III - фракции - 325 и 201 нм.

Сопоставляя результаты двух экстракционных и спектральных анализов, мы ещё раз убедились в том, что во всех фракциях исследованное вещество будет иметь дело в основном с органическими компонентами. Данные спектры относятся к хромофорам - полиенам, функциональным группам, свободным спаренным p-электронам, которые относятся к сложным ароматическим и гетероциклическим соединениям с несколькими двойными связями, и хромофорам - аминам, имино, гидроксильной, карбонильной и др. функциональным группам.

### **III.3. СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ЭКСТРАКТА МУМИЁ**

Для установления предполагаемых биологически активных органических компонентов, присутствующих в мумиё, проводили проверочно-контрольные качественный и спектральный анализы спиртового экстракта мумиё. На бумажную хроматограмму нанесли в виде двух точек водный концентрированный раствор мумиё, хроматографировали в системе метанол+вода (98:2), высота хроматографической бумаги составляла 55 см, время хроматографирования 18 ч. После проявления хроматограммы ацетоновым раствором нингидрина и бензидина чёткое разделение вещества на полоске бумаги в виде пятен не было обнаружено, хотя опыт проводился неоднократно. Во всех случаях получали измазанные и прерывистые полосы вдоль хроматографической бумаги без чёткого разделения веществ. Пришлось подобрать более плотную хроматографическую бумагу FN - 14 (Германия). Этим путём достигли четкого разделения нингидринчувствительных компонентов. На рисунке 3 приводится зона хроматографических веществ экстракта мумиё в системе метанол + вода (98:2), с использованием раствора нингидрина в качестве проявителя для обнаружения на полоске хроматограммы компонентов. Все окрашенные пятна на хроматограмме отличаются по яркости и оттенкам

окраски, а также по значениям  $R_f$  (коэффициента распределения), которые равны:  $R_{f1}$  0.12;  $R_{f2}$  0.25;  $R_{f3}$  0.44;  $R_{f4}$  0.54;  $R_{f5}$  0.61;  $R_{f6}$  0.74;  $R_{f7}$  0.80;

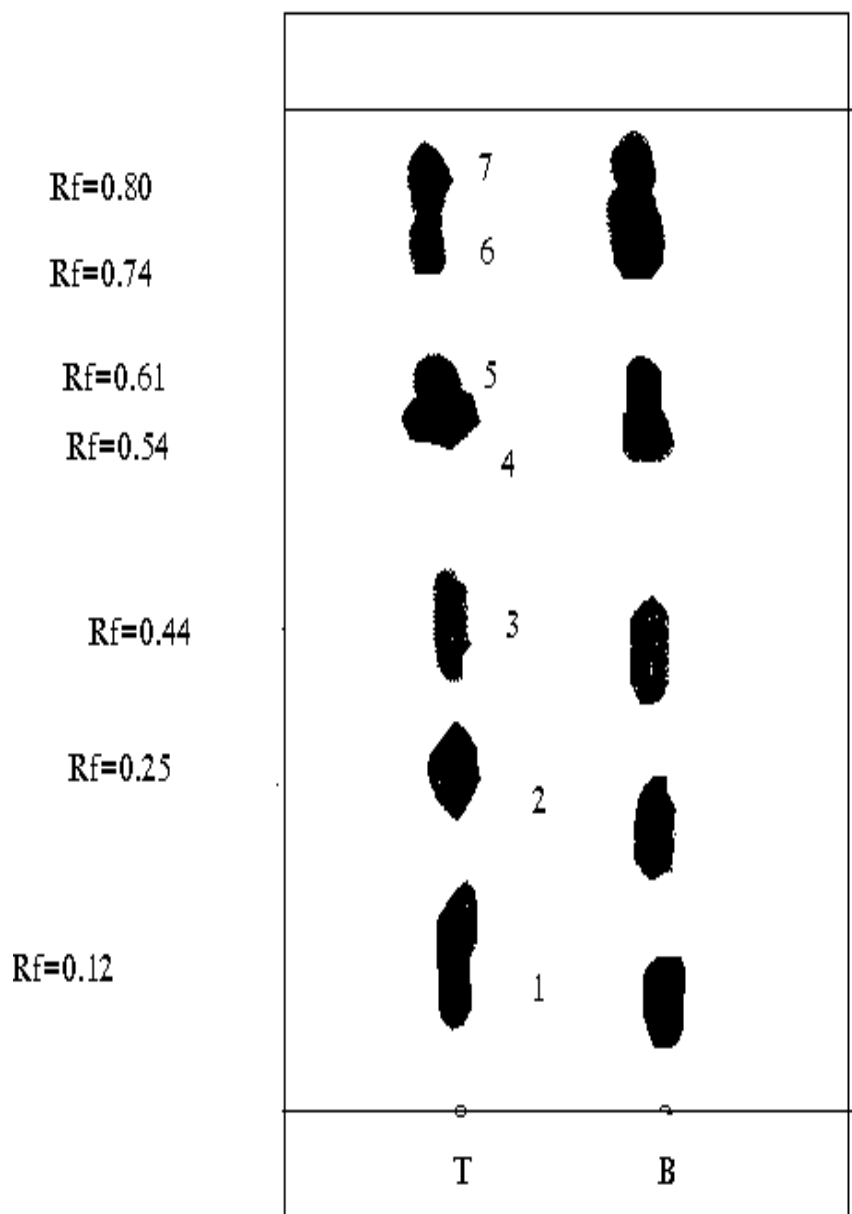


Рис 3. Зона хроматографических веществ экстракта мумиё

Повторяя опыт, вырезали отдельную полоску с одной стороны (левой) хроматограммы, высушили и проявили раствором нингидрина и бензидина. После обнаружения веществ в виде окрашенных пятен на полоске хроматограммы, её расположили рядом с непроявленной частью

хроматограммы в первоначальном положении. Проводя соответствующую линию по величине пятен, хроматограмму разрезали поперёк полоски и измельчили ножницами на мелкие куски и поместили в семь пробирок с притёртыми пробками, отдельно для каждого пятна. Одновременно вырезали участок хроматограммы, не содержащий вещество, примерно того же размера, как окрашенные зоны, измельчили и тоже поместили в пробирку для сравнения. Во все пробирки, включая контрольную, налили по 4 мл метанола и оставили на сутки для декантации продуктов, встряхивая периодически. Элюаты из каждой пробирки спектрофотометрировали в кюветах длиной 1 см относительно элюата последней пробирки (содержащего чистые измельченные хроматографические бумаги) на автоматическом приборе «Хитачи», СФ - 330 в диапазоне волн 200-400нм. Характер спектральных кривых для исследуемых элюатов заключается в ярко выраженных максимумах, и интенсивность полосы связана с присутствием разных хромофоров в молекулах органических соединений, что способствует батохромному сдвигу максимума в сторону более длинных волн. Например, вещество, элюированное из пятна с  $R_{f1}=0.12$  (1), имело интенсивные полосы поглощения в области 320, 302, 270, 248 нм, соответствующие полосам поглощения эталона витамина В<sub>12</sub>, использованного для сравнения (361, 322, 305, 278, 243 нм). Вещество, содержащееся в пятне с  $R_{f5} 0.62$  (5), соответствовало аминазину, имеющему полосы поглощения в области 303, 270, 261 нм. Для сравнения сняли УФ - спектр аминазина-эталона, полосы поглощения которого расположены в области 306 и 250 нм. Общие данные по спектрам поглощения компонентов, элюированных из хроматографических пятен, приведены в таблице 10.

Таблица 10

Спектры поглощения нингидринчувствительных компонентов  
элюированных из хроматографических пятен

Хроматографические элюаты	$\lambda$ max (нм)	Вещество, взятое в качестве сравнения (эталон)	$\lambda$ max - (нм)	Растворитель
Вещество, элюированное смесью метанол + вода (98:2), из хроматографического пятна (1) с $R_{f1}=0.12$	320 302 270 248	Витамин В <sub>12</sub>	361 322 305 278 243	метанол + вода (98:2)
Вещество, элюированное смесью метанол + вода (98:2), из хроматографического пятна (2) с $R_{f2}=0.24$	326 308 286 255	Гормон Тестостерон	322 305 286 250	метанол + вода (98:2)
Вещество, элюированное смесью метанол + вода (98:2), из хроматографического пятна (4) с $R_{f4}=0.54$	340 303 286 360 236	Витамин D <sub>2</sub> , кальциферол	346 310 286 350 240	метанол + вода (98:2)
Вещество, элюированное смесью метанол + вода (98:2), из хроматографического пятна (5) с $R_{f5}=0.62$	306 270 255	Аминазин	306 275 256	метанол + вода (98:2)
Вещество, элюированное смесью метанол + вода (98:2), из хроматографического пятна (6) с $R_{f6}=0.74$	640 584 408 272	Этиопорфин	625 585 410 274	метанол + вода (98:2)
Метанольный элюат хроматографической бумаги	462 (небольшая полоса)			метанол + вода (98:2)

### **III. 4. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА СТЕРОИДЫ И СЕРОСО- ДЕРЖАЩИЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ МУМИЁ**

Таким образом, спектрофотометрическое исследование спиртового экстракта мумиё информирует нас о присутствии трёх основных групп: органических компонентов - стероидов, порфиринов и серосодержащих соединений.

а). Качественные реакции на серосодержащие соединения к йодазидному раствору, (йод, азид натрия,  $H_2O$ ) прибавляют водный раствор экстракта мумиё, появляется синий цвет. По истечению времени наблюдается обесцвечивание, а на стенках пробирки собираются многочисленные пузырьки азота, которые свидетельствуют о присутствии в мумиё ароматических соединений, содержащих атом серы.

б). Качественные реакции на стероиды. Несколько капель исследуемого спиртового раствора экстракта мумиё (3 %) наносят на хроматографическую бумагу и обрабатывают раствором хлорида железа (2%) в метаноле. На хроматограмме появляются пятна с пурпурной окраской, свидетельствующие о присутствии стероидов (эстрогенные, класс стероидов).

### **IV. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ АЛИФАТИ- ЧЕСКИХ, АРОМАТИЧЕСКИХ И ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

Нами проведены ряд химических и физико-химических исследований по извлечению и идентификации отдельных биологически активных компонентов органической части мумиё.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в мумиё обнаружили 18 органических компонентов, большинство из

которых находятся в очень низкой концентрации, количественное выделение которых обычными методами было невозможно.

Наше внимание было направлено в основном на присутствие и извлечение аминазина, витаминов, порфиринов и свободных аминокислот из мумиё, которые играют ключевую роль в его физиологической активности.

#### **IV.1.ВЫДЕЛЕНИЕ 2-ХЛОР-10-(3-ДИМЕТИЛАМИНОПРОПИЛ)-ФЕНОТИАЗИНА (АМИНАЗИНА) ИЗ МУМИЁ И ЕГО ИССЛЕДОВАНИЕ**

На две полоски хроматографической бумаги нанесли в виде точек метанольный раствор экстракта мумиё. Рядом с точками нанесли также контрольный раствор аминазина (эталон) такой же концентрации для сравнения. После 18-часового хроматографирования и проявления для обнаружения 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина(аминазина) хроматограмму обработали растворами нингидрина и  $\text{PdCl}_2$ , и только пятно с  $R_f$  0.62 и расположенное рядом контрольное пятно аминазина (эталона) окрасились в вишневый цвет (рис. 4. А, Б).

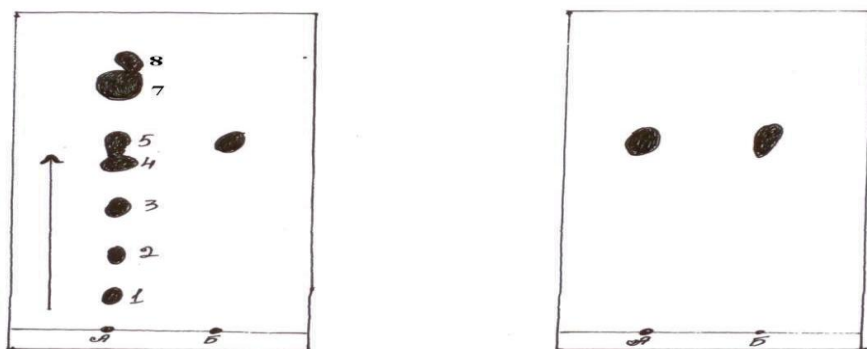


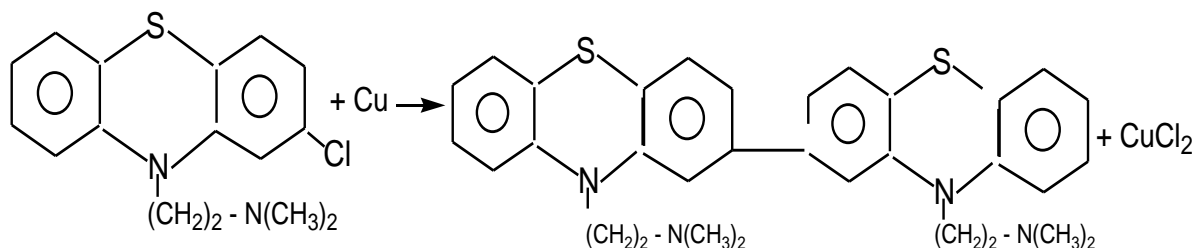
рис.4. (а)

(б)

(а) Бумажные хроматограммы метанольного экстракта мумиё (А) и аминазина эталона (Б) в системе метанол-вода (98:2), проявитель раствор нингидрина.

(б) Бумажная хроматограмма метанольного экстракта мумиё (А) и аминазина эталона (Б) в системе метанол-вода (98:2), проявитель раствор  $\text{PdCl}_2$ .

Для подтверждения данного факта использовали реакцию Ульмана[83], действуя параллельно на метанольные растворы экстракта мумиё и аминазина (эталона) порошкообразной медью. В обоих случаях при выдержке растворы окрашивались одинаково в зелёный цвет за счёт образовавшейся хлористой меди, наряду с димерным продуктом. Ниже приведена общая схема реакции по Ульману:



При хроматографировании метанольного экстракта мумиё на колонке, заполненной сефадексом LH-20, получили три фракции- фр 1 (50 мл), фр 2 (60 мл) и фр 3 (60 мл) (рис 5.)

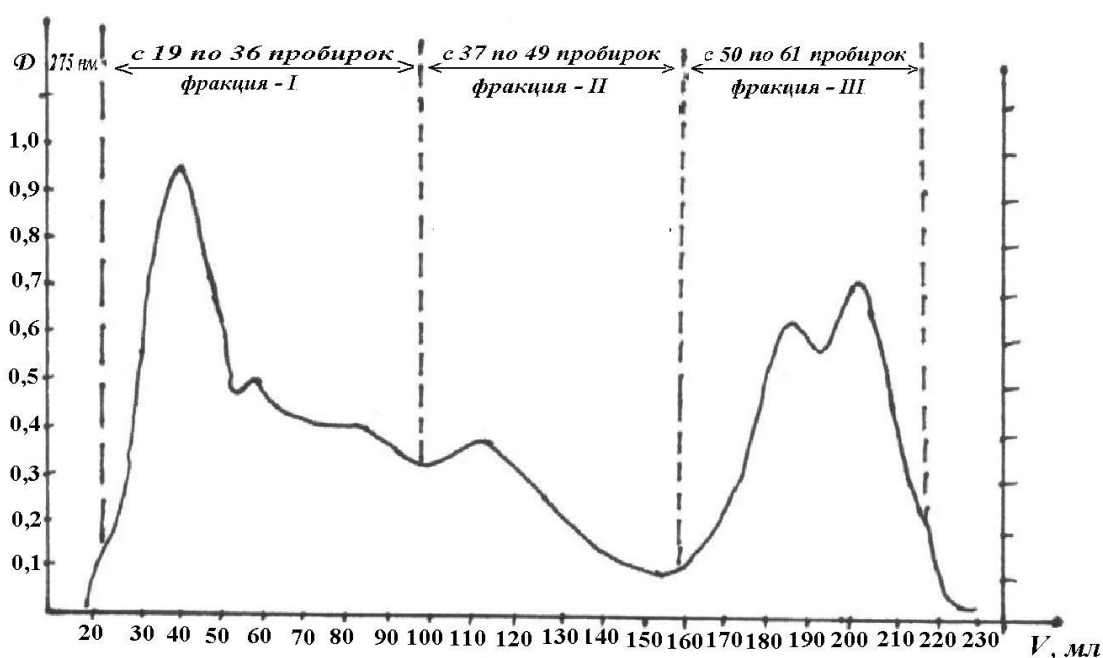


Рис 5. Кривые элюции метанольного экстракта мумиё на колонке с сефадексом LH-20 (25-100 мкм) в смеси-метанол:вода (98:2). Скорость элюции 30 капель/мин.



Аминазин обнаружили во фракции 1 с помощью цветных реакций, используя растворы  $\text{PdCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{HNO}_3$  и  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . С помощью ТСХ-анализа на пластинке SilufolUV-254 в системе метанол-уксусная кислота-вода (95:3:2) установили, что фракция 1 состоит из трёх разных компонентов, включая аминазин с  $R_f$  0.91.

Для разделения фр-1 на отдельные компоненты использовали повторное расфракционирование, результаты которого приведены на рисунке 6. Анализ с помощью спектрофотометрии показал, что аминазин ( $\lambda = 306$  нм) находится во фракции 1-2 (рис. 6), выход которого составил 63% от вводимого количества.

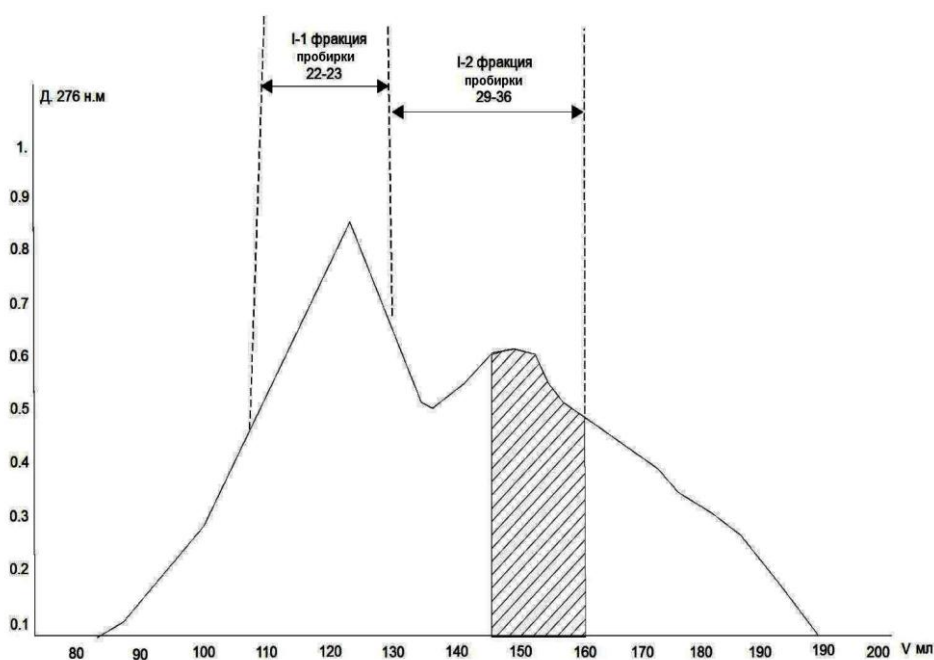


Рис 6. Отделение фракции-1, содержащей аминазин, от других компонентов методом распределительной хроматографии на колонке с сефадексом LH-20, 20-100  $\mu$  (размер колонки 26x400 мм, загрузка 22 мг, элюент метанол + $\text{H}_2\text{O}$  (98:2), скорость потока 10 капель/40 сек). Заштрихованная часть относится к аминазину.

Так как кривая на хроматограмме имела пологую форму, свидетельствующую о наличии ещё дополнительного компонента во фракции, пришлось для уточнения использовать ТСХ-анализ. В результате выяснили, что фракция 1-2 на самом деле состоит из двух компонентов, включая аминазин. И, наконец, фракционирование в последний раз позволило окончательно выделить аминазин из состава мумиё (рисунок 7).

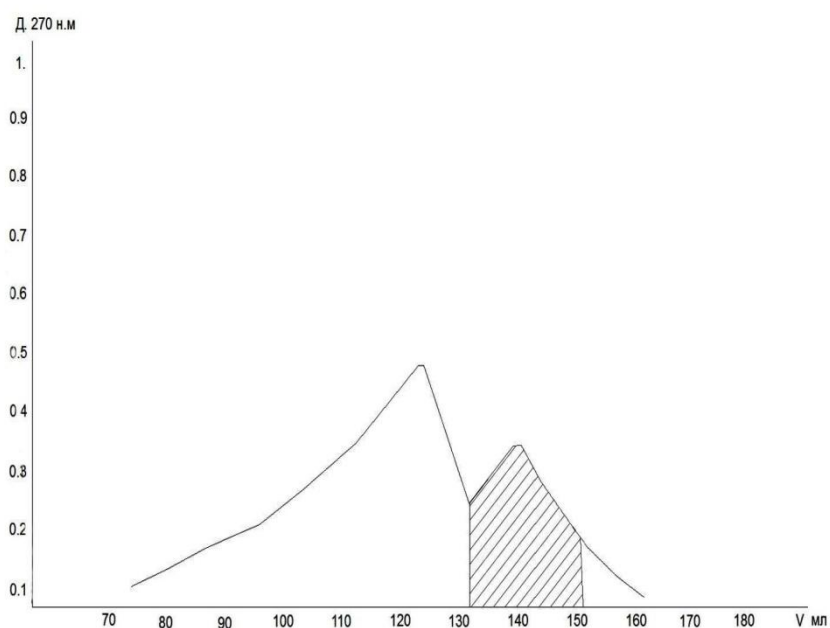


Рис.7. Разделение аминазина из фракции 1-2 (рис. 6) на колонке (26x400мм) с сефадексом LH-20, 20-100  $\mu$ , (элюент метанол +H<sub>2</sub>O (98:2), скорость потока 10 капель/20 сек). Заштрихованная часть относится к аминазину.

Этим способом удалось выделить 3.2% аминазина из общего количества мумиё, взятого для опыта. Хлоргидрат выделенного аминазина имеет т.пл. 192-195<sup>0</sup>С (лит.т.пл. 194-198<sup>0</sup>С).

При сравнении кривых обращённо-фазовой ВЭЖХ выделенного аминазина из мумиё и эталона аминазина (рис 8), отмечена полная их идентичность. При снятии УФ-спектров выделенного аминазина и аминазина-эталона получены два идентичных спектра (в метаноле)  $\lambda_{max}$

310 нм (рис.9) Выход аминазина этим методом составлял 3.2% от общего количества мумиё взятого для анализа.

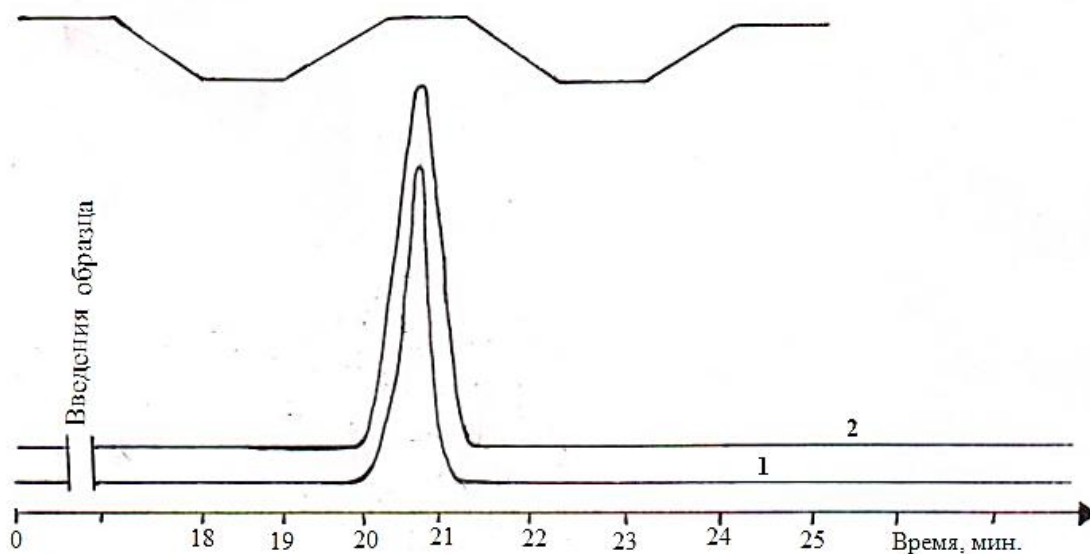


Рис 8. Аналитическая ВЭЖХ аминазина, выделенного из экстракта мумиё (1), и аминазина эталона (2) на колонке 5 мкм, 10x250 мм. Градиент концентрации метанола в 0.2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Скорость элюации 0.5 мл/мин. Скорость ленты 0.32 см/мин. Масса разделяемой пробы 0.005 мг.

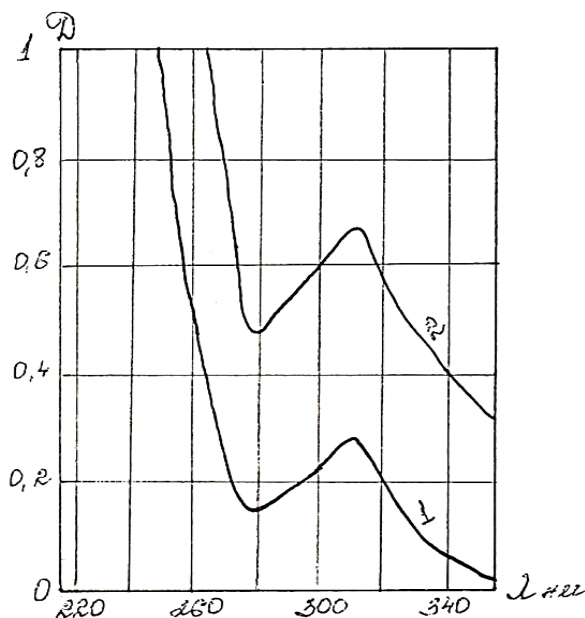


Рис 9. Кривые поглощения аминазина (I), выделенного из состава мумиё, и аминазина эталона (II). Спектр снят в метаноле, кювета с толщиной слоя в 1см.

## IV.2.ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИАЗИНА В МУМИЁ ВИЗУАЛЬНЫМ И ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ ТИТРОВАНИЯ

Нами разработаны также титрометрический и потенциометрический способы количественного определения амиази́на в мумиё.

Аналитическое количество метанольной или этанольной фракции мумиё в среде уксусной кислоты в присутствии ацетата окисной ртути (II) титровали раствором хлорной кислоты. Содержание 2-хлор-10-(3-диметил-аминопропил)-фенотиазина (амиази́на) вычисляли по усовершенствованной нами формуле:

$$(A), \quad m = \frac{N \cdot V \cdot (E_x \cdot a)}{1000}$$

где  $m$ -масса амиази́на в анализируемом экстракте, мг;

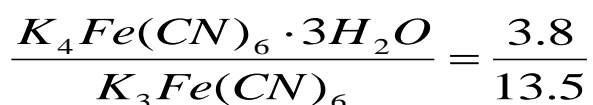
$N$ -нормальная концентрация стандартного раствора (титранта)  $\text{HClO}_4$ ;

$V$ -объём раствора  $\text{HClO}_4$ , израсходованного на титрование анализируемого вещества, мл;

$E_x$ -эквивалентная масса амиази́на, г;  $a$ -коэффициент пересчёта, равный отношению эквивалентной массы хлора к эквивалентной массе амиази́на, где  $a=0.1$ . Точность определения  $\pm 0.5$  %.

Точку эквивалентности устанавливали визуально и потенциометрически.

При потенциометрическом титровании использовали платиновый электрод в паре с хлорсеребряным электродом. Для проверки рН-метра (потенциометра) при измерении  $E$  использовали свежеприготовленный раствор состава:



Э.Д.С. электродов при  $+25^\circ\text{C}$  составляла  $275 \pm 20$  мВ.

Количество аминазина определяли по формуле (А). Результаты потенциометрического титрования приведены в таблице 11. Кривая потенциометрического титрования (рис. 10.) имеет S-образную форму, характеризующуюся резким скачком титрования, соответствующим нейтрализации аминазина.

Таблица 11

**Результаты потенциометрического титрования раствора 2-хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина (аминазина) 0.1 н. HClO<sub>4</sub>**

Объём титранта, мл (V)	Значение ОБ потенциала E, мВ	Изменение значения E потенциала $\frac{\Delta E}{\Delta V}$ (мВ)
0.05	+475	-
0.1	+452	23
0.2	+495	43
0.3	+674	179
0.4	+697	23
0.5	+705	8
0.6	+709	10
0.7	+708	1
0.8	+704	4
0.9	+703	1
1.0	+703	0

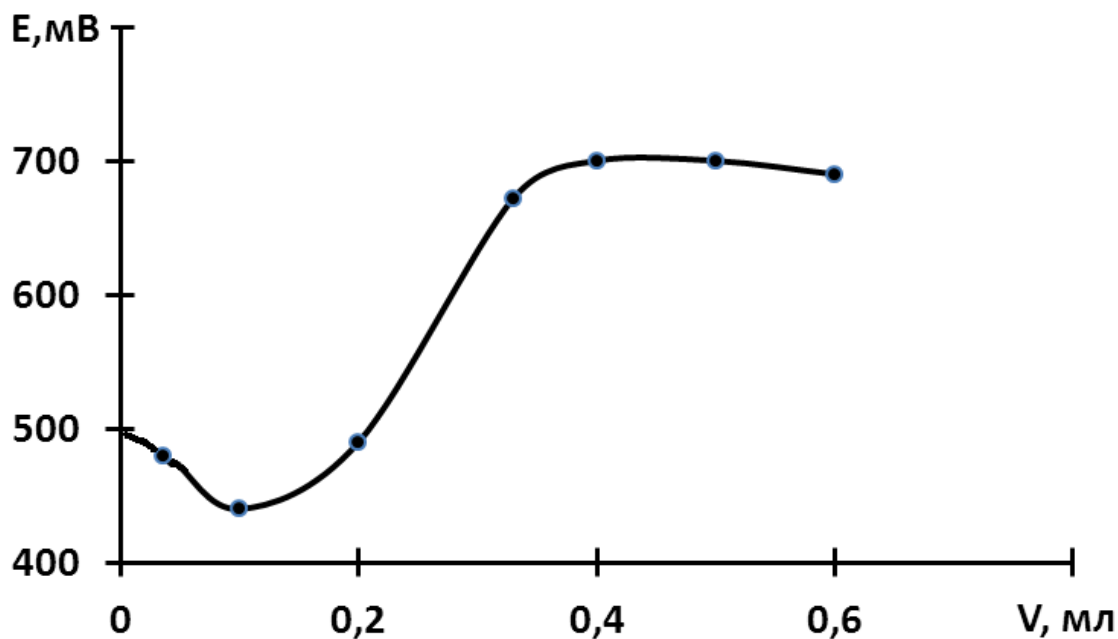
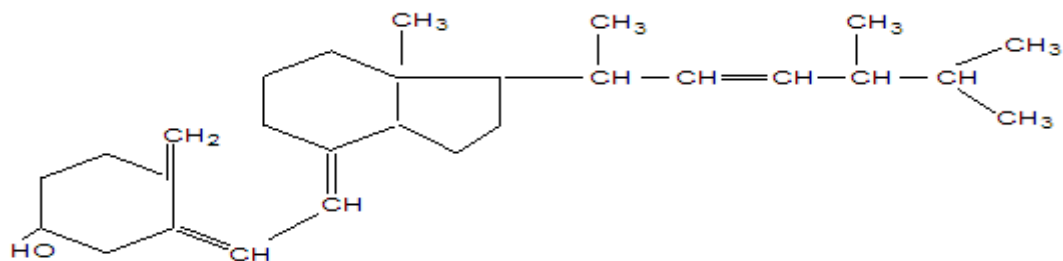


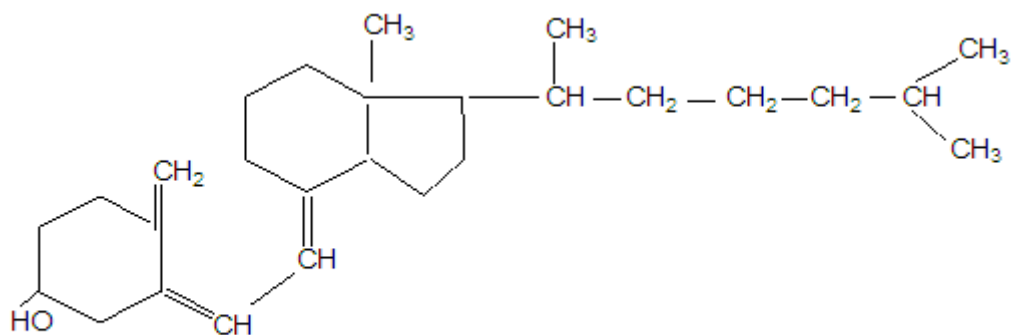
Рис 10. Кривая потенциметрического титрования аминазина в метанольном экстракте мумиё в среде ацетата окисной ртути (II).  
 Было вычислено, что в 1 г мумиё содержится 0.039 г аминазина (3.94%).  
 Эталонном для сравнения служил аминазин.

#### IV. 3. ВЫДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА D ИЗ ЭКСТРАКТА МУМИЁ И ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Кальциферолы - это группа витамина D (антирахитный витамин), которая существует в виде изомеров D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> (наиболее распространённые), D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>, D<sub>6</sub> (наименее распространённые):



Структура витамина D<sub>2</sub> (эргокальциферол)



Структура витамина D<sub>3</sub> (холекальциферол)

Таблица 12

**Физико-химические параметры витаминов D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>:**

	Витамин D <sub>2</sub>	Витамин D <sub>3</sub>
Температура плавления	115-118 <sup>0</sup> С	84-88 <sup>0</sup> С
Уф-максимум, нм	265	265
[d] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (спирта)	103-106 <sup>0</sup>	105-112 <sup>0</sup>

Основная функция витамина D<sub>3</sub> - регуляция транспорта кальция и фосфатов в клетках слизистой оболочки тонкого кишечника и костной ткани. Из кишечника витамин D<sub>3</sub> поступает в печень и при участии специфических ферментов-гидроксил превращается в метаболит 25-ОН D<sub>3</sub>, переносимый током крови в почки. Здесь происходит его дальнейшее превращение в метаболит 25-ОН D<sub>2</sub>, который способствует усиленной реабсорбции фосфатов. В почечных каналах образуется фосфорно-кальциевая соль, которая оттоком крови переносится в костную ткань, где используется её минерализация. Рыбий жир, сливочное масло, желток яйца, печень животных, молоко-источники витамина D для человека.

Химическое строение витаминов группы D было выявлено в 1935-1936 гг. Правильность строения витамина D<sub>3</sub> подтверждена в 1958-1959 гг. (Инхоффен) путём полного синтеза этого витамина.

Наш интерес к изучению химического состава мумиё был вызван тем, что в течение десятилетий разными исследователями, в том числе,

медиками, биохимиками и химиками, был изучен широкий спектр физиологической активности этого природного бальзама. Примером может служить предписание ему многих целебных свойств, среди которых можно привести использование мумиё для ускорения заживления костей после переломов и предотвращения нарушения фосфорнокальциевого обмена.

Среди многочисленных исследований по мумиё особое место занимают работы профессора Шакирова А.Ш., по D-витаминной активности мумиё.

Исходя из этого, мы решили определить и извлечь витамин D<sub>3</sub> из мумиё. После проведения ряда экспериментальных опытов разными методами удалось разработать схему химической обработки мумиё для определения в нём содержания витамина D<sub>3</sub> (холекальциферола). Это мы сделали, используя качественные реакции на присутствие витамина D в мумиё. Для этого в сухую пробирку налили спиртовой раствор экстракта мумиё и добавили раствор брома в хлороформе (1:60). Раствор принял зелёновато-голубую окраску, свидетельствующую о наличии в растворе витамина D. Обработка опрыскиванием хроматограммы этанольного экстракта мумиё хлороформным раствором пентахлорида сурьмы даёт коричнево-синюю окраску, характерную витаминам группы D. Для сравнения в качестве эталона взяли витамин D<sub>2</sub>, который показал идентичные свойства.

Так как мумиё считается самой многокомпонентной системой, в состав которого входит около 50 разных микроэлементов и соединений, разделение электрофоретическими методами (колоночной хроматографией) не привело к успеху. Отдельные типовые сгруппированные соединения не отделились друг от друга при использовании этих методов.

Исходя из этого, мы пришли к выводу, что в мумиё витамин D<sub>3</sub> связан с фосфолипидами, белками, аминокислотами и другими азотистыми основаниями в виде прочного конгломератного комплекса, который



необходимо было разрушать действием ацетилхлорида, как ацилирующего реагента для связывания высокомолекулярных белковых компонентов и нуклеофилсодержащих групп (аминокислот, фенолов).

Витамин D<sub>3</sub> в мумиё связывали с хлоридом сурьмы (III) для образования окрашенного продукта, необходимого для определения оптической плотности раствора, служащей мерой для уточнения количества витамина D<sub>3</sub>. Калибровочную кривую строили, откладывая значения оптической плотности (A) растворов при 260 нм по оси ординат и значения 2:1:0.5:0.25 и 0.0025 концентрации витамина D<sub>2</sub> по оси абсциссы (рис 1, стр. 58).

Данный способ хорош тем, что способствует определению количества присутствующих витаминов группы D в исследуемом объекте. Однако, нас интересовало выделение конкретного витамина D<sub>3</sub>, который больше всего имеется в мумиё. Мумиё считается самой многокомпонентной системой. Большая часть компонентов мумиё относится к органическим сложным веществам, и из-за сложной конгломератной агрегации выделение отдельного компонента из этого комплекса путём экстракции, осаждения, колоночной хроматографии не дало результатов. Исходя из этого, мы пришли к выводу, что в мумиё витамины D связаны с фосфолипидами, белками, аминокислотами и другими азотосодержащими соединениями в виде прочного комплекса, требующего расчленения. Осуществить разделение удалось путём растворения мумиё в одномолярном растворе NaHCO<sub>3</sub> и путём действия сильного ацилирующего реагента C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OCOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (бензилового эфира хлоругольной кислоты), как блокирующего реагента азотосодержащих функциональных групп в условиях Шотен-Баумана (pH 8-10). После подкисления свободного раствора мумиё бн HCl выпавшее масло экстрагировали хлороформом, и после упаривания растворителя, образовался маслообразный остаток. Хроматографирование данного продукта на

силуфольной пластинке и опрыскивание хроматограммы раствором пентахлорида сурьмы дало одно характерное пятно коричнево-синей окраски с  $R_f$  0.84, характерным витамину группы D. Эталонном для сравнения служил витамин  $D_2$ .

Затем, полученное масло подвергли возгонке в вакууме на специальном приборе, сконструированном нами (рис 11).

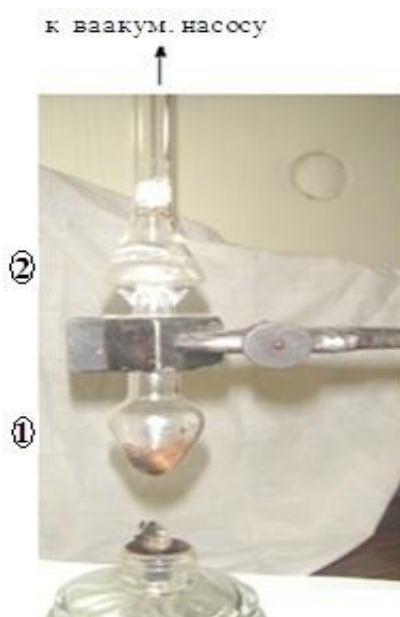


Рис. 11. Прибор для возгонки витамина  $D_3$ . Верхняя часть (2) охлаждается.

Витамин  $D_3$  из смеси возгоняется в виде белых тонких игольчатых кристаллов, которые оседают на стенках сосуда. Выход перегнанного витамина  $D_3$  составлял 2% от сухой массы мумиё, взятого для анализа.

Анализ выделенного витамина  $D_3$  проводили тонкослойной хроматографией на силуфоле UV-254,  $R_f$  0.84 (н. бутанол-уксусная кислота-вода) (4:1:1),  $R_f$  0.66 (пиридин-изоамиловый спирт, 1:1),  $R_f$  0.94 (метанол-вода, 98:2). Зоны вещества проявляли парами йода.

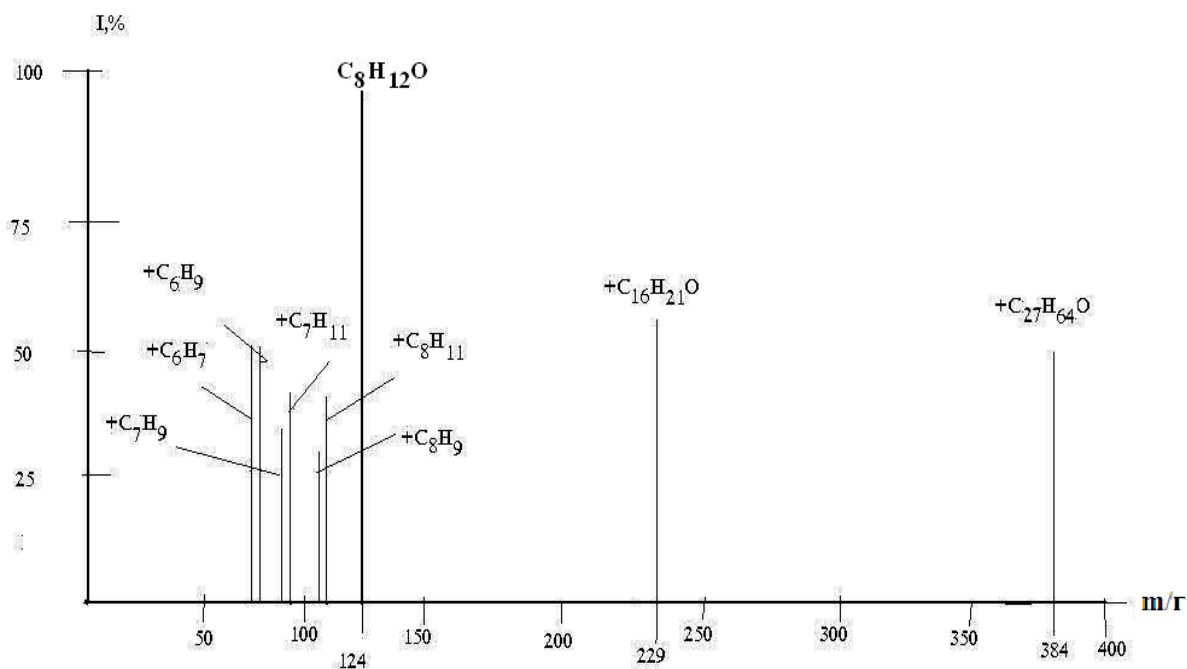


Рис 12. Масс-спектр холекальциферола (витамина D<sub>3</sub>). В масс-спектре обнаруживаются интенсивные пики ионов на 384 а.е.м., ( $M^+-C_{27}H_{44}O$ ), 229 ( $M^+-C_{16}H_{21}O$ ), 124 ( $M^+-C_8H_{12}O$ ), 107 ( $M^+-C_8H_{11}O$ ), 105 ( $M^+-C_8H_9O$ ), 95 ( $M^+-C_7H_{11}O$ ), 93 ( $M^+-C_7H_9O$ ), 81 ( $M^+-C_6H_9O$ ), 79 ( $M^+-C_6H_7O$ ) фрагменты с более высоким содержанием водорода похожи на серии ионов в полиенах.

#### IV.4. ИЗВЛЕЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ МУМИЁ

О присутствии свободных аминокислот в составе мумиё впервые высказались медики-исследователи Узбекистана во главе с известным учёным по исследованию лечебных свойств мумиё Шакировым А.Ш., а также таджикские ученые из института химии АН РТ под руководством академика К.Т. Порошина. Однако, ими не были выделены и охарактеризованы аминокислоты какими-то специальными методами, кроме качественных реакций на аминокислоты. Поэтому это сообщение носило сугубо информативный характер. Для проверки и подтверждения наличия аминокислот в мумиё были сняты ИК-спектры исследуемой фракции, полученной методом прессования с KBr на спектрофотометре UR-75 (ГДР) (рис.13.а.б).

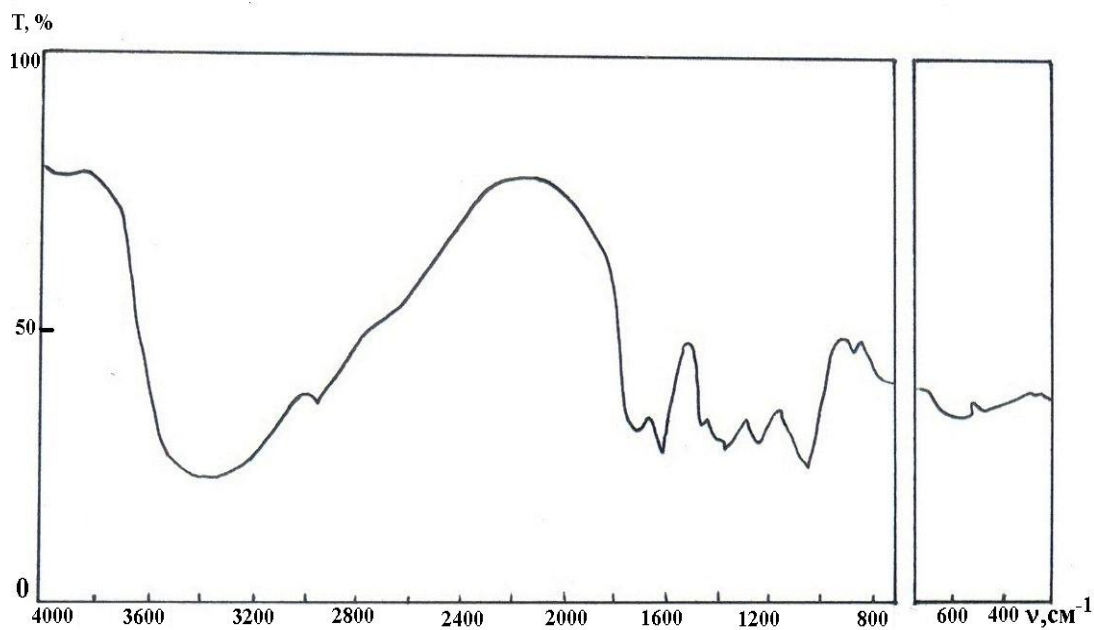


Рис. 13(а). ИК-спектр чистого мумиё

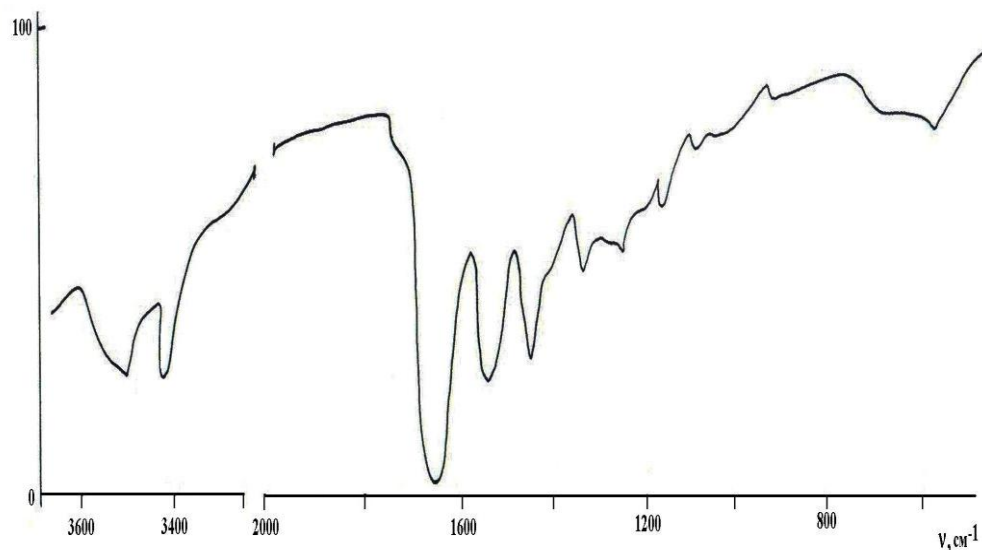


Рис. 13(б). ИК-спектр смеси аминокислот: Глицина (Гли), Аланина (Ала), Валина (Вал), Пролина (Про), Гистидина (Гис).

Полученные ИК-спектры разных образцов мумиё показали присутствие идентичных полос валентного и деформационного колебаний, относящихся к функциональным группам аминокислот, в том числе, к первичным и вторичным аминам в связанной форме ( $1580-1645\text{cm}^{-1}$ ). Поглощение в области  $1660\text{ cm}^{-1}$  обусловлено валентными колебаниями  $\text{NHCO}$ -групп. Для карбонильных групп характерна интенсивная полоса

поглощения в области  $1900\text{--}1580\text{см}^{-1}$ , относящаяся к валентным колебаниям. Для сравнения мы приводим ИК–спектр смеси пяти аминокислот Gly, Ala, Val, Pro, His (рис 12. б).

Разработанный нами способ связывания и выделения свободных аминокислот из сложной смеси мумиё включает в себя химическую обработку содового раствора мумиё при pH 9 действием сильного ацилирующего реагента аминой и иминой групп, карбобензоксихлоридом ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCOCl}$ ), в условиях Шотен-Баумана, с последующим подкислением реакционной среды (pH 3.5) и осаждения продукта.

Карбобензоксихлорид взаимодействует с  $\alpha$ -амино и иминой группой свободных аминокислот, превращая их в натриевые соли карбобензоксиаминокислот  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO-NH-(R)CH-COONa}$ ). Подкисление реакционной среды соляной кислотой (pH=3–3,5) приводит к получению смеси карбобензоксиаминокислот со свободной –COOH функцией и выделению продукта реакции.

Процесс ацилирования аминокислот в щелочной среде раствора мумиё контролировали с помощью анализа ТСХ на силуфоле - UV–254. Образование защищённых аминокислот на хроматограмме обнаруживают через 2-3 часа, и далее их концентрация постепенно возрастает. По окончании реакции раствор обрабатывают серным эфиром, при этом вся чернота из раствора и эфирорастворимые компоненты, не вступившие в реакцию ацилирования, а также избыток карбобензоксихлорида переходят в эфир. Выпавший из основного раствора осадок после подкисления бн. соляной кислотой является смесью карбобензоксиаминокислот, которая представляет собой густую, светло-коричневую, маслообразную массу, выход которой составляет 3,5 % от сухой массы мумиё, взятой для исследования. ТСХ анализ на силуфоле в системе метанол – уксусная кислота – вода (4:1:1) показал присутствие пяти продуктов в виде хроматографических пятен с  $R_{f1}$  0.33;  $R_{f2}$  0.47;  $R_{f3}$  0.6;  $R_{f4}$  0.8; и  $R_{f5}$  0.89; в

качестве проявителя, использовали пары йода. Проявление раствором нингидрина не дало окрашенных пятен. Это свидетельствует о полном блокировании аминной группы аминокислот в мумиё. Полученную смесь карбобензоксиаминокислот, после очистки, подвергли гидрогенолизу над палладиевой чернью до полного отщепления карбобензокси-группы. Полноту снятия карбобензокси - защиты контролировали с помощью ТСХ. Качественный состав прогидрированных аминокислот над палладиевой чернью определяли методом БХ и ТСХ, на бумаге марки Filtrak FN-14 и на пластинках силуфол UV-254 в системе растворителей МУВ (95:3:2) и БУВ (4:1:1). Для сравнения брали стандартный набор аминокислот (ТУ 6-09-3147-83), в концентрации 0,3 %. Хроматограммы проявляли 0,2 % - ным раствором нингидрина в ацетоне и парами йода. На хроматограммах проявляются пять нингидрино – и йодочувствительных окрашенных пятен, соответствующих аминокислотам: глицину, аланину, валину, пролину и гистидину (таб.13). Для лучшего разделения и получения соответствующего результата проводили фракционирование аминокислот методом зонального разделения (двумерная хроматография). Для анализа использовали раствор прогидрированной фракции аминокислот и смесь равных количеств пяти аминокислот (глицин + аланин + валин + пролин + гистидин) (рис. 14).

Для получения более достоверных результатов хроматографию комбинировали с зональным электрофорезом (рис. 15). Анализ электрофореограммы фракций аминокислот, выделенных из мумиё, показал более заметную относительную электрофоретическую подвижность (ОЭП) идентичную по ОЭП с аминокислотами, нанесёнными в качестве контроля (и по интенсивности полос).

Количество аминокислот в мумиё определяли с помощью калибровочного графика (стр.67), который соответствовал 0,0022г (0,35%) от сухой массы мумиё.

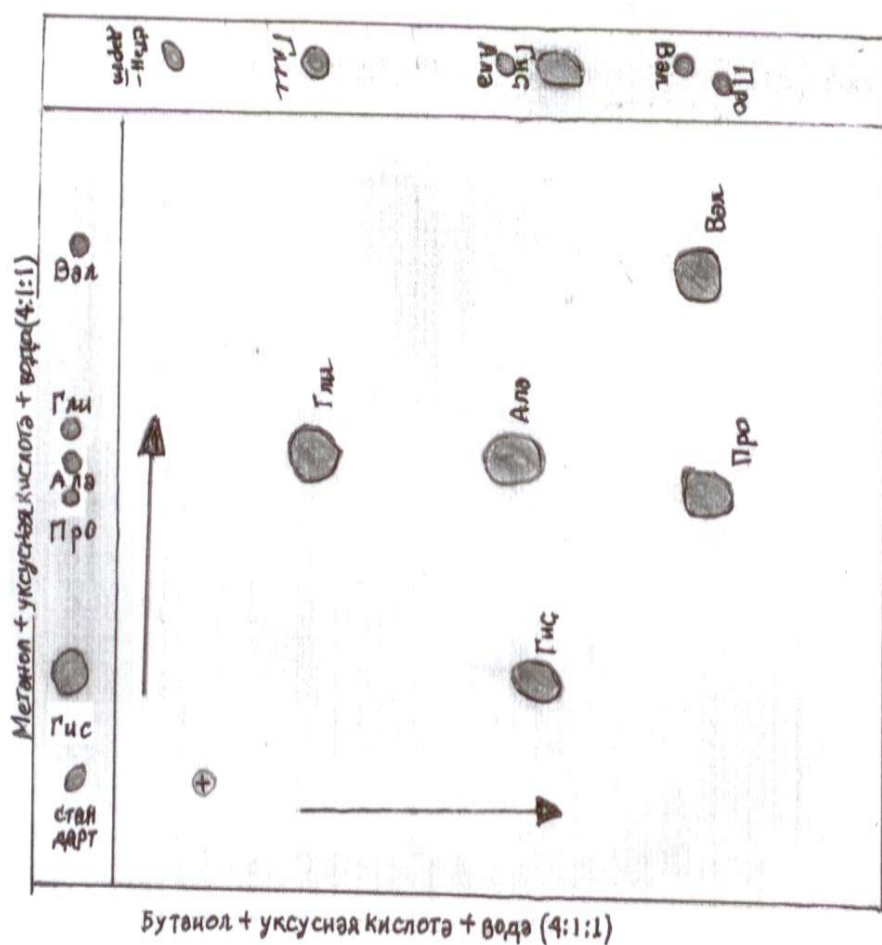


Рис 14. Двумерная ТСХ аминокислотной фракции: мумиё нанесли в точке (+), рядом с левой стороны нанесли смесь (стандарт) аминокислот (Gly + Ala + Val + Pro + His). Для разделения использовали систему смесь: метанол – уксусная кислота-вода (4:1:1). Затем хроматограмму удаляли, высушивали, вырезали линию стандарта, поворачивали на 90°С и наносили с левой стороны опять стандарт аминокислоты через смесь бутанол + уксусная кислота + вода (4:1:1), проявитель нингидрин.

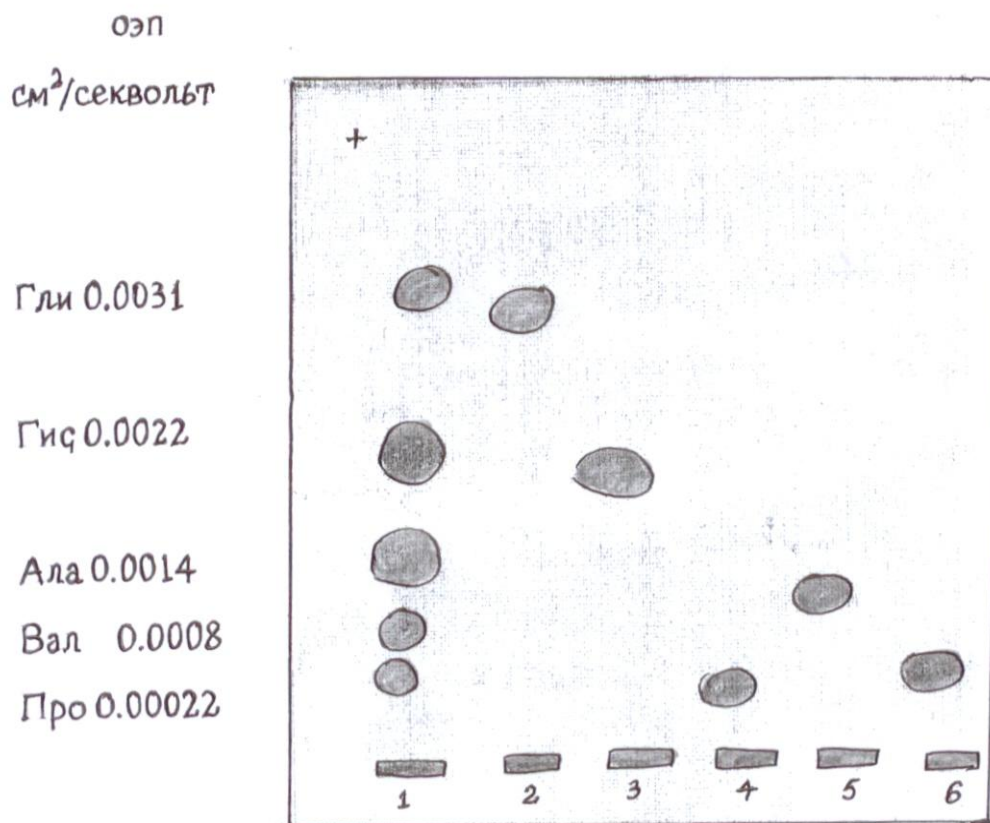


Рис 15. Электрофореграмма аминокислот (1) после гидрирования Кбз-аминокислот и контроля: Гли (2), Ала (3), Вал (4), Про (5) Гис (6). Буферный раствор 5% уксусная кислота. Проявитель ацетоновый раствор нингидрина, содержащий: 20 мг нингидрина, 0.3 мл уксусной кислоты, 1.5 мл пиридина в 39 мл ацетона. ОЭП вычисляли по формуле:

$$U = \frac{d \cdot l}{v \cdot t} \text{ см}^2 / \text{вольт. сек.}$$

d - путь пройденный веществом от старта,  
 l - длина бумажной полосы,  
 t - время проведения электрофореза,  
 v- напряжение электрического тока (400V)

Количественный состав аминокислот, выделенных из мумиё, устанавливали при помощи аминокислотного анализа на приборе Hitachi -635. Содержание аминокислот соответствовало 0.9(1)(Гли); 0.97(1) (Ала); 0.98



(Вал); 0.96 (Про); 0.95 (Гис). Общий выход аминокислот в виде композиции составляет 0.35%.

Таблица 13

Данные хроматографического анализа аминокислотной фракции мумиё

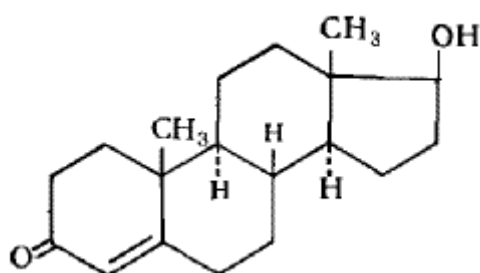
Аминокислоты, выделенные из мумиё (М), и контрольные (К)	R <sub>f</sub> , система метанол+вода+CH <sub>3</sub> COOH, 95:2:3			
	ТСХ		БХ	
	М	К	М	К
Глицин	0.13	0.090	0.17	0.16
Аланин	0.06	0.070	0.26	0.26
Валин	0.18	0.080	0.47	0.49
Пролин	0.81	0.060	0.34	0.34
Гистидин	0.15	0.050	0.14	0.14

#### IV. 5. ВЫДЕЛЕНИЕ ГОРМОНА ТЕСТОСТЕРОНА ИЗ МУМИЁ И ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИЯ

##### IV. 5.1. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ТЕСТОСТЕРОН

Тестостерон, мужской половой гормон, регулирует развитие половых органов и вторичных признаков.

По физиологическому действию тестостерон очень активен, даже в малых количествах. Формула тестостерона выглядит следующим образом.



Для обнаружения стероидов мы провели ряд качественных реакций. После тщательной обработки литературных данных наш выбор выпал на реакцию, которая относится к качественной реакции на определение тестостерона: в спиртовой раствор экстракта мумиё добавляют несколько капель гидроксида натрия и м-динитробензола, после перемешивания раствор окрашивается в вишнёво-красный цвет. Это специфическая реакция на присутствие стероидов и андростеронов.

б) Опыт проводили на хроматографической бумаге в системе метанол-вода-уксусная кислота (95:2:3). Спиртовой экстракт мумиё нанесли на хроматографическую бумагу в виде точек. Хроматограмму проявляли раствором нингидрина, при этом проявились лишь нингидринчувствительные соединения (6 пятен). Такую же непроявленную хроматограмму обработали опрыскиванием м-динитробензолом; одно пятно с  $R_f$  0.55 проявилось в виде пурпурной окраски, что свидетельствует о присутствии тестостерона в мумиё. В качестве эталона использовали тестостерон.

в) Опыт проводили на пластинках силифола (ТСХ) в системе метанол-вода - уксусная кислота (95:2:3). Сухую хроматограмму проявляли м - динитробензолом. Проявилось только одно пятно с  $R_f$  0.55.

Опыт повторили. На этот раз, наряду с основным веществом, на хроматографическую бумагу нанесли тестостерон, как контрольно стандартное вещество. После хроматографирования и проявления хроматограммы м-динитробензолом проявились два пурпурно окрашенных пятна с одинаковым  $R_f$ , равными 0.55 (рис. 16).

г) Определенное количество мумиё, поместили в мини-аппарат Сокслета и экстрагировали эфиром в течение 15 часов. Эфирную часть упарили, остаток растворили в этаноле и исследовали хроматографически. На полоску хроматографической бумаги нанесли в виде точек спиртовой раствор полученного экстракта и рядом, в качестве эталона, нанесли



Рис 16. Хроматограмма, показывающая тестостерон в мумиё.

1-тестостерон из спиртового экстракта мумиё

2- тестостерон, эталон для сравнения

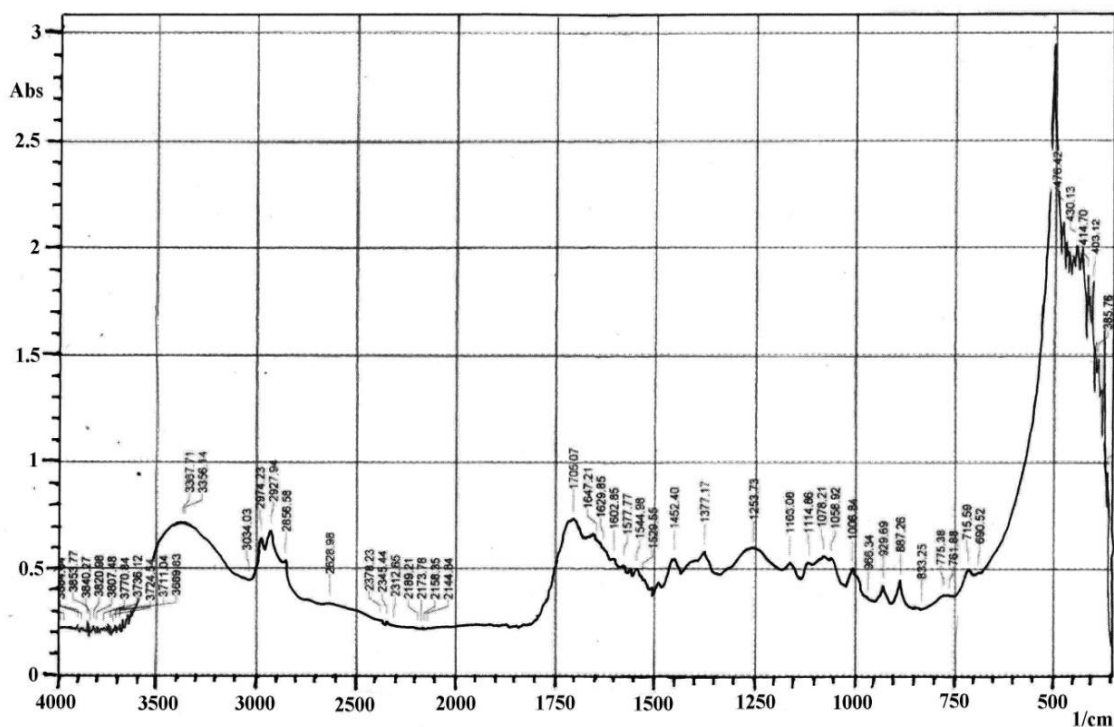
Система метанол-вода-уксусная кислота (95:2:3)

Проявитель спиртовый раствор м-динитробензола.

тестостерон, полученный после гидролиза из тестостеронпропионата в системе хлороформ-метанол-вода (100:40:7). После хроматографирования хроматограмму проявили на тестостерон. Для этого в ванночку налили раствор (а) состоящий из 1 объёма (15 мл) раствора КОН (80г КОН + 60мл  $H_2O$  + 300 мл  $C_2H_5OH$ ), разбавили 5 объёмами этанола, перемешали. Хроматограмму промочили этим раствором, быстро промокнули фильтровальной бумагой и хроматограмму погрузили в раствор (б), т.е. 2 % эталонный раствор м- динитробензола, хроматограмму промокнули. На расстоянии половины от линии старта проявились два новых цветных пятна с  $R_f$  0.55 пурпурного цвета, свидетельствующие о присутствии тестостерона в мумиё. Тестостерон количественно выделяли из мумиё с помощью колоночной и бумажной хроматографии методом элюирования продукта этанолом из полоски хроматограммы, содержащей тестостерон. После упаривания элюата и высушивания в вакууме получили полукристаллический продукт, который закристаллизовался после недолгого хранения в холодильнике. Отдельные кристаллы плавил на аппарате Боитуса, который показывал 150-152<sup>0</sup>С (лит. 150-152<sup>0</sup>С). Часть полученного гормона смешивали с пропионовым ангидридом (микросинтез) при 100-110<sup>0</sup>С с последующей перекристаллизацией из

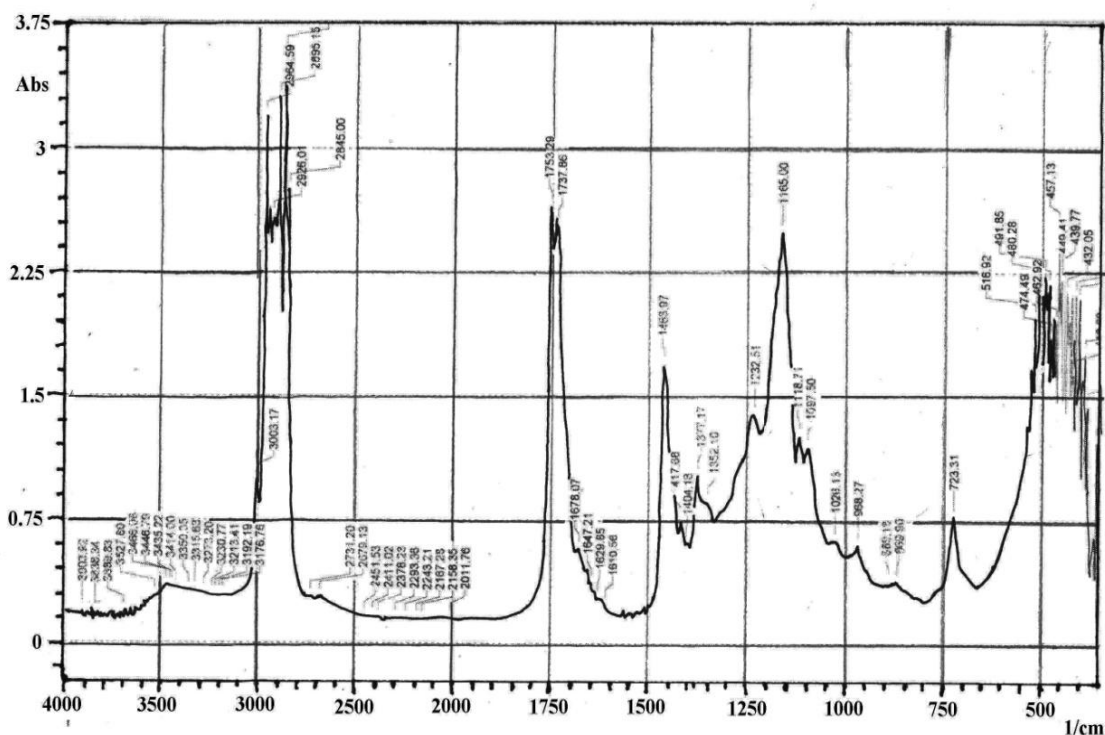
метанола. Затем получили тестостеронпропионат-креме-сероватый кристаллический продукт с т.пл. 162-164<sup>0</sup>С. ИК-спектры полученного тестостерона и тестостерона эталона приведены на рисунках 17 и 18.

При сравнении спектров с максимальными поглощениями найдены идентичные спектры, характеризующие однородность и соответствие по структуре двух сравниваемых продуктов: тестостерона, полученного из мумиё тестостерона стандарта. Основные характеристические параметры ИК - спектров следующие: 3500-3000 см<sup>-1</sup> (ОН), 1740-1700 см<sup>-1</sup> (C = O сильная), 2990-2927см<sup>-1</sup>(СН-слабая).



Тестостерона из мумиё

Рис 17. ИК- спектр тестостерона, полученного из мумиё.



Тестостерона из ампула

Рис 18. ИК-спектр тестостерона - стандарта

Сравнение ИК-спектров выделенного тестостерона и тестостерона – стандарта показывает их идентичность. Максимум поглощения в обоих спектрах характеризуют их однородность и соответствие по структуре двух сравниваемых продуктов тестостерона из мумиё и тестостерона – стандарта.

## ВЫВОДЫ

1. Экспериментальным путём в составе природного мумиё обнаружены биологически активные компоненты – витамины, стероиды, порфирины, аминокислоты и другие соединения, охарактеризовано их строение.

2. С помощью распределительной, тонкослойной, бумажной и высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ) в спиртовом экстракте мумиё расфракционированы и определены: витамины Д<sub>3</sub>, В<sub>12</sub>, аминазин, аминокислоты, тестостерон, капропорфирин и проведены их идентификации.

3. Путём ацилирования свободных α – аминокислот, присутствующих в мумиё, получен композит карбобензоксиаминокислот (КБЗ), и последующего гидрогенолиза защитной группы (КБЗ) получены в свободном виде композита аминокислоты: Gly-, Ala-, Val-, Pro-, His с выходом 0,4%.

4. Методом сублимации в вакууме из фракции мумиё получен витамин Д<sub>3</sub> с выходом 2,2%. С использованием титрометрического и потенциометрического методов определено количество аминазина в мумиё, что составляет 3,2%.

5. С помощью колоночной и бумажной хроматографии из экстракта мумиё извлечён тестостерон с выходом 0,5%.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абубакр Раби ал-Бухари. Хидаят ал-муталлимин фит-тиб. / Абубакр Раби ал-Бухари//.-Тегеран.-1963.-С. 628.
2. Ал-Камус-Мухит. Ал-Мумиё. Толковый словарь «Ал-Мунджид». / Ал-Камус-Мухит // -Каир.-1862.-С. 842.
3. Ахмад Ратик. Мумиё. Большая и общая история. /Ахмад Ратик// Ал-Хаджи-и Бошо.Шифа ал-аснам (XIII в).-Стамбул.-1910.-С.-182 .
4. Бурхан-и кати. Толковый словарь. / Бурхан-и кати // -Тегеран. -1959.-1960.-С. 2055-2056.
5. Гийасад-дин бинни Джала-ад-дин ибн Шарафаддин. Словарь.Фарханги Гийас-ал-лугат. / Гийасад-дин бинни Джала-ад-дин ибн Шараф // Литограф. изд. –Тегеран. -1942.
6. Давуд Антаки. Тазкира-и улиль-альбоб / Давуд Антаки // (XVI в).
7. Зайниддин Абуибрагим Исмаил бин Хасани Джурджани. Захираи Харазмшахи /Зайниддин Абуибрагим Исмаил бин Хасани Джурджани // (XII в).
8. Мухаммад Хусейн бинни Халифаи Табрези. Толковый словарь «Бурхан-и Кати». / Мухаммад Хусейн бинни Халифаи Табрези // -Тегеран.-1959-1960.-С.2005-2006.
9. Мухаммад Хусейнхан-и Алави Карабадин-и Кабир / Мухаммад Хусейнхани Алави Карабадини Кабир//Литограф. изд.-Дели.-1877. - С. 476-479.
- 10.Мухаммад Мумин Тухфат ал-муминин. / Мухаммад Мумин Тухфат ал-муминин// Литограф. изд. -Бомбей.-1858.-С.134.
11. Мухаммад Азамхан. /Мухаммад Азамхан,Мухими Азам. Кампур// Литограф. изд.-Бомбей, -С 134.
- 12.Абдулмумин Мухаммад Мумин Хусейн Оглы. Мумиё. Тухфат ал-муминин. / Абдулмумин Мухаммад Мумин Хусейн Оглы //-Дели.-1882.- С.674-675.

13. Мухаммад Табиб ( XII-XIII вв).
14. Саид Мухаммад Хан. Фармакологический словарь. / Саид Мухаммад Хан // -Кампур.-1892.
15. Мухаммад бин Закарийа Рази. Муджарраббайат-и Рази / Мухаммад бин Закарийа Рази // (IX в).
16. Абуали ибн Сино «Каноны врачебной науки». / Абуали ибн Сино//
17. Кузьминова М. Л. Влияние восточного лекарственного средства мумиё на микроорганизмы. / Л. М. Кузьминова //МатерI. Межреспуб. симпозиума по экспериментальному изучению мумиё. –Душанбе. -1965. -С.68.
18. Сидикова У. В. Экспериментальное изучение антибактериального действия мумиё при стафилококковых инфекциях животных. / В. У. Сидикова, И. М. Орзуев // Мат. I межреспуб. симпозиума по эксп. изуч. мумиё. –Душанбе.-1965.-С.55-56.
19. Никодамбаев С.Ю. Влияние мумиё на течение хронической лучевой болезни в эксперименте. / Ю. С. Никодамбаев, О. И. Белоусова, Г. П. Грудев, Е. Н. Щербова // Тез. докл. VII Всесоюзного съезда рентгенологов и радиологов. -М.. -1964.-С.58.
20. Рогозкин В.Д. Лечебное применение мумиё при острой лучевой болезни у собак. /В. Д. Рогозкин, Т.Тухтаев // Матер. I Межреспубликанского симпозиума по экспериментам изучения мумиё. –Душанбе. -1965. -С.91-93.
21. Хаитов Р. М. Влияние солнечной радиации на формирование костной мозоли в эксперименте. /Р. М. Хаитов // «Мед.журнал Узбекистан», - 1965. -№8. -С.80-85.
22. Исмаилова В.Н. Изучение токсичности мумиё-асиль на мышях. /В. Н. Исмаилова // «ДАН Уз СССР».-1969. -№5, -С.168-170.
23. Исмаилова В.Н. Результаты клинического изучения препарата мумиё-асиль. В кн. /В. Н. Исмаилова // «Актуальные вопросы краевой патологии».-Ташкент.-1961. С.15-20.
24. Омиров Р. Ю. Стимулирующее действие мумиё на фоне хронического



- отравления гексахлораном. / Р. Ю. Омиров // Тезисы докл 54-й научн. конф. САММИ (секция анатомов и эмбриологов).-Самарканд. -1969.- С.95.
- 25.Ибрагимов З.И.Действие мумиё на динамику количественных изменений микроэлементов при заживлении перелома./ З. И. Ибрагимов, У. С. Исламбеков, С. К. Камалов // Матер. первой научн. конф. молодых ученых УзНИИТО. –Ташкент. -1969. -С.110-111.
- 26.Шишкова Е. Т. Влияние мумиё-асиль на организм животных со сниженной реактивностью, вызванной введением больших доз кортизона. / Е. Т.Шишкова // Матер. научно-практич. конф. об-ва патолого-анатомов Узбекистана.-Ташкент.-1969.С.15-20.
- 27.Щелковский Н.А.Изменение тромбоцитарного состава крови при внутрисосудистом введении различных концентраций экстракта мумиё. /Н. А. Щелковский, Н. К. Шелковская // Матер. I Меж.республ. симпозиума по эксперим. изучению мумиё.-Душанбе.С.15-20.
- 28.Козловская В.И. О фармакологическом исследовании влияния мумиё на периферические нервные структуры, на гладкую мускулатуру, неизолированное сердце и сосудистую систему. / В. И. Козловская // «Мумиё и его лечебное применение». -Пятигорск.- 1972. -С.68-70.
- 29.Максудов Р. М. Влияние препарата кобальта «Со-Н» и железа «Fe-Н-2» на процесс регенерации костной ткани у облученных животных. /Р. М. Максудов // В. Кн. «Вопросы по травматической регенерации при лучевых повреждениях».-Самарканд.-1967.С.25-30.
- 30.Максудов Р. М. Влияние мумиё-асиль, некоторых препаратов кобальта и железа на регенерацию костной ткани у облучённых животных. / Р. М. Максудов // «Мед.журнал Узбекистана». -1970. -№8.-С.100-102.
- 31.Тухтаев Т.М. О лечебных свойствах препарата мумиё. / Т. М. Тухтаев // В сб. «Мумиё и его лечебные свойства». -Пятигорск.-1972.-С.22-24.
- 32.Василенко Ю.К. Влияние кавказского мумиё на некоторые функционально-структурные показатели органов пищеварения при патоло-

- гии печени. /Ю. К. Василенко, Л. С. Тимакова // В кн. «Мумиё и его лечебное применение». - Пятигорск. -1972. -С.36-38.
- 33.Карпова В.В. Влияние мумиё на некоторые гематологические показатели у животных с экспериментальной лейкопенией. / В. В. Карпова, А. Л. Шинкаренко // В кн. «Мумиё и его лечебное применение». -Пятигорск.-1972.С.15-20.
- 34.Нуралиев Ю. Н. Лечение экспериментально вызванных язв желудка крыс с помощью экстракта мумиё. / Ю. Н. Нуралиев // Тезисы док второй научн конф. молодых учёных. –Душанбе. -1968. -С.98-101.
- 35.Нуралиев Ю. Н. Антигистаминовые свойства сухого экстракта мумиё, / Ю. Н. Нуралиев // Матер.научн. конф. Тадж. гос. мед. инс-та.–Душанбе. -1969. -С.44-45.
36. Ваккасов К. Антикоагулянтное действие мумиё. / К. Ваккасов, Т. Р. Абдурахманов, П. П. Ибрагимов // Научн.труды.Кубанск.мед. Ин-та, т.XXX III. -Краснодар. -197. -С.120-124.
- 37.Дьяков К. Мумиё-ископаемый мед. /К. Дьяков //Правда Востока.-1963.- №1.-С.123.
- 38.Кузьминова М. Л. Влияние восточного лекарственного средства мумиё на микроорганизмы. / М. Л. Кузьминова //Матер. I Меж.респуб. симпозиума по эксперим.изучению мумиё.Тезисы докл. -Душанбе, 1963. -С.28-30.
39. Сидиков У.В. Антимикробное действие мумиё при опытах invitro. / У. В. Сидиков //Матер. 1 Межреспубл. симпозиума по эксперим. изучению мумиё. – Душанбе. -1965. -С.80-82.
- 40.Остер Н.Р.К вопросу изучения антимикробной активности мумиё. /Н. Р. Остер, Л. А. Савицкая, Э. А. Шакиров // «Экспериментально-клинические исследования среднеазиатского мумиё». Изд-во «Медицина».- Ташкент.-1980.-С.111-115.
- 41.Шакиров А. Ш. Новый генетический тип природной селитры (мумиё) в горах Тянь-Шаня. / А. Ш. Шакиров // Тезисы докл. межведомств. совещ.

- «Минерально сырьевая база фосфоритов, калийных солей и самородной серы Средней Азии».-Ташкент. -1973. -С.111-113.
42. Шакиров А. Ш. Применение мумиё при лечении открытых переломов трубчатых костей. / А. Ш. Шакиров // Сб. научных трудов УзНИИТО.-т. XV. С10-15.
43. Нуралиев Ю.Н. Защитное действие мумиё на углеводный обмен при остром экспериментальном гепатите. /Ю. Н. Нуралиев., Е. И. Малыгина // Тез. республ. конф. по пробл. «Фармакологическая регуляция обменных процессов». –Ленинград.-1972. -С.102-103.
44. Шаматов Н.М. Изменение биологических свойств стафилококков под влиянием мумиё-асиль. / Н. М. Шаматов., А. Т. Шарифхожаев., А. Ш. Шакиров., Р. А. Хакимова // В кн. «Экспериментально-клинические исследования среднеазиатского мумиё». Медицина. -Ташкент, -1980.- С.119-122.
45. Константинов Юрий. Мумиё природное лекарство / Юрий Константинов// Центрполиграф. -Москва.-2014. -183с.
46. Даников Н.И. Целебное мумиё / Н.И.Даников // Эксмо. -Москва.– 2015. –175с.
47. Елисеев Ю.Ю. Осторожно мумиё / Ю.Ю.Елисеев // Научная книга.- Воронеж.-2013. – 90с.
48. Савиных М. Энциклопедия мумиё / М.Савиных // Москва. изд. Литагент -Ridero.-2017. -124с.
49. Корзунова Алевтина. Природа, которая лечит: мумиё, прополис и мёд/ Алевтина Корзунова // Воронеж. Научная книга. -2013. – 290с.
50. Халиков Ш.Х. Мумиё / Ш.Х.Халиков, С.В.Алиева // Душанбе. - Эрграф. -2012. – 94с.
51. Шакиров А.Ш. О происхождении мумиё. / А. Ш. Шакиров // журн. Узб. геология. наука.-1964.-№5, -С.74-76.
52. Хакимов З.Н. Мумиё как вид природных ресурсов и его поисковые признаки. /З. Н. Хакимов // Автореферат дисс.на соис.учён. степени

- канд.геогр.наук.–Ташкент.-1974.
- 53.Хазанович Р.Л. Физико-химические свойства и лекарственные формы мумиё. / Р. Л. Хазанович, А. И. Харламов // В кн. «Экспериментально-клинические исследования среднеазиатского мумиё». Изд-во «Медицина».–Ташкент.-1980.-С.19-21.
54. Шакиров А.Ш. Применение ИК-спектроскопии для идентификации мумиё. / А. Ш. Шакиров, А.У. Умаров // В кн: «Мумиё в комплексном лечении переломов костей» изд-во «Фан» Узб.ССР.–Ташкент.-1976.-С.51-52.
55. Петров С.Н. Применение ИК-спектроскопии для идентификации препарата мумиё. / С.Н. Петров, Л. А. Быкова, А. И. Гвытьева, А. Ш. Шакиров // Труды Ташкентского мединститута «Вопросы травматологии и ортопедии» -Ташкент.-1975.-т.15, -С.216-217.
56. Колесниченко Ю.И. К изучению бальзама древности мумиё. / Ю. И. Колесниченко, В. И. Ищенко // Здравоохр. Белоруссии. -1966. -№1. -С.56-59.
57. Шакиров А. Ш. Природа мумиё и связь его с молибденсодержащими водами, / А. Ш. Шакиров, А. М. Мирзорахимов // ДАН УзССР. -1963. -№12. -С.36-37.
58. Исмоилова В.Н. К вопросу дозировки мумиё-асиль в особенностях заживления переломов костей при его применении. / В. Н. Исмоилова // Мед.журн.Узб.-1965. -№9, -С.69-72.
59. Петров Н.П. Размещение и геологические проявления мумиё в западном Узбекистане. / Н. П. Петров, И. В Рубанов, З. Н. Хакимов // Изд-во «Медицина». –Ташкент. -1980. -С.6-12.
60. Блинова К.Ф. Стероидный состав природных продуктов мумиё. / К. Ф. Блинова, Н.В. Сировенко // «Изучение препаратов растительного и синтетического происхождения». –Томск. -1978. -С.-134-135.
- 60.а. Дмитриев Н.Т. / В.А. Машихин, Э.В. Степанов // Ж.Гигиена и Санитария.-1984. №5. С.42-43.

61. Давидянц С.Б. Химическое исследование мумиё. / С. Б. Давидянц // Тез.докл. науч.конф.посвящ.20-летию Ин.хим. АНТадж.ССР. – Душанбе.–1966.-С.100-103.
62. Давидянц С.Б. К вопросу химического и микробиологического изучения природного вещества мумиё. / С. Б. Давидянц // Тез. докл. 2-й науч.-конф. Таджикского биохимического общества.- Душанбе. -1964.- С.9.
63. Давидянц С.Б. Химическое исследование мумиё. / С. Б. Давидянц, К. Т. Порошин, В. Валибеков, Л. В. Мельникова // Доклады АН Тадж. ССР.-1966.-т. 3.-№ 5.-С.15-28.
64. Рогозкин В.Д. Результаты применения различных вариантов комплексной терапии острой лучевой болезни у обезьян. / В. Д. Рогозкин, М. Н. Трушина // В кн.: Материалы клиники и лечения острой лучевой болезни в опытах на обезьянах.- Сухуми.-1964.-С.47-53.
65. Порошин К.Т. Химическое исследование органической части мумиё. / К. Т. Порошин, С.Б. Давидянц, Л. Н. Кириченко // ДАН Тадж. ССР. - 1964. -т. 7. -С.18.
66. Пигалев И.А. Некоторые вопросы иммунитета при воздействии на организм ионизирующей радиации. / И. А. Пигалев // В кн.: Действие облучения на организм (Доклад сов, делегации на меж. Конференции по мирному использованию атомной энергии. Женева, 1955).-М.-1955.- С.157.
67. Клемпарская Н.Н. Вопросы инфекции, иммунитета и аллергии при острой лучевой болезни / Н. Н. Клемпарская, О.Г.Алексеева, Р.В. Петров, В.Ф. Сосова // -М. -1958.С10-15.
68. Троицкий В.Л. Влияние ионизирующих излучений на иммунитет. / В.Л. Троицкий, М. А. Туманян // -М.-1958.-С.-199.
69. Петров Р.В. Иммунология острого лучевого поражения. / Р. В. Петров // Атомиздат. -М. -1962.С10-15.

70. Benjamin E. Antikörpersbildung nach experimenteller Schädigung des hamatopoetischen Systems durch Röntgenstrahlen, / E. Benjamin, E. Stuka // Wien. Klin. Wschr. -1908.-№ 21, 10.-С.311-313.
71. Lawen A. / A. Lawen // Mitt. A6. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. -1999. -С.19-141.
72. Frankel E. / E. Derl. E. Frankel, K. Schilling // Klin, Wschr. -1955. -С. 50.
73. Петров Р.В. Антигенные особенности тканей облучённого животного организма. / Р. В. Петров, Л.И.Ильина // В кн.: Труды Всесоюз. конф. по мед. радиологии. -М. -1957.-С.180-182.
74. Туманян М.А. Химиотерапия лучевой болезни в опытах на обезьянах. /М. А. Туманян, З. В. Шевцова// Мед. Радиология.-1958.-№1.,№2. -С.41.
75. Александрова М.Ф. Ранняя реакция системы крови на действие проникающего излучения. / М. Ф. Александрова // Дис. канд. -М. -1955.
76. Каляева Т.В. Первоначальные реакции системы крови во время общего лучевого воздействия. / Т. В. Каляева, Ю. Г. Григорьев, Б. Е. Бусыгин, А.Л.Поздняков // Вопросы патогенеза эксперим. терапии и профилактики лучевой болезни. -М. -1960.-С.14-27.
77. Шмелева Н.И. Длительное наблюдение за изменением лейкоцитарных реакций у крыс после облучения их рентгеновскими лучами. / Н. И. Шмелева // Радиобиология, радиотерапия. -1962.- №3.-С. 55.
78. Klug. Радиобиология, радиотерапия .-1965. -№ 4. -С. 597.
79. Заварзин А.А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. / А.А. Заварзин // М.-Л. -1947.
80. Millan D./ D.Millan, Ingelbart I // Am. J, pathol. -1963. -С.42, 3, 315.
81. Рогозкин В.Д. Терапия синтетическими глюкокортикоидами острой лучевой болезни./ В. Д. Рогозкин, В. П. Федотов, К. С. Чертков // В кн.: Материалы VII науч. конф. по проблеме: «Лучевая болезнь». -Л. -1966. -С.214-216.
82. Белоусова О.И. Механизм восстановления костного мозга при локальных облучениях. /О. И. Белоусова, Г. П. Грудев, Е. Н. Щербова //

- Материалы конф. «Восстановительные процессы при поражении организма ионизирующей радиацией». -М. -1966.-С.16-17.
83. UlmanF. - Ann. -1934. -т.38. -332с.
84. Shoyev S.H. Allocation and characteristic some ningidrin sensitive connection from a natural mumiyo/Sh.Khalikov, S.V.Aliyeva, S.H. Shoyev, M.Z. Kadirov //Journal The Scientific Heritage. -Budapest, -Hungary. No 25.- 2018. P.1. -p.10-25.
85. Шоев С.Х. Определение витамина Д<sub>3</sub> из природного мумиё / Ш.Х. Холиков, С.Х.Шоев, М.М.Ходжаев // Вестник Таджикского национального университета (научный журнал). -2009. №1(49), -С.158-162.
86. ШоевС.Х. Получение и идентификация свободных аминокислот из мумиё /Ш.Х. Холиков, С.Х. Шоев // Вестник Таджикского национального университета (научный журнал). -2009.№3(59), -С.180-183.
87. Шоев С.Х. 2-хлор-10-(3-диметиламино-пропил)- фенотиазин (аминазин) из мумиё / Ш.Х.Холиков, С.В.Алиева //Докл. АН РТ. -2008, т.51, №2.-С. 122-126.
88. Соколов В.И. / В.И. Соколов, И.В.Станкеевич // Успехи химии. - 1993.т.62.-С.455-473.