

Получена: 07.07.2023/ Принята: 05.12.2023/ Опубликовано online: 29.12.2023

ӨОК: 615.011.5:582.842.2

DOI 10.53511/PHARMKAZ.2024.95.63.029

А.Ш. АМИРХАНОВА¹, Ғ.Б. ОСПАНОВА²

«С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті» КеАҚ, Алматы, Қазақстан Республикасы

ҮШ ТҮСТІ ШЕГІРГҮЛ (*VIOLA TRICOLOR L.*) ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫНАН ЭКСТРАКТ АЛУ ЖӘНЕ ФИТОХИМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫН ЗЕРТТЕУ

Түйін: Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстракт құйынды экстракция әдісін қолдана отырып алынды. Осы әдіс бойынша алынған экстракттың құрамындағы биологиялық белсенді заттар анықталды.

Экстракттың құрамын анықтау ультракүлгін және көрінетін диапазондағы абсорбциялық спектрофотометрия әдісімен жүргізілді. Абсорбциялық спектрофотометрия әдісімен зерттеу нәтижесінде флавоноидтарды анықтадық. Әдеби деректерге сүйене отырып, бөлінетін компоненттер қартаюға қарсы әсер көрсетеді. Зерттеулер сериялық сұйылту әдісі бойынша жүргізілді [1]. Нәтижесінде зерттелген сығынды айтарлықтай қартаюға қарсы белсенділікке ие екендігі анықталды. Алынған нәтижелер фармакологиялық қасиеттерді одан әрі зерттеудің алғы шарттарын береді және сығындыны заманауи косметологияның перспективті құралы деп санауға мүмкіндік береді. Зерттеудің мақсаты - үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан экстракт алу және құрамын зерттеу.

Зерттеу әдістері: экстракт алу әдісі ретінде құйынды әдіс таңдалды. Дайын экстракттың құрамы масс-спектрометриялық анықтаумен газ хроматографиясы әдісі (7890A/5975C) көмегімен анықталды.

Нәтижелері: Үш түсті шегіргүл экстрактысын алу мақсатында қажетті экстрагент таңдалып, сұйық экстракт алынды. Экстракт алу құйынды әдіспен жүзеге асырылды. Экстракттың құрамындағы биологиялық белсенді заттар анықталды. Нәтижесінде 26 қосылыс бөлінді.

Түйінді сөздер: үш түсті шегіргүл, құйынды экстракция, фитосубстанция, биологиялық белсенді заттар, дәрілік өсімдік шикізат.

А.Ш. АМИРХАНОВА¹, Ғ.Б. ОСПАНОВА²

НАО «Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова», Алматы, Республика Казахстан

A.Sh.AMIRKHANOVA¹, G.B.OSPANOVA²

Asfendiyarov Kazakh national medical university, Almaty, Republic of Kazakhstan

ИЗУЧЕНИЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И
ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
ФИАЛКИ ТРЕХЦВЕТНОЙ (*VIOLA TRICOLOR L.*)

STUDYING THE PHYTOCHEMICAL COMPOSITION
AND OBTAINING AN EXTRACT FROM PLANT
RAW MATERIALS OF *VIOLA TRICOLOR L.*

Резюме: Жидкий экстракт, полученный из растительного сырья фиалки трехцветной (*Viola tricolor L.*), получен методом вихревой экстракции. Определены биологически активные вещества в экстракте, полученном этим методом.

Определение состава экстракта проводили методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовом и видимом диапазонах. Флавоноиды определили в результате исследования методом абсорбционной спектрофотометрии. По данным

Resume: Liquid extract obtained from plant materials of violet tricolor (*Viola tricolor L.*) was obtained by vortex extraction. Biologically active substances in the extract obtained by this method were determined. The composition of the extract was determined by absorption spectrophotometry in the ultraviolet and visible ranges. Flavonoids were determined as a result of studies using absorption spectrophotometry. According to the literature, the isolated components have a rejuvenating effect. The studies were carried out using the serial di-

литературы, выделенные компоненты оказывают омолаживающее действие. Исследования проводились методом серийных разведений [1]. В результате было установлено, что изучаемый экстракт обладает значительной антивозрастной активностью. Полученные результаты создают предпосылки для дальнейших исследований фармакологических свойств и позволяют рассматривать экстракт как перспективное средство современной косметологии.

Цель исследования - получение экстракта из растительного сырья фиалки трехцветной (*Viola tricolor L.*) и изучение состава.

Методы исследования: в качестве метода экстракции был выбран вихревой метод. Состав готового экстракта определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (7890A/5975C).

Результаты: для получения экстракта фиалки трехцветной был подобран необходимый экстрагент и получен жидкий экстракт. Экстракцию осуществляли вихревым методом. Определены биологически активные вещества в экстракте. В результате было выделено 26 соединений.

Ключевые слова: фиалка трехцветная, вихревая экстракция, фитосубстанция, биологические активные вещества, лекарственное растительное сырье.

Кіріспе. Қазіргі таңда Қазақстан Республикасының дамуының басым бағыттарының бірі отандық шикізат, соның ішінде өсімдіктер негізінде фитопрепараттар өндіріп, фармацевтикалық индустрия ассортиментін кеңейту болып табылады. Елімізде қолданыстағы дәрі-дәрмектердің басым көпшілігін шетелдік өнім құрайды. Тіркелген дәрілік препараттардың ішінде отандық өндіріс өнімдерінің үлесі 30%-дан, ал Қазақстандағы дәрілер нарығының жалпы ақшалай көлеміндегі отандық өндіріс өнімдерінің үлесі 10%-дан аспайды. Бұл мәселені Республикадағы табиғи ресурстар негізінде дәрілік заттарды өндіруді ғылыми тәжірибеге енгізу жолымен шешуге болады. ДДСҰ-ның мәліметі бойынша, өсімдік шикізатынан алынатын дәрілік фитопрепараттар фарминдустрияның біршама бөлігін алады. Қазақстанның фармацевтикалық нарығында дәрілік шөптер мен жинақтардың үлесі небәрі 1-1,5%-ды құрайды.

Мысалы, Қазақстан флорасында алты мыңнан аса дәрілік өсімдіктер бар. Олардың ішінде 1500 түрі дәрілік қасиетімен сипатталады, ал олардың көп бөлігі халық медицинасында қолданыс тапқан. Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясына 40тан астам дәрілік өсімдік атауы енгізілген.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізаты - Күлгін violaceae Batsch отбасы, күлгін *Viola L* тұқымдасы, бұл бір жылдық немесе екі жылдық шөпті өсімдік. Аталған өсімдік шикізатының ерекшелігі - ол бір уақытта 50-ге дейін тұқым бере алады және гүлдері бір уақытта күлгін, көк, сары немесе ақ болуы мүмкін, сол себептен үш түсті шегіргүл деп аталынады [2]. Құрамы биологиялық белсенді заттарға бай перспективті дәрілік өсімдік ретінде үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатына практикалық қызығушы-

лық туғызады. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізаты Қазақстан Республикасының барлық аймақтарында кең таралған. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізаты - күлгін violaceae Batsch отбасы, күлгін *Viola L.* тұқымдасы, бұл бір жылдық немесе екі жылдық шөпті өсімдік. *Viola tricolor L.* өсімдігі Қазақстанда дәрілік өсімдік шикізаттар арасынан жүйелі түрде орын алады [3].

The purpose of the research work: Obtaining an extract from plant materials of tricolor violet (*Viola tricolor L.*) and studying the composition.

Research methods: The vortex method was chosen as the extraction method. The composition of the finished extract was determined by gas chromatography with mass spectrometric detection (7890A/5975C).

Results. To obtain tricolor violet extract, the necessary extractant was selected and a liquid extract was obtained. Extraction was carried out using the vortex method. Biologically active substances in the extract were determined. As a result, 26 compounds were isolated.

Key words: tricolor violet, vortex extraction, phytosubstance, biological active substances, medicinal plant raw materials.

Сондықтан, үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан құйынды әдіспен экстракт алып, химиялық құрамы тексеріледі және өсімдік шикізатынан алынған сапалы экстрактың технологиялық аспектілерін зерттеу өзекті мәселе болып саналады.

Зерттеу жұмысының мақсаты: үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан экстракт алу және құрамын зерттеу.

Зерттеу материалдары мен әдістемесі: зерттеу материалдары ретінде үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізаты пайдаланылды, ол ЖШС «Зерде» дәріханасынан алынған, өзіндік сәйкестік сертификатқа (№ РОСС RU.АИЗ3.Н00210) ие. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатының жер үсті қабатындағы кептірілген бөлігі (жапырақтары мен сабағы) пайдаланылды.

Экстрактивті заттарды коэффициентін есептеу формуласы (1) пайдаланылды [4].

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1 \times (100 - W)} \quad (1)$$

мұндағы,

m - құрғақ заттың массасы, г;

m₁ - шикізат массасы, г;

W - шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, %;
 $m_1=1,0$ г.
 Спиртті сіңіру коэффициентін есептеу формуласы (2) пайдаланылды [5].

$$X = V + m \times K_c \quad (2)$$

мұндағы

X – қажетті экстрагент көлемі, мл;

V – қажетті экстракт көлемі, мл;

m – шикізат массасы, г;

KC – спиртті сіңіру коэффициенті.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor* L.) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстрактың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен (7890A/5975C) анықталды.

Зерттеу нәтижелері

Сұйық экстракты дайындау үшін дәрілік өсімдік шикізатын белгілі бір мөлшерде ұсақтау керек. Шикізаттың ұсақталу дәрежесі - 2 мм (ҚР МФ І 2.9.12). Экстрагент ретінде этил спирті алынды, себебі өсімдіктердегі флавоноидтар қосындысы этанолдың әртүрлі концентрациясында жақсы ериді. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor* L.) өсімдік шикізатының әдебиеттерге сәйкес спиртті сіңіру коэффициенті – $K_p 2,15$ [6].

Экстрагент ретінде әртүрлі концентрациядағы этанол алынды (40, 70, 90%).

Экстрактивті заттарды анықтау келесі әдістеме бойынша жүргізілді:

Талдау шарттары: саңылаулардың өлшемі 1 мм електен өтетін, шамамен 1 г майдаланған шикізатты (дәл өлшенді) конусты колбаға салады, оған 50 мл экстрагент қосады, колбаны тығынмен жабады, 0,01 г дейінгі дәлдікпен өлшейді және 1 сағатқа қалдырады. Одан соң колбаны кері суытқышқа қосады, 2 сағ бойы қыздырады. Колбаны суытады, тығынмен жабады, өлшейді және массаның шығынын экстрагентпен толықтырады. Колбаның ішіндегісін мұқият шайқайды және қағаз сүзгі арқылы құрғақ құрғақ колбаға сүзеді. 25 мл сүзіндіні құрғақ және дәл өлшенген фарфор табақшасында су моншасында буландырады. Құрғақ қалдықты тұрақты массаға дейін $102,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ температурада кептіргіш шкафта құрғатады, содан соң температурада кептіргіш шкафта құрғатады, содан соң 30 мин бойы эксикаторда суытады және өлшейді [7].

Құрғақ шикізаттың құрамындағы экстрактивті заттардың мөлшерін анықтау (X, %) 1-формула бойынша есептелінді. Экстрактивті заттардың шығуына әр

түрлі концентрациядағы этил спиртінің әсері 1-кестеде көрсетілген.

Кестеде көрсетілгендей экстрактивті заттардың көп мөлшері 90% этил спиртімен шықты. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor* L.) өсімдік шикізатының экстрактивті заттардың максималды шығуын ескеріп, тиімді экстрагент ретінде 90% этил спирті таңдалды.

Сұйық экстракт (1:1) қатынасында дайындалады. Шикізаттың ұсақталу дәрежесі 2 мм (ҚР МФ І 2.9.12). Экстрагент ретінде 90% этил спирті алынды.

Зертханалық жағдайда үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor* L.) өсімдік шикізатынан сұйық экстракт алу үшін алдымен дәрілік өсімдік шикізатын қажетті мөлшерде ұсақталды. Ұсақталған шикізатты електен өткізіп, қажет массаны таразымен өлшеп аламыз. Сұйық экстракт дайындауға 50 г ұсақталған дәрілік өсімдік шикізаты алынды.

Экстрагент ретінде қолданылатын 90% этил спиртінің қажетті көлемін есептеу қажет. Сұйық экстракт (1:1) : (50 : 475,5) қатынасында дайындалды. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor* L.) өсімдік шикізатының спиртті сіңіру коэффициентін есепке ала отырып, қажет экстрагент көлемін 2-формула бойынша есептелінді:

$$X = 475,5 + 50 \times 2,15 = 583 \text{ мл}$$

Сұйық экстракт алуға қажет шикізат пен экстрагент мөлшері 583 мл болды. Енді сұйық экстракт алу үшін экстракциялау әдісін таңдау қажет. Экстракциялау әдісі ретінде құйынды экстракция әдісі қолданылды.

Бұл құйынға негізделген тәсілдің жүру процесі 3 кезеңнен тұрады:

Жібіту (ісіндіру) перколятордан тыс жүреді. Дайындалған өсімдік шикізатын жабық сыйымдылыққа салып, қажетті мөлшердегі экстрагентпен суландырып, ісіндіруге 3-4 сағатқа қоямыз. Бұл уақытта экстрагент өсімдік материалының арасына және жасуша ішіне еніп, шикізат ісінеді, көлемі ұлғаяды [8] (1-сурет).

Араластыру – құйынды экстракция процесінің екінші және маңызды сатысы. Шикізат экстрагентке салынып, осы араластырылған көмегімен араластырады және араластырылған жылдамдығы 8000-13000 айн./мин. [9]. Араластыруды 4 сағатқа қойып кетеміз (2-сурет).

Сүзу (фильтрлеу) – экстракты сүзу фильтр қағаздырының көмегімен жүргізілді және сүзгіп алынған сығындыны ыдысқа құйып аламыз (3-сурет).

Одан кейін қоңыр шыныдан жасалған флаконға құйып, тығындап, сақтауға қоямыз.

Кесте 1 – Экстрактивті заттардың шығуына экстрагенттің әсері

Еріткіштер	Концентрация	Нәтижесі, %
Этил спирті	40 %	12,5
	70 %	14,45
	90 %	16,80



Сурет 1 – Жібіту кезеңі



Сурет 2 – Араластыру кезеңі



Сурет 3 – Сұйық сығынды

Экстрагент ретінде 90% этил спиртінің қолдандық. Экстрактыны құйынды әдісімен 1:5 қатынасында алдық. Перколятордың ішіне 1:5 қатынаста шикізат пен экстрагент 90% экстрагентті құйып 4 сағатқа жоғары 12000 айн./мин бойынша айналдырып қоямыз. Артынша сұйық экстрактыны сүзіп аламыз. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатының экстрактысы перколяторда келесі параметрлерде жүргізілді:

	Құйынды әдісі, 90% этил спирті	
Шикізат: экстрагент жібіту кезіндегі қатынасы	1:1	

Шикізат: экстрагент тұндыру кезіндегі қатынасы	1:5	
Температура, оС		20±5
Айналу жиілігі, айн./мин	12000 айн./мин	
Экстракциялау уақыты	10 сағат	
Шикізат салмағы, г	50 г	
Экстрагент мөлшері, мл	375,5 мл	
Алынған сығынды мөлшері, мл	250 мл	

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатының құйынды әдісі арқылы сұйық экстракт алудың технологиялық сызбасы 4-суретте көрсетілген.

Технологиялық процесті баяндау:

1 кезең. Экстрагентті дайындау. 90%-дық концентрациядағы экстрагент дайындау.

2 кезең. ДӨШ дайындау. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатын ұсақтау. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатын електен өткізу. Елегіштен бөлшек өлшеміне дейін, диаметрі 2 мм болатын елегіш арқылы електеу. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатын өлшеу. Електен өткізілген ДӨШ 50 г таразыда өлшедік.

3 кезең. ДӨШ бөліп алуды дайындау. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатын 90%-дық этил спиртіне батыру. Ұсақталған шикізатты 90% экстрагентпен тұндыру. Шикізат суландырылып және ісінгеннен кейін 3-4 сағатқа тұндырады. Сосын айналдыру 4 сағатқа 12000 айн./мин бойы тең өлшемді концентрация болғанша жүргізеді.

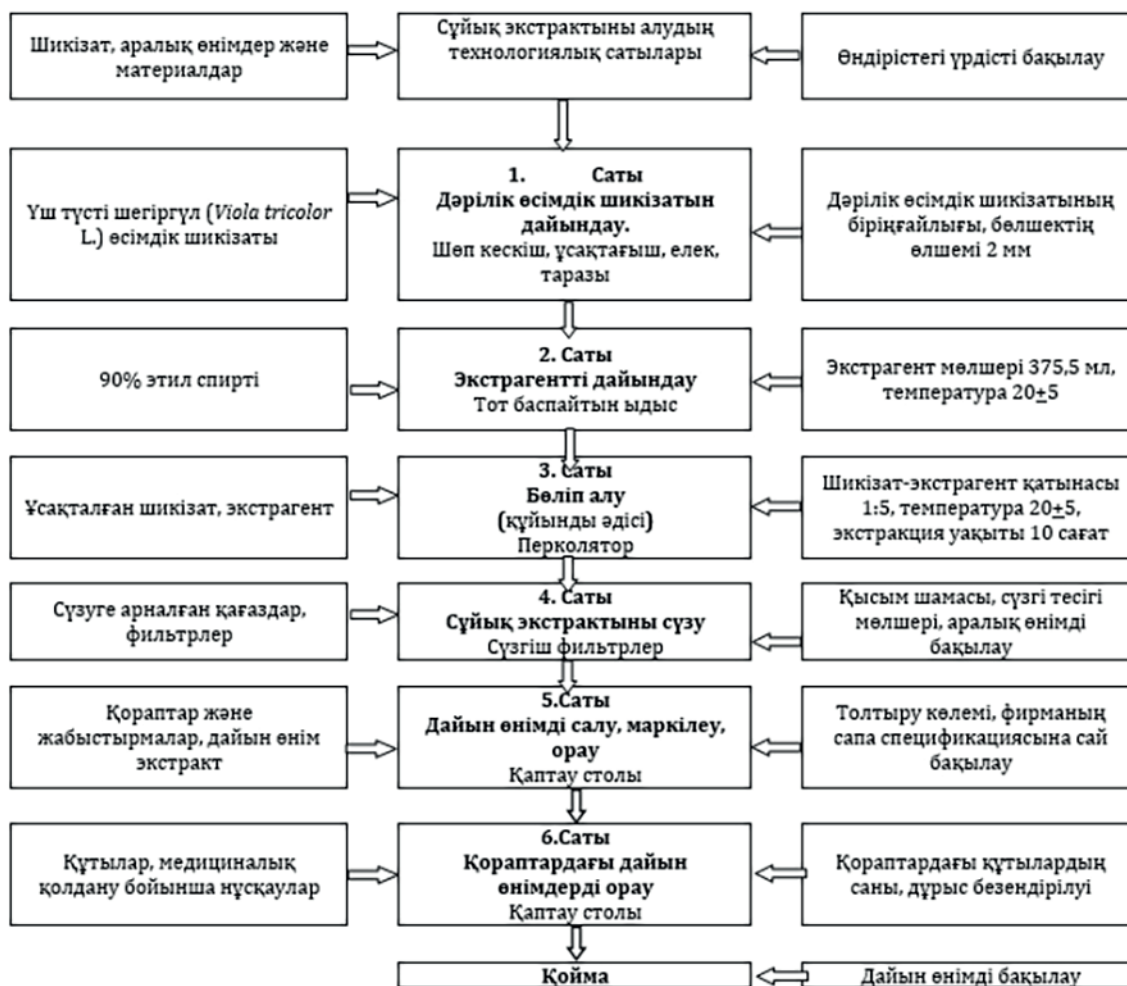
4 кезең. Фильтр қағаздары арқылы бөлу. Алынған экстракт қондырғыда 20+5°С жоғары емес температурада сүзілініп алынады.

Сүзілген сығынды контейнерде жиналады. Аралық өнімдерді бақылау этанол (64%-дан кем емес), белсенді немесе құрамды заттардың тығыздығы (0.885-0.887г/3), ауыр металдарға арналған сынау (0.001% аспайды) бойынша жүргізіледі. Этанолдың мазмұны (64%) қайнау нүктесімен және дистилляция әдісімен анықталады.

5 кезең. Қаптау, таңбалау және дайын өнімді орамдау. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік экстрактысын құтыларға қаптау түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік экстрактысы резеңке тығынмен және бұрандалы қаппақшамен қапталған 50 мл құтыға құю машинасы арқылы оралады. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік экстрактысын құтыда таңбалау кезінде жапсырма өндіруші, дайындық атауы, сериялық нөмірі, талдау нөмірі, өндірілген күні көрсетілетін құтыға бекітіледі.

6 кезең. Қорапқа орау пакеттері. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік экстрактысы бар флакондар картон қораптарға немесе пакет қораптарға салынады. Әрбір қорапқа өнімнің атауы мен өндірушінің сауда белгісі белгіленеді.

Дайын өнім. Дайын өнімді бақылау орталығына жі-



Сурет 4 - Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан сұйық экстракт алудың технологиялық сызбасы

береді.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан алынған экстракттардың фитохимиялық құрамын зерттеу

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен (7890A/5975C) Алматы қаласында «Табиғи өнімдер мен технологияларды ғылыми-зерттеу институты» ЖШС базасында зерттелінді.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан құйынды әдісімен алынған сұйық экстракттың құрамын масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы төмендегі талдау шарттарына сәйкес жүрізілді [10].

Талдау шарттары:

- үлгінің көлемі 2,0 мкл;
- үлгіні енгізу температурасы 250°C;
- бөлу ұзындығы 30 м, ішкі диаметрі 0,25 мм және пленка қалыңдығы 0,25 мкм болатын DB-35ms хроматографиялық капиллярлық баған;
- 1 мл/мин тасымалдаушы газ гелий;
- хроматографиялау температурасы 40°C-тан 5°C/мин

қыздыру жылдамдығымен 280°C-қа дейін бағдарламаланды;

- талдау уақыты 63 минут;
- анықтау режимі SCAN M/Z 34-750.

Газ хроматография жүйесін басқару, алынған нәтижелер мен деректерді тіркеу және өңдеу үшін Agilent MSD chemStation (1701ea нұсқасы) бағдарламалық жасақтамасы қолданылды. Деректерді өңдеу ұстау уақытын, шыңдардың аудандарын анықтауды, сондай-ақ масс-спектрометриялық детектор арқылы алынған спектрлік ақпаратты өңдеуді қамтыды. Алынған масс-спектрлерді декодтау үшін Wiley 7th edition және NIST'02 кітапханалары пайдаланылды.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан құйынды әдісімен алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы зерттелу нәтижесінде 26 органикалық қолылыс бөлінді, талдау нәтижелері 3-кестеде және хроматографиялық нәтижесі 6-суретте көрсетілген. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан ультра дыбыстық (УД) экстракция және құйынды әдістерімен алынған сұйық экстракттардың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы

әдісі арқылы зерттеу нәтижесінде әр түрлі биологиялық белсенді қосылыстар анықталды, олардың ішінде органикалық қышқылдар, флованоидтар, терпеноидтар, стероидтар, кумариндер және т.б. класстарға жататын органикалық қосылыстар анықталды.

Жоғарыда көрсетілген кестелерде келтірілген биологиялық белсенді заттар ішінен пайыздық мөлшері ең жоғары қосылыстар:

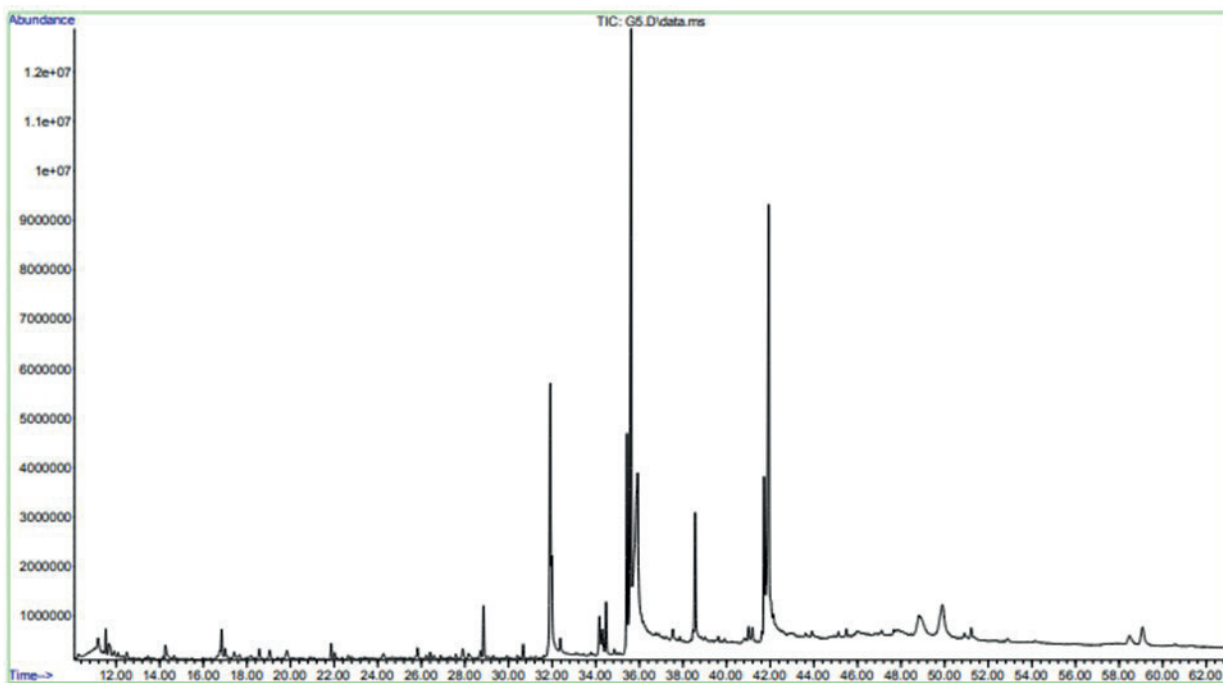
Гексадекан қышқылы немесе пальмитин қышқылы -

2,65% - 4,05 %, формуласы $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{O}_2$, негізгі тобы ретінде май қышқылдарына жататын, табиғатта ең көп таралған бір негізді қаныққан карбон қышқылы болып саналады [11].

Пальмитин қышқылы стеарин (стеарин қышқылымен қоспасы), напалм, жуғыш заттар мен косметика, майлау майлары мен пластификаторлар өндірісінде қолданылады. Пальмитин қышқылы косметикалық препараттардағы тіндерді, теріні, ағашты, эмульгаторды гид-

Кесте 3 - Құйынды әдісі арқылы алынған экстракттың хроматографиялық талдау нәтижелері

№	Ұсталу уақыты, мин	Қосылыстар	Сәйкестендіру ықтималдығы, %	Пайыздық мазмұны, %	Функционалды тобы
1	11,18	1,2-Циклопентандион, 3-метил-	67	1,36	Қанықпаған көмірсутек
2	11,53	Додекан	92	0,62	Алкан
3	11,68	Бензолацетальдегид	92	0,16	Альдегид
4	14,27	1Н-пиррол, 2,5-дигидро-	75	0,72	Терпен
5	16,85	Тетрадекан	92	0,84	Алкан
6	21,87	Гексадекан	89	0,42	Алкан
7	25,83	2 (4Н) - Бензофуранон, 5,6,7,7 а-тетрагидро-4,4,7 а-триметил-	82	0,44	Алкан
8	28,86	2-Пентадеканон, 6,10,14-триметил-	87	1,37	Монотерпен
9	30,68	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	85	0,42	Май қышқылы
10	31,99	Гексадекан қышқылы	90	4,05	Май қышқылы
11	32,38	Сірке қышқылы, 2-(2,2,6-триметил-7-окса-бицикло[4.1.0]гепт-1-ил) - пропенил эфирі	63	0,79	Май қышқылы
12	34,17	Фитол	89	1,42	Дитерпен
13	34,31	13-Октадец қышқылы, метил эфирі	83	1,22	Май қышқылы
14	34,48	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z) -, метил эфирі	91	1,50	Май қышқылы
15	35,44	Этил олеаты	89	6,89	Эфир
16	35,63	9,12-Октадекадиен қышқылы, этил эфирі	86	20,62	Май қышқылы
17	35,92	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z)-	92	19,75	Май қышқылы
18	37,54	Этил 9.цис.,11.транс.-октадекадиеноат	75	0,47	Карбон қышқылы
19	38,56	Глицидол стеараты	71	4,07	Флаваноид
20	41,01	9-Октадец қышқылы (Z) -, 2-гидрокси-1 - (гидроксиметил) этил эфирі	72	0,65	Май қышқылы
21	41,19	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z) -, 2,3-дигидроксипропил эфирі	76	0,63	Май қышқылы
22	41,73	9-Октадец қышқылы (Z) -, 2,3-дигидроксипропил эфирі	73	5,36	Май қышқылы
23	41,94	Бутил 9,12-октадекадиеноат	80	18,31	Карбон қышқылы
24	42,16	Трицикло [20.8.0.0(7.16)]триактан, 1(22),7(16)- диэпокси -	66	1,15	Флаваноид
25	49,90	Трицикло [20.8.0.0(7.16)]триактан, 1(22),7(16)- диэпокси -	71	5,03	Флаваноид
26	59,08	Е, Е, Z-1,3,12-Нонадекатриен-5,14-диол	64	1,75	Флаваноид



Сурет 5 – Құйынды әдіспен алынған экстрактың Хроматограммасы

рофобизациялау үшін композициялардың құрамдас бөлігі ретінде қолданылады және сабындарының құрамдас бөлігі, косметикалық препараттар ретінде де пайдаланылады [12, 13].

Этил олеаты - 6,40% - 6,89%, - С20Н38О2 - олеин қышқылы мен этанолдың конденсациясынан түзілген май қышқылының күрделі эфиірі, тері мен шашты кондиционерлеу, хош иістендіргіш, жұмсартқыш компонент. Этилолеат құрамында стероидтер сияқты липофильді заттар бар фармацевтикалық препараттардың ингредиенті ретінде қолданылады. Ас қорыту жүйесіндегі тез ыдырауына байланысты этилолеат дәріханаларда бұлшықет ішіне дәрі-дәрмек енгізу үшін орта ретінде қолданылады. Кейбір жағдайларда қосылыс жүктілікті сақтау үшін прогестеронның тәуліктік дозаларын дайындауда қолданылады [14, 15]. Октадекадиен қышқылы - 42,72 %- 45,73 %, С18Н32О2, - полиқанықпаған май қышқылының мысалы болып табылады. Бұл соя, жүгері, рапс сияқты өсімдік майларында кездесетін негізгі май қышқылы. Ол маргарин, пісіру майлары, сондай-ақ сабын, эмульгаторлар және тез кептіру майларын өндіру үшін қолданылады [16].

Линол қышқылы - адам рационында кездесетін ең көп тұтынылатын полиқанықпаған май қышқылдары. Линол қышқылы бауыр мен бауырдан тыс тіндерге жеткізіледі, өйткені хиломикрондар жолда делипидтеледі және бауыр әлдеқайда аз қалдық бөлшектерге ауысқанда тазартылады. Жасушалық сіңіруден кейін линол қышқылының тағдыры тіндердің қажеттіліктерімен анықталады, яғни мембраналық фосфолипидтерге қосылу, десатурация және ұзарту және т.б [17].

Линол қышқылының жетіспеушілігі (яғни, майсыз көктамыр ішіне тамақтандыру) терінің қабыршақты зақымдалуына, өсудің баяулауына және плазмалық май қышқылы мен тромбоцитопенияның өзгеруіне әкелуі мүмкін. Осылайша, линол қышқылының диеталық анықтамалық дозалары сәйкесінше 19-50 жас аралығындағы әйелдер мен ерлер үшін 12 г / тәулік және 17 г / тәулік үшін барабар дозаларды құрайды. Деректер дені сау адамдардың орташа тұтынуына негізделген [18]. Линол қышқылының негізгі диеталық көздері өсімдік майлары, жаңғақтар, тұқымдар, ет және жұмыртқа болып табылады.

Глицерил стеарат - 3,99 % - 4,07 % - глицерин мен стеарин қышқылының туындысы болып табылатын химиялық зат. Оның иісі жоқ, кілегей немесе түссіз рең бар, дәмі тәтті. Глицерил стеараты өзінің қасиеттеріне байланысты косметологияда әртүрлі ингредиенттерді біріктіруге қабілетті эмульгатор ретінде кеңінен қолданылады. Ол суспензиялар мен эмульсиялардың түзілуін жақсартады, бұл оны диспергатор деп атауға мүмкіндік береді. Сондай-ақ, оның артықшылықтарының қатарына сақтау кезінде компоненттердің бөлінуіне жол бермеу және сақтау мерзімін ұзарту, теріні ылғал шығармайтын және адамды барлық жерде қоршап тұрған бос радикалдардың өтуіне жол бермейтін қорғаныс тосқауылымен қамтамасыз ету мүмкіндігі кіреді. Эмульгатор, пленка жасаушы, шаш ұстағыш, эмульсия тұрақтандырғышы, шашқа арналған кондиционер, теріні жұмсартады және ылғалдандырады [19].

Бутил 9,12-октадекадиеноат - 17,36 % - 18,31 %, С22Н40О2 - екі оқшауланған қос байланысы бар бір негізді карбон қышқылы. Суда ерімейтін, бірақ көпте-

ген органикалық еріткіштерде жақсы еритін ашық сары майлы сұйықтық [20].

Бутил 9,12-октадекадиеноатының көптеген қасиеттері белгілі:

- Жүректің жұмысына оң әсер етеді.
 - Холестериннің жалпы мөлшерін азайтады.
 - Қан қысымын қалыпқа келтіреді.
 - Иммунитетті күшейтеді.
 - Дененің қартаюын баяулатады.
 - Денеге қоршаған ортаның қолайсыз факторларына бейімделуге көмектеседі.
 - Инсулинге сезімталдықты арттырады.
 - Когнитивті функцияны жақсартады.
 - Әйелдердің ұрпақты болу жүйесіне оң әсер етеді.
 - Эпидермистің трансдермальды су тосқауылын сақтауға көмектеседі.
 - Майлардан энергияның пайда болуына ықпал етеді.
 - Бұлшықет жасушаларын өсуге ынталандырады [21].
- Трицикло триаконтан - 13,32 % - 6,18 %, С30Н52О2 – флавоноидтар тобына жататын, антиоксидантты және бактерияға қарсы белсенділік көрсететін биологиялық белсенді зат [22].

Талқылаулар

Халық медицинасында үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдігі тері бөртпелерін емдеуде, диуретикалық құрал ретінде кеңінен пайдаланылады. Сондай-ақ, аллергияға және микробқа қарсы және ауруды басытын қасиетке ие. Өсімдіктің седативті әсері ұйқысыздық, жүйке бұзылулары мен шамадан тыс қозу кезінде қолдануға мүмкіндік береді. Қазіргі ғылыми медицинада үш түсті шегіргүл созылмалы респираторлық аурулар кезінде қақырық түсіретін дәрі ретінде қолданылады [23].

Үш түсті шегіргүлдің емдік қасиеті орасан зор болғанымен бұл өсімдік негізінде препараттар жоқтың қасы. Шетелдік ғылыми жұмыстарды қарастыра келе, нәтижесінде бұл өсімдік көбінесе косметикалық мақсатта қолданылады екен. Мәселен, Оңтүстік Корея зиянсыз, емдік әсер көрсететін, жасартатын косметика өндіруден алдыңғы қатарлы елдердің бірі. Оңтүстік Кореяда үш түсті шегіргүл экстракты (*Viola tricolor L.*) негізінде жасалған кремдер, сарысулар мен бет күтіміне арналған маскалар кеңінен қолданыс тапқан. Олар ағартатын, нәрлендіретін, әжімге қарсы әсер көрсетеді. Экстракт сулы-спирт экстрагенті қатысында алын-

ған. Шикізат ретінде жер үсті бөліктері қолданылған. Ал Украинада үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) гүлдерінен СО₂ экстракциясымен алынған экстракт шашқа арналған сусабындар, кондиционерлер мен лосьондар алуға қолданылады. Өсімдік гүлдерінің құрамындағы сапониндер, алкалоидтар, каротиндер, С витамині және эфир майларының болуына байланысты, экстракт шашты нығайтады және нәрлендіреді, тоник және дезинфекциялық белсенділікті көрсетеді, шаштың түсуі мен қайызғақты болдырмайды.

Зерттеу жұмыстарын жүргізе келе, құйынды әдіспен алынған сұйық экстракттың құрамында флавоноидтар, терпендер, май қышқылдары мен эфирлер бар екені расталды. Құрамы флавоноидтарға бай экстракт қабынуға қарсы әсер көрсетіп, алдағы уақытта дәрілік препараттар алуға негізгі компонент ретінде қолданылуға мүмкіндік береді.

Қорытынды. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан құйынды әдіспен экстракт алып, алынған экстракттың құрамындағы биологиялық белсенді заттарды зерттеу әрекеті жасалды.

Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатының фармакологиялық қасиеттері: антигистаминді, қан тазартқыш, диафоретикалық, қабынуға қарсы қасиеттерді көрсетеді. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан экстракт алу барысында шикізаттың құрамындағы экстрактивті заттардың шығуына экстрагенттің әсері, яғни этил спиртіннің 40 %, 70 %, 90 % - дық концентрацияда есептелінді, нәтижесінде 90 % - дық концентрациядағы этил спиртінде экстрактивті заттар көп мөлшерде шығатындығы есептелінді. Экстрагент ретінде қолданылатын 90% этил спиртіннің қажетті көлемін есептеу жүргізілді, Әдебиеттік шолулар барысында Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатының спиртті сіңіру коэффициенті 2,15 сан мәніне тең, сол бойынша сұйық экстракт 1:1 қатынасында дайындалды. Сұйық экстракт алуға қажет шикізат пен экстрагент мөлшері 583 мл болды. Экстракциялау әдісі ретінде құйынды экстракция әдісі қолданылды. Үш түсті шегіргүл (*Viola tricolor L.*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен зерттелінді. Зерттеу нәтижесінде сұйық экстракттың құрамында биологиялық заттар бөлінді.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Амирханова А.Ш., Устенова Г.О., Тургумбаева А.А. Тықыр кекіре (*Oxytropis glabra Lam.DC*) дәрілік өсімдік шикізаты негізінде экстрактысын алудың технологиялық ерекшеліктері // Вестник КазНМУ. – 2017. – №2. – С. 291-292..
- 2 Блинова К. Ф. и др. Ботанико-фармакогностический словарь : Справ. пособие / Под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлева. — М.: Высш. шк., 1990. — С. 251.
- 3 Ботаника. Энциклопедия «Все растения мира» / Пер. с англ.; ред. Д. Григорьев и др. — Kölnmann, 2006 (рус. изд.). — С. 925.
- 4 Устенова Г.О. Применение экстракции в фармацевтической технологии. — Алматы, 2011. — С. 21-59.
- 5 Амирханова А.Ш., Устенова Г.О., Тургумбаева А.А., Әбіжанова Б.Б. Дәрілік өсімдік шикізаты тықыр кекіре (*Oxytropis glabra Lam.DC*.) шикізатының сандық көрсеткішін анықтау // ОҚМФА Хабаршысы. – 2017. - № 3. 53-56 бб.
- 6 Заготовка, выращивание и переработка лекарственных растений. Полудённый Л.В., Журавлев Ю.П. *Viola tricolor L.* Фиалка трехцветная. – 2017. С.15-18.

- 7 Д.М.Мухамеджанова, И.А.Самылина, А.А.Сорокина и др. / Изучение возможности получения сухих экстрактов из лекарственных сборов // Тезисы междунар. конф. «Инновации фармации XXI века». СПб, 2015.- С.91.
- 8 Т.С.Шилина и др. / Изучение биологической активности сухого экстракта грудного сбора // Традиционная медицина. М. -2014. –С. 48-51.
- 9 Бедрин, А.К. Технология получения хвойного экстракта в порошке / А.К. Бедрин и др. // Современные проблемы лесохимии.- Нижний Новгород, 2009. С. 62-64.
- 10 T. Simoncini, S. Garibaldi, X. D. Fu et al. / Effects of phytoestrogens derived from red clover on atherogenic adhesion molecules in human endothelial cells / T. Simoncini, S. Garibaldi, X. D. Fu et al. // Menopause. 2018. - V. 15. - P. 542-550.
- 11 Sivakumar R., Jebanesan A., Govindarajan M., Rajasekar P. Larvicidal and repellent activity of tetradecanoic acid against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae) // Asian Pac. J. Trop. Med.-2014.- 4.- P. 706–710. 28
- 12 Yff B.T. et al. The pharmacological screening of *Pentania prunelloides* and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid // J Ethnopharmacol.- 2012.-79(1).- P. 101-7. 132
- 13 Santos C.C., Salvadori M.S., Mota V.G., Costa L.M., A.A. de Almeida, et al. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models // Neurosci J.-2013.- P. 1-9.
- 14 Shibula K., Velavan S. Determination of Phytocomponents in Methanolic Extract of *Annona muricata* Leaf Using GC-MS Technique // I.J.Pharm Phyto. Research.- 2015.-7(6).- P.1251-1255.
- 15 Leclercq, E. Determination of lactucin in roots of chicory (*Cichorium intybus* L.) by high-performance liquid chromatography / E. Leclercq // J. Chromatography A. – 1984. - Vol. 283. –P. 441–445.
- 16 Cicero A.F., et al., Hexanic maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic maca extracts // Andrologia. – 2012. –№34(3). –P.177-179.
- 17 Шевченко А.С., Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. Амино- и жирнокислотные составы казахстанского растения *Polygonum minus* // Химия природных соединений. – 2016. – №4. –С.660.
- 18 Shyur L.F., Yang N.S. Metabolomics for phytomedicine research and drug development // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2018. –№12. – P.66–71.
- 19 Palomer X., Pizarro-Delgado J., Barroso E., Vazquez-Carrera M. Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2018. – № 29 (3). – P.178-190.
- 20 Букеева А.Б., Кудайбергенова С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений.//Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2012. – №2. –С.192-195.
- 21 Коницев А.С., Баурин П.В. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки //Вестник МГОУ. – 2011. – № 3 –С. 49- 53.
- 22 Sharad V., Chaturvedi S. Isolation of Natural Products // American Journal of Emergency Medicine. – 2012. – № 2(3). – P. 584-599.
- 23 Кожные и венерические болезни // издатель и полиграфическое исполнение гродно, 80 гродненский государственный медицинский университет, лицензия лп № 292 от 02.08.18. 21-22 с.

REFERENCES

- 1 Amirhanova A.SH., Ustenova G.O, Turgumbaeva A.A. Tykyr kekire (*Oxytropis glabra* Lam.DC) darilik osimdik shikizaty negizinde ekstraktysyn aludyn tekhnologiyalyk erekshelikteri // Vestnik KazNMU. – 2017. – №2. – S. 291-292..
- 2 Blinova K. F. et al. Botanical and Pharmacognostic Dictionary : Reference Manual / Edited by K. F. Blinova, G. P. Yakovlev. - Moscow: Vysh. shk., 1990. - C. 251.
- 3 Botany. Encyclopedia "All Plants of the World" / Translated from English; ed. by D. Grigoriev et al. - Könemann, 2006 (Russian edition). - C. 925.
- 4 Ustenova G.O. Primenenie ekstrakcii v farmacevticheskoj tekhnologii. – Almaty, 2011. – S. 21-59.
- 5 Amirhanova A.SH., Ustenova G.O., Turgumbaeva A.A., Abizhanova B.B. Darilik osimdik shikizaty tykyr kekire (*Oxytropis glabra* Lam.DC.) shikizatyryn sandyq korsetkishin anyktau // OKMFA Habarshysy. – 2017. - № 3. 53-56 bb.
- 6 Harvesting, cultivation and processing of medicinal plants. Poludennyi L.V., Zhuravlev Y.P. *Viola tricolor* L. *Violet tricolor*. - 2017. C.15-18.
- 7 D.M.Mukhamedjanova, I.A.Samylyna, A.A.Sorokina et al. / Study of the possibility of obtaining dry extracts from medicinal collections // Theses of the international conference "Innovations of pharmacy of the XXI century". SPb, 2015.- P.91.
- 8 T.S.Shilina et al. / Study of the biological activity of dry extract of breast collection // Traditional Medicine. M. -2014. -C. 48-51.
- 9 Bedrin, A.K. Technology for obtaining coniferous extract in powder / A.K. Bedrin et al. // Modern problems of forest chemistry. - Nizhny Novgorod, 2009. C. 62-64.
- 10 T. Simoncini, S. Garibaldi, X. D. Fu et al. / Effects of phytoestrogens derived from red clover on atherogenic adhesion molecules in human endothelial cells / T. Simoncini, S. Garibaldi, X. D. Fu et al. // Menopause. 2018. - V. 15. - P. 542-550.
- 11 Sivakumar R., Jebanesan A., Govindarajan M., Rajasekar P. Larvicidal and repellent activity of tetradecanoic acid against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae) // Asian Pac. J. Trop. Med.-2014.- 4.- P. 706–710. 28
- 12 Yff B.T. et al. The pharmacological screening of *Pentania prunelloides* and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid // J Ethnopharmacol.- 2012.-79(1).- P. 101-7. 132
- 13 Santos C.C., Salvadori M.S., Mota V.G., Costa L.M., A.A. de Almeida, et al. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models // Neurosci J.-2013.- P. 1-9.
- 14 Shibula K., Velavan S. Determination of Phytocomponents in Methanolic Extract of *Annona muricata* Leaf Using GC-MS Technique // I.J.Pharm Phyto. Research.- 2015.-7(6).- P.1251-1255.
- 15 Leclercq, E. Determination of lactucin in roots of chicory (*Cichorium intybus* L.) by high-performance liquid chromatography / E. Leclercq // J. Chromatography A. – 1984. - Vol. 283. –P. 441–445.
- 16 Cicero A.F., et al., Hexanic maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic maca extracts // Andrologia. – 2012. –№34(3). –P.177-179.
- 17 Shevchenko A.S., Muzychkin R.A., Korulkin D.Yu. Amino- and fatty acid compositions of the Kazakh plant *Polygonum minus* // Chemistry of natural compounds. - 2016. - №4. - С.660.
- 18 Shyur L.F., Yang N.S. Metabolomics for phytomedicine research and drug development // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2018. –№12. – P.66–71.
- 19 Palomer X., Pizarro-Delgado J., Barroso E., Vazquez-Carrera M. Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2018. – № 29 (3). – P.178-190.
- 20 Букеева А.Б., Кудайбергенова С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений.//Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2012. – №2. –С.192-195.
- 21 Коницев А.С., Баурин П.В. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, преимущества, недостатки // Вестник МГУ. – 2011. – № 3 –С. 49- 53.
- 22 Sharad V., Chaturvedi S. Isolation of Natural Products // American Journal of Emergency Medicine. – 2012. – № 2(3). – P. 584-599.
- 23 Skin and Venereal Diseases // publisher and printing execution Grodno, 80 Grodno State Medical University, license lp № 292 from 02.08.18. 21-22 p.

Авторлар туралы мәліметтер:

Амирханова Акерке Шиынкуловна, PhD, «Фармацевтикалық технология» кафедрасының доценты, «С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ, Алматы, Қазақстан Республикасы, akerke_1706@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1479-3171>

Оспанова Ғалия Болатқызы, магистр, «Фармацевтикалық технология» кафедрасының ассистенті, «С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ, Алматы, Қазақстан Республикасы, asphen2017@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5971-0805>

Сведения об авторах:

Амирханова Акерке Шиынкуловна, PhD, доцент кафедры «Фармацевтической технологии», НАО «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д.Асфендиярова», Алматы, Республика Казахстан, akerke_1706@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1479-3171>

Оспанова Ғалия Болатқызы, магистр, ассистент кафедры «Фармацевтической технологии», НАО «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д.Асфендиярова», Алматы, Республика Казахстан, asphen2017@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5971-0805>

Information about the authors:

Amirkhanova Akerke, PhD, assistant professor of the Department of Pharmaceutical Technology, Asfendiyarov Kazakh national medical university, Almaty, Republic of Kazakhstan, akerke_1706@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1479-3171>

Ospanova Galiya, master, assistant of the Department of Pharmaceutical Technology, Asfendiyarov Kazakh national medical university, Almaty, Republic of Kazakhstan, asphen2017@mail.ru, ORCID <https://orcid.org/0009-0004-5971-0805>

Вклад авторов. Все авторы принимали равносильное участие при написании данной статьи.

Конфликт интересов – не заявлен.

Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами. При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами. Финансирование – не проводилось.

Авторлардың үлесі. Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

Мүдделер қақтығысы – мәлімделген жоқ.

Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ. Қаржыландыру жүргізілмеді.

Authors' Contributions. All authors participated equally in the writing of this article.

No conflicts of interest have been declared.

This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers. There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work. Funding - no funding was provided.