

«Қарағанды медицина университеті» КеАҚ

ӘОЖ 615.012.07:615.014:615.322:547.94:547.235

Қолжазба құқығында

БЕКИШЕВА ПЕРНЕШ ЖАЙДАРБЕКОВНА

***Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатынан лупинин
алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу**

8D07201 – «Фармацевтикалық өндіріс технологиясы»

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Ғылыми кеңесшілері:
фармацевтика ғылымдарының докторы,
қауымдастырылған профессор
Итжанова Х.И.
химия ғылымдарының кандидаты,
қауымдастырылған профессор
Нұрмағанбетов Ж.С.
шетелдік ғылыми кеңесші:
PhD, профессор Kukula-Koch W.

Қазақстан Республикасы
Қарағанды, 2026

МАЗМҰНЫ

	НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
	АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР ЖӘНЕ ҚЫСҚАРТУЛАР	6
	КІРІСПЕ.....	7
1	ХИНОЛИЗИДИНДІ ЖӘНЕ ПИРИДИНДІ АЛКАЛОИДТАР: ЖАҢА ПРЕПАРАТТАРДЫ ЖАСАУДАҒЫ ТИІМДІ ҚОСЫЛЫСТАР, ОЛАРДЫ БӨЛІП АЛУ ӘДІСТЕРІ, СИНТЕЗІ, ҚҰРЫЛЫМЫ ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ.....	12
1.1	<i>Anabasis</i> L. тұқымдасы өсімдіктерінің таралуы.....	12
1.2	Хинолизидинді, пиридинді алкалоидтардың жалпы сипаттамасы, өсімдіктердегі биосинтездің мүмкін жолдары және оларды бөліп алу әдістері.....	15
1.3	<i>Anabasis</i> L. тұқымдасының алкалоидтары - фармакологиялық белсенді қосылыстардың көзі ретінде, медицинада қолданылуы...	20
1.4	Алкалоидтарды бөлу үшін заманауи хроматографиялық әдістерді қолдану.....	24
1.5	Хинолизидинді алкалоидтары негізіндегі жаңа биологиялық белсенді қосылыстарды алу.....	28
2	ЗЕРТТЕУДІҢ МАТЕРИАЛДАРЫ ЖӘНЕ ӘДІСТЕРІ.....	32
2.1	Зерттеу материалдары.....	32
2.2	Зерттеу әдістері.....	34
3	ANABASIS SALSA (С.А. МЕУ.) BENTH. EX VOLKENS ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫН ФАРМАКОГНОСТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ ЖӘНЕ СТАНДАРТТАУ.....	47
3.1	Сортаң бұйырғын (<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens өсімдігінің шикізат қорын анықтау.....	47
3.2	Орталық Қазақстан аймағында өсетін <i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens өсімдігінің морфологиялық және анатомиялық құрылысын зерттеу.....	50
3.3	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens шикізатының технологиялық көрсеткіштерін зерттеу.....	56
3.4	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатындағы белсенді затты сандық анықтау және шикізаттың сапа спецификациясын жасау.....	61
4	ANABASIS SALSA (С.А. МЕУ.) BENTH. EX VOLKENS ШИКІЗАТЫНАН ТИІМДІ ЭКСТРАКТ АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫН ЖАСАУ ЖӘНЕ СТАНДАРТТАУ.....	67
4.1	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens шикізатынан экстрактивті заттарды алу технологиясы.....	67
4.2	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens экстрактысының химиялық құрамын ЖТСХ/ESI-QTOF-MS/MS әдісімен зерттеу.....	71
4.3	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Меу.) Benth. ex Volkens қою	

	экстрактынындағы лупининді сандық анықтау.....	79
4.4	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактының сапа спецификасын жасау.....	81
4.5	Ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын пайдалану арқылы белсенді қосылыстарды бөлу.....	83
4.6	Лупинин алкалоиды негізінде потенциалды биологиялық белсенді 1,2,3-үшазол туындыларын синтездеу.....	94
4.6.1	Лупинин туындыларының құрылысын физика-химиялық әдісітермен зерттеу.....	98
4.7	Лупининнің (1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин субстанциясының сапа көрсеткіштерін зерттеу.....	103
4.8	Лупининнің {1-(((1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин-1-ил)метил)-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3- <i>трет</i> -бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат субстанциясының сапа көрсеткіштерін зерттеу.....	110
4.9	(1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин субстанциясын алудың технологиялық сызбанұсқасын жасау.....	116
4.10	{1-(((1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин-1-ил)метил)-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3- <i>трет</i> -бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат субстанциясын алудың технологиялық сызбанұсқасын әзірлеу.....	118
5	ЭКСТРАКТЫЛАРДЫҢ, ЛУПИНИН АЛКАЛОИДЫНЫҢ ЖӘНЕ ОНЫҢ ТУЫНДЫЛАРЫНЫҢ ФАРМАКОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ.....	124
5.1	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактыларының микробқа қарсы белсенділігін агар диффузиясы әдісімен зерттеу...	124
5.2	<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстракттарының микробқа қарсы белсенділігін микросұйылту әдісімен зерттеу.....	126
5.3	Лупининнің Lup-43, Lup-41 субстанцияларының қауіпсіздігін, биологиялық белсенділігін зерттеу.....	132
5.4	Лупининнің Lup-43 субстанциясының ацетилхолинэстеразаны (AChE) тежеу белсенділігі.....	137
5.5	Лупининнің Lup-41 субстанциясының вирусқа қарсы белсенділігі.....	138
5.6	Сортаң бұйырғын (<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) өсімдік шикізатынан препараттарды алудың сызбанұсқасы.....	139
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	141
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ.....	143
	ҚОСЫМШАЛАР.....	155

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста келесі нормативтік құжаттарға сілтемелер қолданылған:

Халық денсаулығы және денсаулық сақтау жүйесі туралы Қазақстан Республикасының 2009 жылғы 18 қыркүйектегі №193-IV Кодексі. ҚР СТ 1617-2006. «Дәрілік затты өндіруші дәрілік заттардың тұрақтылығын зерттеулерді, оларды сақтау және қайта бақылау мерзімін белгілеуді жүргізу қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020 бұйрығы.

«Дәрілік заттарды таңбалау мен қадағалау және медициналық бұйымдарды таңбалау қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2021 жылғы 27 қаңтардағы № ҚР ДСМ-11 бұйрығы.

«Дәрілік заттар мен медициналық бұйымдарды сақтау және тасымалдау қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-19 бұйрығы.

«Дәрілік заттарды өндіруші әзірлеген және дәрілік заттарға сараптама кезінде дәрілік заттардың сапасы жөніндегі нормативтік құжатты мемлекеттік сараптама ұйымымен келісу қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-20 бұйрығы.

Дәрілік заттарды, медициналық мақсаттағы бұйымдар мен медициналық техниканы өндіру және олардың сапасын бақылау, сондай-ақ тұрақтылығына сынақтар жүргізу және сақталу мерзімі мен қайта бақылау мерзімін белгілеу ережесін бекіту туралы Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау Министрінің 2009 жылғы 19 қарашадағы №740 бұйрығы. Дәрілік заттарды, медициналық мақсаттағы бұйымдар мен медициналық техниканы өндіру және олардың сапасын бақылау, сондай-ақ тұрақтылығына сынақтар жүргізу және сақталу мерзімі мен қайта бақылау мерзімін белгілеу қағидаларын бекіту туралы Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау және әлеуметтік даму министрінің 2015 жылғы 25 тамыздағы № 680 бұйрығы. Биологиялық белсенді заттарды клиникаға дейінгі (клиникалық емес) зерттеу ережесін бекіту туралы Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау Министрінің 2009 жылғы 19 қарашадағы №745 бұйрығы. «Қазақстан Республикасында білім беруді және ғылымды дамытудың 2020-2025 жылдарға арналған мемлекеттік бағдарламасын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2019 жылғы 27 желтоқсандағы № 988 қаулысы. «Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау саласын дамытудың 2026 жылға дейінгі тұжырымдамасының» ҚР Үкіметі 2022 жылы 24 қарашада шыққан 945 қаулысы, 4-бөліміне сәйкес, инновациялық дәрілік препараттардың отандық фармацевтикалық өндірісі мен ұлттық санитарлы эпидемиологиялық қызметі, ішкі қажеттілікті, әлемдік фармацевтикалық нарықтан тәуелсіздікті және халықтың биоқауіпсіздігін қамтамасыз ету.

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы 1 т. - Алматы: «Жібек жолы» Баспа үйі, 2008. - 592 б.

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы 2 т. - Алматы: «Жібек жолы» Баспа үйі, 2008. - 720 б.

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы 3 т. - Алматы: «Жібек жолы» Баспа үйі, 2014. - 720 б.

ЖФМ.1.5.3.0003.15 «Дәрілік өсімдік шикізаты мен дәрілік өсімдік препараттарын микроскопиялық және микрохимиялық зерттеу техникасы».

ЖФМ.1.1.0013.15 «Химиялық эксперимент нәтижелерінің статистикалық өңделуі».

АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР ЖӘНЕ ҚЫСҚАРТУЛАР

АҚ	- Акционерлік қоғам
АТСС	- Американдық типтік культуралар жинағы
ББЗ	- Биологиялық белсенді заттар
ДМСО	- Диметилсульфоксиді
ЕАЭО Ф	- Евразиялық экономикалық одақ фармакопеясы
ЖҚХ	- Жұқа қабатты хроматограмма
ЖТСХ	- Жоғары тиімді сұйық хроматография
ИҚ	- Инфрақызыл
ҚР	- Қазақстан Республикасы
ҚР МФ	- Қазақстан Республикасы Мемлекеттік Фармакопеясы
ҚР ДСМ	- Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі
КеАҚ	- Коммерциялық емес Акционерлік қоғам
КТБ/мл	- Колония түзуші бірліктер/миллилитр
ҚарҰЗУ	- Қарағанды ұлттық зерттеу университеті
ҚМУ	- Қарағанды медицина университеті
ЛЭК	- Локальды этикалық комиссия
МемСТ	- Мемлекеттік стандарт
МБК	- Минималды бактерицидтік концентрация
МИК	- Минималды ингибиторлық концентрация
мл	- Миллилитр
м.ү.	- Миллиондық үлесі
НҚ	- Нормативтік құжат
ОТҮХ	- Ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясы
pH	- Сутектік көрсеткіш
СҮ	- Стандарттық үлгі
см	- сантиметр
T _{балқу}	- балқу температурасы, °C
УК	- Ультра күлгін
ЯМР	- Ядерлі магнитті резонанс
GACP	- Дәрілік өсімдіктерді тиісті іс-тәжірибемен өсіру және жинау
COSY	- Корреляционды спектроскопия
GMP	- Good manufacturing practice (тиісті өндірістік тәжірибе)
LD ₅₀	- Летальды доза (эксперименталды жануарлардың 50 %-ының өліміне әкелетін дозасы)
<i>in vitro</i>	- Тірі ағзадан тыс
δ	- Химиялық ығысу
Lup-43	- (1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-1-ил}метил)октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин
Lup-41	- {1-[(1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин-1-ил]метил]-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3- <i>трет</i> -бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат

КІРІСПЕ

Зерттеудің өзектілігі. Қазақстан Республикасының стратегиялық саясат бағыты импортталған дәрілік препараттардан жоспарлы тәуелділігін төмендету жолымен, яғни отандық өндіріс күштерін, шикізат ресурстарын, еліміздің ғылыми-техникалық потенциалын және фармацевтикалық өндірістердің базасында ғылымды көп қажет ететін технологияларды жасау болып табылады.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2022 жылғы 24 қарашадағы №945 қаулысымен бекітілген «Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау саласын дамытудың 2026 жылға дейінгі тұжырымдамасының» 4-бөліміне сәйкес, инновациялық дәрілік препараттардың отандық өндірісін дамыту және ұлттық санитарлық-эпидемиологиялық бақылауды күшейту арқылы елдің ішкі қажеттілігін қамтамасыз ету, жаһандық фармацевтикалық нарыққа тәуелділікті азайту, сондай-ақ халықтың биоқауіпсіздігін арттыру көзделген.

Мемлекет басшысы 2026 жылға дейін фармацевтикалық нарықтағы отандық өндірістің үлесін 50 %-ға жеткізу жөнінде міндет қойды. Осы мақсатта 2020-2026 жылдарға арналған фармацевтика өнеркәсібін дамытудың Кешенді жоспарын іске асыру аясында ҚР аумағында химиялық субстанциялар негізінде әртүрлі химиялық құрамдағы, фармакологиялық әсері кең дәрілік препараттар өндірісін жолға қою мәселесі айрықша мемлекеттік маңызға ие болып отыр.

Қазіргі кезеңде Қазақстан Республикасында ұлттық дәрі-дәрмек саясатын тиімді жүзеге асыру халықты сапалы, қауіпсіз және қолжетімді дәрілік құралдармен қамтамасыз етуге, шетелдік фармацевтикалық өнімдерге тәуелділікті төмендетуге және отандық дәрі-дәрмек өндірісін дамытуға бағытталған. Осы міндеттерді орындау жаңа дәрілік қосылыстарды іздестіруді, химиялық тектегі отандық дәрілік препараттарды әзірлеуді және оларды медициналық практикаға енгізуді талап етеді.

Шетелдік фармацевтикалық өнімдерге тәуелділіктің жоғары болуы отандық дәрі-дәрмек өндірісін ғылыми негізде дамытуды талап етеді. Осы бағытта биологиялық белсенді заттарға бай дәрілік өсімдіктерді зерттеу өзекті болып табылады. Қазақстан аумағында өсетін алкалоидтарға бай сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens) химиялық құрамы мен фармакологиялық әлеуеті жоғары, кең таралған және өнеркәсіптік мақсатта пайдалануға қолайлы перспективалы өсімдік ретінде қарастырылады.

Зерттеу барысында *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігінің құрамындағы биологиялық белсенді заттарды зерттеу, соның ішінде лупинин алкалоидын бөлу және химиялық түрлендіру мен олардың фармакологиялық әсерлерін анықтау маңызды міндеттердің бірі. Лупинин молекуласында белсенді гидроксил тобының болуы оның негізінде жаңа туындыларды синтездеуге мүмкіндік береді. Осыған байланысты тыныс алу орталықтарына ынталандырушы әсер ететін алкалоидтардың модификацияланған туындылары арасында функционалдық вирусқа қарсы және бактерияға қарсы конъюгаттарды іздеу кезек күттірмейтін және басым міндет болып табылады.

Осыған байланысты, жалпы халыққа қолжетімді фитопрепарат дайындау және құрамында алкалоидтары бар жергілікті, экологиялық таза шикізат негізіндегі вирусқа және бактерияға қарсы препараттардың жиынтығын кеңейту бойынша зерттеулер фармацевтиканың өзекті және практикалық маңызды мәселе.

Зерттеудің мақсаты. Биологиялық белсенді препараттардың субстанциялары ретінде лупинин алкалоидының негізінде жаңа қосылыстарды алу, стандарттау және технологиясын жасау.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

Осы мақсатқа жету үшін келесі міндеттерді шешу қажет:

1. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының морфологиялық, анатомия диагностикалық белгілерін және сандық көрсеткіштерін анықтау;

2. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөлігінен экстракт алудың оңтайлы технологиясын дайындау, химиялық құрамын зерттеу және сапасын бағалау;

3. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактынан лупинин алкалоидын бөліп алу және оның негізінде 1,2,3-үшазол қосылыстарын синтездеу;

4. Субстанциялардың сапа көрсеткіштерін анықтау, тұрақтылығы мен сақтау мерзімін белгілеу, нормативтік құжаттарды жасау және фармакологиялық зерттеулер жүргізу.

Зерттеу нысаны: *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізаты, қою экстракты, лупинин алкалоиды және оның туындылары.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

Алғаш рет Орталық Қазақстанда өсетін сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының фармакогностикалық талдау мен бағалау жүргізіліп, нормативтік құжаттардың жобалары жасалды. *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті және жер асты бөліктерінің (сабақтары, гүлшоғырлары және тамырлары) фитохимиялық зерттеу нәтижесінде 26 қосылыс алғаш рет ЖТСХ әдімен анықталды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатынан перколяция және мацерация әдістерімен қою экстракт алынып, алғаш рет оның құрамындағы лупинин алкалоидының сандық мөлшері анықталды.

Алғаш рет ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын қолдана отырып *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактынан лупинин алкалоидының бөліп алу жолы жасалды.

Лупинин алкалоиды негізінде оның 1,2,3-үшазол қосылыстарының синтезделу жолдары онтайландырылып, стандартталып, олардың алғаш рет алыну технологиясы жасалды. Синтезделген (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (Lup-43) және {1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lup-41) қосылыстарының биологиялық белсенділіктерін зерттеу нәтижесінде Lup-43 субстанциясының

АХЭ тежеу әсері бар екені, ал Lur-41 субстанциясы микробқа қарсы және H3N2 тұмау вирусының штаммына қарсы әсерін көрсетті. Субстанциялардың тұрақтылығы мен өткір уыттылығы зерттеліп, нормативтік құжаттардың жобалары жасалды.

Диссертациялық зерттеудің ғылыми жаңалығы Қазақстан Республикасының 14.06.2024 жылғы №10151 «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі», 27.02.2025 жылғы №10483 «Сортаң бұйырғын өсімдігінің этанолды экстрактын микробқа қарсы құрал ретінде қолдану» және 03.04.2025 жылы тіркелген №10740 «Антивирустық белсенділікке ие {1-(((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаты» пайдалы моделдеріне патент алынды.

Зерттеу әдістері: физика-химиялық, фармакогностикалық, фармацевтика-технологиялық, фармакологиялық, микробиологиялық, биологиялық және статистикалық әдістер.

Қорғауға шығарылатын мәселелер:

- *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының фармакогностикалық және әртүрлі мүшелерінің (сабақтарының, гүлдерінің, тамырларының) фитохимиялық зерттеулері;

- *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөліктерінен қою экстракт алу және одан әрі химиялық модификациялау үшін лупинин алкалоидын бөліп алу технологиясы;

- Ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын қолдана отырып, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөліктерінің экстрактынан лупинин алкалоидын бөліп алу технологиясы;

- Фармацевтикалық субстанциялар жасау мақсатында лупининнің жаңа туындыларын синтездеп алу технологиясы. Синтезделген қосылыстардың құрылысын қазіргі заманауи физика-химиялық әдістердің көмегімен дәлелдеу;

- Қосылыстардың биологиялық белсенділігі. Биологиялық белсенді субстанцияларды дайындау технологиясы, сапа көрсеткіштері мен сақтау мерзімі, қауіпсіздігі, тұрақтылығын анықтау бойынша зерттеу нәтижелері.

Алынған нәтижелердің тәжірибелік маңызы

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Қазақстан аумағындағы *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінің шикізат қоры анықталып фармакогностикалық зерттеулері жүргізіліп «Академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университеті» КеАҚ, биология-география факультетіне оқу процесіне енгізілді (Қосымша А, Б, В). *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатын дайындау технологиясы мен сапа спецификациясы, нормативтік құжаттарының жобалары дайындалды (Қосымша Е). Перколяция әдісімен *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens негізінде қою экстракт алынып, химиялық құрамы анықталды және стандартталды (Қосымша Ж). Осы өсімдік экстрактынан лупинин алкалоидын бөліп алу технологиясы ұсынылып, оның заманауи физика-химиялық әдістермен құрылысы дәлелденді және сапа көрсеткіштері зерттелінді.

Перколяция әдісімен сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) экстрактын алу технологиялық процесін жүзеге асыру «Қарағанды медицина университеті» КеАҚ, фармация Мектебінде жүргізіліп, оқу процесіне енгізілді (Қосымша И, К, Л). Алғаш *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөлігінен №10151 «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі» және №10483 «Сортаң бұйырғын өсімдігінің этанолды экстрактын микробқа қарсы құрал ретінде қолдану» пайдалы моделіне патенттер алынды (Қосымша С).

Лупинин алкалоиды негізінде жаңа туындылардың синтезі оңтайландырылды, алынған қосылыстардың химиялық құрылымын, биологиялық белсенділігін және қауіпсіздігін зерттеу нәтижелері ұсынылды. Синтезделініп алынған қосылыстар «Қарағанды медицина университеті» Фармация мектебінің, «Инфекцияға қарсы препараттар ғылыми орталығының» АҚ микробиология және вирусология зертханаларында, микробиология зертханасында сынақтардан өтіп акт енгізілді. Жедел уыттылықты зерттеу нәтижелері бойынша лупининнің 1,2,3-үшазол субстанциясының улы қасиеттері жоқ екені зерттелді (Қосымша М, Н, П, С, У, Ф, Х, Ц).

Лупининнің 1,2,3-үшазол жаңа туындылары негізінде биологиялық белсенді субстанцияны химиялық жасау диссертациялық жұмыстың нәтижелері бойынша «Қарағанды медицина университеті» зертханасына НҚ жобасы және субстанция алудың зертханалық регламенті әзірленді (Қосымша М, Н).

Лупининнің 1,2,3-үшазол туындылары (Lup-43, Lup-41) және *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің экстракты жоғары фармацевтикалық субстанциялар алу жолдарын негіздеу болашақта отандық жаңа дәрілік құралдардың жасалуына негіз болып, еліміздің фармацевтика өндірісінің дамуына үлес қоса алады.

Автордың жеке үлесі

Диссертациялық жұмыс тақырыбы бойынша диссертант отандық және шетел әдебиеттеріне өз бетінше шолу және талдау жүргізді, алдына қойылған барлық міндеттер бойынша тәжірибелік жұмыстары орындалды. Мұны заманауи жабдықтар мен әдебиеттерді пайдалана отырып, зертханалық және өндірістік жағдайларда алынған зерттеу нәтижелері растайды. Зерттеу нәтижелерінің дұрыстығы мен негізділігі орындалған жұмыстардың өзекті мәселесін шешуге бағытталуымен, заманауи зерттеу орталығында және жобаларда нормативтік құжаттардың орындалуымен расталады.

Диссертация нәтижелерінің апробациясы

Диссертациялық жұмыстың материалдары халықаралық және республикалық конференцияларда және симпозиумдарда:

Халықаралық конференция «Фармация - тек алға!» (Қарағанды 2023 ж.); Халықаралық конференция «V Халықаралық Симпозиумы «INNOVATIONS IN LIFE SCIENCES» (Белгород 2023 ж.); «VII Тәуелсіз Мемлекеттер Достастығының халықаралық кітап баспасы «Үздік жас ғалым – 2023» (Астана 2023 ж.); «Фармация Қазақстан» (Алматы 2023 ж.); «ХІ Жас ғалымдардың халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы «Денсаулық сақтау

технологияларының дамуының қазіргі заманғы үрдістері» (Мәскеу 2023 ж.); «Халықаралық ғылыми симпозиум «Өсімдіктен дәріге дейін» (Мәскеу 2025 ж.) баяндалды және талқыланды.

Жарияланымдар

Диссертациялық зерттеудің нәтижелері бойынша 14 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде:

- Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған басылымда 1 мақала;

- Web of Science және Scopus халықаралық дерекқорына кіретін басылымдарда 4 мақала, Q2, Q1;

- Республикалық және халықаралық ғылыми конференцияларда 6 тезис;

- Қазақстан Республикасының пайдалы моделіне 3 патент.

Жұмыстың мемлекеттік және ғылыми бағдарламалар жоспарымен байланысы. Зерттеу жұмысы 2024-2026 жылдарға арналған №АР23487712 «Дизайн и синтез соединений лидеров и их супромолекулярных клатратов в создании биоактивных субстратов нового поколения путем трансформации хинолизидинового остова лупинина», № 7966-Ф-24 «Пространственное строение и стереохимия производных алкалоидов хинолизинового ряда и сесквитерпеноидов гваянового ряда» гранттық жобалары аясында жүргізілді.

Диссертацияның құрылымы және көлемі

Диссертациялық жұмыс компьютерде терілген 154 бет мәтіннен, оның ішінде 37 кесте, 47 сурет, 148 отандық және шетелдік әдебиеттерден және 20 қосымшаларынан тұрады. Жұмыс кіріспеден, әдеби шолудан, материалдар мен әдістерден, жеке тәжірибелік зерттеулері бойынша бес бөлімнен және қорытындыдан тұрады.

1 ХИНОЛИЗИДИНДІ ЖӘНЕ ПИРИДИНДІ АЛКАЛОИДТАР: ЖАҢА ПРЕПАРАТТАРДЫ ЖАСАУДАҒЫ ТИІМДІ ҚОСЫЛЫСТАР, ОЛАРДЫ БӨЛІП АЛУ ӘДІСТЕРІ, СИНТЕЗІ, ҚҰРЫЛЫМЫ ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ

Фармацевтика өнеркәсібі заманауи дәрілердің 40%-дан астамын өсімдік тектес шикізаттан өндіреді. Дәрілік өсімдіктерді шикізат ретінде пайдалану өсімдіктердегі биоактивті заттардың (алкалоидтар, сесквитерпендер, полифенолды қосылыстар, экдистероидтар және т.б.) кең ауқымды фармакологиялық белсенділігімен байланысты.

Өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды (ББЗ) бөліп алу дәрілік препараттарды өндірудегі маңызды қадам. Алынған өнімнің тазалығы, шикізаттың сапасы және дәрілік препараттың құны биобелсенді заттарды алудың тиімділігі мен толықтығына, сондай-ақ бөліп алу технологиясына байланысты. Сондықтан фармацевтика өнеркәсібі үшін құнды шикізат болып табылатын ББЗ бөліп алудың заманауи, тиімді әдістерін талдау және іздеу сөзсіз теориялық және тәжірибелік қызығушылық тудырады.

Өсімдіктерден ББЗ алудағы негізгі қиындықтар келесідей: биологиялық белсенді заттарды бөліп алу еріткіштің, температураның, экстракция жағдайының және өсімдік шикізатындағы ферменттердің әсерінен олардың ыдырауымен қатар жүруі мүмкін. Өсімдіктерде көбінесе ұқсас химиялық құрылымдары мен қасиеттері бар бірнеше биогенетикалық байланысты қосылыстар кездеседі, бұл тапсырманы айтарлықтай қиындатады. Сондықтан экстракция процесі көбінесе бастапқы шикізатындағы биологиялық белсенді заттардың және басқа да байланысты табиғи қосылыстардың үйлесімінен тұрады. Тағы бір мәселе - белсенді заттың толық экстракцияланбауы, бұл шикізатты тиімсіз пайдалануға әкеледі.

1.1 *Anabasis L.* тұқымдасы өсімдіктерінің таралуы

Қазақстанның фармацевтикалық, медициналық және тамақ өнеркәсібінің дамуы тұрақты шикізат базасына негізделуі керек. Сондықтан, дәрілік өсімдіктер ресурстарын зерттеу өсімдік тектес дәрілерді өндіруде шикізатты практикалық пайдалану әлеуетін толық бағалау үшін өте маңызды.

Бұл тұрғыда ерекше қызығушылық тудыратыны - Қазақстан Республикасының өсімдік түрлерінде, соның ішінде бұйырғын шөбінде (*Anabasis L.*, *Chenopodiaceae Vent.* тұқымдасы) мол кездесетін хинолизидинді алкалоидтар анабазин және лупинин. Бұйырғын шөбі немесе *Anabasis* (латынша: *Anabasis*) - *Chenopodiodeae* тұқымдасына жататын бұталы өсімдіктер тұқымдасы. Бұл тұқымдастың түрлері әдетте біршама жуан, шырынды, айқын сегменттелген сабақтары бар жапырақсыз көпжылдықтар. Сондықтан *Anabasis* түрлерінің көпшілігі «қырық сегментті» деп аталады [1, 2].

Anabasis тұқымдасы шамамен 102 туыс пен 1400 түрді қамтиды. Бұл тұқымдас өкілдері негізінен тұзды батпақтарда, жартылай шөлейт аймақтарда

және басқа да қолайсыз табиғи орта жағдайларында өсетін аса маңызды өсімдіктердің қатарына жатады. Олар сондай-ақ алкалоидтар, сесквитерпендер, дитерпендер, тритерпендер, сапониндер, фенол қышқылдары, флавоноидтар және беталайн пигменттері сияқты биологиялық белсенді қосылыстарымен танымал. Ежелгі заманнан бері бұл өсімдіктер әртүрлі асқазан-ішек жолдарының ауруларын, қант диабетін, гипертонияны, жүрек-қан тамырлары ауруларын емдеу үшін, сондай-ақ ревматизмге қарсы және диуретикалық агенттер ретінде қолданылып келеді.

Алкалоидтар физиологиялық белсенділігі мен құрылымдық әртүрлілігіне байланысты зерттеушілердің назарын аударады. Бұл қосылыстардың құрылымында азот атомының болуы олардың бірегей химиялық және биологиялық қасиеттерін анықтайды. Осыған байланысты, бұрын Орталық Азияда өсетін *Anabasis aphylla* L. өсімдігінен бөлініп алынған лупинин және анабазин алкалоидтары және олардың туындылары айтарлықтай практикалық қызығушылық тудырады [3].

Бұйырғын түрлерінің алуан түрлілігі Орталық Азия мен Кавказ халықтарында бұл тұқымдасқа ортақ бірыңғай атаудың болмауынан ішінара көрінеді. Мысалы, *Anabasis aphylla* Қазақстанда итсигек, Түрікменстанда ульдрук және Әзірбайжанда олдурген деп аталады. *Anabasis aphylla* орысша атауы жапырақсыз бұйырғын шөбі. *Anabasis salsa* және оған жақын *Anabasis ramosissima* түрі өзбек тілінде биюргу деп аталады, ал көптеген түрлері кырк-бугум деп аталады.

Бұйырғын шөбінің әртүрлі түрлері жемісінің табиғаты бойынша да ерекшеленеді: кейбір түрлерінде қанатсыз, жидек тәрізді жемістер болады; басқаларында, соның ішінде *Anabasis aphylla* L., қанатты, құрғақ жемістер болады. Бұйырғын шөбінің 30 түрінің 26-сы КСРО-да кездеседі. Жиырма екі түрі Орталық Азияда кездеседі, оның ішінде 10 түрі оған және Оңтүстік Қазақстанға тән.

Бұйырғын шөбінің көптеген түрлері қолайсыз қоршаған орта жағдайында өсе алады. Орталық Азияда олар көбінесе тақырлар мен тақыр тәрізді аймақтардың жалғыз мекендеушілері болып табылады. *Anabasis salsa* және *Anabasis ramosissima* Үстірт, Бедпақдала және Қызылқұмның солтүстік-батысындағы кең аумақтарды мекендейді.

Бірнеше ботаниктер *Anabasis* тұқымдасын таксономиялық тұрғыда зерттеді. Тұқымдас үшін тек екі жүйе бар: Коговин гүл шоғырының құрылымына сүйене отырып, екі бөлімді ажыратады және *Anabasis aphylla* автор тұқымдастың жас бұтағы деп санайтын *Monanthus* Eug. Kor. бөліміне орналастырады. Ильин бірнеше белгілеріне (жапырақ құрылымы, жеміс түрі және т.б.) сүйене отырып, төрт бөлімді ажыратады. Бұл жүйеде *Anabasis aphylla* L. автор да жас деп санайтын *Euanabasis* Vge бөліміне орналастырылған. Кеңес Одағында ашылған алғашқы алкалоид анабазин болды, оны 1929 жылы академик А.П. Орехов Орталық Азия өсімдігі *Anabasis aphylla* L. бөліп алды. Кейіннен А.П. Орехов Г.П. Меньшиковпен және әріптестерімен бірге анабазиннің құрылымын анықтады. Анабазиннен басқа, өсімдіктен лупинин,

афиллидин, афиллин және басқа да алкалоидтар бөлініп алынып, анықталды [4].

Anabasis aphylla L. Қазақстанның жазық аумағында, Орта Азия Республикаларында, Әзірбайжанда және Ресейдің еуропалық бөлігінің оңтүстік-шығыс аймақтарында өседі. Қазақстан флорасында қора шөптерінің 17 түрі кездеседі. *Anabasis aphylla* L. - көпжылдық өсімдік, биіктігі 50 см-ге дейін жететін бұта. Тамырының қалыңдығы, ұзындығы 12 метрге дейін ағаш тәрізді. Сабақтары ағаш тәрізді. Біржылдық өркендері сегменттелген, шырынды, цилиндр тәрізді, жапырақсыз. Гүлдері ұсақ, ақ немесе қызғылт түсті, сабақтары мен бұтақтарының ұшында жиналады. Өсімдік Каспий және Арал теңіздерінің маңында, Маңғыстау түбегінде, Бетпақдалада, Мырзашөлдің сазды шөлдерінде, сондай-ақ шөлді жерлерде де кездеседі [5, p.71; 6].

Н.Г. Гемеджиеваның еңбектерінде бұйырғын шөбінің 4 түрі алкалоидты өсімдіктерге жататынын атап өтті [7]. Сирек кездесетін эндемикалық түрлерге мыналар жатады: *Anabasis jaxartica* (Bunge) Benth. бұрынғы Volkens, *Anabasis turgaica* Пјин және Krasch. және *Anabasis gypsicola* Пјин [8, 9]. Қазақстанның өсімдік жамылғысын бұйырғын шөбінің *Anabasis salsa*, *Anabasis aphylla*, *Anabasis cretacea*, *Anabasis eriopoda*, *Anabasis hispidula*, *Anabasis ramosissima*, *Anabasis truncata* сияқты 7 түрі құрайды. Оның ішінде *Anabasis salsa* Қазақстанның өсімдік жамылғысында 13 синтакс жасайды, онда ол бірінші орында басым, орасан зор аумақтарды алып жатыр (30 млн. га-дан астам), екінші орында басым 7 синтаксис, басқа сортаңдармен бірге екінші орында доминанттылыққа қатысатын 6 синтаксис.

Бұйырғын түрлері *Anabasis cretacea*, *Anabasis eriopoda*, *Anabasis hispidula*, *Anabasis ramosissima* және *Anabasis truncata* басымдық жағынан екінші орында төрт синтаксисті біріктіреді, олар кең таралмаған және олардың жалпы ауданы бірнеше ондаған мың гектардан аспайды. *Anabasis aphylla* L. аймақтық топырақтарда шамадан тыс жайылым кезінде өседі, ал ауылдардың айналасында ені 100-200 метрге дейін тығыз қопалар түзеді [9, с.29].

Қазақстанда дәрілік өсімдіктердің 1000-нан астам түрі өседі, олардың шамамен 160 таксоны ресми түрде қолданысқа енгізілген. Дегенмен, Қазақстанның барлық аймақтары жеткілікті түрде жақсы зерттелмегенін атап өткен жөн. Осылайша, Оңтүстік-Шығыс, Оңтүстік, Шығыс және Орталық Қазақстанның жабайы дәрілік флорасы ең көп зерттелген, ал Солтүстік және Батыс Қазақстанның аумақтары нашар зерттелген. Маңғышлақ тәжірибелік ботаникалық бағының [10] ботаниктері Атырау облысындағы (Батыс Қазақстан) ең көп таралған дәрілік өсімдіктердің шикізат қорын зерттеді. Олар Желтау тауларының сазды беткейлері мен жазық ойпаттарында 126,0 гектар аумақта *Anabasis aphylla* L. қопаларын анықтады. Жер үсті мүшелерінің өнімділігі 395 кг/га құрады, пайдалануға жарамды қоры 49,77 тонна деп бағаланды, шикізат жинау көлемі 24,89 тонна болды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens - көпжылдық жартылай бұталы, жартылай шөпті өсімдік. Бұталар мен ергежейлі бұталардан айырмашылығы, жаңаратын бүршіктері бар өскіндердің тек төменгі бөлігі ғана

ағашты болып, қыс бойы көптеген жылдар бойы сақталады, ал жоғарғы шөпті бөлігі жыл сайын суық ауа райының басталуымен өліп, жылы ауа райының басталуымен қайтадан өседі. Ғылыми еңбектерде көбінесе дәстүрлі медицинада *Anabasis salsa* кеңінен қолданылуы туралы айтылады, ол негізінен Орталық Азияда өседі. Бұл қазақ-Орталық Азияның оңтүстік даласы мен жартылай шөлейт түрі [7, с.8.; 11]. *Anabasis salsa* Арал-Каспий теңізі, Балқаш, Қызылқұм, Сырдария, Қарсақпай, Төменгі Еділ, Ертіс, Баку, Жоғарғы Тобыл аймағы, Жоңғария, Қашғар [12] бойына таралған, сондай-ақ Қытайдың солтүстігіндегі Шыңжаңда өседі, ол ауыл шаруашылығында инсектицид ретінде қолданылады [13].

Осылайша, *Anabasis* туысының кейбір өсімдіктерінің таралу нәтижелері ұсынылған. Бұл өсімдіктер антиоксидантты, бактерияға қарсы, ангиогенді, жараға қарсы, гипогликемиялық, гепатопротекторлық, қант диабетіне қарсы және басқа да қасиеттері сияқты фармакологиялық белсенділіктерімен танымал. Осы фармакологиялық белсенділіктердің барлығын әртүрлі елдердің ғалымдары тәжірибе жүзінде зерттеген.

Бұл зерттеулердің нәтижелері, сондай-ақ *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens түрін дәрілік шикізат ретінде пайдалану мүмкіндіктерін зерттеу және оған негізделген дәрілік заттарды әзірлеу өзекті.

1.2 Хинолизидинді, пиридинді алкалоидтардың жалпы сипаттамасы, өсімдіктердегі биосинтездің мүмкін жолдары және оларды бөліп алу әдістері

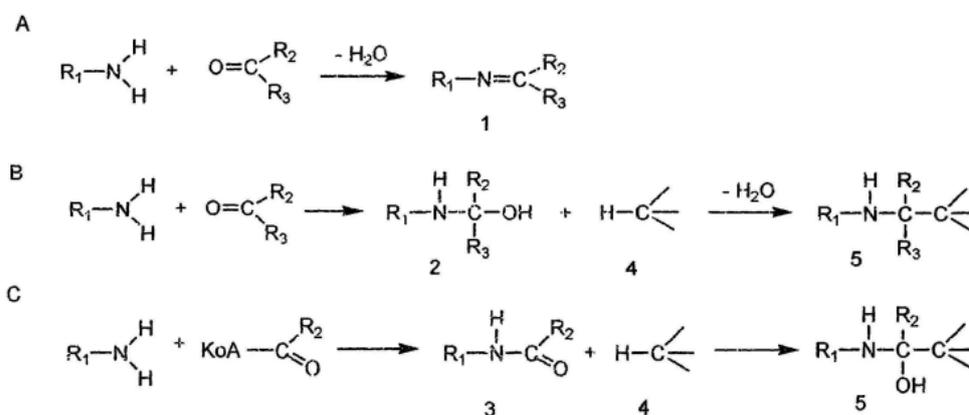
Алкалоидтар, кең спектрлі фармакологиялық белсенділігі бар табиғи қосылыстардың перспективалы класы ретінде, 100-ден астам дәрілік препараттардың белсенді ингредиенттері болып табылады [14]. Атап айтқанда, хинолизидин (лупинин, лупанин), пиридин (анабазин, анабазамин) алкалоидтары.

Хинолизидин алкалоидтары (лупин алкалоидтары) молекуладағы хинолизидин ядросын қамтиды. Шамамен 200 өкіл бар. Хинолизидин алкалоидтары бұршақ тұқымдасының (*Leguminosae*), люпин (*Lupinus*), сыпырғыш (*Cytisus*), пагода ағашының (*Sophora*), термопсис (*Thermopsis*), құмды шөптің (*Ammodendron*) және аммотамнустың (*Ammothamnus*) өсімдіктерінен, сондай-ақ chenopodiaceae, бөріқарақат (*Berberidaceae*), көкнәр (*Rapaceae*) және су лалагүлдері (*Nymphaeaceae*) сияқты басқа тұқымдастардың кейбір өсімдіктерінен бөлініп алынған.

Би-, три-, тетрациклді және димерлі хинолизидин алкалоидтары бар. Олардың барлығы келесі топтарға бөлінеді: 1) лупинин; 2) цитизин; 3) спартеин; 4) матрина; 5) ормосанин; 6) 9b-азафенален. Бірінші топ лупининнен, оның эфирлерінен, 1 немесе 3 позициядағы кетопиперидил орынбасарымен құрылымдық аналогтарынан және нуфаридин типті алкалоидтардан тұрады. Лупинин (1-гидроксиметилхинолизидин; Mr. 169.27) - түссіз кристалл, 69°C

температурада; ол бастапқы спирт тобында лупин қышқылына дейін тотығады [15].

Chenopodiaceae тұқымдасының бұйырғын шөбінде (*Anabasis aphylla* L.) кездесетін анабазин пиридин және пиперидин циклдерінен тұратын бициклді конденсацияланбаған жүйенің туындыларының кіші тобына жатады (1-сурет) [16].



1 - азометин (Шифф негізі), 2 - N-гидроксиметил туындысы, 3 - амид қышқылы, 4 - СН-қышқыл компоненті, 5 - конденсация өнімі.

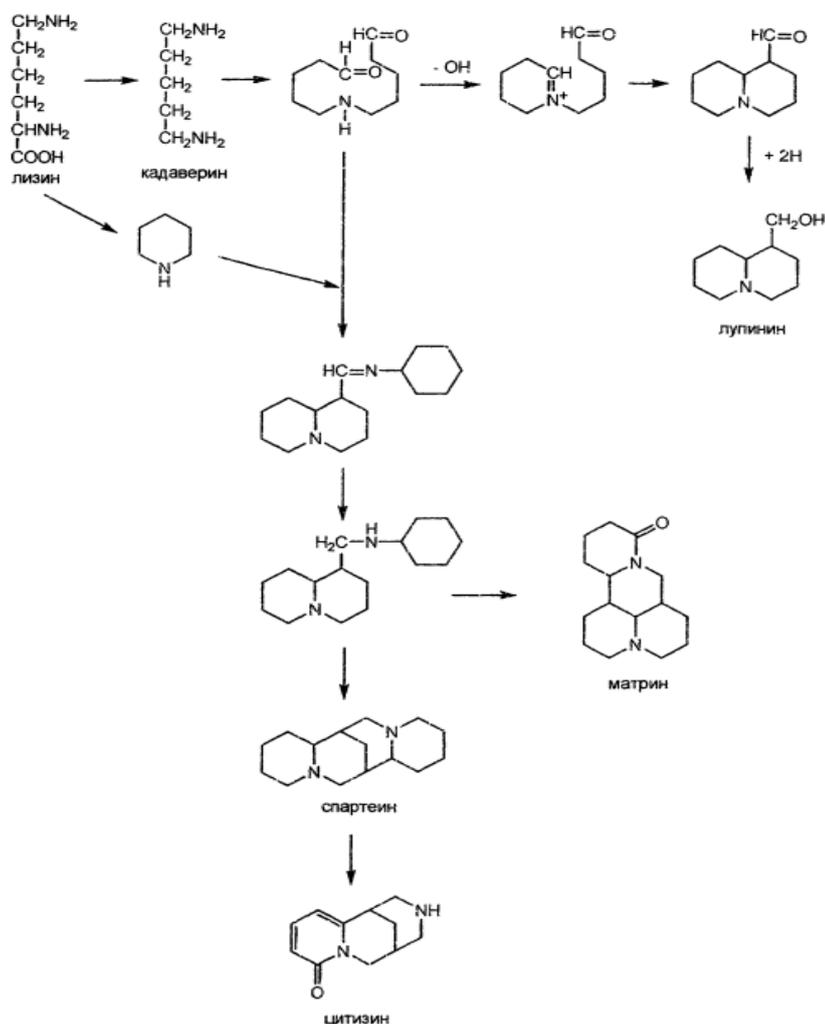
Сурет 1 - C-N байланыстарының түзілуі алкалоидтардың биосинтезі

Кез келген алкалоидтың биосинтезіндегі ең маңызды кезең, сөзсіз, олардың алифатты қосылыстары алғашқы циклденуі болып табылады, бұл ең қарапайым азот құрамды гетероциклдердің пайда болуына әкеледі, олардан әртүрлі комбинацияларда осы қосылыстардың негізгі циклдік өзегі құрылады. Молекулада нақты гетероциклді құрылымдардың болуы алкалоидтарды жіктеудің негізін құрайды.

Әдеби деректерде пиперидин сақинасының *Anabasis aphylla* L. алкалоидтарының негізгі құрылымдық бірлігі екенін сенімді түрде айтуға мүмкіндік береді. Бұл гетероцикл пипекол қышқылы мен оның туындыларының биосинтезі кезінде, сондай-ақ әртүрлі топтарға жататын көптеген алкалоидтардың биосинтезі кезінде лизин есебінен түзіледі. Лизин есебінен пиперидиннің биосинтезі негізінен соңғысының декарбоксилденуін қамтиды деген болжам бар. Ұзақ уақыт бойы лизин туындыларының аралық қосылыстары мен оның прекурсорлары туралы мәселе ашық қалды. Алкалоидтардың пиперидин сақиналарының түзілуі тек лизин немесе кадаврин есебінен ғана емес, сонымен қатар ацетат есебінен де жүруі мүмкін екені белгілі [17, 18].

Алкалоидтардың биосинтезін зерттеуде олардың ізашары ретінде «лизин жолы» пайдаланылды. Азот құрамды гетероциклдердің түзілуінің бастапқысы аминқышқылдары немесе олардың декарбоксилдену өнімдері - аминдер болып табылады. Метаболизм картасынан көрініп тұрғандай, лизин цитизиннің,

анабазиннің, лупининнің, спартеиннің және басқа алкалоидтардың тікелей ізашары болып табылатын амин кадавриніне айналады (2-сурет) [19, 20].



Сурет 2 - *Anabasis L.* тұқымдасы алкалоидтарының биосинтезі

Алкалоидтардың құрылымы әлдеқайда әртүрлі, сондықтан олардың өсімдіктерде пайда болуы туралы бірыңғай гипотезаны, тіпті бірыңғай теорияны ұсыну мүмкін емес. Осы себепті, олардың барлығының, әртүрлі құрылымдарына қарамастан, барлық өсімдіктерге ортақ бірыңғай биологиялық рөлді атқаратынын қабылдау қиын. Алкалоидтар құрылымдық жағынан соншалықты алуан түрлі, сондықтан олардың өсімдіктерде пайда болуы туралы бір ғана гипотезаны, тіпті бір ғана теорияны ұсыну мүмкін емес. Сол себепті, олардың барлығы құрылымдық жағынан әртүрлі болғанымен, барлық өсімдіктерде бірыңғай, ортақ биологиялық рөл атқаратынын қабылдау қиын [20, с.8].

Алкалоидтар өсімдіктердің әртүрлі бөліктерінде 1-15% дейінгі мөлшерде кездеседі. Өсімдіктердегі алкалоидтар әдетте 20 немесе одан да көп кездеседі, олардың көпшілігі химиялық құрамы бойынша ұқсас. Олар өсімдік шикізаттарынан алынған экстрактыларда тұз немесе негіздер түрінде кездеседі.

Көп жағдайда өсімдік шикізаттарынан алкалоидтарды бөліп алу процесі үш негізгі кезеңге бөлінеді:

- 1) өсімдік шикізаттарынан алкалоидтарды бөліп алу;
- 2) алынған экстрактыларды тазарту;
- 3) жалпы алкалоидтар сомманы бөлу және алкалоидтарды тазарту.

Өсімдік шикізаттарында әдетте бір емес, бірнеше алкалоидтар болады, және көп жағдайда алкалоидтардың барлығы немесе көпшілігі (алкалоидтар қосындысы немесе соммасы) өсімдік шикізаттарынан өңдеу кезінде алынады. Бір «керек» алкалоидты басқаларынан бөлу, алкалоидтар қосындысын жеке қосылыстарға бөлу өте қиын. Көптеген алкалоидтардың физикалық және химиялық қасиеттері әртүрлі болғандықтан, бірыңғай бөлу схемасын ұсыну қиын. Алкалоидтар қосындысын жеке заттарға бөлудің көптеген әдістері және олардың әртүрлі модификациялары сипатталған. Біз тек алкалоидтар қосындысын бөлудің негізгі принциптерін ғана сипаттап көрсетейік.

Алкалоидтарды органикалық еріткіштердегі ерігіштігінің әртүрлілігіне қарай бөлу

Алкалоидтар мен олардың тұздарының әртүрлі еріткіштердегі ерігіштігінің айырмашылықтары бөлу мен тазартудың ең көп қолданылатын әдістерінің негізі болып табылады.

1. Экстракция кезінде алынған бастапқы қышқылды ерітіндіден «алкалоидтар қосындысын» экстракциялау кезінде де қоспаны ішінара бөлуге әртүрлі араласпайтын органикалық еріткіштерді қолдану арқылы қол жеткізуге болады. Мысалы, сілтіленген ерітіндіні этил эфирімен шайқаған кезде алкалоидтардың бір бөлігі эфирге бөлінеді, ал басқалары сулы ерітіндіде қалады және тек хлороформ немесе бензол сияқты басқа еріткішті қолдану арқылы экстракцияланады. Әдетте бұл бөлу тек шамамен бірінші фракциялауды білдіреді.

2. Еріткішті әртүрлі органикалық еріткіштермен (петролей эфирі, бензол, хлороформ және т.б.) буландырғаннан кейін алынған қалдықты (алкалоидтардың қосындысын) тізбектей өңдеу арқылы кейбір жағдайларда алкалоидтардың қосындысын ішінара бөлуге қол жеткізуге болады.

Алкалоидтарды әртүрлі негіздік күштері бойынша бөлу

Әдіс әртүрлі алкалоидтардың әртүрлі «негіздік күштері» бар екеніне негізделген, мысалы:

1. Егер барлық алкалоид тұздарын негізге айналдыру үшін жеткіліксіз мөлшердегі сілтімен әртүрлі негіздік қасиеттері бар алкалоид тұздарының сулы ерітіндісі қосылса, ең әлсіз негіздердің тұздары алдымен ыдырайды, ал күштірек негіздер қышқылмен байланысқан күйінде қалады (әлсіз негіздік қасиеттері бар алкалоид тұздары әрекеттеседі, ал күштірек негіздер тұз ретінде қалады). Мұндай ерітіндіні органикалық еріткішпен өңдеген кезде, пайда болған бос алкалоидты негіздер органикалық еріткішке ауысады, ал күштірек алкалоидты негіздердің тұздары сулы қабатта қалады. Осыдан кейін, сулы ерітіндіге екінші рет белгілі бір (жеткіліксіз) мөлшерде сілті қосылады, содан кейін ерітінді органикалық еріткішпен қайтадан өңделеді. Тұздардан

ығыстырылған күштірек алкалоидты негіздер органикалық еріткіштің жаңа бөлігіне ауысады. Қалған сулы қабатқа көбірек сілті қосылады және алкалоидты тұздар толығымен бос негіздерге айналғанша осылай жалғасады.

Осылайша, әлсіз алкалоидты негіздер органикалық еріткіштің бірінші фракцияларында, ал күштіректері соңғысында болады.

2. Егер органикалық еріткіштегі алкалоидтардың бос негіздері қосындысының ерітіндісіне аз мөлшерде қышқыл қосылса, бірақ бүкіл массаны бейтараптандыруға жеткіліксіз болса, күшті негіздік қасиеттері бар алкалоидтар алдымен қышқылмен әрекеттеседі, ал әлсіз негіздер бос қалады. Осылайша, фракциялық сілтілеудегідей, қышқылдың аз мөлшерін пайдаланып, органикалық еріткіштегі ерітіндісінен алкалоидтарды фракциялық түрде алу арқылы алкалоидтар олардың "негізгі күшіне" сәйкес бөлінген фракциялар қатарын алуға болады - алғашқы фракцияларда алкалоидтардың күшті негіздері болады, ал кейінгі фракцияларда әлсіз негіздері болады.

Жалпы алкалоидтарды хроматография арқылы бөлу (әртүрлі адсорбциялық қабілеттерге негізделген)

Бұл әдіс алкалоидтарды тазарту және бөлу үшін қолданылады. Алкалоидтарды бөлу олардың әдетте әртүрлі адсорбциялық қабілеттерге ие болуына негізделген.

Хроматографиялық әдіс құрамында бірнеше алкалоид бар ерітіндіні немесе экстрактіні тиісті адсорбент салынған баған арқылы өткізуді қамтиды. Ерітінді адсорбент қабатына толығымен енгеннен кейін, баған тиісті органикалық еріткішпен немесе бірнеше еріткіштердің қоспасымен жуылады (яғни, десорбция жүреді), және бағаннан ағып жатқан сұйықтықтың жеке фракциялары жиналады. Бұл жеке алкалоидтарды немесе алкалоидтардың онша күрделі емес қоспасын қамтитын бірнеше фракцияны береді. Қажет болған жағдайда жеке фракциялар қайта хроматографияланады. Жеке фракцияларды одан әрі стандартты өңдеу жеке қосылыстарды бөліп алуға мүмкіндік береді. Хроматографиялық адсорбция өнеркәсіпте кеңінен қолданылады.

Алкалоидтарды қайнау температурасы бойынша бөлу

Бұл әдіс қоспадағы алкалоидтардың қайнау температурасы айтарлықтай ерекшеленетін кезде қолданылады. Егер қоспада ұшқыш алкалоидтар болса, оларды фракциялық айдау арқылы бөлуге болады. Мысалы, кониин және конгидрин (гемлоктан алынған алкалоидтар) қайнау температурасы бойынша айтарлықтай ерекшеленеді. Айдау әдетте төмендетілген қысыммен жүзеге асырылады [16, с.91].

Өсімдіктерден биоактивті заттарды бөліп алудың барлық қолданыстағы әдістерін экстракция және айдау деп бөлуге болады. Хроматографиялық әдістер тазарту, бөлу және препараттық бөліп алу үшін де қолданылады. Әдісті таңдау негізінен бөлініп алынатын қосылыстың қасиеттерімен анықталады.

Ең кең таралған әдістер - *экстракция әдістері* [21-23]. Оларға дәстүрлі әдістер, мысалы, мацерация - тұнбалау (тұнбалар мен экстракттар өндірісінде қолданылады) жатады. Мацерацияны орындау оңай және қымбат жабдықты қажет етпейді. Дегенмен, мацерация кезінде белсенді заттар толығымен

алынбайды (90%-дан аз); процесс көп уақытты алады, себебі диффузия процесінің жылдамдығы төмен; экстракттарда балласттық заттардың (жоғары молекулалық қосылыстар, пектиндер, шырыш, ақуыздар және т.б.) мөлшері жоғары; еңбекті көп қажет етеді (екі рет басу, ұнды жуу); экстрагенттің диффузия және булануы кезінде айтарлықтай шығындар; араластыру қиын, себебі өсімдік массасы инфузиялық ыдыстың түбінде ісінген.

Өсімдік шикізатынан халықаралық стандарттарға сай келетін және жоғары өнімділікпен және сандық өнімділігі өзгермеген құрылымы бар компоненттерді алумен сипатталатын ББЗ алудың заманауи әдістерін енгізу әлемдік нарықта бәсекеге қабілетті, кең ауқымды фармакологиялық әсерге ие отандық заттарды өндіруді жолға қоюға мүмкіндік береді [23, с.219; 24].

1.3 *Anabasis* L. тұқымдасының алкалоидтары - фармакологиялық белсенді қосылыстардың көзі ретінде, медицинада қолданылуы

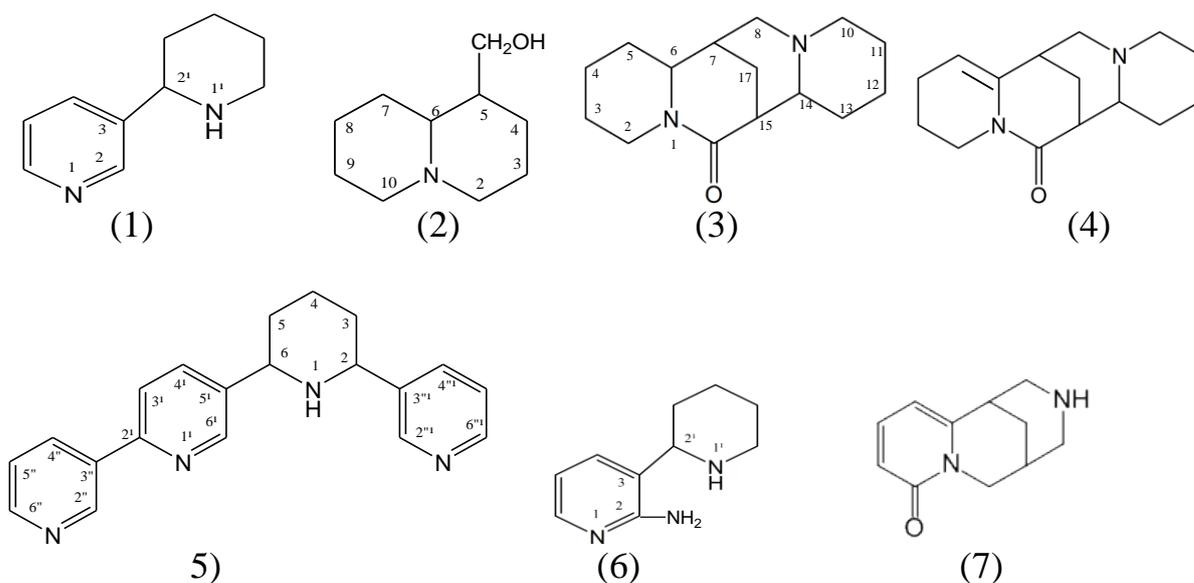
Қазақстан флорасы дәрілік өсімдік шикізаттарының алуан түрлілігімен сипатталады, олардың көпшілігін өнеркәсіптік ауқымда пайдалануға болады. Жоғары тиімді және уыттылығы төмен шөптік препараттарға деген қажеттілік биологиялық белсенді заттарды зерттеу және өсімдік шикізаттарынан дәрілік өнімдерді әзірлеумен байланысты. Бұл елдің денсаулық сақтау жүйесінің импорттық дәрі-дәрмектерге тәуелділігін жүйелі түрде азайтады. Бұл мақсатқа жету үшін отандық өндірістік қуаттарды, шикізатты және ғылыми-технологиялық әлеуетті пайдалану қажет. Сондықтан биологиялық белсенді қосылыстардың әлеуетті көздерін іздеу және дәрілік өсімдік шикізаттарынан заттар алу технологиясын әзірлеу шұғыл қажет.

Дәрілік заттардың арсеналында шөптік препараттар басым екені белгілі, олардың шамамен 30%-ында алкалоидты қосылыстар, олардың функционалдық туындылары немесе басқа азот құрамды туындылары бар. Бірнеше елдің ғалымдары *Anabasis aphylla* L. өсімдігі бойынша қарқынды зерттеулер жүргізуде. А.П. Орехов, С.Ю. Юнусов, К.Д. Саргин, А.С. Садыков, С.К. Клышев, Х.А. Асланов, Р.Т. Тлегенов, М.Ж. Журинов, А.М. Газалиев, С.М. Адекенов, Е.Е. Шульц және басқа ғалымдары бұл өсімдік түрін зерттеуге айтарлықтай үлес қосты. Олар алкалоидтардың негізгі құрамын анықтап, сонымен қатар бөлінген алкалоидтарды химиялық түрде өзгертті.

Ресми медицинада *Anabasis aphylla* L. фармацевтика өнеркәсібінде қолданылады және сонымен қатар алкалоидтарды – анабазин (1) және лупинин (2) алу үшін шикізат ретінде қызмет етеді. Анабазин бұрынғы Кеңес Одағында 1929 жылы академик А.П. Орехов [25] *Anabasis aphylla* L. өсімдік шикізаттарынан бөліп алған алғашқы алкалоид болды.

Өсімдікте анабазин негізінен оксалат түрінде кездеседі. Анабазин жалпы алкалоидтардың 60%-ын құрайды, 5-тен 95%-ға дейін. Күзде кесінділер тегістелген сайын анабазин мөлшері азаяды, бірақ аязға дейін жоғары болып қалады. Әлемдік ғылым бұл дәруменді мұқият зерттей бастады, бірақ оның барлық бірегей дәрілік қасиеттері әлі күнге дейін түсініксіз. Анабазиннен басқа,

өсімдікте басқа да алкалоидтар бар: лупинин (2), афиллин (3) және афиллидин (4) (3-сурет).



Сурет 3 - *Anabasis aphylla* L. шикізатының алкалоидтары

Anabasis aphylla L. алкалоидтарының деңгейі ең жоғары деңгейге жетеді, жазда 2,36%-ға, ал күзде 14,14%-ға жетеді. *Anabasis* алкалоидтары өсімдіктер әлемінде кең таралған. *Anabasis*-те олар негізінен жер үсті бөліктерінде (0,54-1,095%), ал тамырларында төменірек (0,17-0,26%) кездеседі. Бұл таралуды *Anabasis* метаболизмінің тотығу-тотықсыздану процестеріне қатысатын алкалоид анабазиннің ерекше рөлімен түсіндіруге болады. *Anabasin* гүлдену кезінде де, дамудың соңғы кезеңдерінде де жиналады, себебі ол азот алмасуына белсенді қатысады: оның мөлшері жазда 1,26%, ал күзде 1,44% құрайды.

Барлық алкалоидтар суда және органикалық еріткіштерде жақсы ериді. Алкалоидтармен қатар шикізат құрамында органикалық қышқылдар (13-тен 26% -ға дейін), соның ішінде қымыздық қышқылы (7-17%) және пектин заттары (17-20%) бар. Өсімдік күлге (20% -ға дейін) бай, оның құрамында 14% калий, 16% натрий және көптеген сирек кездесетін элементтер бар [26-27].

Қытай ғалымдары алғаш рет *Anabasis aphylla* L. шөбінен жаңа пиридин алкалоидын, 2-(пиридин-3-ил)-6-(2-(пиридин-3-ил)пиридин-5-ил)пиперидинді (5), сондай-ақ *Anabasis aphylla* L. жер үсті бөліктерінен үш белгілі алкалоид, N-метиланбазин (6) және анабазинді бөліп алуда табысқа жетті. Олардың құрылымы спектроскопиялық талдау арқылы анықталды [28].

Фармацевтикалық қалдықтар өнімі болып табылатын анабазинді қолдану бірқатар жоғары тиімді дәрілердің жасалуына әкелді. Ташкент зауытында *Anabasis aphylla* L. инсектицид, анабазин сульфаты өндіріледі. Ол ауыл шаруашылығындағы зиянкестермен күресу үшін сәтті қолданылады. Анабазин сульфаты өнеркәсіптік түрде су-керосин әдісімен өндіріледі [29].

Сондай-ақ, 1933 жылы кеңес зерттеушілері қора шөптерінен метиланбазин (6) (анабазин туындысы) препаратын бөліп алғаны белгілі. Ол

тыныс алуды ынталандырады және кофеинмен бірге қолдану ұсынылады. Никотинге ұқсас қасиеттері ашылғаннан кейін, анабазин гидрохлориді темекі шегуді тоқтату құралы ретінде ұсынылды [30, 31]. Лупинин туындыларының жергілікті анестетикалық қасиеттері бар екені анықталды, бұл кокаин мен новокаинге қарағанда күштірек лупикаин сияқты жергілікті анестетиктердің дамуына әкелді.

Anabasis aphylla L. анабазинді бөліп алуды зерттеушілер Рабинович М.С. және Коновалов Р.А. жүргізді, олар осы мақсатта әртүрлі адсорбенттерді: кремний гелі, гумбрин, диатомды жер, тұнба және бентонитті сынап, адсорбциялық бөліп алу әдісін ұсынды. Осы адсорбенттердің ішінде бентонит анабазиннің 85%-ға дейін адсорбциялап, ең жақсы болып шықты, нәтижесінде адсорбенттің құрамында 4-4,5% алкалоид болды [32].

Бөлудің тиімдірек тәсілі - негіз қоспасын қандай да бір тұз түріне айналдыру. Осылайша, В.А. Шевелев, А.И. Банковский және Б.К. Росточкий [33] өсімдіктерден оксалат тұзы түрінде алкалоидтарды алуды және алкалоидтардың сулы ерітіндісін күн сәулесінде немесе бүріккіш кептіру арқылы буландыруды қамтитын техникалық анабазин оксалатын алу әдісін жасады.

Anabasis salsa және *Anabasis brevifolia* түрлерінің құрамында пиперидин қатарына жататын алкалоидтар, соның ішінде анабазин және оған туыстас қосылыстар кездесетіні анықталған. Бұл қосылыстар инсектицидтік, бактерияға қарсы және нейротропты белсенділік көрсетеді, сондықтан олар фармакологияда және ауыл шаруашылығында кеңінен зерттелуде. *Anabasis* туысының кейбір түрлері медицинада тыныс алу орталығын қоздыратын препараттарды алуға шикізат ретінде пайдаланылған. Сонымен қатар, бұл алкалоидтардың никотиндік рецепторларға әсер ету қабілеті олардың фармакологиялық маңызын арттырады. Сондықтан *Anabasis* туысына жататын өсімдіктердің алкалоидтық құрамы мен биологиялық белсенділігін зерттеу жаңа дәрілік заттарды іздеу тұрғысынан үлкен ғылыми қызығушылық тудырады. *Anabasis salsa* құрамында анабазиннің бірнеше изомерлері мен қосымша пиперидин алкалоидтары анықталды. Бұл қосылыстар инсектицидтік және бактерияға қарсы белсенділік көрсетеді [34].

Тағы бір маңызды түр – *Anabasis aretioides*. Зерттеулер бұл өсімдіктің антиоксиданттық және антидиабеттік белсенділік көрсететін биологиялық белсенді қосылыстарға бай екенін көрсетеді. Сонымен қатар бұл түрдің алкалоидтары қабынуға қарсы әсер көрсетті. Сол сияқты *Anabasis articulata* түрінің химиялық құрамы да зерттелген. Бұл өсімдіктен алынған экстрактілер цитоуытты, антиоксиданттық және қабынуға қарсы белсенділік көрсететіні анықталған. Сонымен қатар *Anabasis eriopoda* өсімдігінің құрамында да алкалоидтар, сапониндер және флавоноидтар кездеседі. Оның жапырақтары мен жемістерінде алкалоидтардың айтарлықтай мөлшері анықталған, бұл оны биологиялық белсенді заттардың табиғи көзі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді [35, 36].

Газ хроматография-масс-спектрометрия (GC/MS) арқылы *Anabasis articulata* өсімдігінің жапырақтарының алкалоидтық құрамына анализ жүргізілген және 6 түрлі алкалоид анықталған оның ішінде анабазин (1), лупинин (2) және цитизин (7). Осындай құрамдық ерекшеліктер *Anabasis articulata* биологиялық белсенді табиғи қосылыстардың перспективті көзі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді [37].

Қытай ғалымдары *Anabasis aphylla* L. өсімдігінің жер үсті бөліктерін зерттеді. *Anabasis aphylla* L. шикізаты этанолмен (95%) үш рет кері ағыммен экстракцияланды (әр процесс 3 сағатқа созылды) және төмен температурада шоғырландырылды. Алынған қою экстракт суда суспензияланды, этилацетат және хлороформмен кезекпен экстракцияланды. Содан кейін хлороформ мен этилацетат экстракттары кремний гелінде химиялық хроматографияға ұшырады. Фракциялар мұнай эфирімен және диэтиламинмен градиенттік элюциялау арқылы алынды (100:1-ден 50:1-ге дейін), фракциялар кезекпен RP C18 кремний гелінің бағанасында хлороформ-су жүйесімен элюцияланып (2:8-ден 4:6-ға дейін) әрі қарай тазартылды, алкалоидты қосылыстар 0,3% шығыммен алынды [38].

Қазақстанда хинолизидинді (цитизин және лупинин) және пиридинді (анабазин) алкалоидтарының химиясы бойынша алғашқы зерттеулерді академиктер М.Ж. Журинов пен А.М. Ғазалиев бастаған ғалымдар тобы, олардың студенттері және әріптестерімен бірге жүргізді. *Anabasis aphylla* L. өсімдігін зерттеуге Нұркенов О.А., Фазылов С.Д., Кулаков И.В., Мусина Л.А. және Нұрмағанбетов Ж.С. сияқты ғалымдар айтарлықтай үлес қосты, олар осы өсімдік шикізаттарынан алынған алкалоидтардың негізгі құрамын анықтады [39]. Қазіргі уақытта Өзбекстандағы көптеген ғылыми орталықтар (А.С. Садықов атындағы Биоорганикалық химия институты, Бердах атындағы Қарақалпақ мемлекеттік университеті, С.Ю. Юнусов атындағы Өсімдіктер химиясы институты), Ресейдегі (Н.Д. Зелинский атындағы Органикалық химия институты, РГА ГМ Н.Н. Ворожцов атындағы Органикалық химия институты, Фаворский атындағы Иркутск химия институты, Химиялық әртүрлілік ғылыми-зерттеу институты) және басқалары лупинин, цитизин және анабазиннің түрленуінің химиялық қасиеттерін зерттеп жатыр. Лупининге деген қызығушылық оның кең фармакологиялық әсеріне байланысты. Лупинин бактерицидтік, аздап тыныштандыратын әсерге ие және қысқа мерзімді антигельминтикалық және гипотензивті қасиеттерге ие [40].

Лупинин (2) таза түрінде қолданылмайды, ол жергілікті анестезия ретінде қолданылатын *лупикаин гидрохлоридін* өндіруге арналған шикізат ретінде қызмет етеді. Лупикаин гидрохлоридінің анестетикалық әсері кокаин мен новокаинге қарағанда айтарлықтай жоғары [41]. Осьтік гидроксиметил тобы бар транс-хинолизидин сақинасы бар лупинин азот атомының протондауына ұшырайды, оның конфигурациясы хинолизидин сақинасының *транс*-дан *цис*-жұпталуына өзгереді, осьтік гидроксиметил тобы экваторлық позицияға ауысады және трансформация бұрышының белгісі өзгереді. Лупининнің белгілі

туындыларының ішінде оның эфирлері ең көп зерттелген, айқын вирусқа қарсы және гепатопротекторлық белсенділікке ие [42].

Бірнеше жыл бойы Қазақстан Республикасының Органикалық синтез және көмір химиясы институты химиялық модификациялау және көптеген лупинин туындылары арасындағы құрылымдық-биологиялық белсенділік қатынастарының заңдылықтарын анықтау бойынша зерттеулер жүргізіп келеді. Хинолизидинді алкалоидтары лупинин (2) мен цитизиннің (7) химиясы саласындағы зерттеулердің қазіргі жағдайы мен болашағы қорытындыланады, оларды өсімдік шикізаттарынан бөліп алу әдістері және оларды химиялық модификациялау мүмкіндіктері талқыланады. Хинолизидинді алкалоиды лупининін модификациялау жоғары тиімді, селективті, стереоспецификалық биологиялық белсенді заттарды іздеуге кең мүмкіндіктер ашады.

1.4 Алкалоидтарды бөлу үшін заманауи хроматографиялық әдістерді қолдану

Алкалоидтар аминқышқылдары алмасуының өнімдері бола отырып, өсімдіктер мен адам метаболизмінде маңызды рөл атқарады. Алкалоидтар фармакологтардың назарын оларға негізделген емдік препараттарды әзірлеу үшін аударған алғашқы өсімдік тектес қосылыстардың бірі болды. Дегенмен, табиғи қосылыстардың осы класының жоғары фармакологиялық белсенділігі дәрілік формаларды әзірлеу кезінде қатаң мөлшерлеуді, сондай-ақ жеке заттарды алу және тазартудың сенімді әдістерін қажет ететінін ескеру қажет. Бұл қосылыстарға деген үлкен қызығушылықты осы тақырып бойынша көптеген басылымдар дәлелдейді. Алкалоидтарға арналған «Alkaloids, Chemistry and Pharmacology» атты көп томдық еңбектің өзі қазіргі уақытта 65 томнан тұрады. Алкалоидтардың химиясы, биосинтезі және фармакологиясы бойынша бірқатар тақырыптық монографиялар, жинақтар және көптеген шолу мақалалары халықаралық және отандық мерзімді басылымдарда жарияланған. Бұл шолуда алкалоидтарға негізделген әртүрлі тұқымдастардың өсімдік тектес дәрілік заттарының химиялық және технологиялық зерттеулерінің нәтижелері қарастырылады [43].

Алкалоидтарды бөлу жеке алкалоидтардың нақты физика-химиялық қасиеттеріне (ерігіштігі, қайнау температурасы, негізділігі, полярлығы) негізделген. Алкалоидтарды ұсақ дисперсті молекулалық сорбенттерге сорбциялау және оларды элюотропты еріткіштер қатарын пайдаланып селективті элюциялау (десорбция) (алкалоидтарды әртүрлі полярлығына қарай бөлу) алкалоидтарды бөлудің жеті негізгі әдісінің бірі болып табылады.

Бағаналы хроматография - алкалоидтарды ұсақ дисперсті адсорбенттерге бастапқы молекулалық адсорбциялауға, содан кейін жеке қосылыстарды әртүрлі полярлықтағы еріткіштермен селективті десорбциялауға (элюциялауға) негізделген алкалоидтарды бөлу әдісі. Алюминий оксидіне бағаналы хроматография - әртүрлі топтардың алкалоидтарын бөліп алу және алудың кең таралған әдісі және оларды қамтитын дәрілік препараттарды өндіруде

қолданылады [44-46]. Бағаналық хроматография ғылыми зерттеулерде де, фармацевтика өнеркәсібінде де алкалоидтарды бөлу және тазарту кезінде кеңінен қолданылатынына қарамастан [47], бұл бөлу әдісінің кемшіліктері бар, атап айтқанда, ол төмен бөлу жылдамдығымен, төмен өнімділікпен және айтарлықтай еңбек сыйымдылығымен сипатталады, қатты сорбенттер мен айтарлықтай мөлшерде улы органикалық еріткіштерді пайдалануды қажет етеді.

Орталықтан тепкіш үлестіру хроматографиясы (ОТҮХ) - қатты фазалы адсорбенттермен байланысты мәселелерді болдырмауға және бөлінетін қоспалардың химиялық тұтастығын сақтауға арналған салыстырмалы түрде қарапайым жобалау тәсілі. Орталықтан тепкіш үлестіру хроматографиясы - стационарлық және жылжымалы фазалар сұйық болатын, ал стационарлық фаза қуатты орталықтан тепкіш күшпен иммобилизацияланатын мамандандырылған хроматографиялық әдіс. ОТҮХ жоғары бөлу жылдамдығын қамтамасыз етеді, қатты сорбенттер мен қымбат элюенттерді пайдалануды болдырмайды және еріткіш шығынын 10 есеге азайтады, бұл мақсатты өнімнің құнын айтарлықтай төмендетеді.

ОТҮХ әдісімен сәтті бөлудің кілті - хроматографиялық еріткіш жүйесін дұрыс таңдау. Бұл технологияның артықшылықтарының бірі - егер еріткіш жүйесі тиімсіз болса және бөлу сәтсіз болса, үлгіні сандық түрде қалпына келтіруге болатын болса да, жұмыс жоғары сапалы мақсатты өнімдердің сандық шығуын қамтамасыз ететін оңтайлы еріткіш жүйесін таңдаудан басталуы керек. Бағаналы хроматографияның (БХ), жоғары тиімді сұйық хроматографиясының (ЖТСХ), флеш хроматографиясының (ФХ), сұйық хроматографиясының (СХ) және ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясының (ОТҮХ) салыстырмалы сипаттамалары 1-ші кестеде келтірілген.

Кесте 1 - Хроматография әдістерінің салыстырмалы сипаттамалары

Негізгі сипаттамалары	БХ	ЖТСХ	ФХ	СХ	ОТҮХ
Сорбент	қолданылады	қолданылады	қолданылады	қолданылады	қолданылмайды
Үлгіні қайтару пайызы	< 100 %	< 100 %	< 100 %	< 100 %	100 %
Еріткіш сапасы	жоғары	жоғары	жоғары	жоғары	төмен
Еріткіш шығыны	үлкен	үлкен	үлкен	үлкен	аз
Үлгіні дайындау	қосымша тазалау	қосымша тазалау	қосымша тазалау	қосымша тазалау	филтрлеу
Өндіріс шығыны	жоғары	өте жоғары	өте жоғары	жоғары	жоғары емес

ОТҮХ және ПХ әдістерінде жиі қолданылатын n-гексан:этилацетат:метанол:су еріткіш жүйесі қарсы ток хроматографиясын бөлудің барлық талаптарына сай ғана емес, сонымен қатар хлороформ немесе

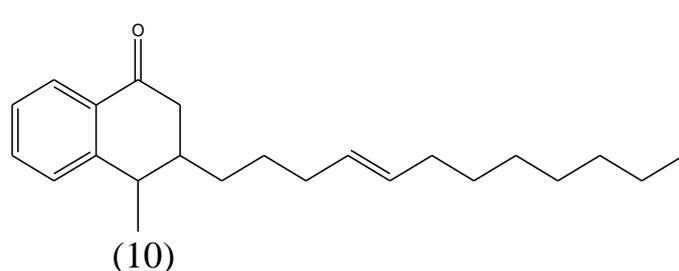
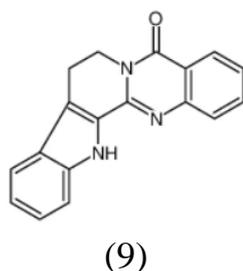
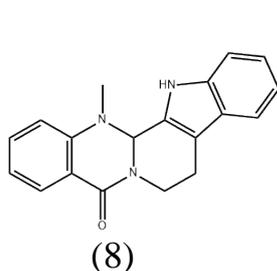
дихлорметан сияқты улы еріткіштерді қамтымайды және сондықтан өнеркәсіптік мақсаттар үшін өте перспективалы [48-50].

Х. Ока мен Р. Марграффтың тәсілдеріне негізделген ОТҮХ еріткіштерін жүйелі түрде таңдау алкалоидтарды бөлу үшін аса тиімді емес, себебі оларды бөлу ортаның рН мәнін және иондық күшті қосымша реттеуді қажет етеді. Мысалы, *Coptis chinensis* Franch. (*Ranunculaceae*) өсімдігінен алкалоидтарды бөлу шарттарын оңтайландыру кезінде HCl қосылған метанол:хлороформ:су жүйесі зерттелді. Сынақ 30 мл роторы бар ФСРС қондырғысында жүргізілді (бөлу уақыты 2 сағат), нәтижесінде келесі жүйе таңдалды: хлороформ:метанол: 0,2 М HCl (8:3:4, v/v). және тамырлардың метанол сығындысынан төрт таза алкалоид бөлініп алынды, олардың бірі бактерияға қарсы белсенділігі бар берберин [51]. 2-кестеде алкалоидтарды бөлу үшін қолданылатын және оңтайлы еріткіш жүйесін іздеуде үлкен маңызға ие әртүрлі еріткіш жүйелері келтірілген [52].

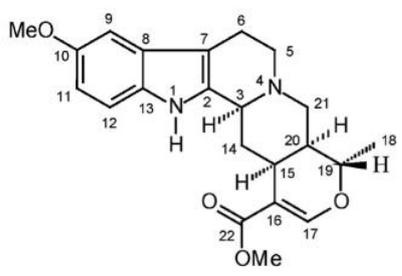
Кесте 2 - ОТҮХ әдісімен табиғи қосылыстарды бөлуге арналған еріткіш жүйелері

Үлгі	Еріткіштер жүйесі (қатынасы)	Жылжымалы фаза
Апорфинді алкалоидтар	Дихлорметан – метанол – 5% сірке қышқылы (5:5:3)	төменгі қабат
Нафтил изохинолин алкалоидтары	Хлороформ – этилацетат – метанол – 0,1М тұз қышқылы (5:3:5:3)	төменгі қабат
Дитерпенді алкалоидтар	н-Гексан – дихлорметан – метанол – су (15:15:24:8)	төменгі қабат
Дитерпенді алкалоидтар, хинолизидинді алкалоидтар	Бензол – хлороформ – метанол – су (5:5:7:2)	төменгі қабат

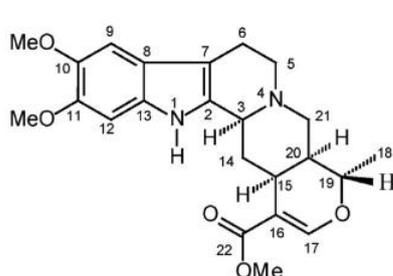
Қытайдың дәрілік өсімігі *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth құрамындағы алкалоидтарды бөліп алу және тазарту үшін екі фазалы еріткіш жүйесіне негізделген жоғары жылдамдықты қарсы ток хроматографиясы әдісі қолданылды. Еріткіш жүйесі ретінде *n*-гексан-этил ацетаты-метанол-су қоспасы (5:5:7:5) пайдаланылды. ЖТСХ деректері нәтижесінде бес түрлі алкалоид анықталып, бір сатылы бөлу процесі арқылы эводиамин (8), рутакарпин (9), эвокарпин (10) жоғары тазалық дәрежесімен бөлініп алынды [53].



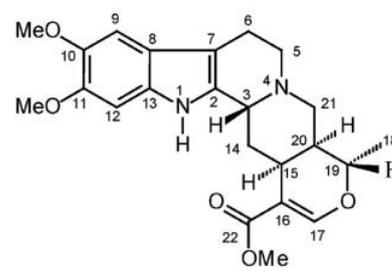
Enantia chlorantha өсімдігінің метанолды экстрактынан төрт протоберберинді төрттік алкалоидты – арицин (11), изорезерпин (12), және 3β-резерпин (13) бөліп алу үшін ОТҮХ әдісі тиімді қолданылды. Бөлу процесінде екі фазалы еріткіш жүйесі ретінде дихлорметан–метанол–су қоспасы (48:16:36, v/v) пайдаланылды [54].



(11)



(12)



(13)

Қолжетімді әдебиеттерге сүйене отырып, келесі қорытындылар жасауға болады:

1. Фармацевтикалық препараттардың белсенді ингредиенттері болып табылатын биологиялық белсенді заттарды (флавоноидтар мен алкалоидтар) бөліп алу және тазарту технологиялары ұзақ, еңбекті көп қажет ететін, көп сатылы процесс болып табылады, бұл көп мөлшерде қымбат, көбінесе улы органикалық еріткіштерді пайдалануды талап етеді.

2. ОТҮХ жоғары бөлу жылдамдығын қамтамасыз етеді, қатты сорбенттер мен қымбат элюенттерге деген қажеттілікті жояды және еріткішті пайдалануды 10 есеге азайтады, бұл мақсатты өнімдердің құнын айтарлықтай төмендетеді.

Жоғарыда келтірілген тәжірибелік деректер ОТҮХ алкалоидтарды бөліп алу және тазартудың перспективалы әдісі екенін, тіпті аз мөлшердегі экстрактивті заттардан да жоғары сапалы мақсатты өнімдерді салыстырмалы түрде тез және тиімді өндіруге мүмкіндік беретінін және барған сайын танымал болып келе жатқанын көрсетеді.

Алкалоидтарды өсімдік құрамынан бөліп алуға және тазалауға арналған ОТҮХ қолдану жөнінде тәжірибелік мәліметтер аз келтірілген. Осы қазіргі кезде кеңінен танылып келе жатқан әдіс алкалоидтарды тіпті сығындылық заттардың аз жиынтығынан сапалы мақсатты өнімді салыстырмалы түрде тез, әрі тиімді алуға мүмкіндік беретін тазалаудың келелі әдісі болып табылатындығын көрсетіліп отыр. ОТҮХ заттардың тек еріткіштер арасында таратылатынына жорамалданатын механизммен тиімді бөлінуді қамтамасыз ететіндіктен, бөлінетін өсімдіктекті сығындылардың да, олардың құрамына кіретін заттардың да кереғарлық диапазонына байланысты еріткіштердің хроматографиялық жүйесін дұрыс таңдау аталмыш әдіспен сәтті бөлу негізі болып табылады және бөлудің әр нысанына жеке әдісті талап етеді. Алкалоидтарды өсімдік құрамынан тиімді түрде бөліп алу үшін ортаның рН

мен ион күшінің қосымша реттелулері қажет екендігі тәжірибелік түрде дәлелденген.

1.5 Хинолизидинді алкалоидтары негізіндегі жаңа биологиялық белсенді қосылыстарды алу

Перспективалы биологиялық белсенді қосылыстарды ашудың негізгі жолдарының бірі - құрылым мен белсенділік қатынасы туралы заманауи деректерге негізделген мақсатты синтез. Табиғи қосылыстар, атап айтқанда алкалоидтар, флавоноидтар және терпеноидтар, құрылымдық әртүрлілігіне байланысты кең ауқымды фармакологиялық әсер ететін бірқатар жаңа дәрілік заттарды жасауға мүмкіндік береді. Бір молекулада әртүрлі функционалды фрагменттерді біріктіретін қосылыстардың синтезі олардың биологиялық белсенділікке өзара әсерін зерттеу үшін қызықты және кейіннен мақсатты химиялық модификациялау үшін жаңа мүмкіндіктер ашады [55].

Қазіргі уақытта әртүрлі алкалоидтарға негізделген біріктірілген қосылыстарды олардың молекулаларына лактондардың, флавоноидтардың және басқа да биологиялық белсенді қосылыстардың фрагменттерін енгізу арқылы синтездеуге қызығушылық артып келеді.

Хинолизидин (цитизин және лупинин) және пиридин (анабазин) сериясының алкалоидтары бірегей құрылымдар мен құнды биологиялық қасиеттерге ие, бұл оларды жаңа биологиялық белсенді заттарды іздеуде құрылыс блоктары ретінде пайдалануға мүмкіндік береді. Бұл алкалоидтар, ең алдымен, физиологиялық белсенділігімен назар аудартады, көпшілігінің құнды дәрілік заттары бар екені дәлелденді, бұл оларды кешенді зерттеуге, жаңа туындыларды синтездеуге, күрделі құрылымдарды құруға және құрылым-белсенділік байланысын зерттеуге түрткі болды. Олар сондай-ақ құрылымдық әртүрлілігімен қызықты және фармацевтикалық химияның дамуында маңызды рөл атқарды [37, s.344; 56]. Олар адам ағзасындағы никотиндік рецепторларға әсер етуінде ұқсас қасиеттерді көрсетеді.

Анабазин мен лупининнің жоғары бактерияға қарсы және инсектицидтік қасиеттері де кеңінен белгілі. Туберкулез анабазин мен лупинин алкалоидының тамырларының қайнатпасымен емделгенін атап өту маңызды; олар адреналин, дофамин, серотонин, гистамин және мускариндік рецепторлармен байланысу қабілетіне ие. Олардың модификацияланған туындыларының ішінде күшті гепатопротекторлық, қабынуға қарсы, спазмға қарсы, аритмияға қарсы, бактерияға қарсы және нейротропты қасиеттері бар заттар анықталды.

COVID-2019 коронавирусы пандемиясына байланысты бүкіл әлемде вирусқа қарсы белсенділігі бар қосылыстарды белсенді зерттеу және әзірлеу жұмыстары жүргізілуде. Хинолизидинді және пиридинді алкалоидты молекулаларының тыныс алу стимуляторлары (аналептикалық және темекі шегуге қарсы қасиеттері) ретіндегі жоғары биологиялық белсенділігі осы молекулаларға негізделген жаңа вирусқа қарсы және бактерияға қарсы агенттерді әзірлеу әлеуетін растайды. Бұл алкалоидтардың химиялық

құрылымы олардың молекулаларын химиялық түрлендіру арқылы жаңа биоактивті қосылыстарды өндіру үшін айтарлықтай әлеует ұсынады. Олардың құрылымын синтез әдістерімен мақсатты түрде өзгерту айтарлықтай жақсаруына және жаңа түрлерінің пайда болуына әкелуі керек.

Лупинин (2), цитизин (7) және анабазин (1) алкалоидтарының туындыларының синтезі мен қасиеттерін зерттеу туралы кең ақпарат А.П. Орехов, А.С. Садықов, А.А. Абдувахабов, Р.Т. Тлегенов және басқалардың еңбектерінде әртүрлі уақытта қарастырылған [56, с.17; 57]. Дегенмен, бұл саладағы айқын жетістіктерге қарамастан, лупинин, цитизин және анабазин алкалоидтарының полифункционалды туындыларының химиясы көп жағынан осы қызықты табиғи қосылыстар класының аз зерттелген саласы болып қала береді. Сондай-ақ, бұл саладағы зерттеулер жүйелілік пен мақсаттылықпен сипатталмайтынын атап өткен жөн.

Қазақстанда хинолизидин (цитизин және лупинин) және пиридин (анабазин) алкалоидтарының химиясы бойынша алғашқы зерттеулерді академиктер М.Ж. Журинов пен А.М. Газалиев бастаған ғалымдар тобы студенттерімен және әріптестерімен бірге жүргізді. Қазіргі уақытта Өзбекстандағы (А.С. Садықов атындағы Биоорганикалық химия институты, Бердах атындағы Қарақалпақ мемлекеттік университеті, С.Ю. Юнусов атындағы Өсімдіктер химиясы институты), Ресейдегі (Н.Д. Зелинский атындағы Органикалық химия институты, РҒА ҒМ Н.Н. Ворожцов атындағы Органикалық химия институты, РҒА ҒМ А.Е. Фаворский атындағы Иркутск химия институты, Химиялық әртүрлілік ғылыми-зерттеу институты) және басқа да көптеген ғылыми орталықтар лупинин, цитизин және анабазиннің түрленуінің химиялық қасиеттерін зерттеп жатыр [58-60].

Қарапайым хинолизидин алкалоиды лупинин (7 α -гидроксиметил-транс-хинолизидин) - бастапқы спирт тобын қамтитын үшіншілік негіз. Бастапқы спирт тобының болуы лупинин туындыларының әртүрлі модификацияларын алуға мүмкіндік береді. Мұндай модификациялардың ішінде дәрілік молекула әртүрлі фармакологиялық белсенділігі бар фрагменттерді біріктіретін көпфункционалды қосылыстарды (немесе «қос дәрілік заттарды») өндіру ерекше қызығушылық тудырады. Лупинин таза түрінде қолданылмайды, бірақ жергілікті анестезия ретінде қолданылатын лупикаин гидрохлоридін өндіру үшін шикізат ретінде қызмет етеді. Лупининнің эфирлік туындылары вирусқа қарсы және гепатопротекторлық белсенділік көрсетеді [61].

Лупинин фрагментінің белгілі бір фармакофорлық топтармен үйлесуі медициналық қолдану үшін өте маңызды перспективалы биологиялық белсенді қосылыстарды жасау үшін жаңа мүмкіндіктер ашады. Ерекше қызығушылық тудыратын нәрсе - лупинин фрагментін қамтитын мақсатты қосылыстардың гетероциклді фармакофорлық топпен, атап айтқанда, биологиялық белсенділіктің кең спектрін көрсететін 1,2,3-үшазолдармен үйлесімде синтезделуі [62, 63]. 1,2,3-үшазолдардың тартымдылығы олардың реактивтілігінің әмбебаптығына, сондай-ақ 1,2,3-үшазол туындыларын дәрілік

заттар, техникалық реагенттер және супрамолекулалық химияда «құрылыс блоктары» ретінде практикалық қолдануына байланысты.

1,2,3-үшазолдар азот құрамды гетероциклді қосылыстардың маңызды класына жатады, олар практикалық және теориялық тұрғыдан үлкен қызығушылық тудырады [64]. Олар 19 ғасырдың аяғынан бері белгілі, бірақ соңғы онжылдықтарда үшазолдар фармацевтика өнеркәсібі мен ауыл шаруашылығында қолданылуына байланысты гетероциклді химияда зерттеудің тартымды нысандарына айналды. 1,2,3-үшазолдардың туындылары вирусқа қарсы, микробқа қарсы, аллергияға қарсы, қабынуға қарсы және гербицидтік белсенділікке ие және тыныштандыратын және құрысуға қарсы әсер етуі мүмкін.

Авторлар лупинин (2) үшазолдарының табиғи және синтетикалық туындыларын AChE тежегіш агенттері ретінде синтездеп, зерттеді. Хинолизин алкалоидтарының, әсіресе (-)-лупининнің синтетикалық туындыларын өндіруге және олардың биологиялық белсенділігін зерттеуге айтарлықтай көңіл бөлінеді. Лупинин молекуласында бос ОН тобының болуы әртүрлі туындыларды синтездеуге мүмкіндік береді. Лупининнің эфирлері мен *O*-ацил туындыларының алынуы және кейбір түрленулері сипатталған. Лупининнің ОН тобы амин тобына оңай айналады, бұл N атомында орын басатын туындылардың кең ауқымын, соның ішінде қабынуға қарсы, гипертониялық, ауырсынуды басатын, аритмияға қарсы, безгекке қарсы және антихолинэстераза белсенділігіне ие туындыларды алуға мүмкіндік береді. Сондай-ақ, ω -хлорлупинан, ω -тиолупинан және ω -цианолупинан негізінде психикалық және қозғалыс бұзылыстарының патогенезіне қатысатын орталық жүйке жүйесінің сигма рецепторлары үшін перспективалы лигандтар ретінде туындылар тобы синтезделді [65]. Лупининнің химиялық түрленулері туралы әдебиет деректерін талдау оның әртүрлі эфирлерінің, амина-, имид-, галоген-, тио- және *O*-ацил туындыларының бұрын синтезделгенін және биологиялық белсенділігі бағаланғанын көрсетті [66].

Үшазолды гетероциклді қосылыстарды кеңінен зерттеуге қарамастан, гетероциклді фармакофор тобымен, әсіресе 1,2,3-үшазолдармен бірге алкалоидты бөлікті қамтитын аралас қосылыстар әлі күнге дейін аз зерттелген. Сондықтан, лупининді оның әлеуетті биоактивті 1,2,3-үшазол туындыларын алу үшін модификациялаудың ыңғайлы әдістерін іздеу және әзірлеу маңызды және өзекті міндет болып табылады.

Осылайша, лупинин молекуласының химиялық модификациясы айтарлықтай және әлі де пайдаланылмаған әлеуетті ұсынады және бұрынғы Кеңес Одағында да, шетелде де көптеген зерттеушілердің назарын аударуды жалғастыруда. Бұл халықаралық, жоғары бағаланатын журналдардағы (Tetrahedron, Arkivoc, Journal of Sulfur Chemistry, Bulletin of Higher Educational Institutes, Bulletin of Moscow University, Chemistry of Heterocyclic Compounds, Chemistry of Natural Compounds және басқа да көптеген) жарияланымдар санының артуынан жақсы көрінеді. Хинолизидинді алкалоидтарының әртүрлі туындыларына тән емес жаңа биологиялық белсенділіктер (спазмды басатын,

аритмияға қарсы, холинергиялық, инсектицидтік және т.б.) үнемі анықталып, олардың жаңа туындыларын одан әрі синтездеу мен зерттеуді ынталандыратынын атап өткен жөн.

Бірінші бөлім бойынша тұжырым

Жасалған налитикалық шолу *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігінің фитохимиялық зерттеулерін одан әрі жүргізуге негіз болады. Бұл зерттеу осы өсімдік шикізаттарынан алкалоидтарды алу әдістерін оңтайландыруға, сондай-ақ өсімдік алкалоидтарын химиялық түрлендіруге бағытталған, олар жақсартылған физикалық-химиялық қасиеттерімен, жоғары биологиялық белсенділігімен, төмендетілген уыттылығымен және табиғи аналогтарымен салыстырғанда ұзақ әсер етуімен сипатталатын жаңа қосылыстарды алуға бағытталған. Сондықтан, алкалоидтардың табиғи көздерін, олардың химиялық құрамы мен фармакологиялық әсерін зерттеуге, шикізатты стандарттауға және шөптік дәрілерді жасау үшін медициналық тәжірибеде қолданылатын дәрілік өсімдіктердің шикізат базасын кеңейтуге бағытталған зерттеулер өзекті міндет болып табылады.

Осылайша, нәтижелерді қорытындылай келе, лупининді *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens бөліп алу және тазарту үшін тиімді, үнемді және экологиялық қауіпсіз технологияны әзірлеу, кейіннен лупинин туындыларын синтездеу және оның негізінде отандық жоғары тиімді фитопрепарат жасау тұрғысынан жұмыс жүргізуді перспективалы деп санаймыз.

2 ЗЕРТТЕУДІҢ МАТЕРИАЛДАРЫ ЖӘНЕ ӘДІСТЕРІ

Диссертациялық жұмыс төменде келтірілген базаларда орындалды:

- Қарағанды медицина университетінің Фармация мектебі, Қазақстан Республикасы;

- Өсімдік түрін академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университетінің ботаниктерімен анықталған. Бұл өсімдіктің гербарий үлгілері университеттің биология-география факультетінің (QAR) гербарий коллекциясында сақталған;

- Қарағанды медицина университетінің микробиология кафедрасы;

- «Люблин медицина университеті» микробиология және фармакология кафедрасы, Люблин қаласы, Польша.

Диссертациялық жұмыстың экспериментальдық бөлімдерін орындау барысында ҚР МФ және ҚР аумағында қолданылатын дәрілік заттар сапасын реттейтін мемлекеттік стандарттар мен нормативті құжаттар қолданылды.

2.1 Зерттеу материалдары

Зерттеу нысаны 2023 жылы Орталық Қазақстанда, Ақжал ауылының маңында (Қазақстан Республикасы, Қарағанды облысы, Шет ауданы) өсімдіктердің жаппай гүлдену кезеңінде жиналған *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens ауада кептірілген жер үсті бөлігі (5-сурет). Жинау кезеңі: тамыз-қыркүйек 2023 ж., GPS-координаттарының орны: 47°72'040" с.е. 74°06'698" ш.б. Зерттеу өсімдігінің түр сәйкестігін академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университеті, ботаника кафедрасының қызметкерлері растады және осы түрдің үлгілері осы оқу орнындағы биология-география факультетінің гербарий қорында сақтаулы.

Талданатын шикізат - өскінділері өсетін бұтақтары бар (5-25 см дейін), гүл шоқтары және тамырлардың қоспасы (4-сурет). Шикізат 25-30°C температурада, тікелей күн сәулесінің әсерінен аулақ болып, 7 күн бойы кептірілді.



Сурет 4 - Сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens), гүлдену кезеңі. Автордың суреті

Шикізат үлгілерін бейнелеу кезінде Levenhuk DTX 30 сандық микроскопы, NSZ608T сканерлеуші макроскопы және Sony Exmor CMOS Sensor камерасы қолданылды. Түсірілген суреттер кейіннен Paint 10.1 бағдарламасында өңдеуден өткізілді.

Еріткіштер:

Эксперименттік зерттеулерде химиялық реагенттер мен еріткіштер келесі түрлері қолданылды: «талдауға арнайы таза», «химиялық таза».

Су, тазартылған H₂O. М.м. 18,02 г/моль. 1095500. [7732-18-5]. (ҚР МФ, т.1. 419 б.).

Этанол 96 %. C₂H₅OH. М.м. 46.03 г/моль. 1034800. [64-17-5]. (ҚР МФ, т. 1. 446 б.).

Этилацетат. C₄H₈O₂. М.м. 88.1 г/моль. 1035300. [141-78-6]. (ҚР МФ, т. 1. 447 б.).

Хроматографияға арналған ацетонитрил. C₂H₃N. М.м. 41.05 г/моль. 1000700. [75-05-8]. (ҚР МФ, т.1., 336 б.).

Метансульфонил хлориді. CH₃SO₂Cl, М.м. 114,56 г/моль.

Гексан. C₆H₁₄. (Мг 86.2). 1042600. [110-54-3]. (ҚР МФ, т.1, 348 б.).

Хлороформ. CHCl₃. М.м. 119.4 г/моль. 1018600. [67-66-3]. (ҚР МФ, т.1. 440 б.).

Ацетонитрил. C₂H₃N. 1000700. [75-05-8]. (ҚР МФ, т.1, 336 б.).

Этилацетат. C₄H₈O₂. (Мг 88.1). 1035300. [141-78-6]. (ҚР МФ, т.1, 448 б.).

(-)-*Лупинин* - ақ кристалды зат, формуласы C₁₀H₁₉NO, тазалығы 97 % жоғары. М.м. 169.268 г/моль. Т.балқу. 68-69⁰С. [α]_D - 19 (с 0.41, EtOH) (әдеб.көздерінен: т. балқу. 68-69⁰С (EtOH), [α]_D - 23.5⁰ [4, 39].

Реактивтер:

Натрий азиді. NaN₃, М.м. 1.846 г/моль.

Метилен көгі (ҚР МФ, т.1., 388 б.); 10% тимол ерітіндісі (ҚР МФ, т.1, 427 б.); Люголь реактиві (ҚР МФ, 1 т. 370); конц. H₂SO₄ (ҚР МФ, т.1., 375 б.); K₂Cr₂O₇ 10% спирт ерітіндісі (ҚР МФ, т.1., 366 б.); FeCl₃ 1% спирт ерітіндісі (ҚР МФ, т.1, 423 б.); Драгендорф реактиві (ҚР МФ. 1 т., 337 б.); глицерин, C₃H₈O₃, (ҚР МФ,1.т., 348 б.).

Салыстыру препараттары:

Нистатин, C₄₇H₇₅NO₁₇ (ҚР МФ, т.3, 513 б.) [67], нистатин бар индикаторлық дискілер (*in vitro* диагностикалық қолдану үшін).

Натрий бензилпенициллин. C₁₆H₁₇N₂NaO₄S. М.м. 356.4 г/моль. (ҚР МФ, т.2, 337 б.); бензилпенициллин бар индикаторлық дискілер.

Натрий цефтриаксоны. C₁₈H₁₈N₈Na₂O₇S₃. М.м. 662 г/моль. (ҚР МФ, т.2, 384 б.).

Тест нысаналары: Американдық типті дақылдар жинағының (АТСС) микроорганизмдерінің эталонды штамдары: Грам-оң бактериялар: *Staphylococcus aureus* АТСС 6538, *Staphylococcus aureus* АТСС 25923, *Staphylococcus aureus* АТСС ВА 1707, *Staphylococcus epidermidis* АТСС 12228, *Micrococcus luteus* АТСС 10240, *Bacillus cereus* АТСС 10826, *Bacillus subtilis* АТСС 6633, *Enterococcus faecalis* АТСС 29212. Грам-теріс бактериялар:

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883. Саңырауқұлақтар: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Қоректік орталар: Мюллер-Хинтон агары (Himedia, Үндістан), Мюллер-Хинтон сорпасы (Himedia, Үндістан), Сабуро агары (Himedia, Үндістан), Сабуро сорпасы (Himedia, Үндістан).

Нәтижелерді статистикалық өңдеу ҚР Мемлекеттік фармакопеясының талаптарына сәйкес жүргізілді. Есептеу үшін Excel, Statistica 12.0 электрондық бағдарламалары қолданылды.

Тәжірибелік жануарлар. Зерттелетін субстанцияның жедел уыттылығын анықтау кезінде салмағы 18,0-30,0 грамм болатын екі жыныстағы тексіз ақ тышқандар қолданылды.

2.2 Зерттеу әдістері

Anabasis salsa (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens шикізат қорын және олардың әлеуетті өндіру көлемдерін анықтау үшін тоғайдың ауданы және оның өнімділігі (шикізат тығыздығы) анықталды. Тоғайдың ауданы оның контурын геометриялық фигураға (тік төртбұрыш, шаршы, трапеция, шеңбер) теңестіру арқылы анықталды және осы фигураның ауданын есептеу үшін қажетті параметрлер (ұзындығы, ені, диаметрі) өлшенді. Өсімдіктер аумақ бойынша біркелкі емес таралып, өсімдік қауымдастығында жеке учаскелер пайда болған кезде, алдымен осы *Anabasis* түрлері табылған бүкіл учаскенің ауданы анықталды, содан кейін зерттелген түрдің *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens осы алқаптың қанша пайызын алып жатқаны анықталды.

Anabasis salsa (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens алқабының ауданы палетканы пайдаланып анықталды. Палеткадағы әрбір ұяшық 1 см² болды, бұл 1:10 000 жоспар масштабында учаскедегі 1 гектар аумаққа сәйкес келді.

Дәрілік өсімдіктің морфологиялық топтары ҚР МФ, т. 1 «Тамыр, сабақ, тамырсабақ», «Тұқымдар» [68, 569 б.].

Шикізаттың макроскопиялық талдауы. ҚР МФ, 1 т., 2.8.3 тарауына және Еуразиялық экономикалық одақтың Федералдық заңы, 2.1.8 сәйкес. Өсімдік үлгілері тамыр жүйесінің, сабақтарының, гүлдерінің және жемістерінің пішіні мен құрылымы бойынша талданды, 5х және 10х есе үлкейтумен зерттелді. Зерттелген нысандардың өлшемдері 3,1 Мпикс цифрлық камерасы бар (16x4 және 16x10 үлкейтумен) Altami цифрлық микроскопында сызғыштар мен бағдарламалық жасақтаманы пайдаланып анықталды. Микрофотосуреттерге Levenguk USB микроскопы қолданылды. Нысандардың түсі күндізгі жарықта көзбен бағаланды; иісі шикізаттың бөліктерін бөлу арқылы бағаланды; ал дәмі ұсақталған шикізаттың сулы сығындысын дәм тату арқылы бағаланды [68, 559 б.].

Шикізатты микроскопиялық талдау. ҚР МФ, 1 т., 561 б. және ЕАЭО Федералдық заңының 2.1-бөлімі, 8.17-бөлім сәйкес. Ауада кептірілген шикізат

70% спирт, глицерин және тазартылған су қоспасында (1:1:1) қатынасында (Штраус-Флеминг ерітіндісі) малып жібітілді. Ылғалданғаннан кейін қатты бөліктерді (тамыр мен тамырсабақты) пробиркаға салып, калий гидроксидінің 5% сулы ерітіндісін қосып, 5 минут қайнатады. Беттік препараттар мен кесінділер ұстара пышақтарының көмегімен қолмен дайындалды. Препараттар глицеринді қолдану арқылы нақтыланды. Жұмыс 10×, 20× окулярлары, 4×, 10×, 20×, 40× линзалары бар Biomed-4 микроскопында жүргізілді. Анатомиялық құрылымды сипаттау кезінде К. Эсау, Н.А. Анели, Л.И. нұсқауларында ұсынылған терминология қолданылды. Шикізаттың гистохимиялық талдауы ЖФМ.1.5.3.0003.15 «Өсімдік шикізаты мен шөптік дәрілік заттарды микроскопиялық және микрохимиялық зерттеу әдісі» [69, 70] нұсқауларына сәйкес жүргізілді. Жеке мүшелердің морфологиясын сипаттау кезінде ҚР МФ т.1, 2.8 әдіс бойынша анықталды.

Сандық көрсеткіштерін анықтау

Өсімдік шикізатының ұсақтау дәрежесін анықтау (ҚР МФ, т. 1) «Дәрілік өсімдік шикізаттың ұсақтау дәрежесін анықтау» монографиясына сәйкес жүргізілді. Әр шикізаттың түрі үшін құрамындағы рұқсат етілген нормасы жеке бапқа сәйкес болуы тиіс [68, 560 б]. Тұтас шикізат үшін, көрсетілген тесік өлшемі бар електен өтетін бөлшектердің саны, егер фармакопоялық мақалада немесе нормативтік құжаттамада басқаша көрсетілмесе, 5%-дан аспауы керек.

Бөгде қоспалар (ҚР МФ, т. 1, 2.8.2) [68, 223 б.]

Жалпы күл (ҚР МФ, т. 1, 2.4.16) [68, 127 б.].

10% Хлорсутек қышқылында ерімейтін күл (ҚР МФ, т. 1, 2.8.1) [68, 223 б.]. *Сульфат күлін анықтау* (ҚР МФ, т.1, 2.4.14) [68 126 б.].

Кептіргендегі масса шығыны (ҚР МФ, т. 1, 2.2.32) [68, 91 б.].

Микробиологиялық тазалық (ҚР МФ, т. 1, 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13) [68, 479 б., 172 б., 177 б.].

Өсімдік шикізаты құрамындағы ауыр металлдарды анықтау. Сынақты атомды-абсорбциялы спектрометрияның фармакопоялық әдісін қолдану арқылы жүргізілді (ҚР МФ, т.1 2.2.23, 2.4.8) [68, 62 б., 564 б., 121 б.].

Өсімдік шикізатының *минералды құрамын* анықтау (ҚР МФ I, т. 1, 2.2.23) "ҚазҰУ физика-химиялық зерттеулер және физика-химиялық әдістерді сараптау орталығы" зертханасында атомдық-абсорбциялық спектроскопиялық әдіс бойынша "Карл Цейс" фирмасының "ASSIN" қондырғысымен анықталды [71, 72].

ДӨШ аминқышқылдарының құрамын зерттеу (ҚР МФ 1 т., 2.2.28) газ хроматографиясы әдісімен жүргізілді. «Карло-Эрба-4200» (Италия-АҚШ) газ-сұйық хроматографында жүргізілді [68, 74 б.].

Шикізат құрамындағы радионуклидтерді анықтау Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2022 жылғы 2 тамыздағы № ҚР ДСМ-71 бұйрығымен регламенттеледі (ҚР МФ, т. 1.) [68, 564 б.]. Дәрілік өсімдіктердегі радионуклидтердің мөлшері Cs-137 үшін 400 Бк/кг немесе одан аз, ал Sr-90 үшін 200 Бк/кг немесе одан аз. Радионуклидті анықтау

«ЭкоЭксперт» сынақ орталығында (Қарағанды, Қазақстан) бета-спектрде күлдендірмей радиохимиялық әдіспен жүргізілді.

Экстрактивті заттар шығымын анықтау (ҚР МФ, 1 т, 564 б.). Әдіс (гравиметриялық) еріткіш ретінде әртүрлі концентрациядағы су мен этил спирті (70%, 90%) қолданылып жүргізілді. Абсолютті құрғақ шикізатқа есептегенде экстрагентті заттардың мөлшері есептелінді. Экстракт сипаттамасы ҚР МФ1, т. 1, 554 б. «Экстракттар» мақаласына сәйкес жүргізілді.

Микробиологиялық тазалығын анықтау ҚР МФ, 1 т., 5.1.4, 2.6.12 және 2.6.13, ЕАЭО Ф 2.3.1.4. талаптарына сәйкес жүргізілді. Аэробты микроорганизмдердің жалпы саны: 10^5 ; жалпы саңырауқұлақтар 10^2 артық емес, *Escherichia coli* болмауы керек.

Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) (ҚР МФ, т.1, 2.2.27, 71 б.).

ЖҚХ үшін аналитикалық Sorbfil (ТУ26-11-17-89) ПТСХ-П-В-УФ UV-254 маркалы ЖҚХ пластинасы. Sorbfil пластиналар арнайы байланыстырушы компонентпен бекітілген қалыңдығы 80-100 мкм фракцияланған кеуекті силикагель жұмыс қабаты бар полимерде (полиэтилентерефталат) немесе алюминий субстратында шығарылады. Өлшемі 10*10 см (Сорбент: СТХ – 1ВЭ, люминофор: 254 нм, байланыстырушы: силиказоль, IMID Краснодар, Ресей).

Еріткіш жүйелер ретінде: Гексан - хлороформ (1:1), (6:4) (9:1; хлороформ - этилацетат (1:1); гексан - этилацетат (6:4); этилацетат - хлороформ (6:3); Хлороформ - этанол (8:2) (9:1) қатынастары пайдаланылды. Дақтарды болжау 254 нм және 365 нм (толқын ұзындығы қысқа және ұзын диапазондағы) УК сәулемен және Драгендорф, Вагнер реагент шашырату арқылы іске асырылды.

Баганалы хроматография (БХ) (ҚР МФ I, т.1, 2.2.27).

Жылжымайтын фазада келесі сорбенттер қолданылды:

Силикагель (ҚР МФ. т.1, 415 б.), (Acros 24037 маркалы (өлшемдері 0.035-0.240 мм, диаметрі - 6 нм), (Acros Organics, Бельгия).

Алюминий оксиді Al_2O_3 (ҚР МФ. т.1, 328 б.). (АОК-63-21 маркалы (фракция 0,1-0,16 мм) бөлшек құрамы, өлшемдері 0,100-0,160 мм бөлшектердің массалық үлесі, (тазартудың II дәрежесі), Ресей.

Anabasis salsa (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактын фитохимиялық зерттеуі масс-спектроскопиямен біріктірілген ЖТСХ-ESI-QTOF-MS/MS әдісімен анықталды (Люблин, Польша)

5,0 г кептірілген және ұсақталған шикізат (*сабағы, гулизогыры, тамыры*) бөлме температурасында 24 сағаттан үш рет 20 мл еріткіште (су, 50% этанол, 70% этанол, 90% этанол және хлороформ) перколяция және мацерация әдісімен экстракцияланды. Экстракттар центрифугаланды, үстіңгі қабат жиналды және Eppendorf Concentrator Plus көмегімен 45°C температурада вакуумда концентрленді. Алынған экстракттар 4°C температурада салқындалтылып, талдау үшін пайдаланылды.

Хроматографиялық талдау (G1329B) автосамплермен, (G1322A) дегазатормен, DAD (G1315D) детекторымен және екілік сорғымен (G1312C) жабдықталған 6500 сериялы LC-ESI Q-TOF-MS жүйесін (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) құрылғымен пайдалану арқылы жүргізілді.

Белсенді компоненттерді анықтау Agilent Technologies компаниясының Q-TOF масс-спектрометрін пайдалану арқылы жүргізілді.

Ұзындығы 150 мм, ені 2,1 мм Zorbax RP 18 бағанасы (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ), бөлшектерінің өлшемі $dp = 3,5$ мкм болатын кеуекті сорбентпен 0,2 мл/мин ағын жылдамдығында және 25°C температурада жүргізіледі. Инъекция көлемі: 20 мкл. Жылжымалы фаза: ацетонитрилдегі 0,1% құмырсқа қышқылы (еріткіш А) және 0,1% құмырсқа қышқылы (еріткіш В). Градиентті элюция, элюент ағынының режимі: 0 мин 98% ерітінді А; 5 мин 90% ерітінді А; 20 мин 60% ерітінді А; 35 мин 5% ерітінді А; және 36 мин 98% ерітінді А. Талдау уақыты: 45 мин; тасымалдаушы газ температурасы: 350°C; қоршаған газ температурасы: 400°C.

Фрагментациялық, капиллярлық, форсункалық және скиммерлік кернеулер сәйкесінше 150 В, 3,5 кВ, 1000 В және 65 В болды. DAD детекторы абсорбцияны 190-нан 600 нм-ге дейін үздіксіз тіркеді, содан кейін хроматограммалар 254, 280, 320 және 365 нм толқындарда талданды. Масс-спектрометр екі ионизация режимінде (позитивті және негативті) теріс және оң иондану режимдерінде бір мезгілде алынды.

Барлық талдаулар калибрленген құралда орындалды, бұл ретте калибрлеу қоспасы үлгімен бірге инъекцияланды. Әр молекулалық белгі үшін MS/MS спектрлері екі рет жинақталды, содан кейін тиісті m/z мәні 0,3 минутқа шығарып тасталды. Деректер Mass Hunter Workstation бағдарламалық қамтамасыздандыруында өңделді (В.10.00 нұсқасы, Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ). Позитивті иондардың массалық хроматограммалары метаболиттермен толығырақ болды және одан әрі Mass Hunter Profinder 10.0 және Mass Profiler Professional (v.15.1, Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) бағдарламалары арқылы талданды, бұл сығындыларды ерекшелендіретін молекулалық белгілерді анықтауға мүмкіндік берді. Бұл мақсатта молекулалық белгілердің экстракциясы SEF форматына 10 ppm масса қателігімен және жалпы сығындыдағы 1 %-дан жоғары изобилиуммен орындалды. Деректерді талдау үшін PCA (Principal Component Analysis) талдауы Mass Profiler Professional бағдарламасында жүргізілді, бұл жерде 376 молекулалық белгі бір өлшемді ANOVA талдауында қолданылды, асимптотикалық р-мәні есептелді және көптілді тестілеу үшін Бенжамини Хохберг түзетуі қолданылды ($p < 0,05$). Оны келесі формула бойынша есептеуге болады: (заттың массасы / ерітіндінің массасы) $\times 1\ 000\ 000$

Метаболиттерді идентификациялау дәл өлшенген масса, MS/MS фрагментациясы және ғылыми әдебиет пен ашық дерекқорлардан (мысалы, Metlin MS метаболиттер коллекциясы) алынған деректер негізінде жүзеге асырылды.

Орталықтан тепкіш үлестіру хроматографиясы

Anabasis salsa (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens этанолды экстрактын бөлу Spot CPC, Armen Glider CPC VS.Da.05, Saint-Ave (Франция) құрылғысында жүргізілді, келесі режимде: ротор 250 мл, еріткіш жүйесі: метилтрет-бутил

эфиріні:ацетонитрил:бутанол:су (2:2:1:5), жоғарғы (стационарлық) фазаның 50 мл-індегі 0,6 г үлгі және жылжымалы фазаның 50 мл-ін хроматографқа 100 мл үлгі енгізілді. УК-детектірі 254, 280, 320 және 365 нм жиілікте болды. Ротордың жылдамдығы 1200 айн/мин. Қос бөлу әдісі: элюация және экструзия қолданылды.

Сапалық талдау

Anabasis salsa (С. А. Mey.) Benth. ex Volkens экстракттарындағы әртүрлі қосылыстардың сапалық талдауы арнайы әдістерді қолдану арқылы жүргізілді.

Антрахинондар сабақтарының фильтраттарын сұйылтылған күкірт қышқылымен және сұйылтылған аммиакпен өңдеу арқылы анықталып, қызғылт-раушан түсі оң реакцияны көрсетеді. Қорғасын ацетаты ерітіндісін қосқанда пайда болған сары тұнбалар *полифенолдардың* бар екенін көрсетті, ал темір хлориді қосылғаннан кейін көк-қара немесе қоңыр-жасыл реңктің пайда болуы *таниндердің* бар екенін растады. *Флавоноидтар* сұйылтылған аммиак пен концентрлі күкірт қышқылын қосқаннан кейін байқалған сары реңкпен анықталды. Фильтрат, хлороформ және концентрлі күкірт қышқылын біріктіру арқылы пайда болған бетаралық қабаттағы қызғылт-қоңыр реңк байқалмай *терпеноидтардың* жоқ екенін көрсетті. Фильтраттарды мұздық сірке қышқылымен, темір хлориді ерітіндісімен және концентрлі күкірт қышқылымен араластырған кезде қоңыр сақинаның пайда болмауы арқылы *жүрек гликозидтері* анықталмады. *Антоцианиндердің* болуы сулы фильтраттарға HCl және аммиак қосқанда көк-күлгін түске айналған қызғылт-қызғылт реңкпен көрсетілген. *Флавонолдар, флавондар, флобатанниндер, кумариндер, халкондар, хинондар, сапониндер және алкалоидтар* да арнайы реагенттер көмегімен және түс өзгерістерін немесе тұнба түзілуін бақылау арқылы сапалы түрде талданды [73-79].

Сандық анықтау

Алкалоидтарды сандық анықтау. 25,0 г ұсақталған шикізатты (нақты салмақ) сыйымдылығы 250 мл колбаға салынып, 205 мл қайнап тұрған су құйып ыдысты тығынмен жауып 30 мин қойып қойылды. Экстракт фильтр қағазы арқылы фильтрлейді. Алынған фильтраттан 25,0 мл аликвота алынады. Аликвотаға 10 мл натрий гидроксидін 1:1 қатынасында қосылады (натрий гидроксидін дайындау әдісі: 30 г NaOH+су 100 мл көлемге дейін құйылады). Осы ерітіндіге 200 мг дихлорэтан ерітіндісі құйылады, абайлап араластырады және 8-10 мин қалдырылды, содан кейін бөлгіш воронкаға құйылып бөлінеді. Төменгі қабатта дихлорэтан ерітіндісінен 100 мл алынып, осы алынған фильтратқа 100 мл лакмоид (лакмоид 0,5 г затқа 100 мл ге дейін су қосылады) ерітіндісі қосылады. Алынған дайын ерітіндіні титрлейді. Арнайы пипеткамен және 0,1М HCl ерітіндісімен титірлейді. Титірлеуді сулы қабаты шайқай отыра қызғылт түске боялғанша титірленеді [4, с.121]. Қышқылдық титрі 0,000325 болғанда, титрлеу ерітіндісінің 1 мл жалпы алкалоидтардың 0,1%-ына сәйкес келеді (анабазиннің эквиваленттік салмағы ретінде есептеледі). Анабазинге және мүлдем құрғақ шикізатқа қайта есептегенде алкалоидтар сомасының мөлшері (X) пайызбен келесі формула бойынша есептелді (1):

$$X = \frac{0.000352 * 0.6 \text{ ml} * (K_u = 1) * 100}{25.0 * 25.0} = 3.37\% \quad (1)$$

мұндағы, 0.6 мл титірлеуге кеткен 0,1М HCl ерітіндісі; 25.0 г шикізат, 25.0 анализдеу аликвотасы.

Өсімдік шикізатынан лупининді сандық анықтау. Сандық анықтау жоғары тиімді сұйық хроматография арқылы (ЖТСХ) әдісімен жүзеге асырылады (ҚР МФ т.1, 2.2.29). Шамамен 1,0 г (дәл өлшенген) ұнтақталған *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатты және 30,0 мл 96% этанол 50,0 мл дөңгелек түбі бар колбаға салынып, су моншасында 30 минут бойы кері салқындатқыш пен қыздырылады, кейін салқындатылады және сүзіледі. Экстракция екі рет жүргізіледі, экстракция қайталанып шикізатқа тағы 30,0 мл 96% этанол қосылады. Біріктірілген этанолды экстракттары вакуумда кепкенше буландырылады. Қалдық жылжымалы фазада ерітіледі, содан кейін сандық түрде 25,0 мл көлемдік колбаға ауыстырылады, ерітіндінің көлемі жылжымалы фазамен бірге белгіге жеткізіледі және араластырылады.

Алынған ерітіндінің 5,0 мл 25,0 мл өлшеуіш колбаға салынады, жылжымалы фазалық ерітіндінің көлемі белгіге дейін жеткізіледі, араластырылады және тесігі 0,45 мкм болатын мембраналық сүзгі арқылы сүзіледі (сынақ ерітіндісі).

Келесі шарттар орындалғанда, 20 мкл сынақ ерітіндісі мен салыстыру ерітіндісі кезекпен сұйық хроматографта УК детекторы және масс-спектрометрмен біріктірілген ЖТСХ әрбір ерітінді үшін кемінде қайталанып 5 хроматограмма алынады:

- Zorbax Eclipse Plus C18 (1,8 мкм) сорбентімен толтырылған 2,1 x 100 мм баған, бөлшектерінің өлшемі 1,8 мкм;

- жылжымалы фаза: ацетонитрил, 0,1 М сулы аммиак ерітіндісі 1:1 (көлем/көлем), изокритикалық режимде: судағы 2,5% құмырсқа қышқылы және ацетонитрилдегі 2,5% құмырсқа қышқылы 28:72 қатынасында (құмырсқа қышқылы лупинин иондарының шың пішінін жақсартуға және олардың иондануын басуға көмектеседі);

- 210 нм толқын ұзындығында анықтау;

- жылжымалы фаза ағынының жылдамдығы: 1,0 мл/мин;

- енгізілген үлгі көлемі: 25 мкл.

- баған температурасы: бөлме температурасы.

Лупининнің (X) пайыздық мөлшері келесі формула (2) бойынша есептеледі:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m_1 \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100-W)} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m_1 \cdot (100-W)} \quad (2)$$

мұндағы S_1 - сынақ ерітіндісінің хроматограммаларынан есептелген лупининнің шың аудандарының орташа мәні;

S_1 - сынақ ерітіндісінің хроматограммаларынан есептелген лупининнің шың аудандарының орташа мәні;

m_0 - лупинин СҮ массасы, г;

m_1 - шикізат үлгісінің массасы, г.

W - шикізаттың ылғалдылығы, %.

Деректерді есептеу Microsoft Excel 2010 көмегімен жүргізілді.

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens қою экстрактының құрамындағы лупининді *сандық анықтау* (ҚР МФ, т. 1, 2.2.29). Қою экстрактындағы лупининді анықтау үшін ультракүлгін детектормен (УК) және нақты уақыттағы тандемдік Agilent 6130 масс-спектрометриямен (ESI-MS/MS) біріктірілген ЖТСХ хроматографында изокритикалық режимінде жүргізілді. Стационарлық фаза ретінде Zorbax Eclipse Plus C18 (1.8 μ m) сорбентімен толтырылған 2.1x100 мм аналитикалық баған пайдаланылды. Әдіс: 25 мг экстракт 10 мл ацетонитрил-су қоспасында (1:1 қатынасы) ерітілді, дайындалған үлгі ЖТСХ хроматографына енгізілді және келесі шарттардың әрқайсысы үшін кемінде 5 хроматограмма жазылды:

Zorbax Eclipse Plus C18 (1,8 мкм) сорбентімен толтырылған 2,1x100 мм аналитикалық баған стационарлық фаза ретінде пайдаланылды: жылжымалы фаза: ацетонитрил-су 1:1 (көлем/көлем), изокритикалық режимде: судағы 2,5% құмырсқа қышқылы және ацетонитрилдегі 2,5% құмырсқа қышқылы 28:72 қатынасында (құмырсқа қышқылы лупинан иондарының шың пішінін жақсартуға және олардың иондануын басуға көмектеседі).

- элюент ағынының жылдамдығы 1,0 мл/мин;

- енгізілген үлгі көлемі 25 мкл;

УК-детектірлеу 210 нм толқын ұзындығында жүргізілді.

Anabasis salsa (С.А.Мey) Benth. ex Volkens қою экстрактының құрамындағы лупининнің (X) сандық мөлшері келесі формуланы (3) пайдаланып есептелді:

$$X = \frac{S_1 * m_0 * 25}{S_0 * m_1 * 25} * 100 \quad (3)$$

мұндағы, S_1 - сынақ ерітіндісінің хроматограммаларынан есептелген лупининнің шың аудандарының орташа мәні;

S_0 - салыстырмалы ерітіндінің хроматограммаларынан есептелеген лупининнің шың аудандарының орташа мәні;

m_0 - лупинин СҮ массасы, г;

m_1 - қою экстрактының массасы, г.

Деректерді есептеу Microsoft Excel 2010 көмегімен жүргізілді.

Лупинин субстанцияларының физика-химиялық зерттеу әдістері

Лупинин субстанцияларының Lup-43, Lup-41 сапа көрсеткіштерін сынау ҚР МФ, Еуропалық фармакопеяда және Еуразиялық экономикалық одақтың Фармакопеясында сипатталған әдістемелерге сәйкес жүргізілді.

Сипаттамасы. Ақшыл түсті кристалдық ұнтақ. ҚР МФ, т. 1, «Субстанция» жалпы фармакопейлық мақаласының талаптарына сәйкес келуі керек. Субстанция түсі, иісі, сыртқы түрі ҚР МФ сәйкес анықталды п. 2.3.4 [68, 118 б.].

Ерігіштігі. 1 г субстанциялық заттың ерігіштігі 10-30 мл тазартылған су мөлшерінде және 1-10 мл этил спиртінде еруі қажет. Ерігіштік полярлы және полярлы емес еріткіштерде анықталды. ҚР МФ, т. 1, 1.4 [68, 26 б.].

УК-спектрлер. «Helios-β» (Великобритания) спектрофотометрдің көмегімен ультракүлгін (УК) сәулеленуде өлшенді. Ультракүлгін спектрі субстанцияның 0,05 % этанолды ерітіндісі үшін анықталды, диапазоны 190-400 нм дейін, ҚР МФ, т.1, 2.2.25 [68, 67 б.].

ИҚ-спектрлер. «Термо Nicolet Avatar-360» (АҚШ) ИҚ-спектрофотометрдің көмегімен 500 - 4000 см⁻¹ дейінгі жиілік диапазонында ИҚ-спектроскопия әдісімен сәйкес жүргізілді. ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 [68, 64 б.].

Балқу температурасы. Балқу температурасын анықтау «Boetius» (Германия) құрылғысында жүргізілді ҚР МФ, т.1, 2.2.15 [68, 56 б.].

Оптикалық айналу. Поляриметр Rudolph Research Auto Pol VI (алты толқындық, 1.0 мл -ден 0.05 мл ге дейінгі диапазонды қамтитын) көмегімен қоршаған орта температурасында өлшенді және тіркелді. ҚР МФ, 1 т., 2.2.7 сәйкес [68, 49 б.].

Потенциометриялық рН мәні анықтау. рН мәнін өлшеу ҚР МФ, 1 том, п. 2.2.3 сәйкес Basic рН электродты пайдалана отырып, потенциометриялық әдіс арқылы, зерттеу субстанцияның 1% сулы ерітіндісінде жүргізілді [68, 43 б.].

Кептіргендегі массаның жоғалуы. Кептіру кезінде массаның жоғалуын анықтау "ылғалдылықты анықтау" әдісімен ҚР МФ, 1 том, п. 2.2.32 сәйкес жүргізілді [68, 91 б.]. Алдын ала 0.001 г. есептелген және кептірілген бюкске 1.00 г субстанцияны салып, кептіргіш шкафта 40-50⁰С кептіреді. Масса жоғалуы 0.5 % көп болмауы керек. Кептіргендегі масса шығынын есептеуде келесідей формуланы қолданады (X,%):

$$X = \frac{m_0 - m_1}{m_0} * 100 \% \quad (4)$$

мұнда m_0 – кептіргенге дейінгі масса;

m_1 – кептіргеннен кейінгі масса.

Лупинин туындыларын сандық анықтау масс-детекторымен жабдықталған ЖТСХ әдісімен изокритикалық режимінде жүргізілді (ҚР МФ, т. 1, 2.2.29, 79 б.).

Сынақ ерітіндісі. 1,0 мг Lur-43 немесе Lur-41 субстанциясын өлшемді колбаға өлшеп, ерітіп жылжымалы фазамен 25,0 мл көлемге дейін жеткізіп араластырады.

Салыстырмалы ерітінді. 1,0 мг СУ Lur-43/Lur-41 өлшемді колбаға салып, ерітіп жылжымалы фазамен араластырып, 25,0 мл көлеміне жеткізіп араластырады.

20 мкл субстанцияны және 20 мкл СҮ ерітіндісін хроматографиялау, кем дегенде 5 хроматограмма алады.

Бөлме температурасындағы талдау шарттары:

- Zorbax Eclipse Plus C18 бағаны (2,1 x 100 мм), сорбент бөлшектерінің өлшемі 1,8 мкм;

- Жылжымалы фаза: ацетонитрил - су (1:1);

- УК-детектрлеу: 210 нм (Lup-43 үшін), 214 нм (Lup-41 үшін);

- Жылжымалы фаза ағынының жылдамдығы: 1,0 мл/мин.

Субстанциядағы Lup-43/Lup-41 (X) мөлшері пайызбен (5) келесі формула бойынша есептеледі:

$$X = \frac{m_R * S_T * P}{m_T * S_R} * 100\% \quad (5)$$

мұндағы: S_T - сынақ ерітіндісінің (субстанцияның) хроматограммасындағы Lup-43/Lup-43 шың ауданы;

S_R - СҮ ерітіндісінің хроматограммасындағы Lup-43/Lup-41 шың ауданы;

m_R - СҮ ерітіндісіндегі Lup-43/Lup-41 үлгісінің массасы, миллиграммен;

m_T - сынақ субстанциясындағы Lup-43/Lup-41 субстанцияның массасы, миллиграммен;

P - субстанциядағы Lup-43/Lup-41 в субстанциясының құрамы, %.

ЯМР-спектрлер. Эксперименттер Bruker AV-400 спектрометрдің көмегімен 400 және 101 МГц (^1H), Bruker Avance DRX-500 спектрометрмен 500 және 125 МГц (^{13}C) жиіліктерінде алынды. Химиялық ауытқулар ppm (δ) келтірілген, баланс константтары (J) Герцте берілген. Көбейткіштер синглет (s), дублет (d), триплет (t), квартет (q), мультиплет (m) ретінде берілді. ЯМР спектралды талдауда хлороформ (CDCl_3) және метанол (CD_3OD) дейтериленген еріткіштер қолданылды.

Масс-спектроскопия. Лупинин туындыларының молекулалық салмағы мен элементтік құрамын анықтау үшін иондаушы кернеуі 70 эВ (буландырғыш температурасы 220-250 °C) DFS ThermoScientific жоғары ажыратымдылықтағы масс-спектрометрі қолданылды.

Экстракт пен синтезделіп алынған қосылыстардың биологиялық белсенділігін анықтау және токсикологиялық зерттеу әдістері

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens экстрактының, лупинин және оның туындыларының микробқа қарсы белсенділігі «Қарағанды медицина университеті» биомедицина кафедрасының микробиологиялық зертханасында ұсынылған әдіске сәйкес және «Люблин медицина университеті» (Люблин қаласы, Польша) микробиология зертханасында ҚР МФ, 1 т., 2.6.12, 2.6.13 [68, 172 б., 80-85] әдістеріне сәйкес сынақтар жүргізілді.

Үлгілердің микробқа қарсы белсенділігі дискілі-диффузиялық әдіспен зерттелді. Зерттеу *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, сияқты грам-оң бактериялар, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 сияқты грам-теріс бактериялар және *Candida albicans*

АТСС 10231 ашытқы саңырауқұлақ штамдарына қатысты жүргізілді. Салыстыру үшін бактерияларға қарсы бензилпенициллин дискілері, ал *Candida albicans* ашытқы саңырауқұлағына қарсы нистатин қолданылды. Зерттеу әдісі ЖФМ 1.2.4.0010.15 «Антибиотиктердің микробқа қарсы белсенділігін агар диффузиялық әдіспен анықтау» нұсқаулығына сәйкес жүргізілді [68, 172 б., 86].

Дақылдар рН мәні $7,3 \pm 0,2$ болатын сұйық ортада 30-дан 35°C-қа дейінгі температурада 18-20 сағат бойы өсірілді. Дақылдар стерильді 0,9% изотоникалық натрий хлориді ерітіндісінде 1:1000 қатынасында сұйылтылды, оның 1 мл-і зерттелетін сынақ штамдарына сәйкес келетін таңдаулы қоректік ортасы бар ыдыстарға қосылды және «үздіксіз көгал» әдісімен себілді: сәйкесінше Чистович ортасы (сары-тұзды агар), қоректік агар, Эндо ортасы, Сабуро ортасы және №9 ГРМ қоректік ортасы. Кептіруден кейін агар бетінде 6,0 мм шұңқырлар пайда болды, оларға сынақ үлгілерінің ерітінділері, бензилпенициллин бар дискілер және нистатин қосылды. Бақылау ретінде тең көлемде этанол қызмет етті.

Сұйылтылуы және мөлшері: Экстракттардың сынақ үлгілері 1 мкг дозада концентрацияланған ерітінділер түрінде болды [87]. Салыстырмалы препараттардың концентрациясы 1000 мкг болды. Сұйылтылуы сулы ерітіндіні қолдану арқылы жүргізілді. Сұйылтылуы 1:1000 қатынасында жүргізілді.

Үлгілердің микробқа қарсы белсенділігі сынақ штамдарының тежелген өсу аймақтарының диаметріне (мм) негізделіп бағаланды. Аймақ диаметрлерінің 10 мм-ден аз болуы және ыдыстағы үздіксіз өсу микробқа қарсы белсенділіктің жоқтығын көрсетеді деп есептелді; 10-15 мм әлсіз белсенділікті; 15-20 мм орташа белсенділікті; ал 20 мм-ден жоғары айқын белсенділікті көрсетті [88]. Әрбір үлгі үш рет паралелді түрде тексеріледі. Статистикалық өңдеу арифметикалық орташа мән мен стандартты қатені есептеу арқылы параметрлік статистика әдістерін қолдану арқылы жүзеге асырылды.

Үлгілерді *микросұйылту әдісімен микробқа қарсы* белсенділікті зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens экстрактылары және лупинин алкалоидын антибактериалды және зенге қарсы белсенділікке *in vitro* жағдайында Еуропалық микробқа қарсы сезімталдықты тексеру комитетінде (EUCAST) және Клиникалық және зертханалық стандарттар институтының (CLSI) нұсқауларында сипатталған сорпаның микросұйылту әдісін қолдана отырып Люблин медицина университетінің микробиология кафедрасында сыналды.

Сынақ экстрактыларының және лупининнің ең төменгі тежегіш концентрациясы (MIC) Американдық типтік культуралар жинағынан (АТСС) алынған анықтамалық микроорганизмдерге қатысты бағаланды, оның ішінде 5 грам-теріс бактерия штаммы (*Escherichia coli* АТСС 25922, *Klebsiella pneumoniae* АТСС 13883, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853, *Proteus mirabilis* АТСС 12453 және *Salmonella typhimurium* АТСС 14028), 6 грам-оң бактерия штамдары (*Bacillus cereus* АТСС 10826, *Enterococcus faecalis* АТСС 29212, *Micrococcus luteus* АТСС 10240, *Staphylococcus aureus* АТСС 1707, *Staphylococcus aureus* АТСС 25923, *Staphylococcus epidermidis* АТСС 12228)

және 3 саңырауқұлақ штаммы (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 90030 және *Candida parapsilosis* ATCC 22019).

Экстракттардың MIC микросұйылту арқылы Мюллер-Хинтон сорпасында (бактериялар үшін) және стерильді 96 ұңғылы полистирол микротитрлеуші пластиналарында дайындалған MOPS (Roswell Park Memorial Institute 1640 сорпасы, буферленген 3-(N-морфолино)пропансульфон қышқылымен (саңырауқұлақтар үшін) қосылған RPMI 1640 сорпасында екі есе сұйылтуды пайдаланып тексерілді. Стерильді 96 ұңғылы полистирол микротитрлеуші пластиналары (Nunc, Roskilde, Дания) сорпа ортасындағы сынақ экстракттарының тиісті сұйылтылуының 100 мкл-ін әрбір ұңғымаға сериялық екі есе сұйылтулар арқылы құю арқылы дайындалды, бұл сынақ экстракттарының соңғы концентрациясын 0,0195-тен 10 мг/мл-ге дейінгі диапазонда алу үшін жасалды. Инокулят Макфарланд бойынша 0,5 лайылық стандартына сәйкес келетін стерильді 0,85% тұзды NaCl ерітіндісіндегі жаңа микробтық дақылдардан дайындалды және бактериялар үшін 5×10^5 КОЕ/мл және ашытқы үшін 5×10^4 КОЕ/мл соңғы тығыздық алу үшін ұңғымаларға қосылды (КОЕ-колония түзуші бірліктер).

Ең төменгі бактерицидтік концентрация (МВС) өсуді тежеуді көрсететін әрбір ұңғымадан 5 мкл субкультуралау, соңғы оң ұңғыма және ұсынылған агар тақталарындағы өсуді бақылау арқылы алынды. Пластиналар барлық микроорганизмдер үшін 35°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды. МВС микробтық өсуі жоқ экстракттардың ең төменгі концентрациясы ретінде анықталды. Сынақ үлгілерінің бактерицидтік немесе бактериостатикалық әсерін анықтау үшін МВС/MIC қатынастары есептелді. Тәжірибе үш рет қайталанды.

Лупинин туындыларының токсикологиялық зерттеу әдістері

Эксперимент Локалдық Этикалық Комиссия мүшелерінің мақұлдауымен (№9 хаттама отырысынан үзінді 19.06.2024) Қарағанды медицина университетінің фармакология кафедралары қызметкерлерімен бірлесе отырып, зертханаларындағы виварий жануарларын пайдалана отырып Қазақстан Республикасы заңнамасына сәйкес жүргізілді. Қосылыстардың жедел уыттылық әсерлерін зерттеу «Жаңа фармакологиялық заттардың клиникаға дейінгі зерттеулер» атты А.Н. Мироновтың және Р.У. Хабриеваның [89, 90] нұсқаулығындағы әдістеме бойынша жүргізілді.

Лупинин және оның туындысының ацетилхолинэстеразаны (AChE) тежеу белсенділігін анықтау

Элманның стандартты әдісін [91, 92] қолдана отырып, *in vitro* жағдайында зерттелді. Тәжірибе Қарағанды медициналық университетінің микробиология кафедрасының оқу микробиология зертханасында жүргізілді.

Препараттар мен реагенттер: Ацетилхолинэстераза (Sigma-Aldrich, США), концентрациясы 3,2 ЕД/л; галантамин (Tocris Bioscience, США), стандартты ингибитор ретінде; ацетилхолинэстераза ингибиторларын скринингтеу жинағы (Sigma-Aldrich, США); 5,5'-дитиобис-2-нитробензой

қышқылы (DTNB) (Элман реактиві) (Sigma-Aldrich, США); ацетилхолин хлориді (Sigma-Aldrich, США); калий-фосфатты буфер ерітіндісі (pH 7,4).

Ерітінді дайындау: Лупинин және оның 1,2,3-үшазол туындысы (Lup-43) (әрқайсысы 5 мг) 25 мл көлемдік колбадағы мұздық сірке қышқылы мен судың 1:15 қоспасында ерітілді. Ерітінді тазартылған сумен белгіге дейін жеткізілді. Концентрациясы 1 мг/мл болатын жұмыс ерітіндісін алу үшін негізгі ерітіндінің аликвотасы (5 мл) 100 мл көлемдік колбаға ауыстырылып, белгіге дейін тазартылған сумен толтырылды. Әрі қарай, жұмыс ерітіндісінің екі есе сұйылтылуы 0,5 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,125 мг/мл, 0,0625 мг/мл және 0,03125 мг/мл соңғы концентрацияларымен дайындалды. Бақылау ерітіндісі ретінде пайдалану үшін 0,5 мг/мл концентрациясы бар бақылау ерітіндісі (галантамин) дәл осылай дайындалды.

Зерттеу жұмысы: 1. Дайындалған ацетилхолинэстераза қоспасын (20 мкл) (3,2 U/л) микропланшетке құйылады.

2. Әрбір ұңғымаға 25 мкл сынақ алкалоидын (екі есе сұйылтулар) немесе галантаминді, сондай-ақ 25 мкл калий фосфаты буфер ерітіндісін (pH 7,4) қосып, көлемін 300 мкл-ге жеткізілді.

3. Қоспаны 37°C температурада 15-20 минут инкубациялайды.

4. 25 мкл ацетилхолин хлоридін (0,02 M) және 25 мкл 5,5'-дитиобис-2-нитробензой қышқылын (DTNB) (0,02 M) қосу арқылы реакцияны бастаңыз.

5. Қоспаның оптикалық тығыздығы 5 минуттан кейін 412 нм толқын ұзындығында PD-303 сандық спектрофотометрін пайдаланып жазылды.

Зерттеу нәтижелері:

Ацетилхолинэстеразаның тежеу белсенділігінің ингибирлеу пайызы келесі формула (6) бойынша есептелді:

$$AChE (\%) = (A_{\text{бақылау}} - A_{\text{сынақ}} / A_{\text{бақылау}}) \times 100\% \quad (6)$$

мұндағы: $A_{\text{бақылау}}$ - сынақ қосылысы бар ұяшықтағы оптикалық тығыздық; $A_{\text{сынақ}}$ - бақылау ұяшығындағы оптикалық тығыздық (құрамында галантамин бар).

Келесі параметрлер есептелді:

IC_{50} - ацетилхолинэстераза белсенділігінің 50% тежелуін тудыратын концентрация. IC_{50} пробитталдауы арқылы есептелді. Барлық сынақтар үш рет орындалды (n=3).

Статистикалық талдау: Нәтижелер орташа мән \pm орташа мәннің стандартты қателігі (M \pm SEM) ретінде көрсетіледі.

Лупинин туындысының Lup-41 вирусқа қарсы белсенділігін зерттеу

Вирусқа қарсы белсенділікті анықтау үшін әртүрлі антигендік формулалары бар H3N2 және H1N1 тұмау вирусының штамдары пайдаланылды. Сынақ Lup-41 қосылысының вирусқа қарсы белсенділігі химиялық терапиялық индексті (ХТИ) анықтау үшін 0,0016%-дан 0,2%-ға дейінгі концентрацияларда зерттелді, бұл тауық эмбрионына 0,003-0,4 мг (0,06-8 мг/кг) дозаларына сәйкес келеді [93].

Нәтижелерді статистикалық өңдеу ҚР МФ талаптарына сәйкес жүргізілді. Салыстырылған үлгілердегі айырмашылықтардың статистикалық маңыздылығы Стьюденттің t-тестін қолдану арқылы бағаланды; айырмашылықтар $p \leq 0,05$ кезінде статистикалық тұрғыдан маңызды деп саналды. Дерекқорды жинақтау, аналитикалық өңдеу, есептеу операциялары және зерттеу нәтижелерін графикалық түрде көрсету Microsoft Excel 2010 электрондық кестелерін пайдаланатын компьютерде орындалды.

3 ANABASIS SALSA (С.А. MEY.) BENTH. EX VOLKENS ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫН ФАРМАКОГНОСТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ ЖӘНЕ СТАНДАРТТАУ

3.1 Сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens) шикізат қорын анықтау

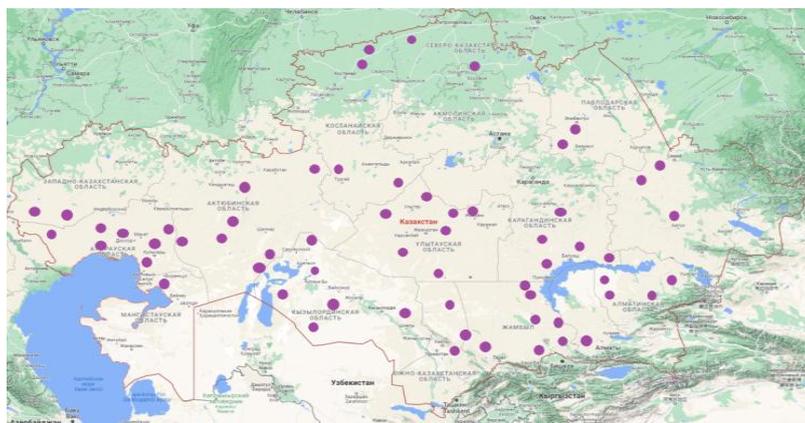
Сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens *Anabasis L. Chenopodiaceae* Vent. тұқымдасына жататын полиморфты өсімдік. Бұл тұқымдас жер шарында, шөл және шөлейт аймақтарда кең таралған. Барлығы 100-ге жуық тұқымдас және 1400-ге жуық түрі бар. *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens Орталық Азияда кең тараған, осы тұқымдастың кең таралған және перспективті түріне жатады. *Anabasis L.* тұқымдасы биологиялық белсенді екіншілік қосылыстардың бай көзі болып табылатыны белгілі, мысалы, дитерпендер, алкалоидтар, тритерпендер, сапониндер, фенол қышқылдары және флавоноидтар. Бұл әртүрлі фитохимиялық қосылыстар *Anabasis L.* түрлерінің фармакологиялық белсенділіктің кең спектріне ие екені көрсетеді [93]. Осы *Anabasis L.* тұқымдасының ішінде *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігі өзінің фармакологиялық белсенділігімен ғалымдармен қызықтырып жан жақты зертеуде.

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens Батыс, Орталық және Шығыс Қазақстанды, Еуропалық және Оңтүстік-Шығыс Ресейді, Солтүстік Иранды қоса алғанда құрайды. Бұл өсімдік Қазақстанда Каспий мен Арал теңіздерінің аралығында, үстіртте, Маңғышлақ түбегінде, Бетпақдалада, Мырзашөлдің сазды шөлдерінде кездеседі [94]. Батыс Қазақстан аумағындағы *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens популяциясына [95, 96] авторлар геоботаникалық сипаттамалар берген. Ол сортаң және сұрқоңыр топырақты жерлерде, сондай - ақ тақыр жерлерде өседі, онда ол доминант рөлін атқарады. Оның жалпы проективтік жамылғысы 20-дан 50%-ға дейін.

«Өсімдіктер мен жануарлардың сирек кездесетін және Құрып кету қаупі төнген түрлерінің тізбесін бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2006 жылғы 31 қазандағы №1034 қаулысына сәйкес сортаң бұйырғын түрі сирекке жатпайды, сондай-ақ жойылып кету қаупі жоқ. Зерттеу әдістеріне: Ресурстық зерттеу, оның ішінде, шикізаттың таралуы, өсіп-көбею алаңы және өнімділікті тиімді бағалау және де Қазақстан аймағындағы пайдалану қорларын ескеріп, *Anabasis salsa* шикізатын жинаудың ықтимал көлемін анықтау ҚР Экология және табиғи ресурстар министрінің м.а. №103 бұйрығында көрсетілген 2023 жылғы 30 наурыздағы «Өсімдік ресурстарының қорларына ресурстық зерттеу жүргізу әдістемесін бекіту және оларды пайдалану лимиттерін айқындау туралы» сәйкес жүзеге асырылды.

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens шөбінің шикізат қорын және оның ықтималды жинау көлемін анықтау үшін өсу орны, ауданы және оның өнімділігі анықталды. Батыс, Оңтүстік және Орталық Қазақстанда сортаң

бұйырғын шөбінің өндіріске жарамды қоры анықталды. Әдетте сазды, сортаң немесе тасты, сазды аймақтармен байланысты (5-сурет).



Сурет 5 - Қазақстандағы *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің таралу аймағы

5-суретте көрсетілген деректерден көрініп тұрғандай, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens негізінен еліміздің келесі аймақтарында таралған: Атырау, Маңғыстау, Қызылорда, Жамбыл, Алматы, Ұлытау және Қарағанды облыстарында. Сонымен қатар, Ақтөбе, Павлодар, Батыс Қазақстан, Солтүстік Қазақстан облыстарында да кездеседі [97, 98].

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің ықтимал жинау көлемі шикізаттың пайдалану қорларын және толық қалпына келтіру кезеңінің ұзақтығын (1 жыл) ескере отырып есептелді. Өсімдіктің ауданы оның контурын геометриялық фигураға (квадратқа) теңестіру арқылы анықталды және сол фигураның ауданын есептеу үшін қажетті параметрлерді (ұзындығын, ені) өлшенді. Өнімділікті есепке алу есеп алаңдары әдісімен жүргізілді. Өсімдіктің жерүсті бөлігінің өнімділігі 80-395 кг/га құрады, жалпы пайдалануға жарамды қоры 3099,87 тонна, жылдық шикізат жинау көлемі - 1852,89 тоннаны құрады (3-кесте).

Кесте 3 - Қазақстандағы *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің өнімділігі мен шикізат қоры

Өсу орны	Ауданы, га	Өнімділігі, кг/га	Пайдалану қоры, т	Шикізаттың көлемі, га жыл сайынғы жинау, т
1	2	3	4	5
Желтау таулары, Сары-Бұлақ маңы (Атырау облысы)	126,0	395 ± 32	49,77	24,89
Солтүстік Ақтау жотасы (Маңғыстау облысы)	1080,0	210 ± 18	2258,2	1354,3
Жамбыл қыстағы, Ақтаудан 63 км. Оңтүстік Ақтауға жетпей (Маңғыстау облысы)	3240,0	240 ± 31	777,6	466,6

3 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
Таушық ауылының маңы (Маңғыстау облысы)	11,1	80 ± 12	8,9	4,5
Балқаш облысы, Бектауата тауларының маңы (Қарағанды облысы)	25,4	212 ± 25	5,4	2,6
Барлығы	4482,5		3099,87	1852,89

Осылайша, ресурстарға сүйене отырып, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбі Қазақстан аумағында таралған, көбінесе Маңғыстау, Ақтау және Қарағанды облыстарында кездеседі, кейбір жерлерде шикізат жинауға жарамды кең популяцияларды құрайды (Қосымша А).

Anabasis salsa (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбі жинау технологиясы

Тиісті өсіру және жинау қағидалары GACP (good agricultural and collection practice) принциптерін және де «Өсімдік тектес бастапқы шикізатты өсірудің, жинаудың, өңдеудің және сақтаудың тиісті практикасы қағидаларын бекіту туралы» Еуразиялық экономикалық комиссия Кеңесінің 2018 жылғы 26 қаңтардағы № 15 шешімін басшылыққа ала отырып, Орталық Қазақстанда, Ақжал ауылының маңында (Қазақстан Республикасы, Қарағанды облысы, Шет ауданы) (47°72'040" с.е. 74°06'698" ш.б.) жүргізілді.

Дәрілік өсімдікті дайындау өсімдіктің вегетация кезеңі аяқталғаннан кейін, құрғақ ауа райында, таңғы уақытта жерүсті бөлігін теру арқылы тамыз-қыркүйек айларында жүргізілді. Зерттеу өсімдігінің түр сәйкестігін академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университеті, ботаника кафедрасының қызметкерлері растады және осы түрдің үлгілері осы оқу орнындағы биология-география факультетінің гербарий қорында сақтаулы (б, 7-сурет) (Қосымша Б).

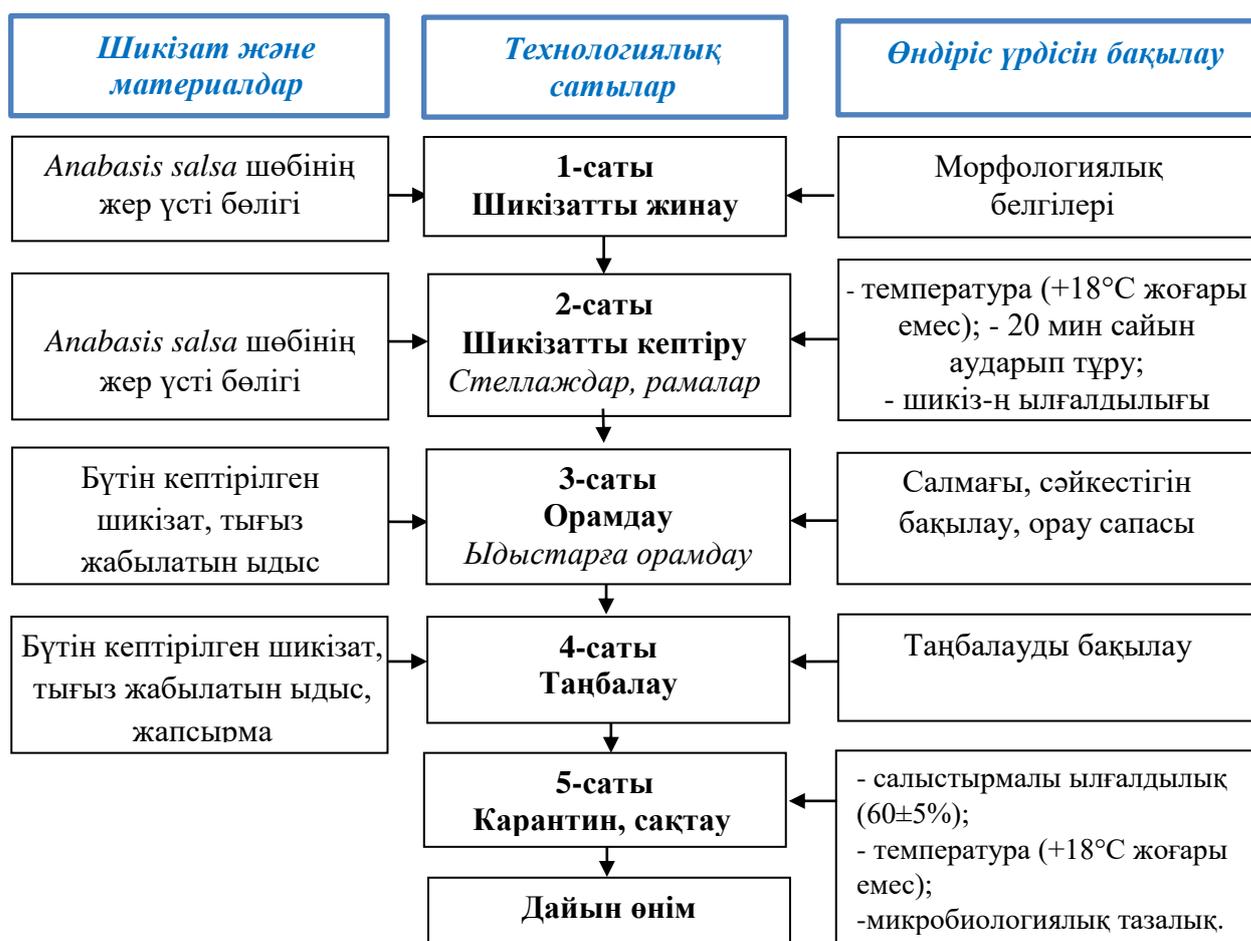


Сурет 6 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің сыртқы түрі. Автордың суреті



Сурет 7 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің гербарий

Anabasis salsa (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатын дайындау және кептірудің технологиялық сызбасы 8-суретте келтірілген.



Сурет 8 - *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатын дайындау және кептірудің технологиялық сызбасы

Осылайша, *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens шөбін жинау технологиясы жасалды орау және таңбалау үшін қажетті стандарттар белгіленді. Шикізатты жинау 5 сатыдан тұрады. Дайын өнімді бақылау НҚ сәйкес жүзеге асырылды.

3.2 Орталық Қазақстан аймағында өсетін *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігінің морфологиялық және анатомиялық құрылысын зерттеу

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens шөбінің морфологиялық диагностикалық сипаттамалары:

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens шөбінің жер үсті және жер асты бөліктерінің морфологиялық сипаттамаларын зерттеуі, оның биіктігі 5-25 см болатын бұта тәрізді өсімдік екенін, түбінде ағаш тәрізді, жоғары тармақталған бұтақтары бар екенін, түбінде диаметрі 1-2 мм болатын көптеген ашық жасыл,

сұр-ақшыл-жасыл немесе күрт ақшыл, цилиндрлік, ақшыл, жылтыр, біржылдық өскіндер беретінін, көбінесе 5-12 түйін аралықтарынан тұратынын, кейде созылған (40 мм-ге дейін), кейде қатты қысқарғанын (2-3 мм-ге дейін) анықталды. Беті ұсақ қабырғалы, кедір-бұдырлы, трихомалары жоқ және қоңыр-жасыл түсті (9 А, Б-сурет).

Жапырақтары дамымаған, бүршіктері кең, қабыршақ тәрізді, жұмыртқа тәрізді үшбұрышты және доғал. Гүлдері жеке орналасқан, қысқа, кең жұмыртқа тәрізді, шөпті, доғал және шөпті брактеолдармен қоршалған, тікенекті гүлшоғырларға жиналған (9В-сурет). Гүлшоғырлары қабықшалы, доғал және жеміс берген кезде өзгереді, бірақ қабықшалы болады; үшеуі дөңгелек-сопақша, екеуі сопақша-сопақша. Жемісі кең жұмыртқа тәрізді, шырынды, қызыл, қан-қызыл шырыны бар және әрқашан перианттан сәл үлкенірек.

Тамырлары қалыңдаған, беті терең әжімделген, кедір-бұдыр сұр қабығы бар, сынған кезде ақ-сары (9Г-сурет).



а) шикізаттың жалпы бейнесі; б) өскіндер; в) гүл шоғырының бөліктері;
г) тамырлар

Сурет 9 - *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті және жер асты бөліктерінің морфологиялық құрылымы

Зерттеуде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің морфологиялық және анатомиялық сипаттамалары талданды. Морфологиялық тұрғыдан бұл өсімдік жіңішке тамырлары мен сабақтары, қысқарған жапырақтары дамымаған бұта тәрізді өсімдік. Жемістері кеңінен жұмыртқа тәрізді. Гүлдері жалғыз, гүлшоғырларда жиналған.

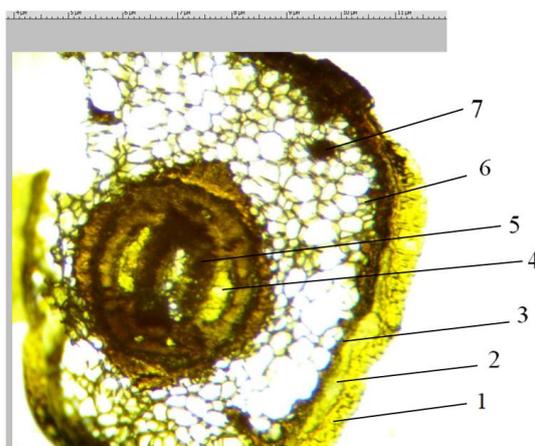
Осылайша, шикізатты макроскопиялық деңгейде анықтау үшін келесі диагностикалық белгілер ұсынылады: өркеннің құрылымы, қалыңдығы, бетінің құрылымы және түсі; маска тәрізді гүлшоғырдағы гүлдердің орналасуы, сабақтың құрылымы, түсі; тамыр бетінің пішіні, қабығының құрылымы және сыну кезіндегі түсі [99].

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens вегетативті мүшелерінің (өркені, гүлшоғыры, тамыры) анатомиялық-диагностикалық ерекшеліктерін зерттеу

Микроскопиялық талдау

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігіне микроскопиялық талдау академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университеті, биология-география факультетінің ботаника кафедрасында зерттелді және анықталды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens сабағының (жас өркен) микроскоптағы анатомиялық құрылысы ($\times 10$ үлкейт.) 10-суретте көрсетілген.



1 - эпидерма - гиподерма; 2 - палисадты жасушалар (бағаналы); 3 - кранц жасушалар; 4 - флоэма; 5 - ксилема; 6 - су жинақтаушы ұлпа жасушалары; 7 - друзалар

Сурет 10 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens сабағының анатомиялық құрылысы

Сабағының (жас өркен) анатомиялық құрылысы күрделі болып келеді, себебі жапырақтары редукцияға ұшырағандықтан ассимиляциялық (фотосинтез) қызметті жас өркендері, жасыл сабақтары атқарады. Эпидерма - гиподерма - жабын ұлпасы, созылық пішінді, тығыз орналасқан жасушалардан 2-3 қатар құрайды. Келесі палисадты жасушалар (бағаналы)

орналасқан, бұлар өте тығыз орналасқан бағана тәріздес келетін жасушалар. Кранц жасушалар, бұл жасушалар әдетте С4 фотосинтезі бар өсімдіктерде болады, осы белгі негізгілердің бірі болып табылады. Друзалар - әдетте тұзды орталарда өсетін өсімдік терге тән болып келеді, бұның негізінде біз бұл өсімдік топырақ құрамындағы тұздарды өз бойына жинақтап алады десек болады. Су жинақтаушы ұлпа жасушалары - аридты, құрғақ өңірлер де өсетін өсімдіктерге тән. Өткізгіш шоқ әдеттегідей флоэма және ксилемадан тұрады (сурет 10).

Осылайша, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің морфологиялық және анатомиялық ерекшеліктеріне талдау жасалды. Біріншіден, морфологиялық тұрғыда бұл өсімдік жартылай бұта, тамыр жүйесі және сабақтары жақсы дамыған, жапырақтары редуцияға ұшыраған. Жемістері үш қанатты болып келеді. Екіншіден, анатомиялық ерекшеліктері оның жас өркендері фотосинтез процессінде негізгі қызмет атқаруын да, кранц жасушаларының болуы фотосинтездің С4 формасын да жүретінін көрсетеді және друзалардың өсімдік бойында көп болуы тұздарды жинақтаушы өсімдік болып табылатындығын анық түсіндіреді.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігін гистохимиялық зерттеу

Гистохимиялық зерттеу ҚР МФ т.1, «Дәрілік өсімдік шикізатын сынау әдістері», «Өсімдік шикізатын микроскопиялы және микрохимиялық зерттеу техникасы» талаптарына сәйкес өркеннің, гүлшенің және тамырдың көлденен қиындысына арнайы жүргізілді. Гистохимиялық зерттеу сараптамасын жүргізуде, 4-кестеде көрсетілген реактивтер қолданылды.

Кесте 4 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті және жер асты бөліктерінің гистохимиялық сараптама нәтижесі

№	Реактивтер	Қосылыстар	Бояу түсі	Сабағы	Гүлшелері	Тамыры
1	1-% FeCl ₃ этанолды ертіндісі	Флавоноидтар	Қара-көк-жасыл	+	+	+
2	Драгендорф реактиві	Алкалоидтар	Қоңыр, қызғылт	+	+	+
3	2 % метилен көгі ертіндісі	Эфир майы	Көк	-	-	-
4	H ₂ SO ₄ конц. ванилин ертіндісі	Сесквитерпен ді лактондар	-	-	-	-
5	10% тимол ертіндісі	Полисахаридтер	Қызғылт сары-қызыл	+	+	+
6	10% этанолды ертіндісі K ₂ Cr ₂ O ₇	Фенолды қосылыстар	Қоңыр, сары	+	+	+
Ескертпе: «-» теріс реакция; «+» оң реакция						

Гистохимиялық зерттеулер *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің белгілі бір тіндерінің тән бояуын анықтады, бұл реагенттердің

анықталған компоненттермен әрекеттесуінің нәтижесі. Флавоноидтардың, фенолдық қосылыстардың, алкалоидтардың және полисахаридтердің жиналуына сапалық реакциялармен анықталды, бірақ эфир майлары және сесквитерпенді лактондары анықталмады.

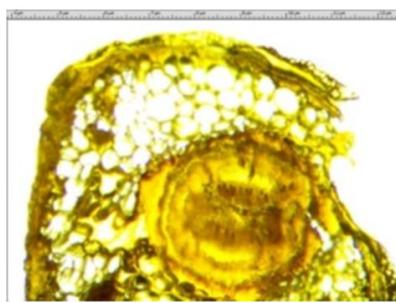
Төменде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамындағы метаболиттер топтарын анықтау нәтижелері келтірілген.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамындағы флавоноидтарды анықтау

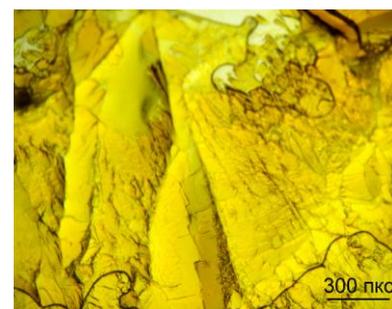
Темір хлориді (III) ерітіндісін қолдану нәтижесінде өскіннің қабығы мен тамыр аймағындағы жасушалардың қарқынды боялуын анықтады, ал эпидермис жасушалары мен су сақтайтын паренхимада онша қарқынды емес бояу байқалды. Калий бихроматының боялуы эпидермисте, қабық паренхимасы жасушаларында, өскін мен тамыр ксилемасында және гүлшенің эпидермисінде фенолдық қосылыстардың болуын растады. Зерттелген үлгілердің микропрепаратын $FeCl_3$ 1%-этанол ерітіндісімен өндегеннен кейін, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінің барлық зерттелген мүшелерінде қарқынды қара-жасыл түс байқалды (11-сурет).



Тамырдың көлденең қиындысы



Сабақтың көлденең қиындысы

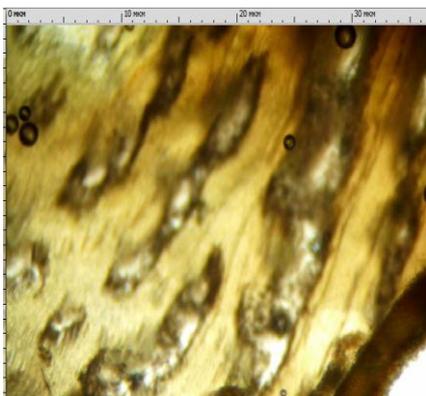


Гүлшенің көлденең қиындысы

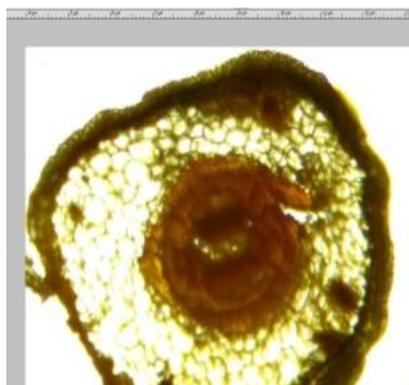
Сурет 11 - $FeCl_3$ 1% -этанол ерітіндісімен гистохимиялық реакциялардың нәтижесі ($\times 10$ үлкейту)

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамындағы алкалоидтарды анықтау

Алкалоидтардың болуы зерттелген *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдіктің мүшелерінде қоңыр және қызғылт дақтар түріндегі біркелкі емес бояумен расталды, бұл барлық жасушаларда алкалоидты топтардың бар екенін көрсетеді. Алкалоидтардың жиналу орындары: сабақтың көлденең қиындысында - тамыр шоғырының кортикальды паренхимасы; тамырдың көлденең қиындысында және беткі қималарда - алкалоидтар жиналатын кортикальды паренхима және ксилема элементтері, атап айтқанда паренхиматозды жасушаларда; гүлшеде - гүлшенің басты бөлігінің эпидермисінде (12-сурет).



Тамырдың көлденең қиындысы



Сабақтың көлденең қиындысы

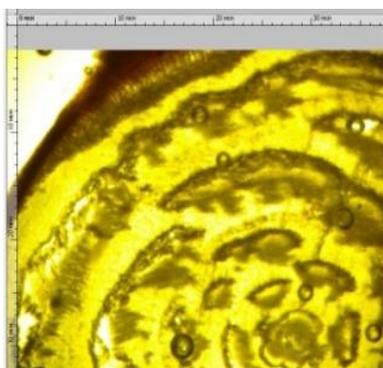


Гүлшенің көлденең қиындысы

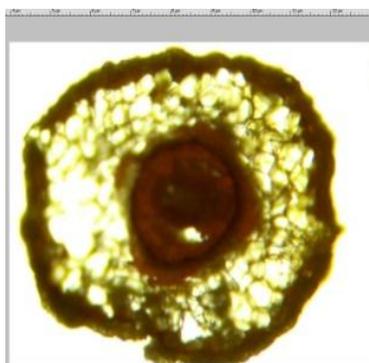
Сурет 12 - Драгендорф реактивімен гистохимиялық реакциялардың нәтижесі ($\times 10$ үлкейту)

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамындағы фенол қышқылдарды анықтау

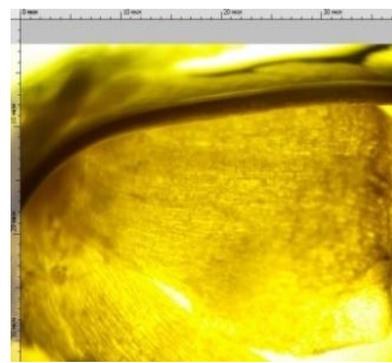
Фенол қышқылдарын анықтау үшін сынақ 10% калий бихроматы ерітіндісіне салынып, 7 күнге қалдырылды. Фенол қышқылдарының болуы барлық тексерілген *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдіктің мүшелерінде қарқынды сары-қоңыр түспен расталды, бұл барлық жасушаларда фенолдық қосылыстардың бар екенін көрсетеді (13-сурет). Фенолды қосылыстар эпидермисте, қыртыс паренхимасы жасушаларында, өскіндер мен тамырлардың ксилемасында және гүлше эпидермис жасушаларында байқалды.



Тамырдың көлденең қиындысы



Сабақтың көлденең қиындысы



Гүлшенің көлденең қиындысы

Сурет 13 - Калий бихроматының 10% этанол ерітіндісімен гистохимиялық реакциялардың нәтижесі ($\times 10$ үлкейту)

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамындағы полисахаридтерді анықтау

Зерттелген *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдіктің мүшелерінде полисахарид іздерінің болуы сарғыш-қызыл дақтар түріндегі біркелкі емес бояумен расталды, бұл гүлше жасушаларында полисахарид топтарының бар екенін көрсетеді. Полисахаридтің локализациясы тамыр мен

өркеннің ксилемасында, сондай-ақ гүлшелердің эпидермисінде байқалды (14-сурет).



Сурет 14 - 10% тимол ерітіндісімен және концентрлі H_2SO_4 ерітіндісімен гистохимиялық реакциялардың нәтижесі ($\times 10$ үлкейту)

Осылайша, алғаш рет *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінің жер үсті және жер асты мүшелерінің ішкі құрылымдары микроскопия мен гистохимиялық тестілеуді қолдану арқылы зерттелді. Сабақтардың, гүлшоғырлардың беткі көлденең қиындысында және тамырлардың көлденең қиынды препараттарында гистохимиялық тестілеу нәтижесінде флавоноидтар мен алкалоидтарды анықталып, олардың локализациясы анықталды.

Алкалоидтардың *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өскіндерінде орналасуы анықталды және тамыр шоғырының қыртыс паренхимасының тіндерінде, гүлшелерде – базальды бөлігінің эпидермисінде; тамырда – қыртыс паренхимасы мен ксилема элементтерінде байқалды. Флавоноидтардың және фенолды қосылыстардың болуы эпидермисте, өскіндер мен тамырлардың қыртыс паренхимасы мен ксилема жасушаларында және гүлшенің эпидермисінің жасушаларында байқалды. Полисахаридтердің орналасуы өсімдіктің тамыры мен өркенінің ксилемасында және гүлшенің эпидермисінде байқалды. Гистохимиялық сынақтар нәтижесінде *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінде эфир майлары мен сесквитерпен лактондарының болуына тән бояу анықталмады, яғни зерттелген сортаң бұйырғын өсімдік мүшелерінде орналасуы анықталған жоқ [100] (Қосымша В).

3.3 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының технологиялық көрсеткіштерін зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінен экстракт алу үшін фармакопоялық және технологиялық сапа параметрлері ҚР МФ І т. талаптарына сай анықталды: яғни; үлестік салмағы, көлемдік салмағы, үйілген массасы, кеуектілігі, бөлектілігі, шикізат қабатының еркін көлемі, экстрактивті

заттар, кептіргендегі масса шығыны, жалпы күл, хлорсутек қышқылында ерімейтін күл, минералды және органикалық қоспалар анықталды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының технологиялық параметрлерін және сандық көрсеткіштерін зерттеу нәтижелері 5-7-кестелерде келтірілген. Тәжірибелер бес параллель қайталауда орындалды, нәтижелері статистикалық өңдеу есепке алынды.

Кесте 5 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының кейбір технологиялық көрсеткіштері

Дәрілік өсімдік шикізаты	Үлестік салмағы, г/см ³	Көлемдік салмағы, г/см ³	Үйілген массасы, г/см ³	Кеуектілігі, г/см ³	Бөлектілігі, г/см ³	Шикізат қабатының еркін көлемі, г/см ³
<i>Anabasis salsa</i> шикізаты	1,0252±0,01	0,1826±0,04	0,3145±0,02	0,4211±0,03	0,2845±0,02	0,6512±0,03

Алынған сандық көрсеткіштер *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінің ұнтақтау дәрежесіне қарай технологиялық параметрлері: үлестік салмағы, көлемдік салмағы, үйілген масса, кеуектілігі, бөлектілігі, шикізат қабатының еркін көлемі, сонымен қатар экстрактивті заттар мөлшерінің шығымы фармакопоялық талаптар сәйкес оңтайлы экстракт алу технологиясын әзірлеудің негізгі критерийі бірі болып табылады. Алынған эксперименттік көрсеткіштер оңтайлы экстрагентті таңдауға және экстрактивті заттар сомасының мөлшеріне және процестің тиімділігін болжауға мүмкіндік береді.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізаттың (жер үсті бөлігі) ұнтақтау дәрежесінің экстрактивті заттардың шығымына әсерін зерттеу үшін экстрагент ретінде тазартылған су және этил спиртінің әртүрлі концентрациялары: 30%, 50%, 70%, 90% ерітіндісі пайдаланылды. Кептірілген шикізат өлшемдері бойынша ұсақталған, мм: 1,0-3,0, 3,0-5,0 және 5,0-7,0 болды. Белгілі экстрагенттерде зерттелетін шикізаттан биологиялық белсенді заттардың көп мөлшерде бөлініп алынды. Абсолютті құрғақ шикізатқа есептегенде экстрагентті заттардың мөлшері есептелінді (6-кесте).

Кесте 6 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатына экстрагент таңдау нәтижелері

Еріткіштер		Экстрагенттің жұтылу коэффициенті, %	Экстрактивті заттар шығымын анықтау нәтижесі, %
Тазартылған су		6,4521±0,3	20,14
Этил спирті	30%	8,2498±0,8	17,26
	50%	5,9432±0,4	21,17
	70%	11,4118±0,2	28,18
	90%	10,3148±0,3	13,12

6-кестеде келтірілген нәтижеге сүйене отыра *Anabasis salsa* шөбінен экстрактивті заттарды бөлудегі ең тиімді экстрагент ретінде бөлінген экстрактивті заттардың пайыздық үлестерін негіздей келе, 70% этанол ерітінділеріндегі экстрактивті заттардың шығымының мәні жоғары болғандықтан, экстрагент ретінде таңдалынды. Шикізаттың дисперсиясы 1,0-3,0 мм болып табылды.

Кесте 7 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінің фармакогностикалық зерттеу нәтижелері

№	Сапа көрсеткіштері	Зерттеу нәтижесі, %	НҚ бойынша нормасы
1	Кептіргендегі масса шығыны	4,7±0,02	10 % артық емес
2	Жалпы күл	9,8±0,04	10 % артық емес
3	Хлорсутек қышқылында ерімейтін күл	0,56±0,01	3 % артық емес
4	Минералды қоспалар (топырақ, құм, тас)	0,43±0,02	1 % артық емес
5	Органикалық қоспалар (басқа улы емес өсімдіктердің бөліктері)	0,24±0,02	1 % артық емес

7-кесте бойынша тәжірибелік зерттеу қорытындының толығымен ҚР МФ талаптарына сәйкес, арнайы мақалаларда келтірілген шектік мөлшерден аспағандығы анықталынды [101].

Өсімдік шикізатының минералды құрамын зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөлігіндегі микроэлементтердің құрамын анықтау дәрілік өсімдік шикізатының экологиялық және медициналық қауіпсіздік дәрежесін осы түрдің көрсеткіш бойынша бағалау үшін қажет. Минералдық құрамын талдау 8-кестеде келтірілген.

Кесте 8 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатындағы макро-, микроэлементтік құрамы

Элемент	Мөлшері, мкг/мл
<i>Макроэлементтер</i>	
Калий (K)	352,0788±31.8
Кальций (Ca)	825,642±1.65
Магний (Mg)	305,1964±1.89
Натрий (Na)	740,0027±1.05
<i>Микроэлементтер</i>	
Мыс (Cu)	0,0851±0.05
Темір (Fe)	10,8834±1.08
Мырыш (Zn)	2,0766±0.109
Марганец (Mn)	3,2203±0.81

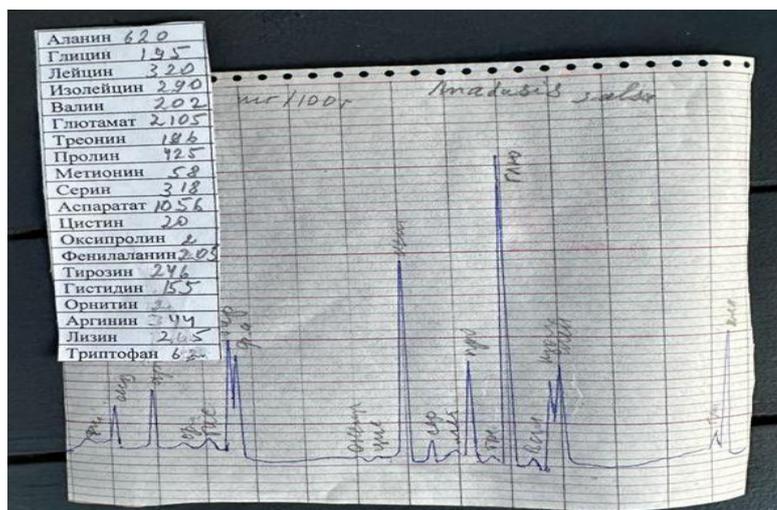
Өсімдік шикізатының аминқышқылдар құрамын зерттеу

Зерттелген *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатында бағандарды ұстау уақытына негізделген стандартты үлгілерді пайдаланып 20 аминқышқылы анықталды. Оларға 10 алмасатын, 10 алмаспайтын аминқышқылдары және 3 шартты алмаспайтын аминқышқылдар (аргинин, гистидин және тирозин) анықталды. Бос аминқышқылдарының ішінде глутамат, аспартат және аланин көп мөлшерде табылды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатындағы аминқышқылдарының хроматографиялық талдау нәтижелері 9-кестеде және 15-суретте көрсетілген. Зерттеу нәтижесінде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік құрамында 20 аминқышқылдары, оның ішінде алмасатын және алмаспайтын аминқышқылдары анықталды.

Кесте 9 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатындағы аминқышқылдарының құрамы

№	Аминқышқылдары	Брутто- формула	Саны, мг/100г	Құрамы , %
Алмасатын аминқышқылдары				
1	Аланин	$C_3H_7NO_2$	620	0,620
2	Аргинин	$C_6H_{14}N_4O_2$	344	0,344
3	Орнитин	$C_5H_{12}N_2O_2$	2	0,002
4	Пролин	$C_5H_9NO_2$	425	0,425
5	Тирозин	$C_9H_{11}NO_3$	246	0,246
6	Серин	$C_3H_7NO_3$	318	0,318
7	Глутамат	$C_5H_9NO_4$	2105	2,105
8	Цистин	$C_6H_{12}N_2O_4S_2$	20	0,020
9	Глицин	$C_2H_5NO_2$	195	0,195
10	Аспартат	$C_4H_7NO_4$	1056	1,056
Алмаспайтын аминқышқылдары				
11	Лейцин	$C_6H_{13}NO_2$	320	0,320
12	Изолейцин	$C_6H_{13}O_2N$	290	0,290
13	Валин	$C_5H_{11}NO_2$	202	0,202
14	Треонин	$C_4H_9NO_3$	196	0,196
15	Метионин	$C_5H_{11}O_2NS$	58	0,058
16	Оксипролин	$C_5H_9NO_3$	2	0,002
17	Фенилаланин	$C_9H_{11}NO_2$	205	0,205
18	Гистидин	$C_6H_9N_3O_2$	155	0,155
19	Лизин	$C_6H_{14}N_2O_2$	265	0,265
20	Триптофан	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	62	0,062



Сурет 15 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөлігінің аминқышқылдар құрамының хроматограммасы

Негізгі алмаспайтын аминқышқылы - лейцин, ал алмастырылмайтын аминқышқылдарының ішінде глутамат, аланин және аспарат басым. Алмастырылмайтын аминқышқылдарының сандық мөлшері дәрілік өнімдерді әзірлеу үшін шикізаттың биологиялық құндылығын арттырады [102].

Мегаполистердің тұрғындары әдетте ағзаларында ауыр металдар мен радионуклидтердің артық болуынан зардап шегеді: стронций, цезий, қорғасын, мышьяк, кадмий, сынап, хром, никель. Ауыр металдар мен радионуклидтердің денсаулыққа қауіпті екені ешкімге құпия емес. Сондықтан, ҚР МФ келтірілген әдістердің талаптарына сәйкес шикізаттағы радионуклидтер мен ауыр металдардың құрамы бойынша зерттеулер жүргізілді (10-кесте) (Қосымша Г) [103].

Кесте 10 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізаттындағы ауыр металдар көрсеткіштері

Элемент	НҚ бойынша нормасы, мг/кг	Нақты нәтижесі мг/кг
Кадмий (Cd)	1,0	0,0851±0.05
Қорғасын (Pb)	5,0	0,1994±0.07
Мышьяк (As)	1.0	Анықталған жоқ
Сынап (Hg)	0.1	Анықталған жоқ

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізаттындағы радионуклидтерді құрамын зерттеу нәтижесі үшін цезий 137 (Cs-137) 400 Бк/кг, стронций 90 (Sr-90) 200 Бк/кг аспады. Аталған параметрлерді ҚР МФ І т., 2.8 әдістемесі мен «Радиациялық қауіпсіздікті қамтамасыз етудің сантарлы-эпидемиологиялық талаптарына» сай, гигиеналық нормативке сәйкес жүргізілді (Қосымша Д).

Осылайша, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізаттының химиялық құрамы анықталды, яғни, өсімдіктегі минералды құрамы ішінен

кальций, калий, темір, магний, калий элементтері анықталды, ауыр металдар мен радионуклеотидтер радиациялық қауіпсіздікті қамтамасыз етудің санитарлы-эпидемиологиялық талаптарына сай болды, ауытқу жоқ.

Тәжірибелік-эксперименттік жұмысымыздың нәтижесі бойынша Қарағанды облысындағы Қазақстан Республикасының аумағында өсетін *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының фармакогностикалық, технологиялық көрсеткіштері анықталып, экстракциялау үшін экстрагент таңдалды. Алынған деректер технологиялық процесінде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінен биологиялық белсенді экстрактыларды бөлуде, сондай-ақ осы өсімдіктің нормативтік құжатын әзірлеуде пайдаланылады.

3.4 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатындағы белсенді затты сандық анықтау және шикізаттың сапа спецификациясын жасау

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатындағы лупининді сандық анықтау жоғарыда келтірілген 2.2 тараудағы әдіске сәйкес жүргізілді. Сандық анықтау жоғары тиімді сұйық хроматография арқылы (ЖТСХ) әдісімен жүзеге асырылады (ҚР МФ т.1, 2.2.29).

Сынақ ерітіндіні дайындау. 2,0 мг лупинин 25,0 мл көлемдік колбаға салынып, 10 мл жылжымалы фазада ерітіліп, жылжымалы фазамен белгіге дейін сұйылтылып, араластырылып, 0,45 мкм мембраналық сүзгі арқылы сүзіледі.

Хроматографиялық жүйенің жарамдылығын тексеру.

Хроматографиялық жүйе келесі шарттар орындалған жағдайда жарамды деп саналады:

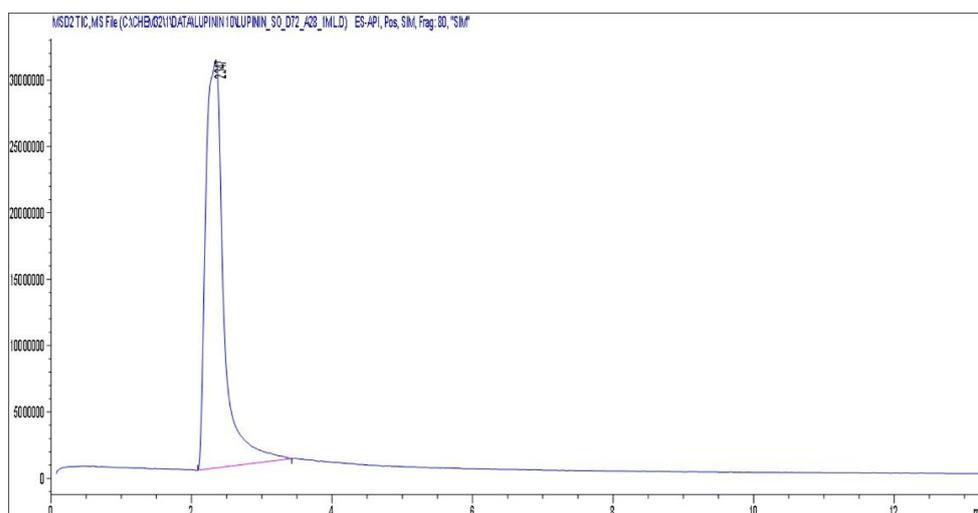
- Түпнұсқа лупинин үлгісінің хроматограммасындағы түпнұсқа лупинин үлгісінің шыңы үшін есептелген аналитикалық бағанның тиімділігі кемінде 4000 теориялық пластинаны құрауы керек;

- Сынақ ерітіндінің хроматограммасындағы лупинин шыңы ауданы үшін есептелген салыстырмалы стандартты ауытқу 2%-дан аспауы керек;

- Лупинин стандартты үлгісінің хроматограммасындағы лупинин стандартты үлгісінің шыңы үшін есептелген шың асимметрия коэффициенті 2-ден аспауы керек.

Құрғақ шикізаттағы лупинин мөлшері кемінде 0,03% болуы керек.

16-суретте *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөліктеріндегі лупининнің сандық анықталуының хроматограммасы көрсетілген.



Сурет 16 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөліктеріндегі лупининнің сандық құрамын анықтау хроматограммасы ($\lambda=210$ нм, 2.347 мин.)

Валидация сипаттамаларына сәйкес, бұл әдіс *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөлігіндегі лупинин мөлшерін анықтауға арналған, ол дұрыс дәлдікпен және қайталанымдылықпен сипатталады, 100% ретінде қабылданған мәннің $\pm 30\%$ аналитикалық диапазонындағы сызықтық тәуелділік, бұл оны *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатындағы лупининнің сандық мөлшерін сенімді бағалау үшін пайдалануға мүмкіндік береді.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының сапа спецификациясын анықтау «Дәрілік заттарды өндірушінің дәрілік заттарды сараптау кезінде дәрілік заттардың сапасы туралы нормативтік құжатты әзірлеу және мемлекеттік сараптама ұйымының бекіту ережелері» (ҚР Денсаулық сақтау министрлігінің 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-20 бұйрығы) негізінде жүзеге асырылды. 3 сериялы сынақ партиясын талдау нәтижелері бойынша *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының сапа сипаттамалары туралы нормативтік құжат (НҚ) әзірленді. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens дәрілік өсімдік шикізатының сапа сипаттамаларына 11-кестеде көрсетілген көрсеткіштер кіреді.

Кесте 11 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының сапа спецификациясы

Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу тәсілдері
1	2	3
Сипаты	Кептірілген шикізат – жер үсті бөлігі: биіктігі аласа 5-25 см, түбінде ағаш тәрізді жоғары көптеген тармақталған бұтақтары, гүлшелері, жемісі бар біржылдық өсімдік <i>Anabasis salsa</i>	Сыртқы түрі ҚР МФ, т.1, 567-571б. «Шөптер» мақаласы

11 - кестенің жалғасы

1	2	3
	(С.А. Мей.) Benth. ex Volkens (сортаң бұйырғын). Тұқымдасы: Бұйырғын (<i>Anabasis</i> L.) Алабұта тұқымдасы (<i>Chenopodiaceae</i> Vent.).	
<p>Идентификация: А. Макроскопия Жер үсті бөлігі</p> <p>Ұсақталған шикізат</p>	<p>Биіктігі аласа 5-25 см, түбінде ағаш тәрізді жоғары көптеген тармақталған бұтақтары бар, өркендері ақшыл-жасыл, цилиндр тәрізді, түбінен диаметрі 1-2 мм, жалаңаш, бір жылдық бұтақшалар, беті жұқа қырлы, кедір-бұдыр, трихомасы жоқ, түсі қоңыр-жасыл.</p> <p>Жапырақтары дамымаған: жай көзге көрінбейді, нашар дамыған, жіпшелері кең, қабыршақ тәрізді, жұмыртқа тәрізді үшбұрышты, доғал.</p> <p>Гүлдері дара, кең сопақша, шөптесін, доғал, бүйірлерінде қысқа бұтақшалары бар, масақ тәрізді гүлшоғырларында жиналған.</p> <p>Жемісі жұмыртқа тәрізді, шырынды, қызыл, қан қызыл шырыны бар, гүлшесінен сәл асып түседі.</p> <p>Сабақтардың, пішіні әртүрлі гүлше-жеміс бөліктерін тесіктерінің диаметрі 7 мм болатын елеуіштен өту керек. Сабақтардың түсі жасылдау болып келеді.</p> <p>Иісі өзіне тән, дәмі анықталмайды (өсімдіктің барлық бөліктері улы).</p>	<p>ҚР МФ, т.1, 565 б.</p> <p>ҚР МФ, т.1, 2.9.12</p>
<p>В.Микроскопия</p> <p>С.Гистохимиялық реакция D. ЖТСХ</p>	<p><i>Anabasis salsa</i> өсімдігінің микроскоппен тексергенде сабағында эпидермис көрінеді, оның жасушалары қабырғалары біркелкі емес қалыңдатылған көпбұрышты, үстіңгі жағында кутикуламен жабылған. Устьицалар көп, суға батқан, кең ашылған стоматальды тесігі жәнеүлкен астық асты ауасы бар қуысы бар. Устьицалар өсу осінің ұзындығына перпендикуляр бір бағытта бағытталған. Паренхимада кальций оксалат друздары кездеседі.</p> <p>Драгендорф реактивін қосқанда кірпіш түсті қызғылт түс пайда болады (алкалоидтар)</p> <p>Сандық анықтау арқылы алынған зерттелетін ерітіндінің хроматограммасында негізгі пиктің ұсталу уақыты стандартты лупинин үлгісінің хроматограммасындағы лупинин шыңының ұсталу уақытымен сәйкес келуі керек.</p>	<p>ҚР МФ, т.1, 2.8.3</p> <p>НҚ сәйкес</p> <p>НҚ сәйкес</p>
<p>Бөгде қоспалар</p>	<p>Жер үсті бөлігі - қарайған шикізат бөліктері тамыр қалдықтары үшін 10,0% артық емес</p>	<p>ҚР МФ т.1, 2.8.2</p>

11 - кестенің жалғасы

1	2	3
	- органикалық қоспалар - 1,0 % артық емес - минералды қоспалар 1,0% артық емес.	
Кептіргендегі масса шығыны	4,7 %	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32
Жалпы күл	10,0 % артық емес	ҚР МФ, т. 1, 2.4.16
10% хлорлы сутегі қышқылында ерімейтін күл	3,0 % артық емес	ҚР МФ, т. 1, 2.8.1.
Сульфатты күл	7,0 % артық емес	ҚР МФ, т.1, 2.4.14.
Микробиологиялық тазалығы	Дәрілік өсімдік шикізаты ҚР МФ I, т.1, 5.1.4. Өмірге бейім аэробты микроорганизмдердің жалпы саны: 1 г 10 ⁵ бактериялар және 10 ⁵ саңырауқұлақтан артық емес 1г 10 ³ <i>Escherichia coli</i> артық емес. 4А категориясы сәйкес болу керек.	ҚР МФ, т. 1, 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13
Экстрактивті заттар шығыны	28,18%	ҚР МФ, т. 1, 564 б
Сандық анықтау лупининге қайта есептегенде	0,03% кем емес	ҚР МФ т.1, 2.2.29
Радионуклиидтер	Дәрілік өсімдіктер үшін цезий 137 (Cs-137) 400 Бк/кг; стронций 90 (Sr-90) 200 Бк/кг мөлшері артық болмау керек	ҚР МФ т.1, с.564; ҚР ҰЭМ 27.02.2015ж. № 155 бұйрығы
Ауыр металдар	кадмий - 1,0 мг/кг артық емес қорғасын - 5,0 мг/кг артық емес мырыш - 5.0 мг/кг артық емес мышьяк - 1,0 мг/кг артық емес	ҚР МФ т.3, 2.4.27 және т.1, 2.4.8, 2.4.2
Қаптау	Шикізатты 10 кг және 15 кг үш қабатты крафт-қағаздан жасалған қаптарға буып-түйеді	НҚ сәйкес
Таңбалау	Орамдаудың бекітілген макетін қараңыз	НҚ сәйкес
Тасымалдау	МЕСТ 17768-90Е талаптарына сәйкес	НҚ сәйкес
Сақтау	Күн түсуден қорғалған, температурасы +25±2°С аспайтын желдетілген жерде сақталуы тиіс НҚ сәйкес	МЕСТ 17768-90Е
Сақтау мерзімі	2 жыл	НҚ сәйкес

Anabasis salsa шикізатының тұрақтылығын зерттеу және сақтау мерзімдерін белгілеу Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020 бұйрығының талаптарына сәйкес ұзақ мерзімді сынақтар жағдайында 24 ай бойы жүргізілді. Тұрақтылықты сынау үшін *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens) шикізатының үш сериясы алынды, зерттеу нәтижелері 12-кестеде келтірілген.

Кесте 12 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының тұрақтылығын зерттеу

Қаптама: көп қабатты қағаз пакеттер сынақтың басталу күні: 08.2022; сынақтың аяқталу күні: 08.2024										
Сапалық көрсеткіші	Зерттеу шарттары	Зерттеу әдісі	Нормалар	Бақылау кезеңі, ай						
				0	3	6	9	12	18	24
Сипаттама	Температура (25±2)°С, салыстырмалы ылғалдылық: (60±5) %	ҚР МФ ,т.І	Сортаң бұйырғын кептірілген дәрілік өсімдік шикізатының жер үсті бөлігі. Иісі өзіне тән, дәмі анықталмайды	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Идентификация - алкалоидтар		НҚ сай	Кірпіш түсті қызғылт түс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Бөгде қоспалар: -қарайған		ҚР МФ т.1, 2.8.2	10,0% артық емес	6,25	6,25	6,25	6,26	6,26	6,25	6,25
-органикалық қоспалар			1,0% артық емес	0,87	0,87	0,88	0,87	0,90	0,89	0,90
-минералды қоспалар			1,0% артық емес	0,86	0,83	0,82	0,83	0,82	0,83	0,82
Кептіру кезінде жоғалған масса		ҚР МФ, т.1, 2.2.32	1,0% артық емес	4,62	4,61	4,63	4,62	4,62	5,13	4,61
Жалпы күлі		ҚР МФ, т.1, 2.4.16	13,0% артық емес	7,73	7,12	6,34	7,73	8,12	7,34	7,73
10% хлорлы сутегі қышқылында ерімейтін күл		ҚР МФ,т.1, 2.8.1	3,0% артық емес	1,82	1,79	2,81	1,82	1,82	1,80	1,52
Микробиологиялық тазалық		ҚР МФ, т.1, 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13	Өмірге бейім аэробты микроорганизмдердің жалпы саны: 1 г 10 ⁵ бактериялар және 10 ⁵ саңырауқұлақтан артық емес 1г 10 ³ <i>Escherichia coli</i> артық емес.	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	0,03% кем емес	0,02	0,012	0,018	0,028	0,031	0,028	0,031	

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының тұрақтылығын (+25±2)°С температурада және салыстырмалы ылғалдылықта (60±5)% зерттеу кезінде микробиологиялық тазалықтың сапалық және сандық көрсеткіштері белгіленген шектерде болды. Шикізат сапасы көрсеткіштерінің сақтау барысында өзгеру динамикасының нәтижелері вариациялық статистиканың стандартты әдістерін қолдана отырып статистикалық өңдеуден өткізілді (орташа мәнді, стандарттық ауытқуды және Стьюдент критерийін есептеу, $p \leq 0,05$). Анықталған сапа көрсеткіштерінде айтарлықтай өзгерістер байқалмады. Жүргізілген зерттеу нәтижелері бойынша «*Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбі» өсімдік шикізатына арналған НҚ жобасы дайындалды (Қосымша Е).

Үшінші бөлім бойынша тұжырым

1. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің түрлік ерекшеліктері мен отандық шикізат ретінде зерттеу мақсатында Қарағанды облысы, Шет ауданы, Ақжал ауылының маңында (47°72'040" с.ш. 74°06'698" в.д.) сортаң бұйырғын өсімдігінің шикізаты жиналды және фармакогностикалық, фитохимиялық зерттеулер жүргізілді. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің сабақтары (жас өркендері), гүлшелері және тамырларын микроскопиялық және макроскопиялық зерттеулер жүргізілді. Зерттелуші өсімдік бөліктерінің диагностикалық белгілері және биологиялық белсенді заттардың жиналу жерлері анықталды.

2. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының жер үсті бөлігі шикізатында пестицидтердің, радионуклидтердің, ауыр металдардың (қорғасын, кадмий, мышьяк, сынап) концентрациясын анықтау нәтижелері сортаң бұйырғын өсімдігі қауіпсіздігі бойынша санитариялық-эпидемиологиялық талаптарға толық сәйкес екендігі анықталды. Экстракция процесінің оңтайлы шарттарын таңдау үшін *Anabasis salsa* шөбінің технологиялық көрсеткіштері зерттеліп, экстрактивті заттардың шығымы жоғары болуына орай экстрагент ретінде 70% этанол таңдалды.

3. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жерүсті бөлігі шикізатының зерттеу нәтижелері өсімдік шикізатында жалпы 8 минералды элементтен, 20 амин қышқылы бар екенін көрсетті. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатында алмастырылмайтын аминқышқылы - лейцин, ал алмастырылмайтын аминқышқылдарының ішінде глутамат, аланин және аспартат басым.

4. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатындағы белсенді зат лупининнің сандық анықтау және шикізаттың сапа спецификациясы жасалды. Сапа сипаттамасына сүйене отырып, «*Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбі» өсімдік шикізатына арналған НҚ жобасы дайындалды.

4 ANABASIS SALSA (C.A. MEY.) BENTH. EX VOLKENS ШИКІЗАТЫНАН ТИІМДІ ЭКСТРАКТ АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫН ЖАСАУ ЖӘНЕ СТАНДАРТТАУ

4.1 *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens шикізатынан экстрактивті заттарды алу технологиясы

Синтетикалық дәрілік заттардың дамуындағы айтарлықтай жетістіктерге қарамастан, шөптік дәрілерге деген қызығушылық жыл сайын артып келеді. Шөптік дәрілердің танымалдылығы олардың ерекше қасиеттерімен - төмен уыттылығымен, жоғары тиімділігімен, терапиялық әсерінің кең спектрімен және салыстырмалы түрде қолжетімділігімен ғана емес, сонымен қатар фармацевтика, биотехнология және фитохимия саласындағы тез дамып келе жатқан технологиялармен де байланысты [104, 105].

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens - алкалоидты өсімдік. Алкалоидтардың өзі улы, бірақ аз мөлшерде емдік әсер етуі мүмкін. Олардың физиологиялық әсері әртүрлі: кейбіреулері жүйке жүйесін басады немесе қоздырады, басқалары жүйке ұштарын сал етеді, қан тамырларын кеңейтеді немесе тарылтады, ал үшіншілері ауырсынуды басатын әсерге ие. Қазіргі уақытта алкалоидтарды алу өте көп еңбекті қажет ететін процесс болып табылады, ол кезеңдердің ұзақтығы мен санымен күрделене түседі [106].

Зерттеу барысында экстракциялауға дейін өсімдік шикізатын ұсақталып сілтілендірілді. Сілтілендіру: *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдігінің құрғақ ұнтақталған жерүсті және жерасты бөліктері шыны ыдыста дайындалған 30% калий гидроксиді ерітіндісімен (KOH) ылғалдандырылды және 1 сағат бойы тұндырылды. Осы уақыттан кейін фильтрат ағызылды, ал сабақтар мен тамырлар бөлме температурасында кептірілді және экстракциялауға жіберіледі.

Өсімдік шикізатынан ББЗ максималды бөлініп алынуы үшін экстракциялау әдісін таңдалды және келесідей әдістер қолданылды: мацерация, және перколяция. Мацерация мен перколяция үрдістері шикізаттан экстрагенттің қозғалуын қарастыратын экстракциялаудың динамикалық әдісіне жатады.

Перколяция әдісі 3 кезеңді қамтиды: шикізатты сіңіру, тұндыру, перколяция. Ұнтақталған *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens жерүсті бөлігі шикізатын (50,0 г) ісіндіру (суландыру) перколятордан тыс бөлек ыдыста жүргізілді.

Дайындалған өсімдік шикізаты жабық контейнерге салынды, шикізат массасының жарты ($1/2$) немесе тең салмағына тең экстрагентпен суландырып, араластырып ісіндіруге 4-5 сағатқа қалдырылды. Осы уақытта экстрагент өсімдік шикізаты мен оның жасушасы ішіне енеді, оның ішіндегі заттар еріп, жасушаішілік сөл (біріншілік сөл) түзе бастайды. Сонымен қатар, шикізаттың жасушаларының ішінде экстрактивті заттардың концентрлі ерітіндісі түзіледі. Келесі кезеңде ісінген өсімдік шикізаты перколяторға тығыздап салынды (шикізат арасында мүмкіндігінше аз ауа қалуы керек). Шикізаттың жоғарғы жағынан фильтрмен жауып, экстрагентті (70, 90% сулы-этанол ерітіндісі)

«айна» пайда болғанша құйып, шикізат:экстрагент қатынасы 1:10 күйінде 24 сағат бойы $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ жоғары емес температурада жібітуге қойылды. Экстракциялаудың келесі кезеңінде перколятордағы сығындыны жинау жүргізілді. Бұл кезең перколяторды жинау және экстрагентті шикізат қабаты арқылы үздіксіз өткізу болып табылады. Бұл жағдайда сығынды перколятордың төменгі қранынан қандай жылдамдықпен ағызылатын болса, жаңа экстрагент жоғарғы жақтан сондай жылдамдықпен таза экстрагент құйылып отырылуы керек. Содан кейін сұйық сығынды сүзілді. Сүзілген сығынды 50°C температурада роторлы буландырғыштың көмегімен қоюландырылды [107, 108].

Дайын болған 8,5 г 70%-этанолды және 5,13 г 90% этанолды (17,04% және 10,25%) қою экстракта шыны банкаға салынып, нормативтік құжаттарға сәйкес таңбаланды. Алынған құрғақ экстрактылар өлшеніп, биологиялық белсенділікті зерттеу және ББЗ бөліп алу үшін пайдаланылды. Алынған үлгі тоңазытқышта 40°C температурада сақталады. Алкалоидтарды бөлу бойынша ұсыныстар 13-кестеде келтірілген.

Кесте 13 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатынан алкалоидтарды бөлу

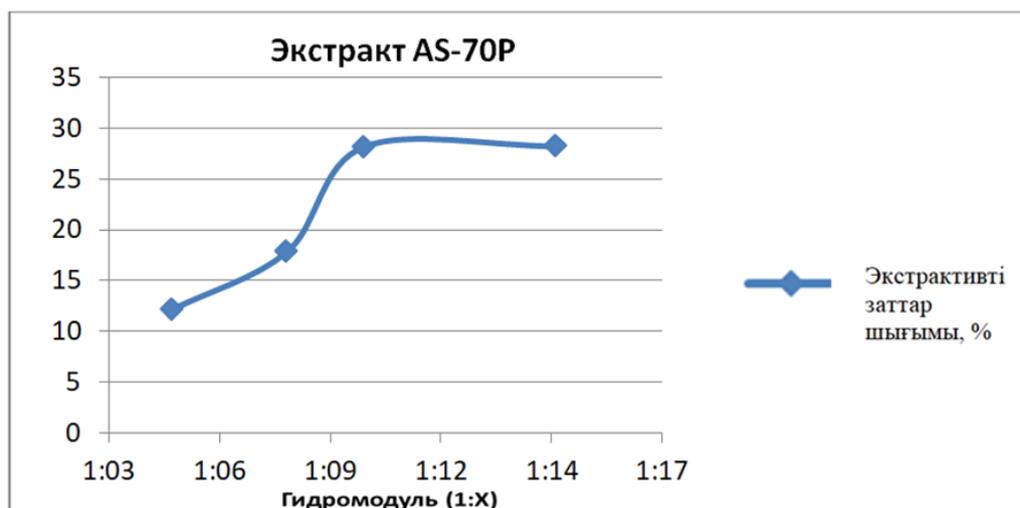
Этанол конц.	Қолдану мақсаты	Алкалоидтардың ерігіштігі	Гидромодуль (ұсынылады)	Ескерту
30%	Полярлы алкалоидтарды бөліп алу (бар болса)	Төмен	1:5 – 1:6	Көптеген алкалоидтар үшін оңтайлы емес
50%	Полярлық және полярлық емес бөлшектер арасындағы тепе-теңдік	Жақсы	1:6 – 1:7	Көптеген өсімдік алкалоидтары үшін оңтайлы
70%	Полярлы алкалоидтарды бөлу	Өте жақсы	1:6 – 1:10	Оңтайлы ретінде ұсынылады
90%	Қалдық, полярлы емес заттардың соңғы экстракциясы	Жоғары	1:10	Фракциялық перколяцияға жарамды

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізаттан ББЗ алу процесінің тиімділігіне еріткіш пен шикізаттың - гидромодульдің (ГМ) – массалық қатынасының әсері зерттелді [109].

Экстракцияға және белсенді заттардың шығымына әсер ететін факторлар: шикізат пен экстрагенттің қатынасы 1:5-тен 1:10-ға дейін; температура 55-тен 65°C -қа дейін; экстракция саны 1-ден 3-ке дейін; шикізаттың ұнтақталу дәрежесі 2-ден 10 мм-ге дейін. Экстракция процесінің факторларына байланысты жалпы экстракциялық заттардың шығымы 14-кестеде, ал гидромодулі 17-суретте көрсетілген.

Кесте 14 - Экстракция процесінің факторларына байланысты *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатынан алынған заттардың шығымы

№	Экстрагент	Экстракция әдісі	Экстракция темп-сы, °С	Гидромодуль	Экстракттың қысқартылған атауы	Экстрактивті заттар шығымы, %
<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөлігі						
1	70% этанол	Перколяция	20	1:5	AS-70P	12,12±0,18
			20	1:8		17,83±0,05
			20	1:10		28,18±0,04
			20	1:15		28,24±0,12
2		Мацерация	50	1:5	AS-70t	14,10±0,14
			55	1:8		16,51±0,05
			60	1:10		17,33±0,07
			65	1:15		17,41±0,01
3	90% этанол	Перколяция	20	1:5	AS-90P	9,09±0,13
			20	1:8		10,24±0,04
			20	1:10		13,12±0,13
			20	1:15		13,25±0,22
4		Мацерация	50	1:5	AS-90t	4,5±0,02
			55	1:8		6,84±0,12
			60	1:10		7,41±0,05
			65	1:15		7,54±0,03
5		Мацерация	50	1:5	AS-90tP	2,14±0,1
			55	1:8		2,94±0,07
			60	1:10		3,34±0,02
			65	1:15		3,61±0,11
6	Хлороформ	Мацерация	50	1:5	AS-Xt	0,38±0,04
			50	1:10		1,42±0,08
			50	1:15		1,39±0,11
7	Тазартылған су	Мацерация	65	1:5	AS-водн-Н	9,29±0,12
			65	1:10		10,54±0,07
			65	1:15		11,21±0,04
<i>Anabasis salsa</i> (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер асты бөлігі						
8	90% этанол	Мацерация	50	1:5	AS-K-90P	18,47±0,08
			55	1:8		17,91±0,11
			60	1:10		21,9±0,06
			65	1:15		21,56±0,14
9	Хлороформ	Мацерация	50	1:5	AS-KX	1,32±0,11
			50	1:10		1,27±0,02
			50	1:15		1,51±0,08
Ескерту: *n=5, P≤0,05. Оңтайлы параметрлер қалың шрифтпен белгіленген. Экстракциялық заттардың шығымы тиімділіктің 1:5 – 1:10 дейін артатынын, содан кейін платоға жететінін көрсетеді.						



Сурет 17 - Экстрактивті заттар шығымына гидромодульге тәуелділігі

17-кестеде келтірілген нәтижеге сүйене отыра *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінен экстрактивті заттарды бөлудегі ең тиімді экстрагент ретінде бөлінген экстрактивті заттардың пайыздық үлестерін негіздей келе, 70% этанол ерітінділеріндегі экстрактивті заттардың шығымының мәні жоғары болғандықтан, экстрагент ретінде таңдалынды. Микробиологиялық тазалығының қауіпсіздігін ұстану мақсатында тазартылған су алынбайды. Шикізаттың дисперсиясы 1,0-3,0 мм болып табылды.

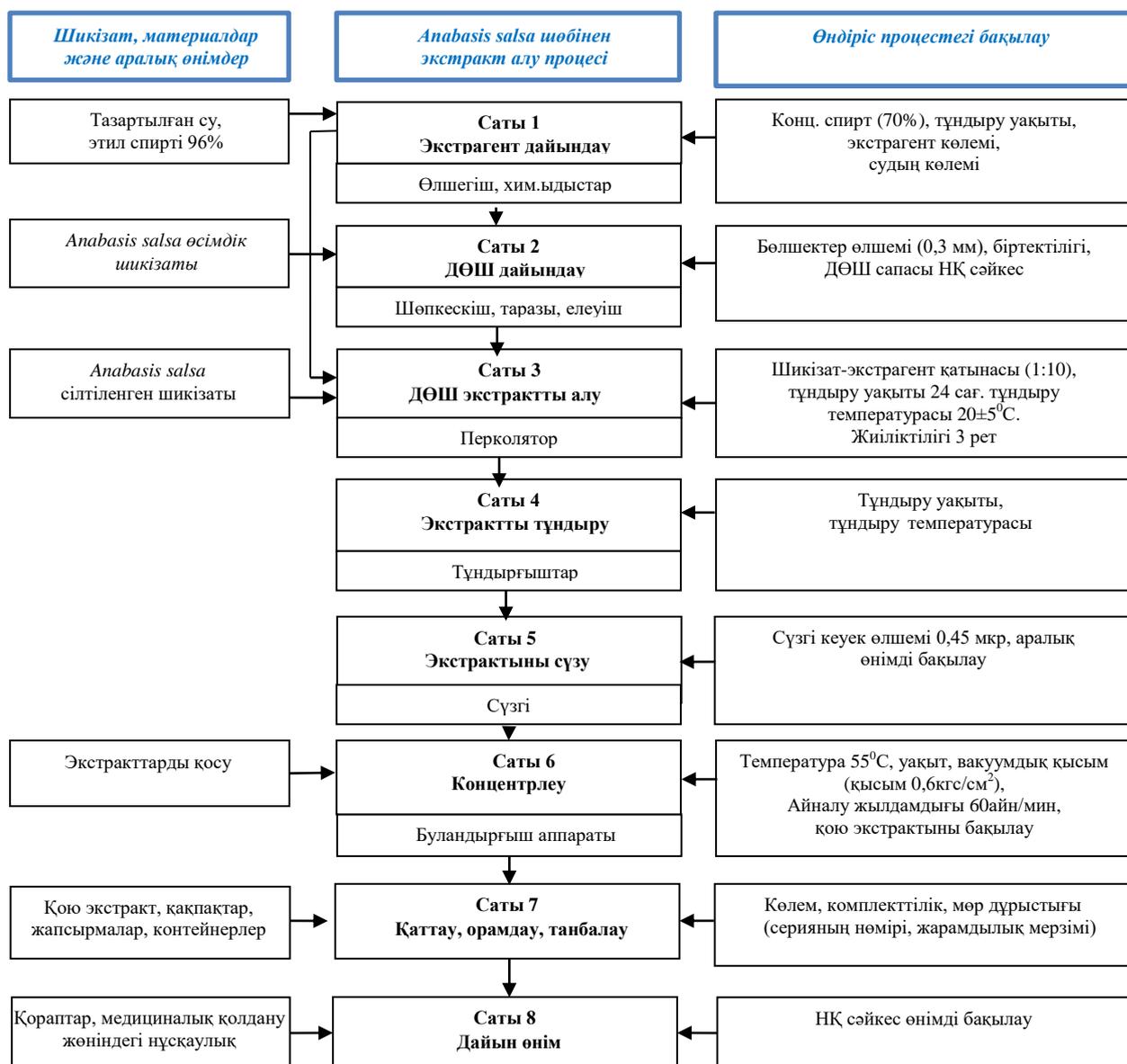
Экстракциялау шартын таңдау кезінде экстрактивті заттар шығымы ескерілді. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігі бойынша перколяция әдісінде экстрактивті заттар шығымы басым мөлшерде болғандықтан осы әдісті жұмыс үрдісіне жалғастырамыз.

Экстракциялау оңтайлы үрдісі:

- экстрагент түрі: 70% этанол;
- шикізаттың экстрагентке қатынасы: 1:10;
- экстракция температурасы: $20 \pm 5^\circ\text{C}$;
- экстракция жиілігі және ұзақтығы: үш рет, 24 сағат.
- Экстракция өнімділігі: $28,18 \pm 2\%$ (жер үсті бөлігі).

Осылайша, біз *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті және жер асты бөліктері үшін оңтайлы экстракция параметрлерін анықтадық, бұл экстракциялық заттардың ең жоғары өнімділігін қамтамасыз етеді.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөлігінен қою экстракт алудың технологиялық процесі 8 сатыдан тұрады: шикізат пен экстрагентті дайындау, шикізаттан сұйық экстракт алу, экстракты тазарту, сүзу, концентрлеу, қою экстракты қаптау және таңбалау. Әр кезеңде өндіріс процесін бақылау қажет. Технологиялық сызбанұсқасы 18-суретте көрсетілген.



Сурет 18 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатынан перколяция әдісімен қою экстракт алу технологиясының сызбанұсқасы

№10151 «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі» пайдалы модель патентімен расталды (Қосымша С).

4.2 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактысының химиялық құрамын ЖТСХ/ESI-QTOF-MS/MS әдісімен зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік экстрактының химиялық құрамын сапалы анықтау мақсатында ЖТСХ/ESI-QTOF-MS/MS (Квадрупольдіуақытша ұшып өту анализаторы негізінде жүргізілетін электробүрку арқылы иондандыру және тандемді масс-спектрометриямен

үйлестірілген жоғары тиімді сұйықтықтық хроматография әдісі) қолданылды және 2.2 бөлімінде сипатталғандай.

Люблин медицина университетінің (Люблин, Польша) фармакогнозия кафедрасында алғаш рет әртүрлі экстрагенттерді (су, 90% этанол, 70% этанол және хлороформ) пайдаланып, *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens сабақтарынан, гүлшоғырларынан және тамырларынан алынған экстракттардың құрамын зерттеу ЖТСХ-ны масс-спектроскопиямен бірге қолдану арқылы жүргізілді. Өсімдік экстрактыларының әртүрлі компоненттері жоғары сенімділікпен идентификацияланып, олардың құрылымдық ерекшеліктері мен молекулалық иондар фрагментациясының заңдылықтары анықталды. Зерттеу барысында позитивті және негативті иондау режимдері, әртүрлі фрагментация сатылары, сонымен қатар соқтығысу энергияларының кең ауқымы қолданылып, нақты хроматографиялық бейнелер мен жоғары ақпаратты MS/MS фрагменттеу спектрлері алынды.

ЖТСХ-ESI-Q-TOF-MS/MS көмегімен *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens экстракттарының хроматографиялық зерттеу

Экстрактының сапалық құрамын бағалау және таралу коэффициентінің (k) мәндерін анықтау үшін масс-спектрометриямен біріктірілге жоғары тиімді сұйық хроматографиясы (ЖТСХ-MS) қолданылды. ЖТСХ-MS хроматографы (HP 1200 сериясы, Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) Q-TOF масс-спектрометріне қосылған дегазатормен, екілік сорғымен, автосамплермен, баған термостатымен және PDA-масс-детектор QTOF-MS/MS (6500 Series, Agilent technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) жабдықталған. Екіншілік метаболиттердің хроматографиялық бөлінуі Zorbax Eclipse Plus RP-18 (150 мм x 2.1 мм, dp = 3.5 мкм, Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) хроматографиялық колоннаны қолдана отырып оңтайландырылған әдістеме бойынша жүргізілді. Хроматограммалар еріткіш градиентінде тіркелді: 0.1 % құмырсқа қышқылы бар ацетонитрил (B еріткіші) және 0.1 % құмырсқа қышқылының сулы ерітіндісі (A еріткіші) келесідей: 0 мин – 1 % B, 10 мин – 20 % B, 15 мин – 40 % B, 17-22 мин – 95 % B, 1-25 мин – 1 % B. Айдау 30 минут бойы жүргізіліді. Ағынның жылдамдығы 0.2 мл/мин, термостаттың температурасы 20 °C, УК анықтау 254, 280, 365 және 320 нм, ерітінді көлемі 10 мкл болды.

Масс-спектрометр газ бен қабық газы үшін 275 және 325 °C температурада 40-1300 мкМ масса диапазонында оң және теріс иондар режимінде жұмыс істеді, сәйкесінше 12 л/мин газ ағындары, 3000В капилляр кернеуі, 35 psig бүріккіш қысымы, 10 және 20В соқтығысу энергиясы, 110В фрагментатор кернеуі және скиммер қысымы 65В. Qualitative Navigator (B. 10.00 нұсқасы) және Agilent Mass Hunter Data Acquisition (нұсқасы 10.1) шығарушы компания Agilent Technologies (Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) бағдарламаларын спектрлерді алу және жазылған деректерді өңдеу үшін пайдаланылды.

Ғылыми әдебиеттеге сүйене отырып, *Anabasis L.* тұқымдасы биологиялық белсенді екінші реттік метаболиттеріге бай екені анықталған, әсіреле алкалоидтарға. Компоненттерді идентификациялау процесі негізінен оң және

теріс иондау режимінде жүзеге асырылды, оң режим флавоноидтар, фенолдық қышқылдар және басқа полифенолдық қосылыстар секілді полярлы метаболиттерді жоғары сезімталдықпен анықтауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, оң иондау режимі жүрек гликозидтері сияқты теріс ионданбайтын немесе төмен полярлы қосылыстардың іздерін анықтау үшін, ал алкалоидтарды анықау мақсатында теріс иондану қолданылды және *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының экстракттарының кейбір минорлы компоненттердің болуын дәлелдеді. Алынған мәліметтер негізінде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік түріне тән масс-спектрометриялық профильдер құрылды. Хинолизидінді алкалоидтар оның ішінде лупининнің құрылымында негізгі азот атомы бар. Оң иондану режимінде талданған кезде, азот атомдары протондарды оңай қабылдайды, нәтижесінде оң зарядталған иондар пайда болады. Сондықтан, хинолизидінді алкалоидтарының фрагментациялық үлгісі мен тұрақтылығы оң иондану режиміне жақсы сәйкес келеді.

Бұл зерттеуде ерекше қызығушылық тудырған лупининді идентификациялауда сипаттамалық фрагмент иондарының пайда болуына мүмкіндік береді. Лупининнің фрагментациясы **оң иондану** режимінде жүреді. Мұндай жағдайларда молекулалық ион протондалған молекулалық ионнан $[M+H]^+$ 170,1544 m/z мәні бар сигнал ретінде анықталады.

ЖТСХ-MS - әдісі Zorbax Eclipse Plus тұрақты байланыс RP-18 (150×2,1 мм, dp=3,5 мкм, Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) хроматография бағанын пайдаланып, келесі еріткіш А (0,1% құмырсқа қышқылы) және еріткіш В (0,1% құмырсқа қышқылы бар ацетонитрил) градиентін пайдаланып орындалды: 0 минутта А-да 10% В, 10 минутта 40% В in А, келесі 2 минутта А-да 40% В, 21-25 минутта 95% В in А изократиялық талдау. Талдау уақыты 30 минут болды:

- ағын жылдамдығы - 0,2 мл/мин;
- температура - 25 °С;
- детектрлеу толқын ұзындықтары - 254, 320, 365 және 280 нм.

Алынған деректерді өңдеу үшін Mass Hunter Workstation және Qualitative Navigator V.08.00 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) бағдарламалық жасақтамасы пайдаланылды.

ЖТСХ-ESI-QTOF-MS/MS әдісімен зерттелген *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens) шикізатының экстракттарының химиялық құрамының нәтижелері 15-кестеде келтірілген.

Әр қосылыс үшін теориялық масса, массалық ауытқу және қанықпағандық дәрежесі есептеліп, олардың құрылымдық сәйкестігі жоғары дәлдікпен анықталды (айырмашылық ±5 ppm шегінде). Жоғары ажыратымдылықтағы MS/MS өлшеулері анықталған қосылыстардың көпшілігінің фрагментациялық үлгілерін зерттеу және бұл деректерді қазіргі уақытта қолжетімді ғылыми әдебиеттер мен METLIN дерекқорындағы деректермен салыстыру үшін сенімді деректер берді. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактынан анықталған кейбір қосылыстардың MS/MS спектрлері және олардың құрылымдық формулалары 19-21 суреттерде көрсетілген.

Кесте 15 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактысының химиялық құрамы

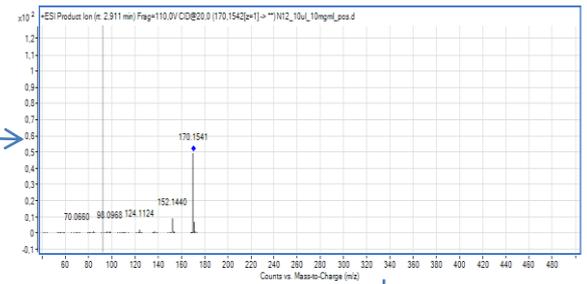
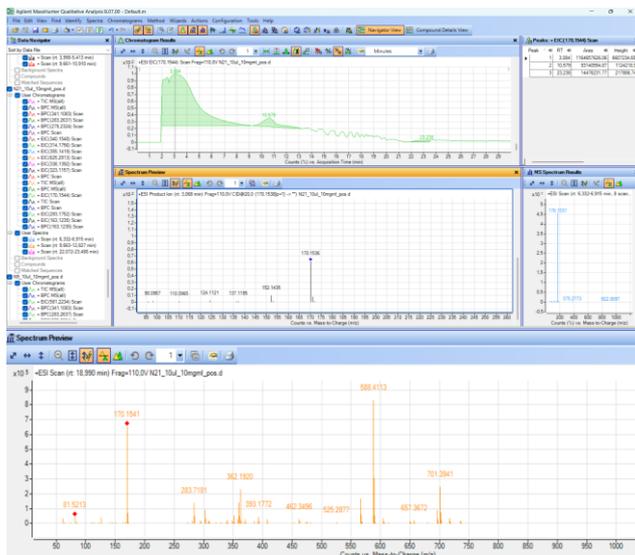
№	Ионизация режимі	Ұсталу (Rt) уақыты, мин	Молекулалық формула	Теориялық масса, г/моль	Табылған масса, г/моль	МС/МС фрагменттері	Қосылыс атауы	Экстракт түрі	Сілтемелер
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Алкалоидтар									
3	[M-H] ⁺	2.56	C ₁₀ H ₁₉ NO	170.1544	170.1535	152.1467, 137.1234, 124.1157	Лупинин	AS-70P, AS-90tP, AS-90t, AS-90P	[4, с.8; 110, 111]
4	[M-H] ⁺	2.74	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	163.1235	163.1225	163.1225, 120.0805, 80.0500	Анабазин	AS-90t, AS-K-90, AS-K-x	[111]
5	[M-H] ⁺	10,83	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	247,1810	247,1319	229.1081, 219.1375, 201.1106	Афиллидин	AS-90tP	[4, 110]
9	[M-H] ⁺	14,46	C ₁₉ H ₁₆ NO ₄	323,1157	323,0740	185.0416, 277.0235, 323.0740	Талифендин	AS-90tP	[112]
21	[M-H] ⁺	21,21	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	314.1756	314,1388	121.0648, 177.0547, 314.1388	Оксиакантин	AS-90tP, AS-90t AS-водH, AS-водK	[112]
19	[M-H] ⁻	20,74	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	312,1599	312,1239	178.0500, 312.1239, 09.6953,	4-О-метил-N-метил коклаурин	AS-90P, AS-90t AS-K-x, AS-Lup	[112]
8	[M-H] ⁺	14,43	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	265,1911	265,1530	177.0545, 222.1109, 248.1285	13-гидроксилупанин	AS-70P, AS-70t AS-90P, AS-90tP AS-90t	[112]
Флавоноидтар және фенолды қосылыстар									
12	[M-H] ⁻	15.48	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301,0348	301,0568	168.0054, 257.0644, 283.0449	Кверцетин	AS-70P, AS-70t AS-90P	[113]
24	[M-H] ⁻	22.75	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	293.1752	293.1758	236.1052, 293.1758	Гингерол	AS-70t	[114]
Флавоноидты гликозидтер									
18	[M-H] ⁻	18.4	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1455	609,1149	301.0345, 521.1321	Рутин	AS-70P, AS-70t AS-90P, AS-90t	[115]
14	[M-H] ⁻	16.87	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.1506	593.1511	353.0663, 473.1061, 775.3520	Кверцетин-3,7-дирамнозид	AS-90P	[116]

15 - кестенің жалғасы

Хромон қосылыстары									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
23	[M-H] ⁻	22.49	C ₁₆ H ₁₈ O ₅	289,1076	289,1114	224.9959, 289.1108, 373.2633	5-О-метилвиса- минол	AS-90P, AS-90t AS-K-х, AS-водH	[116]
Аминқышқылдар									
1	[M-H] ⁺	2.107	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118,0868	118,0853	59.0726, 102.0533, 118.0853	L-валин	AS-70P, AS-70t, AS-90P, AS-90tP, AS-90t, AS-K-90, AS-водH, AS- водK	[113]
Гликозидтер									
7	[M-H] ⁻	13.56	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331,0665	331,0668	125.0235, 168.0059, 231.0486, 286.1201	Галл қышқылының гликозиді	AS-70P, AS-70t, AS-90P, AS-90t	[115]
6	[M-H] ⁻	12,57	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	315,1079	315,1073	153.0550, 230.9908, 483.1905	Гидрокси- тирозол 4-О- гликозиді	AS-70P, AS-70t, AS-90P, AS-90tP, AS-90t, AS-K-х, AS-водK, AS-Lцр	[116]
26	[M-H] ⁻	28,28	C ₃₆ H ₆₂ O ₈	621,4366	621,4375	345.7328, 525.2719, 621.4375	Гинсенозид	AS-90tP	[116]
11	[M-H] ⁺	15,41	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	373,1498	373,1742	373.1742, 301.1841, 193.1146 118.0832	Сирингин	AS-70P, AS-70t AS-90P, AS-90tP AS-водK	[117]
15	[M-H] ⁻	17.91	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	373,1134	373,1173	121.0288, 175.0250, 249.0609	3-бета- глюкопиранозилокси -2- гидроксид-1-(4- гидроксид-3-метофен ил)-пропан-1-он (28)	AS-70P, AS-70t, AS-90P, AS-90t, AS-K-х, AS-водH	[116]

15 - кестенің жалғасы

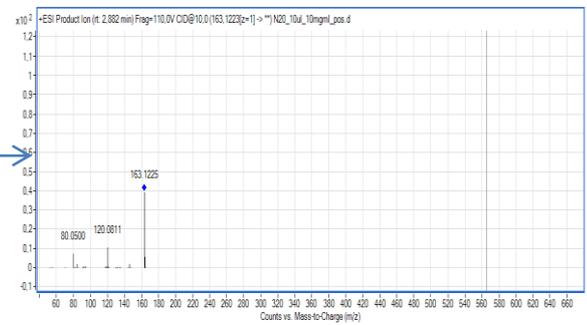
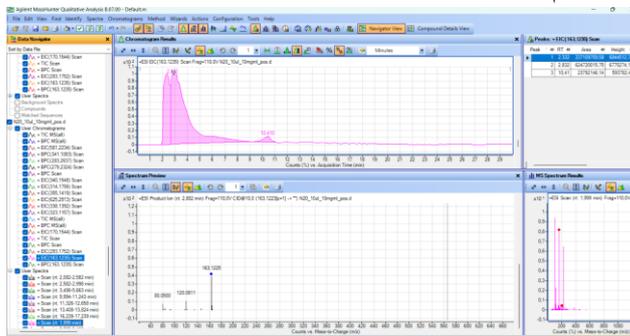
Фенолды гликозид									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
17	[M-H] ⁺	18,16	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	299,1130	299,1483	256.1102, 136.0620	Пицеозид	AS-70P, AS-90tP AS-90t	[118]
Қышқылдар									
10	[M-H] ⁺	15.26	C ₁₆ H ₁₁ NO ₂	250,0868	250.1391	84.0774, 132.0787, 206.1138	Цинхофен	AS-70P, AS-70t AS-90P, AS-90tP AS-90t, AS-K-90 AS-водH	[117]
2	[M-H] ⁻	2,69	C ₆ H ₈ O ₇	191,0191	191,0544	87.0089, 111.0087, 158.8460	Лимон қышқылы	AS-70P, AS-70t, AS-90P	[115]
22	[M-H] ⁻	21,74	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329,2328	329,2330	80.9642, 201.1124, 329.2330	9,10,11- тригидрокси-(12Z)- 12-октадецен қышқылы	AS-90P, AS-90tP AS-90t, AS-K-90 AS-X-t, AS-K-x AS-водH, AS- водK, AS-Lup	[116]
20	[M-H] ⁻	20.76	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	312,1235	312.1239	178.0500, 321.1239, 663.4192	Ацетилкаранин	AS-90P, AS-K-x AS-Lup	[116]
25	[M-H] ⁻	24,33	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	311,2222	311,2230	98.9353, 249.2243, 311.2230	Октадецендио қышқылы	AS-90tP, AS-90t AS-K-90, AS-X-t AS-K-x, AS-водH AS-водK, AS-Lup	[116]
Моносахаридтер									
13	[M-H] ⁻	16.57	C ₆ H ₁₂ O ₆	179,0555	179,0351	107.0496, 135.0446, 319.3856	Фруктоза	AS-90t	[116]
Органикалық қосылыстар									
16	[M-H] ⁺	17.92	C ₇ H ₈ N ₂ O	137,0714	137,0605	43.0191, 55.0202, 121.0596	N-метил никотинимид	AS-70P, AS-70t AS-90P, AS-90tP AS-90t, AS-водH	[117]
Ион-иондану түрі (+/-), RT - ұстау уақыты									



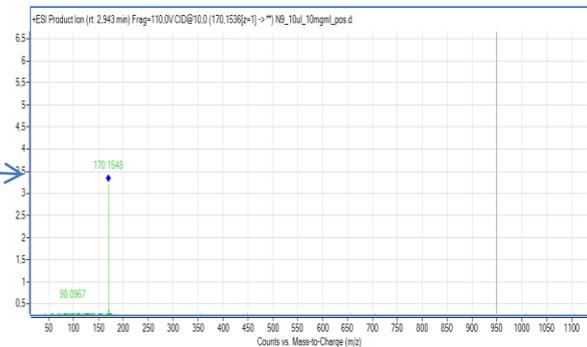
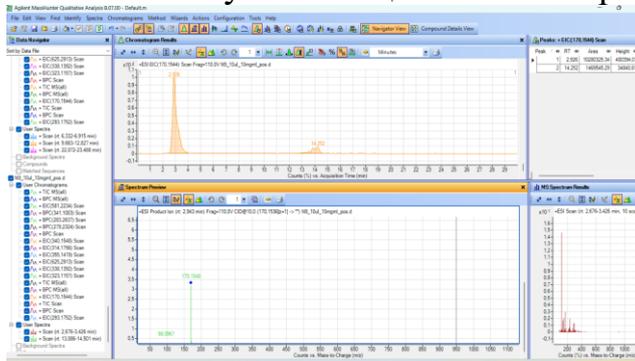
Лупининнің фрагментациясы оң иондану режимінде жүреді. Бұл жағдайларда молекулалық ион протондалған молекулалық ионнан $[M+H]^+$ m/z 170.1544 сигнал түрінде анықталады. Сондай-ақ 152.1467; 137.1234; және 124.1157 нүктелеріндегі MS/MS фрагменттері де тән.

Бұл жағдайда лупининнің фрагментациясы дұрыс емес

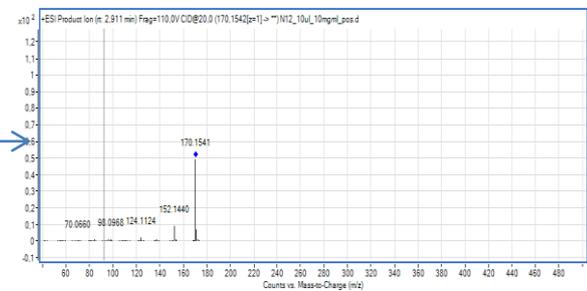
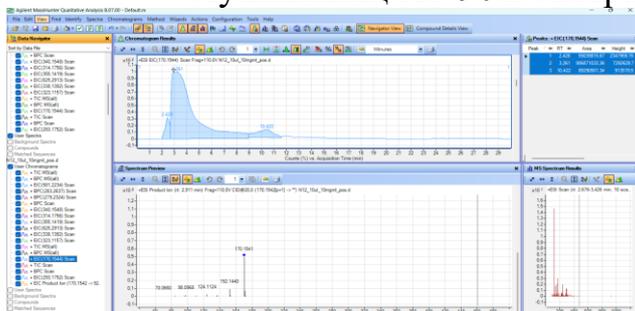
Анабазиннің MS/MS спектрі №20



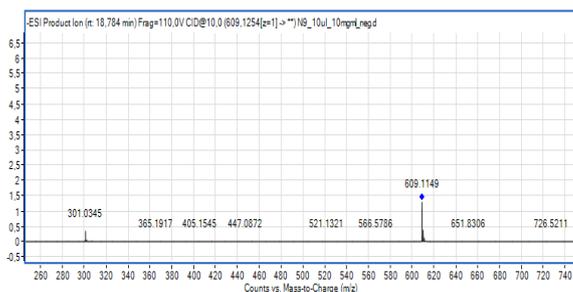
Лупининнің AS-70P экстрактындағы MS/MS спектрі



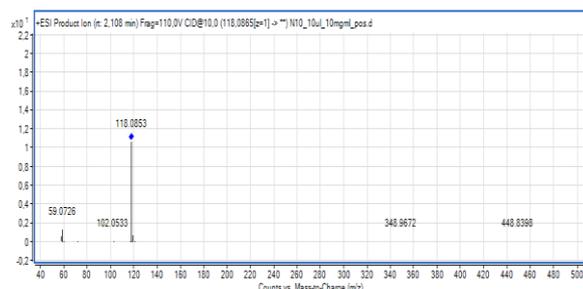
Лупининнің AS-90tP экстрактындағы MS/MS спектрі



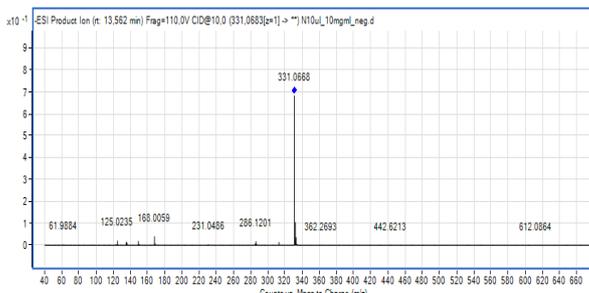
Сурет 19 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактының құрамындағы кейбір БҚ MS/MS спектрлері



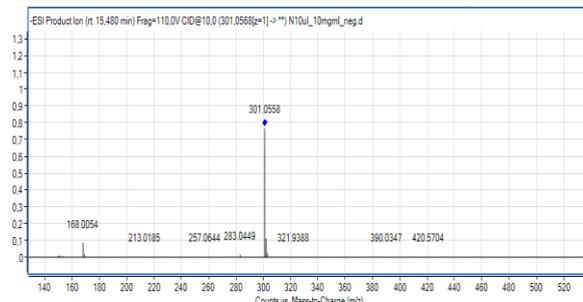
Рутиннің MS/MS спектрі



L-валиннің MS/MS спектрі

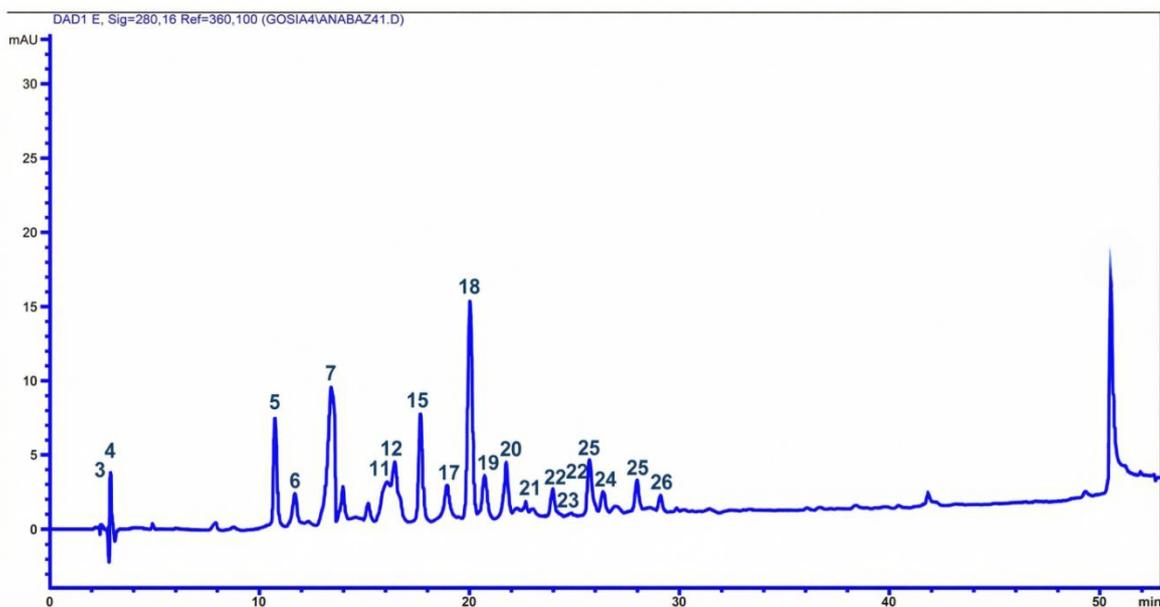


Галл қышқылы MS/MS спектрі



Кверцетиннің MS/MS спектрі

Сурет 20 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактының құрамындағы кейбір индивидуалды қосылыстардың MS/MS спектрлері



3-лупинин; 4-анабазин; 5-аффилидин; 6-гидрокситирозол-4-*O*-глюкозид; 7-галл қышқылы; 11-сирингин; 12-кверцетин; 15-3-бета-глюкопиранозилокси-2-гидрокси-1-(4-гидрокси-3-метофенил)-пропан-1-он; 17-пицеозид; 18-рутин; 19-4-*O*-метил-N-метилкоклаурин; 20-ацетилкаранин; 21-оксиакантин; 22-9,10,11-тригидрокси-(12*Z*)-12-октадецен қышқылы; 23-5-*O*-метилвисамминол; 24-гингерол; 25-октадецендион қышқылы

Сурет 21 - 280 нм толқын ұзындығында *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактын ЖТСХ/ESI-QTOF-MS/MS әдісі көмегімен алынған хроматограмма

LC-MS талдауынан алынған массалық хроматограммалар үлгілер арасында кейбір көрінетін айырмашылықтарды анықтады. Ұсынылған хроматограммалар фенолдық қосылыстар мен флавоноидтардың талдаудың 13 минутынан кейін анықталатынын, ал қышқылдар мен лупинин алкалоидтарының талдаудың алғашқы минуттарында бағанадан элюцияланатынын, ал гликозидтердің талдаудың ортасында, яғни 14-18 минутта анықталатынын көрсетеді.

Талдау нәтижелері *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің зерттелген экстрактында флавоноидтар мен басқа да фенолдық қосылыстарға, сондай-ақ алкалоидтарға бай екінші реттік метаболиттердің кең ауқымы бар екенін көрсетеді. Лупинин алкалоидтары *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдігінің жер үсті бөлігінің (сабақтары, гүлшоғырлары) және жер асты бөлігінің (тамырлары) барлық экстрактыларында кездеседі. Лупининнің алкалоиды AS-90tP, AS-90t, AS-70P экстрактыларында анықталды, мұнда еріткіш ретінде 70-90% сулы-спирттік ерітінді қолданылады.

Фитохимиялық скрининг нәтижесінде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактылары бірқатар пайдалы фитохимиялық заттардың көзі болып табылатынын көрсетеді. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті және жер асты бөліктерін зерттеу нәтижесінде қышқылдар, флавоноидтар және олардың гликозидтері, фенол қышқылдары және алкалоидтарды қоса алғанда, 26 қосылыс анықталды (15-кесте). Бұл химиялық қосылыстар барлық жоғары сатыдағы өсімдіктерде жиі кездеседі және қорғаныс рөлін атқарады, бұл өсімдіктің дәрілік қасиеттерге ие болуына мүмкіндік береді. Бұл нәтижелер сонымен қатар *Anabasis aphylla* және *Anabasis setifera* фитохимиялық скрининг деректерімен сәйкес келеді.

Экстракттарды салыстырмалы талдау нәтижесінде метаболиттерге (алкалоидтар, флавоноидтар) ең бай органы *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens) жер үсті бөлігі (сабақтары, гүлдері) екені анықталды. Анықталған қосылыстар бұрын *Anabasis* L. туысының басқа өсімдіктерінде табылған; дегенмен, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының экстрактылары үшін ұсынылған қосылыстардың көпшілігі алғаш рет сипатталған (Қосымша Ж). Зерттеу нәтижелері [119] журналында жарияланған.

4.3 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактындағы лупининді сандық анықтау

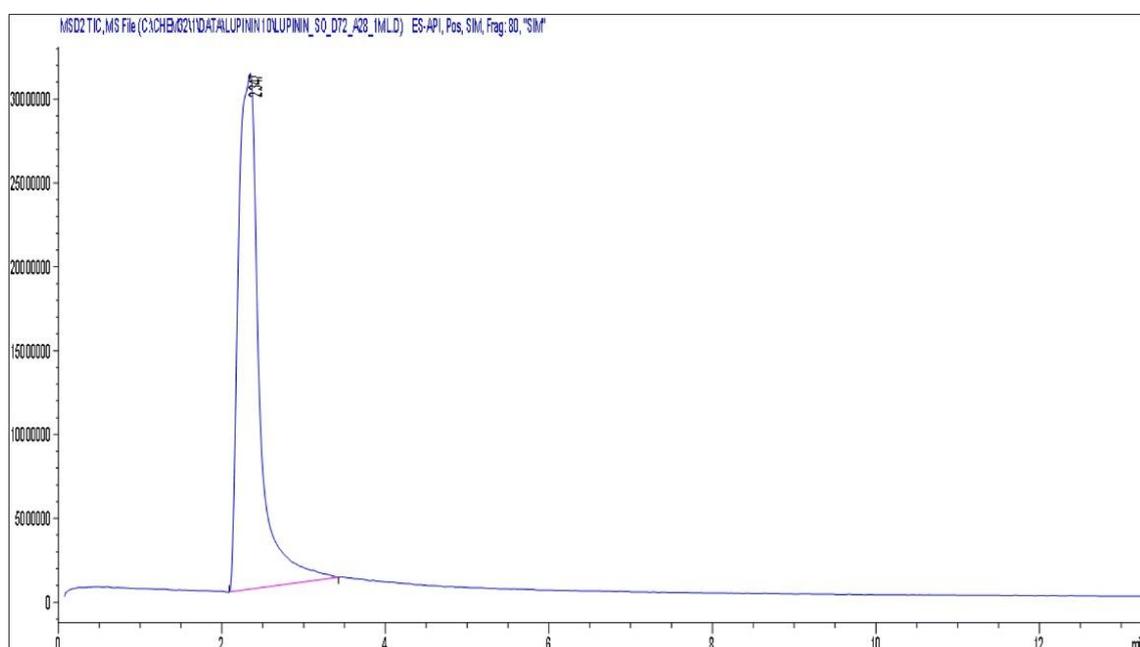
ЖТСХ талдауы арқылы *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens негізінде алынған экстракттардың химиялық құрамын зерттеу «Қарағанды медицина университеті» КЕАҚ (Қарағанды қ., Қазақстан) ғылыми-зерттеу орталығының базасында жүргізілді. Лупининнің сандық мөлшерін ҚР МФ I т. 1, 2.2.29 және 2.2 тарауда сипатталған әдіске сәйкес, сондай ақ әдебиет көздердің әдістемелері негізінде жүргізілді [120, 121].

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының құрамындағы лупининді сандық анықтау екі каналды, УК детектрлі және масс-спектрометрмен жабдықталған Agilent 6130 Infinity (АҚШ) ЖТСХ хроматографында изокритикалық режимінде жүргізілді. Zorbax Eclipse Plus C18

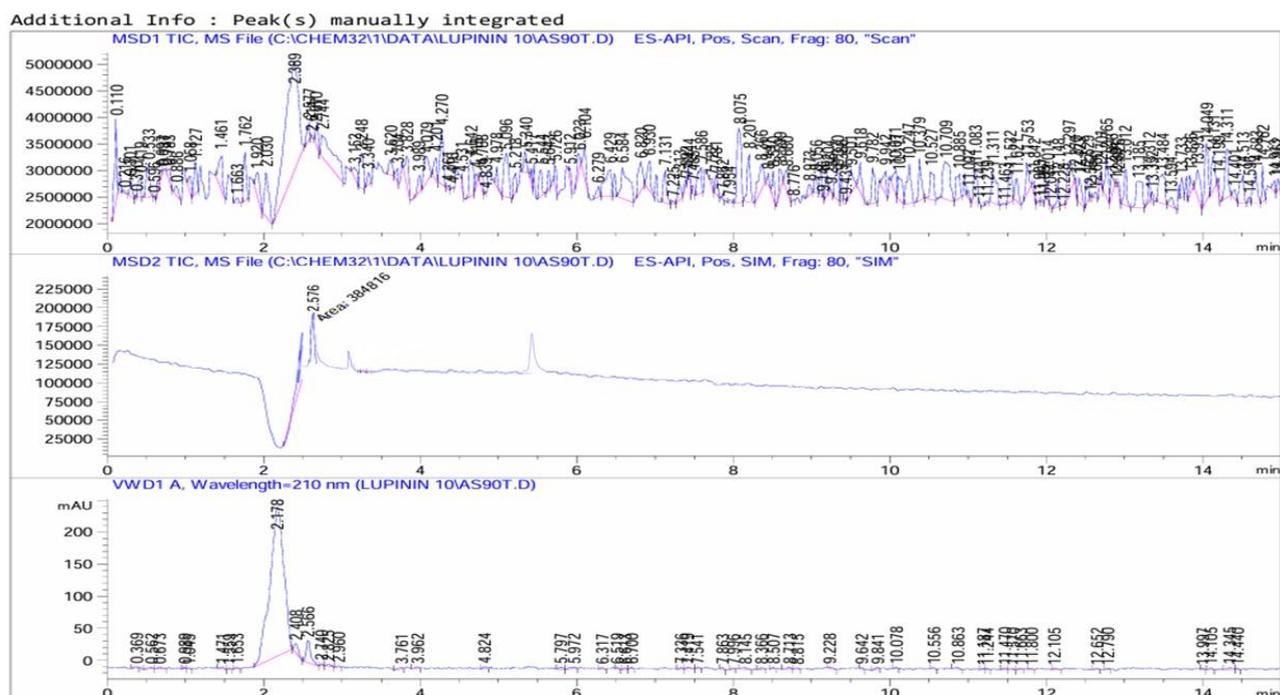
(1,8 мкм) сорбентімен толтырылған 2,1×100 мм аналитикалық баған стационарлық фаза ретінде пайдаланылды: жылжымалы фаза: ацетонитрил-су 1:1 (көлем/көлем), изокритикалық режимде: судағы 2,5% құмырсқа қышқылы және ацетонитрилдегі 2,5% құмырсқа қышқылы 28:72 қатынасында (құмырсқа қышқылы лупинан иондарының шың пішінін жақсартуға және олардың иондануын басуға көмектеседі) [121]. Дайын болған үлгілер ЖТСХ хроматографына енгізілді, әрқайсысына кемінде 5 хроматограмма көлемінде алынады. Деректерді есептеу Microsoft Excel бағдарламалық құралы арқылы орындалды. Экстракттардың құрамындағы лупинин алкалоидының сандық анықтауы 16-кестеде көрсетілген. Хроматограммалары 22-23 суреттерде көрсетілген.

Кесте 16 - *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens экстрактыларындағы лупинин алкалоидының сандық құрамы

№	Экстракт түрі	Экстракттағы лупининнің сандық мөлшері, %
1	AS-70P	0,1769
2	AS-90P	0,0094
3	AS-90t	0,0028
4	AS-90tP	0,0079
5	AS-K90	0,0018
6	AS-KX	0,0075
7	AS-XT	0,0008



Сурет 22 - Лупинин стандартты үлгінің хроматограммасы ($\lambda=210$ нм, 2.347 мин.). Тазалығы 99,14%



Сурет 23 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens
экстрактысының (AS-70P) хроматограммасы
(лупинин - 2.67 мин, $\lambda=210$ нм)

Осылайша, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактысының жерүсті және жерасты бөлігінің құрамында лупинин алкалоидының сандық құрамын зерттеу мақсатында перколяция және мацерация әдісімен экстракттар алынды. Экстракттардың құрамындағы лупинин мөлшері 16-кестеде және 22-23 хроматограммаларда келтірілді. Нәтижесінде, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактысының жерүсті бөлігінде, перколяция әдісімен алынған экстракттарының AS-70P, AS-90P құрамында лупининнің мөлшері басым және 0,1769-0,0098% аралығында. Ал, жерасты бөлігінде, мацерация әдісімен алынған экстракттарының ASK-90 және AS-KX құрамында лупинин алкалоидының мөлшері 0,006-0,0018%. Сілтіленген жерүсті бөлігінен алынған экстракттың AS-90tP құрамында лупининнің мөлшері 0,0079% құрайды. Осылайша, лупинин алкалоидын бөліп алу мақсатында, экстрактивті заттардың шығымы және лупининнің сандық мөлшері жоғары болғандықтан, перколяция әдісімен алынған AS-70P экстракт тандалды (Қосымша II).

4.4 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сапа сипаттамаларын жасау

Перколяция әдісімен алынған *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактын стандарттау 5 партияда жүргізілді. Сапа параметрлері ҚР МФ және Еуразиялық экономикалық одақтың Федералдық заңының талаптарына сәйкес анықталды. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сапа параметрлері 17-кестеде келтірілген.

Кесте 17 - *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сапа параметрлері

Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу тәсілдері
Сипаттамасы	Белгілі бір иісі бар қою, қою жасыл консистенциялы масса	ҚР МФ т.1, 2.8.8.
Идентификациясы: А. Алкалоидтар Б.ЖҚХ В.ЖТСХ	А. 2 мл фильтратқа 3 мл Драгендорф реактивін қосқанда қызғылт сары тұнба түзіледі. Б. Сынақ хроматограммасында лупинин стандартты үлгісінің адсорбция аймағы деңгейінде қызғылт сары дақ көрінуі керек. В. Сандық анықтау кезінде алынған сынақ ерітіндісінің хроматограммасында негізгі шыңның сақталу уақыты стандартты лупинин үлгісінің хроматограммасындағы лупинин шыңының сақталу уақытымен сәйкес келуі керек.	Сапалық реакция ҚР МФ т.1, 2.2.27 НҚ сәйкес
Ерігіштік	70% этанолда, хлороформда, диметилсульфоксидте, 96% этанолда оңай ериді. Тазартылған суда ішінара ериді. Этилацетатта іс жүзінде ерімейді.	ҚР МФ т.1, 1.4
Ауыр металдар	Кадмий 1.0 мг/кг артық емес, қорғасын - 5.0 мг/кг артық емес, сынып - 0.1 мг/кг артық емес, мышьяк- 1,0 мг/кг артық емес	ҚР МФ. т.3, 2.4.8, 2.4.2
Органикалық ерітінділердің қоспалары	0.5% (этанол) артық емес	ҚР МФ. т.1, 5.4, 2.2.28
Құрғақ қалдығы	70 % кем емес	ҚР МФ т.1, 2.8.16
Кептіргендегі масса шығыны	25 % артық емес	ҚР МФ т.1, 2.8.17
Микробиологиялық тазалығы	Аэробты микроорганизмдер 1 грамм немесе миллилитрде 10^5 бактериядан және 10^4 саңырауқұлақтан көп емес; 10^3 энтеробактериялар және кейбір басқа грамтеріс бактериялар г немесе мл артық емес; ішек таяқшасының болмауы (1 г немесе 1 мл). Препарат ҚР МФ, т. 1, 5.1.4, 4В санаты.	ҚР МФ т.1, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4, Ф ЕАЭС 2.3.1.4
Алкалоидтардың мөлшерін сандық анықтау лупининге қайта есептелді	0,1769 % кем емес	ҚР МФ т.1, 2.2.29
Орау	Бұрандалы пластмасса қақпақтармен жабылатын қоңыр түсті шыны құтыларға 10,0 салынды.	ҚР МФ т.1, 3.2.1 ҚР МФ т.1, 3.2.2
Сақтау	Температурасы +15°C- +25°C, салыстырмалы ылғалдылық 60±5% аспайтын, құрғақ және жарықтан қорғалған жерде	НҚ сәйкес
Сақтау мерзімі	24 ай	НҚ сәйкес
Фармакологиялық әсері	Микробқа қарсы	НҚ сәйкес

17-Кестеден көрініп тұрғандай, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактын сапа көрсеткіштері бойынша талаптарға сәйкес.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөлігінен алынған экстрактының тұрақтылығын анықтау «Дәрілік затты өндіруші дәрілік заттардың тұрақтылығын зерттеулерді, оларды сақтау және қайта бақылау мерзімін белгілеуді жүргізу қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020 бұйрығы талаптарына сәйкес 24 ай бойы ұзақ мерзімді сынақ әдісімен жүргізілді.

Ұзақ мерзімді сынақ әдісімен тұрақтылықты анықтау кезінде өсімдік шикізаты $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ температурада, $60\pm 5\%$ ауаның салыстырмалы ылғалдылығында сапалық және сандық анықтау мөлшерлері, микробиологиялық тазалығы белгіленген нормада болды. Негізгі сапалық көрсеткіштер бойынша серияларды бақылау мерзімі 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 ай, ал микробиологиялық тазалығы бойынша 0 және 24 ай болды. Бақыланатын сапа көрсеткіштерінде айтарлықтай өзгерістер байқалмады.

Осылайша, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сапа сипаттамалары зерттелді, сондай-ақ нормативтік құжаттың жобасы дайындалды (Қосымша К).

4.5 Ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын пайдалану арқылы белсенді қосылыстарды бөлу

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактынан биологиялық белсенді қосылыстарды ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясы (ОТҮХ) әдісімен бөлу «Люблин медицина университеті» (Люблин қ., Польша) ғылыми-зерттеу орталығының базасында жүргізілді.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактын фракциялауға арналған екі фазалы еріткіш құрамын таңдау

Алкалоидтарды бөліп алудың ең қолайлы әдісі ОТҮХ деп санауға болады. Бұл метаболиттер силикагель бетінде адсорбциялануға бейім, ал олардың дәстүрлі бағандардан бөлінуі нашарлайды, бұл бөліп алу процесінің тиімділігін айтарлықтай төмендетеді. Берік тіректің болмауы экономиканың тез қалпына келуіне кепілдік береді. ОТҮХ алкалоидтармен жұмыс істеу бойынша кең ауқымды әдістемелік ұсыныстар ұсынады. Ағын жылдамдығы мен айналу жылдамдығын реттеу - сақталуы тиіс негізгі параметрлер болып есептеледі. Өртүрлі авторлар жүйенің алкалоидтарға қатысты селективтілігін арттыру үшін қолданылатын екі фазалы еріткіш жүйелеріне модификаторларды енгізеді. Котланд және т.б. [122] өз зерттеулерінде тізбекті үздіксіз араластырылған реакторлардағы қышқыл-негіз тепе-теңдігіне және фазааралық масса алмасуына негізделген ОТҮХ моделін қолданды. Бұл модель оңтайландырылған жұмыс жағдайларында үлкенірек ОТҮХ бағанындағы толық бөлінулерді болжау және ОТҮХ пайдаланушысына масштабтау стратегиясында бағыт беру үшін пайдаланылды. Бұл әдістеме ОТҮХ бөлу процесін тиімді

жобалауға мүмкіндік береді, процесті масштабтау кезінде сынақ және қателік қажеттілігін азайтады. Сондай-ақ, алкалоидтардың органикалық еріткіштерде және полярлық сұйықтықтарда еріген тұздарда еритін бос негіздер ретінде өмір сүру мүмкіндігін ескере отырып, бай матрицалардан алкалоидтарды алу және оларды әртүрлі химиялық табиғаты бар басқа метаболиттерден бөлу үшін рН-аймақтық тазарту режимі жасалды. Дегенмен, тамақ өнімдерінде қолданылатын сығындыны байыту кезінде күшті қышқылдарды немесе негіздерді қосу күмәнді болуы мүмкін. ОТҮХ әдісінің қосымша артықшылығы - химиялық таза еріткіштерді пайдаланып талдау жүргізу мүмкіндігі, бөлу шығындарын айтарлықтай азайтады және жасыл химия принциптеріне сәйкес келеді.

Жоғарыда аталған ерекшеліктерге байланысты, бұл әдіс сұйық-сұйық хроматографтарға тән қарапайым масштабтау процедурасын ескере отырып, өсімдік экстрактысынан алкалоидтарды бөліп алу үшін жақсы таңдау болып есептеледі [123].

Алкалоидтарды өсімдік құрамынан бөліп алуға және тазалауға арналған ОТҮХ қолдану жөнінде тәжірибелік мәліметтер аз келтірілген. Осы қазіргі кезде кеңінен танылып келе жатқан әдіс алкалоидтарды тіпті сығындылық заттардың аз жиынтығынан сапалы мақсатты өнімді салыстырмалы түрде тез, әрі тиімді алуға мүмкіндік беретін тазалаудың тиімді әдісі болып табылатындығы көрсетілген.

ОТҮХ заттардың тек еріткіштер арасында таратылатынына жорамалданатын механизммен тиімді бөлінуді қамтамасыз ететіндіктен, бөлінетін өсімдіктекті экстрактының да, оның құрамына кіретін заттардың да кереғарлық диапазонына байланысты еріткіштердің хроматографиялық жүйесін дұрыс таңдау аталмыш әдіспен сәтті бөлу негізі болып табылады және бөлудің әр нысанына жеке әдісті талап етеді. Алкалоидтарды өсімдік құрамынан тиімді түрде бөліп алу үшін ортаның рН мен ион күшінің қосымша реттелулері қажет екендігі тәжірибелік түрде дәлелденген.

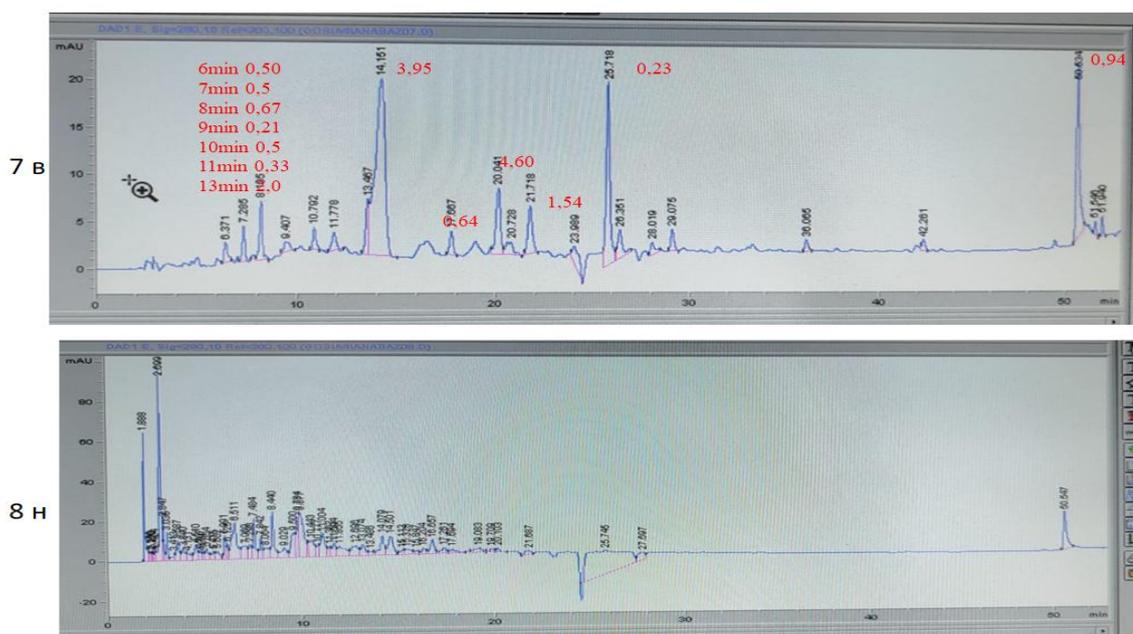
Лупининді бөлу мақсатта өндірістің тиімді және экологиялық таза әдісін жасау үшін заманауи хроматографиялық әдістерді, атап айтқанда, ОТҮХ қолдануды бастадық. ОТҮХ жоғары сапалы қосылыстарды көп мөлшерде бөліп алуға мүмкіндік береді, бұл оны тиімді және оңай коммерцияландырылатын әдіске айналдырады.

ОТҮХ көмегімен сәтті бөлудің негізі хроматографиялық еріткіш жүйесін дұрыс таңдау болғандықтан, жұмыс жоғары сапалы мақсатты өнімнің сандық өнімділігін қамтамасыз ететін оңтайлы еріткіш жүйесін таңдаудан басталды. AS-70P этанолды экстрактынан алкалоидтарды алу үшін ең қолайлы құрамды таңдау мақсатында әртүрлі еріткіш жүйелерін пайдаланып бірқатар сынақтар жүргізілді. Сыналған еріткіш қоспаларына метил-*трет*-бутил эфирінің (MtBE), бутанолдың, этанолдың, аценотрилдің және судың әртүрлі қатынасы кірді. Содан кейін дайындалған еріткіш қоспаларының әрқайсысына 30 мг экстракт қосылды. Экстракт (30 мг) қоспаларда мұқият ерітіліп, содан кейін жоғарғы және төменгі фазаларға бөлінді (18-кесте).

Кесте 18 - ОТҮХ үшін биологиялық белсенді заттарды бөлуге арналған еріткіштерді таңдау

№	Еріткіштер жүйесі	Еріткіштер ара қатынасы	V, мл	Фракциялары
1	метил-трет-бутил эфирі-су-ТЭА-түз қышқ.ерт.	1:1:1:1	2,5-2,5-5+5	№1 жоғ.ф, №2 төм.ф
2	гексан-бутанол-этанол-су	1:12:6:15	0,42-1,67-0,83-2,01	№3 жоғ.ф, №4 төм.ф
3	гексан-бутанол-этанол-су	1:14:6:15	0,14-1,94-0,83-2,01	№5 жоғ.ф, №6 төм.ф
4	метил-трет-бутил эфирі-ацетонитрил-бутанол-су	2:2:1:5	1-1-0,5-2,5	№7 жоғ.ф, жылжым.фаза №8 төм.ф, стац. фаза
5	метил-трет-бутил эфирі-бутанол-ацетонитрил-түз қышқ.ерт.	2:2:1:5	1-1-0,5-2,5	№9 жоғ.ф, №10 төм.ф
6	гексан-этилацетат-этанол-су	1:14:6:15	2.5-0.5-1-1	№11 жоғ.ф, №12 төм.ф

Жоғарғы және төменгі фазалардың тең көлемдері ЖТСХ-MS хроматографиясын қолдана отырып бөлек талданды, бұл бізге таралу коэффициентін (k) есептеуге, яғни $k=Ж/Т$ ($k=№7/№8$) формуласын қолдана отырып, төменгі фазадағы қосылыстың шың ауданын жоғарғы фазадағы (№7, №8) сол қосылыстың шың ауданына бөлуге мүмкіндік берді. Коэффициенттер жетекші компоненттердің жоғарғы және төменгі фазалар арасындағы таралуын көрсетіп, әртүрлі жағдайларда бөлудің ықтимал тиімділігі туралы түсінік берді (24-сурет). Әрбір қосылыс үшін есептелген k мәндері хроматографиялық жағдайларды жоғары қарай жұмыс режиміне қарай таңдауға бағыт берді.



Сурет 24 - Таралу коэффициентін (k) есептеу, яғни төменгі фазадағы қосылыстың шың ауданын 280 нм-де жоғарғы фазадағы (№7, №8) сол қосылыстың шың ауданына бөлу

AS-70P экстрактын бөлуге арналған *екі фазалы* жүйе қосылыстардың екі араласпайтын фаза арасындағы таралу коэффициентіне (k) негізделіп таңдалды. Қосылыстардың k мәні ЖТСХ-MS талдауы арқылы бағаланды. Коэффициент әрбір шың үшін есептелді: $k = 633/160 = 3,95$, сақтау уақыты 14,151 (№7), 14,079 (№8). Идея мақсаты жалпы экстрактыны бағанға бір рет енгізгеннен кейін жоғары тазалықтағы лупинин алу үшін қанағаттанарлық k мәндері бар екі фазалы еріткіш жүйесін құру болды.

Нәтижесінде, №4 үлгі (метил-трет-бутил эфирі-ацетонитрил-бутанол-су 2:2:1:5 v/v/v/v) басқа жүйенің ішіндегі ең жақсы жүйе ретінде таңдалды. Бұл жағдайда негізгі алкалоидтар арасындағы k мәндеріндегі айырмашылықтар ең үлкен болды, бұл оның ең жоғары тиімділігін көрсетеді. Сонымен қатар, еріткіштің тұндыру уақыты қысқа болды, ал жоғарғы және төменгі жүйелердің көлемдері іс жүзінде бірдей болды, бұл жоғары айналу жылдамдықтарында қарсы токтың бөлінуіне кедергі келтірмеді. Осылайша, №4 үлгі AS-70P этанолды экстрактының жер үсті бөлігінен жеке қосылыстарды бөлу үшін оңтайлы еріткіш жүйесі болып анықталды, жүйенің төменгі қабаты жылжымалы фаза ретінде пайдаланылды.

Anabasis salsa өсімдігінің жер үсті бөліктерінің этанолды экстрактынан алкалоидтарды ОТҮХ әдісімен фракциялау

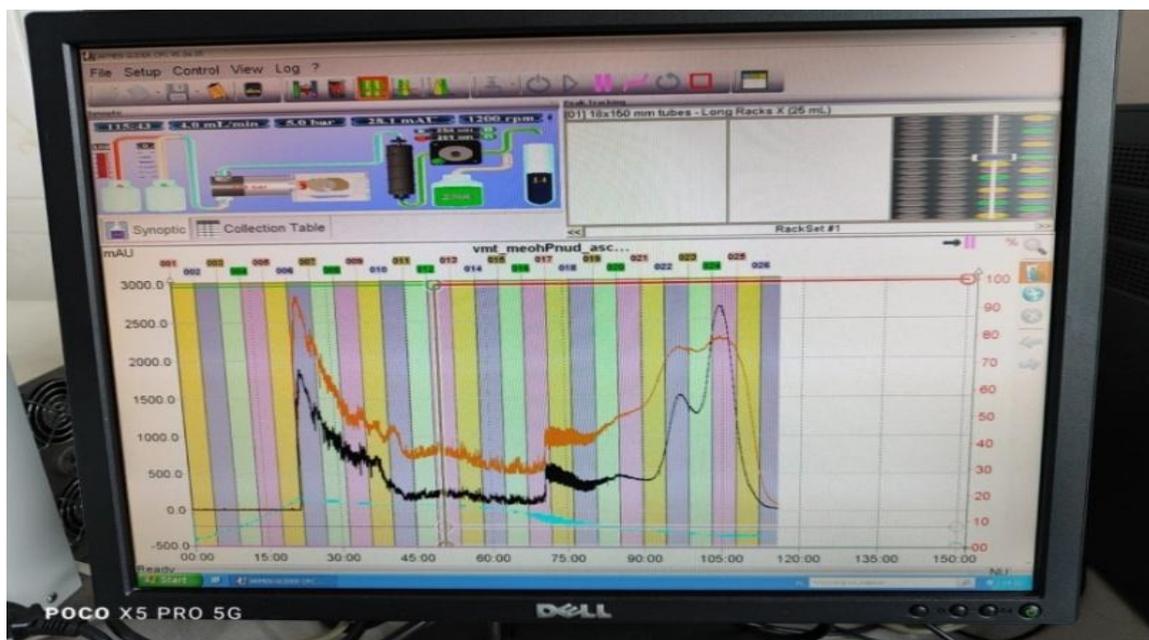
Фракциялау 250 мл тот баспайтын болаттан жасалған бағанмен, ультракүлгін детектормен және фракция жинағышпен жабдықталған гидростатикалық ОТҮХ жүйесі арқылы жүргізілді (Spot CPC, Armen Glider CPC VS.Da.05, Saint-Ave, Франция).

Таңдалған еріткіш жүйесі, MtBE-ACN-BuOH-H₂O (2:2:1:5), бөлгіш воронкада дайындалды. Сұйықтықтарды араластырғаннан кейін екі фазалы еріткіш жүйесі тұндырылып, екі бөтелкеге бөлінді.

Бірінші қадам стационарлық фазаны бағанға 20 мл/мин жылдамдықпен 500 айн/мин енгізуді қамтыды. Бөлу: еріткіш жүйесі метилтрет-бутил эфирі-ацетонитрил-бутанол-су (2:2:1:5), 0,6 г экстракт, 50 мл жоғарғы (стационарлық) фаза және 50 мл жылжымалы фаза, 100 мл үлгі хроматографқа енгізілді, УК детекторы 254, 320, 365, 280 нм, ротор жылдамдығы 1200 айн/мин (26-сурет), қос бөлу әдісі - элюирлеу және экструзия:

- элюирлеу - жоғарыдан төмен қарай әдіс (элюенттің жоғарыдан төмен қарай берілуі), жылжымалы фаза - төменгі қабат (полярлы), элюент ағынының жылдамдығы 4 мл/мин, фракциялар әр 1 минут сайын жиналды, 35 фракция жиналды;

- экструзия - жоғарыдан төмен қарай әдіс (элюенттің жоғарыдан төмен қарай берілуі), жылжымалы фаза - жоғарғы қабат (полярлы емес), элюент ағынының жылдамдығы 20 мл/мин, фракциялар әр 1 минут сайын жиналды, 13 фракция жиналды.



Сурет 25 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens жер үсті бөліктерінің этанолды экстрактын ОТҮХ

- X осі уақыты (минутпен) ~150-ге дейін;
- Y осі сигналды mAU (миллиабсорбция бірліктерімен) көрсетеді және шығыстағы заттың концентрациясын көрсетеді.
- Қызыл қисық еріткіш градиенті (% BuOH / ACN).
- Қара және қызғылт сары сызықтар сіңіру деректері (әртүрлі толқын ұзындықтары, 254 және 280 нм).
- 001, 002...025 түрлі-түсті сандары фракциялар болып табылады.
- Фондағы түрлі-түсті жолақтар фракция жинау аймақтары (сынақ түтіктерінде), әрқайсысы белгілі бір шығыс уақытына сәйкес келеді (26-сурет).

Интерпретациясы:

Алғашқы шыңдар (30 минутқа дейін) полярлық фазамен элюирленге жоғары полярлы қосылыстар (қанттар, қышқылдар және т.б.) болуы мүмкін.

Ортаңғы бөлікте (30-90 мин) гидрофобты заттардың көбірек бөлінетін жері, мүмкін флавоноидтар мен орташа полярлылықтағы алкалоидтар.

100 минуттан кейінгі үлкен шың органикалық концентрацияның жоғарылауымен (мысалы, BuOH) элюцияланған негізгі компоненттердің бірі болуы мүмкін.

Лупинин - орташа полярлы алкалоид, 30-90 мин аймағында бөлінуі мүмкін; 006-009 фракциялары ең қарқынды сіңуді көрсетеді. Фракциялар қанық түске ие (қою сары - 006, ашық сары - 007-009 фракциялары), бұл заттардың жоғары концентрациясын көрсетеді. Хроматограмма 022, 024 және 025 фракцияларының шыңының айқын сигналға ие екенін көрсетеді, бұл фракциялардың жеке қосылыстар болуы мүмкін екенін көрсетеді (27-сурет). Алынған фракциялар алдын ала Драгендорф ерітіндісін әзірлеуші ретінде пайдаланып, ЖҚХ көмегімен алкалоидтарға тексерілді (ол алкалоидтар үшін қызғылт сары-қоңыр дақтар байқалды).



Сурет 26 - ОТҮХ әдісін қолдана отырып, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактын бөлу арқылы алынған фракциялар (солдан оңға қарай: 001, 002... және 016 фракциялары)

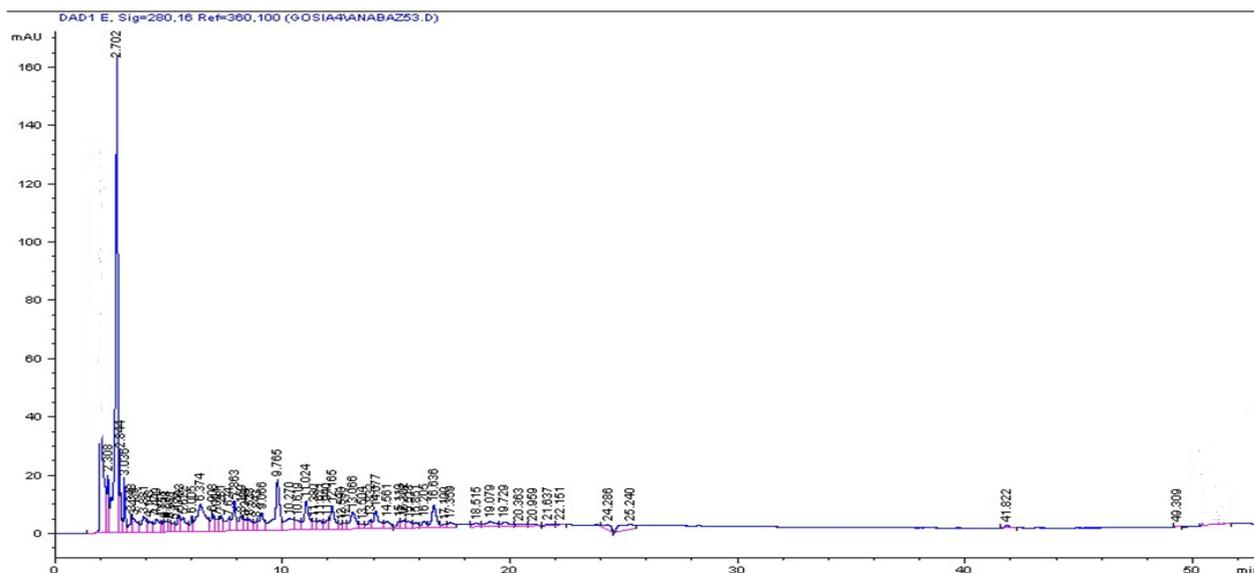
Анализдеу аяқтағаннан кейін, хроматограмманы бақылап, оны пробиркалардағы фракциялармен салыстырғаннан кейін (25 және 26-суреттер), біз ең айқын шындалы бар фракцияларды таңдадық, атап айтқанда 006, 007, 008, 009, 010, 012, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025 фракциялары. Фракциялар жоғарғы және төменгі фазаларға бөлініп, содан кейін 0,1 мкм тесік өлшемі бар нейлон шприц сүзгісі арқылы автоүлгілеуші құтыларға сүзілді. Фракциялар Eppendorf Concentrator Plus буландырғышын (Гамбург, Германия) пайдаланып кепкенше буландырылды және фракциялардың массасы анықталды (19-кесте).

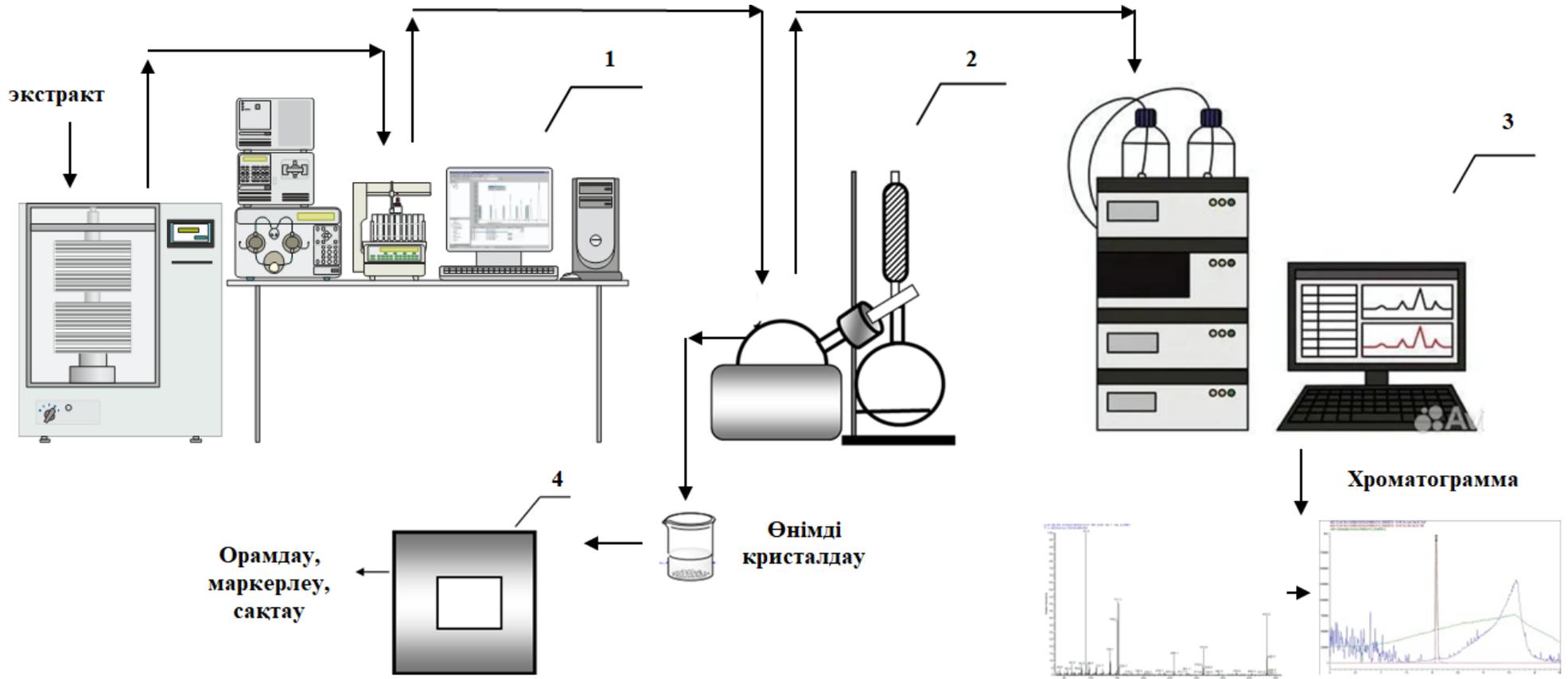
Кесте 19 - ОТҮХ әдісімен алынған фракциялардың сандық шығымы

ОТҮХ фракциялары	Құрғақ қалдық массасы, г
006-007	0,0004
008-011	0,0573
012-016	0,1617
017-018	0,0034
019-020	0,0023
021	0,0007
022	0,0001
023	0,0083
024	0,0026
025	0,0046

Фракциялар айналмалы буландырғышта буландырылып, ЖТСХ-MS арқылы анализденді. Бөлу нәтижесінде 67-ден 87%-ға дейін лупинин бар 023, 024 және 025 фракциялары алынды (27, 28-сурет), фракциялар біріктірілді.

Буландыру және қайта кристалданудан кейін тазалығы 98,06% болатын лупинин бөлініп алынды. Лупининнің шығымы 0,0142 г немесе экстракт массасына негізделген 2,37% (ауада кептірілген шикізатқа негізделген 0,03%) болды. ОТУХ қолдана отырып, *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens (AS-70P) этанолды экстрактынан лупинин алкалоидын бөліп алуға арналған аппараттық схема 29-суретте көрсетілген.





1. Armen Glider CPC VS.Da.05 Saint Ave құрылғысы
2. ПК basic 05 бұландырғыш құрылғысы
3. ЖЭСХ-МС
4. Кептіргіш шкаф

Сурет 29 - ОТУХ әдісімен *Anabasis salsa* (AS-70P) этанолды экстрактынан лупининді бөліп алу және тазартудың аппаратуралық сызбанұсқасы

Осылайша, ОТҮХ әдісімен бөлу технология екі кезеңнен тұрады:

Бірінші кезең: Armen Glider CPC VS.Da.05 Saint Ave блогын пайдаланып, *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens (AS-70P) этанолды экстрактын бөлу.

Хроматография келесі жағдайларда жүргізіледі: 5000 мл ротор, метил-*трет*-бутил эфирі-ацетонитрил-бутанол-су (2:2:1:5) еріткіш жүйесі, 50 мл стационарлық фазада және 50 мл жылжымалы фазада ерітілген 0,6 г экстракт үлгісі, хроматографқа 20 мл/мин жылжымалы фазаның берілу жылдамдығымен және 500 айн/мин ротор жылдамдығымен енгізілген 100 мл үлгі, енгізілген үлгінің толық бөлінуі 1,5 сағат ішінде жүреді. 280 нм толқын ұзындығында УК анықтау. Фракциялар алынған хроматограммаға сәйкес фракция жинағыш арқылы жиналады. Бөлу нәтижесінде көлемі 50-ден 100 мл-ге дейінгі 30 фракция алынады.

Лупининді фракция (№ 025 фракция) ЖТСХ бойынша 97% тазалықтағы техникалық лупинин алу үшін айналмалы буландырғышта буландырылады.

Екінші кезең: лупининді тазалау.

Құрамында лупинині бар ілеспе заттар этилацетатпен өңделеді. Ілеспе заттар ерігеннен кейін, еріткіш декантацияланады, лупинин қабылдағышта қалады. Алынған лупинин кептіріледі, нәтижесінде тазалығы 98,14% болатын 0,016 г лупинин алынады; шығымы экстракт салмағына байланысты 2,3% құрайды.

Осылайша, ОТҮХ әдісті қолдана отырып, *Anabasis salsa* (AS-70P) этанолды экстрактынан лупининді бөліп алу және тазартудың жаңа технологиясы жасалды, бұл тиісті сападағы өнімнің қажетті мөлшерін тұрақты өндіруді қамтамасыз етеді (Қосымша Ж).

Лупинин стандартты үлгісін идентификациялау және сапасын бақылау

Хинолизидинді алкалоид лупинин - біріншілік спирт тобы бар үштік негіз. Оксильды гидроксиметил тобы бар транс-хинолизидин сақинасы болғандықтан, азот атомының протондануы оның конфигурациясын *тран*-стан *цис*-ке өзгертеді. Хинолизидин сақинасының бірігуі гидроксиметил тобын экваториалдық қалыпқа ауыстырады және айналу бұрышының белгісін өзгертеді [112, 124-126].

(-)-Лупинин [(1*S*,9*aR*)-1-(гидроксиметил)октагидрохинолизин] (2) - ақ, иіссіз, кристалды ұнтақ, балқу температурасы 67°C-тан 69°C-қа дейін.

Лупинин молекуласының кеңістіктік құрылымы рентгендік талдау арқылы анықталды. Барлық есептеулер SHELXS-97 бағдарламасын пайдалану арқылы жүргізілді. Лупинин молекуласының атомдық координаттары Кембридж кристаллографиялық деректер орталығына сақталды. Деректер әдебиеттегі деректермен салыстырмалы (30-сурет) [119, 127].

ИК-спектрі (ν , cm^{-1} , KBr): 3172 (OH), 2925, 2848(NCH_2), 2764, 1470($-\text{CH}_2-$), 1352, 1339, 1109, 1159, 1041, 871, 746, 651.

УК-спектрі (λ , нм, I ϵ , EtOH): 202 (4,31).



Сурет 30 – Лупинин (2) молекуласының рентген құрылымдық талдауға сәйкес молекуланың кеңістіктік құрылымы

ЯМР ^1H спектрі (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.ү., $J/\text{Гц}$): 1.24 (1H, с, Н-1), 1.78 (1H, д.м., $J=14.0$, Н-2 α), 1.36 (1H, т.м., $J=14.0$, Н-2 β), 2.35 (1H, т.д., $J=14.5$, Н-3 α), 1.36 (1H, д.м., $J=14.5$, Н-3 β), 2.58 (1H, дд., $J=4.4$, Н-4 α), 1.76 (1H, ддд., $J=12.9$, Н-4 β), 2.52 (1H, ддд., $J=3.6$, Н-6 α), 1.36 (1H, т.д., $J=12.0$, Н-6 β), 1.42 (1H, к.т., $J=12.8$, Н-7 α), 1.34 (1H, д., $J=3.6$, Н-7 β), 1.58 (1H, д.мульти., $J=3.0$, Н-8 α), 1.05 (1H, к.т., $J=12.9$, Н-8 β), 1.73 (1H, т.д., $J=12.8$, Н-9 α), 1.26 (1H, дд., $J=3.6$, Н-9 β), 1.80 (1H, д.т., $J=11.0$, Н-10), 3.80 (1H, д.д., $J=1.9$, Н-11-R), 4.22 (1H, д.д., $J=4.9$, Н-11-S).

ЯМР ^{13}C спектрі (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.ү.): 39.3 (С-1), 31.1 (С-2), 23.0 (С-3), 57.4 (С-4), 57.3 (С-6), 25.9 (С-7), 25.1 (С-8), 29.9 (С-9), 65.0 (С-10), 65.2 (С-11).

Масс-спектрі, m/z (I_{rel} , %): 152 (100), 138.1 (77), 124.1 (19), 97.0 (50). Табылғаны, m/z : 169.1461 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}$. Есептелгені, m/z : 169.1470.

Лупининнің құрылымы ИҚ және УК спектрофотометриясы, масс-, ЯМР спектрометриясы, рентгендік құрылымдық талдау және элементтік талдау негізінде анықталды. Деректер әдебиеттегі деректермен салыстырмалы [119, 127].

Лупинин, аксиальды гидроксиметил тобы бар транс-хинолизидин сақинасына ие, йодометилдеу кезінде хинолизидин сақинасының цис-түйісінде конфигурациясы өзгереді, яғни оксиметил тобы экзаториалдық қалыпқа ауысады және айналу бұрышының белгісі (-)-тен (+)-ке өзгереді. (+)-Эпилупининнің лупининнен транс-хинолизидин сақинасындағы гидроксиметил тобы экваториалды орналасқан және айналу бұрышының (+) белгісіне ие болуымен ерекшеленеді [128].

Лупинин алкалоидының сапа көршеткіштері

Лупинин субстанциясын сапасын реттейтін нормативтік құжат қажет болғандықтан, ҚР МФ талаптарына сәйкес 3 партияның талдау нәтижелері негізінде нормативтік құжаттың жобасы әзірленді (20-кесте). Еуразиялық экономикалық комиссия Алқасының 2021 жылғы 7 желтоқсандағы № 169 «Өсімдік тектес фармацевтикалық заттар мен өсімдік тектес дәрілік заттардың тұрақтылығын зерттеу талаптарын бекіту туралы» шешімі және Еуразиялық экономикалық комиссия Алқасының 2022 жылғы 4 қазандағы № 137 «Дәрілік заттың сапасы бойынша нормативтік құжатты әзірлеу жөніндегі нұсқаулықты бекіту туралы» шешіміне сәйкес.

Кесте 20 - Лупинин субстанциясының сапа спецификациясы

Сапа көрсеткіші	Ауытқу нормалары	Зерттеу әдістері
1	2	3
Сипаттамасы	Ақ кристалды ұнтақ, иіссіз	ҚР МФ, т. 1. «Субстанциялар» жалпы мақала
Ерігіштігі	96 % этанолда, суда ериді, хлороформда, метанолда, диметилформамидте жақсы ериді	ҚР МФ, т. 1, 1.4
Сәйкестендіру: - лупинин субстанциясы	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрінде: 3172 (ОН), 2925, 2848 (NCH ₂), 2764, 1470 (-CH ₂ -), 1352, 1339, 1109, 1159, 1041, 871, 746 и 651 см ⁻¹ . УК спектрі: (202±2) нм (96% этанол).	ИҚ-спектроскопия, ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 УК-спектрофотометрия, ҚР МФ, т. 1, 2.2.25
Балқу температурасы	67-69°C.	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14
Айналу бұрышы	$[\alpha]_D^{20} - 19$ (этанол)	ҚР МФ, т. 1, 2.2.7
Ерітіндісінің сапалық көрсеткіштері: мөлдірлігі	Субстанция ерітіндісін сумен салыстырғанда мөлдір болуы тиіс немесе опалесценция дәрежесі I салыстыру суспензиясынан аспауы керек	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1
Түсі	Субстанция ерітіндісінің түсі Y ₁ салыстыру ерітіндісінен интенсивті болмауы тиіс	ҚР МФ, т. 1, 2.2.2
pH	Субстанция ерітіндісінің pH мәні 9,5-10 аралығында болуы тиіс	ҚР МФ т.1, 2.2.3
Бөгде қоспалар	1,0 % артық емес	ЖТСХ, ҚР МФ, т. 1, 2.2.29
Кептіргендегі масса шығыны	0,5% артық емес	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32
Микробиологиялық тазалығы	Субстанция ҚР МФ т. 1, 5.1.4 сәйкес, 4 В санаты талаптарына сәйкес келуі тиіс.	ҚР МФ, т. 1, 2.6.12, 2.6.13
Сандық талдау	98,0 % кем емес	НҚ сәйкес
Фармакологиялық әсері	Микробқа қарсы	НҚ сәйкес
Орамдау	МЕСТ 30288-95 сәйкес винт мойынды сәуле өткізбейтін шыны бөтелкеге субстанцияны салып, 6-09-5311-87 ТЖ сәйкес қақпақпен жабылуы керек. Ыдыстарды сыртынан МЕМСТ 4665-62 сәйкес сәуле өткізбейтін қағазбен орайды. Бөтелкелерге таңбаланған этикеткаларды жабыстырады.	НҚ сәйкес
Таңбалау	Жапсырмада өндіруші елді, өндіруші кәсіпорынды, оның мекен жайын, субстанция атауын қазақ, орыс және латын тілдерінде, субстанция массасын, серия номерін, өндірілген мерзімін, жарамдылық мерзімін және сақтау жағдайларын көрсетеді. Тасымалдаушы таңбалау ГОСТ 14192-96 сәйкес жүргізіледі.	НҚ сәйкес

1	2	3
Тасымалдау	МЕМСТ 17768-90 сәйкес	МЕМСТ 17768-90
Сақтау	Температура 25 ⁰ С аспауы керек	НҚ сәйкес
Сақтау мерзімі	24 ай	НҚ сәйкес

Осылайша, дәрілік заттардың сапасын бақылау үшін қолданылатын стандартты үлгі ретінде лупинин субстанциясын алу технологиясы әзірленіп нормативтік құжаттың жобасы жасалды (Қосымша Л).

4.6 Лупинин алкалоиды негізінде потенциалды биологиялық белсенді 1,2,3-үшазол туындыларын синтездеу

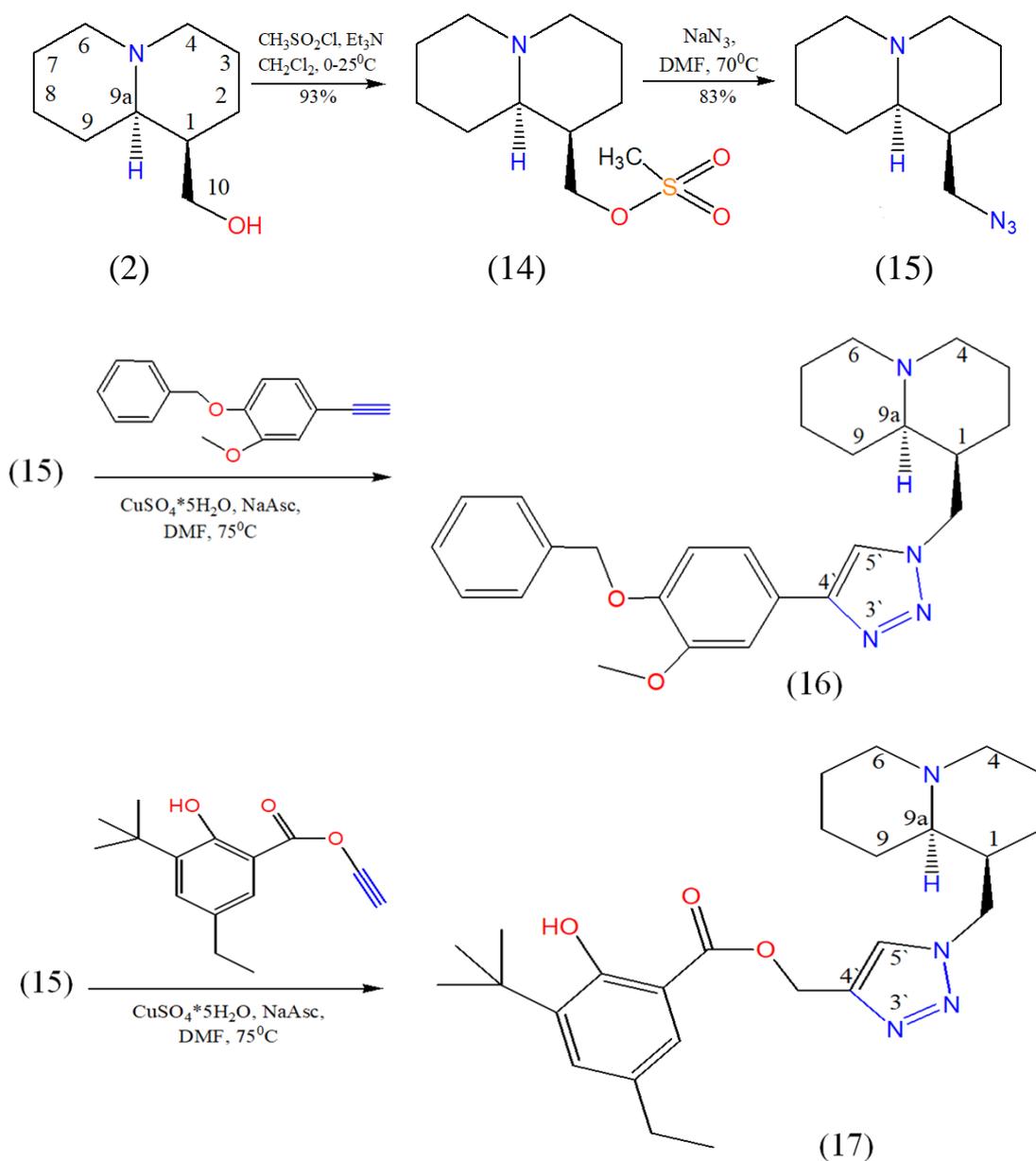
Белгілі болғандай, химиялық модификациялау биологиялық белсенді заттарды алу немесе бастапқы қосылыстың белсенділігін арттыру үшін қолданылуы мүмкін. Сондықтан жаңа биологиялық белсенді заттарды алу үшін лупинин негізінде химиялық түрлендірулер жүргізілді.

Фармакологиялық зерттеулерге сәйкес, лупинин бактерицидтік және седативтік белсенділік көрсетеді, сонымен қатар қысқа мерзімді антигельминттік және гипотензивтік қасиеттерге ие. Оның белгілі туындыларының ішінде эфирлері ең көп зерттелген, олар түрлі тұмауларға, қатерлі ісікке қарсы және гепатопротекторлық белсенділікке ие. Бірқатар лупинин эфирлері жергілікті анестетикалық әсерді, сондай-ақ көкжөтелге қарсы және холинестеразаға белсенділікті көрсетті. Лупининге және оның жаңа туындыларына деген қызығушылық шексіз. Лупининнің құрылысын түрлендірудің және тиімді бағыттарының бірі оның ықтимал биобелсенді үшазолды туындыларын алу болып табылады. Осылайша, лупинин алкалоидының ықтимал биобелсенді үшазол туындыларын түрлендірудің ыңғайлы әдістерін іздестіру және өңдеу биоорганикалық химия мен фармакологияда маңызды өзекті мәселенің бірі деп атауға болады [129-134]. Бөлініп алынған лупинин негізінде 1,2,3-үшазол туынды қосылысын алу және кейіннен фармацевтикалық мақсаттарда затты өндіру технологиясын әзірлеу дәрілік заттарды өндірудегі маңызды міндеттердің бірі болып қарастырылады. Ұсынылған зерттеу жұмыстың жалғасы болып табылады.

Лупинин алкалоидынан алынған екі орынбасарлы 1*H*-1,2,3-үшазол туындыларының синтезі және олардың құрылымдық сипаттамаларына жүргізілген зерттеулердің нәтижелері ұсынылған. Лупинин алкалоидының химиялық трансформациясы хинолизин қаңқасының С-1 жағдайда орналасқан гидроксиметилден тобы бойынша жүзеге асырылды. Реакциялар үш кезеңде әр түрлі еріткіштерде жүргізілді. Лупининнің метансульфохлоридпен үшэтиламиннің қатысуымен өзара әрекеттесуі кезінде жоғары шығымдылықпен лупининнің мезилаты оңай түзілетіні көрсетілді. Осы қосылысты диметилформамаид ерітіндісінде натрий азидімен ары қарай қыздырып өңдеу нәтижесінде жоғары шығыммен лупинин азидінің түзілуі жүреді. Жаңа азидтің

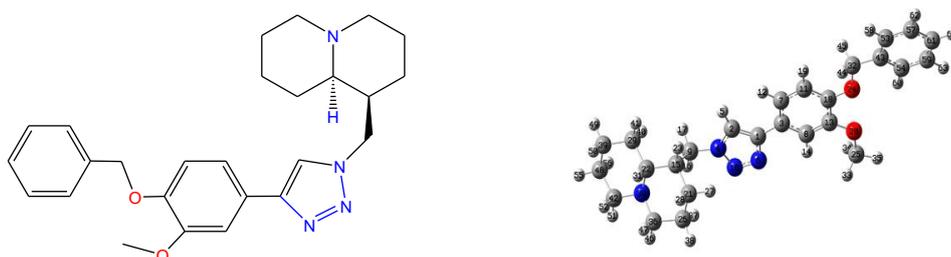
мыс купоросының сулы және натрий аскорбаты қатысуымен диметилформаид ерітіндісінде әртүрлі сипаттағы функционалды орынбасылған ароматты алкиндермен өзара әрекеттесуі кезінде оларға сәйкес 4-орынбасылған лупининнің ұшазолды туындыларының түзілуі мүмкін екендігі анықталды. Лупининнің ұшазолды циклінің негізінде C-4 жағдайында орынбасылған ароматты жаңа туындылары синтезделді.

Лупинин (2) молекуласының метансульфонилхлоридпен (2 экв.) салқындатылған кезде метиленхлоридтегі триэтиламиннің (3 экв.) қатысуымен әрекеттесуі (1*R*,9*aR*)-октагидро-1*H*-хинолизин-1-ил)метилметансульфонаттың (14) түзілуіне әкеледі. Шығымы 93%. Синтезделген аралық қосылысты NaN₃-пен ДМФА еріткішінде қыздыру кезінде шығымы 83% құрайтын 1-(азидометил)октагидро-1*H*-хинолизин (15) түзіледі (31-сурет).

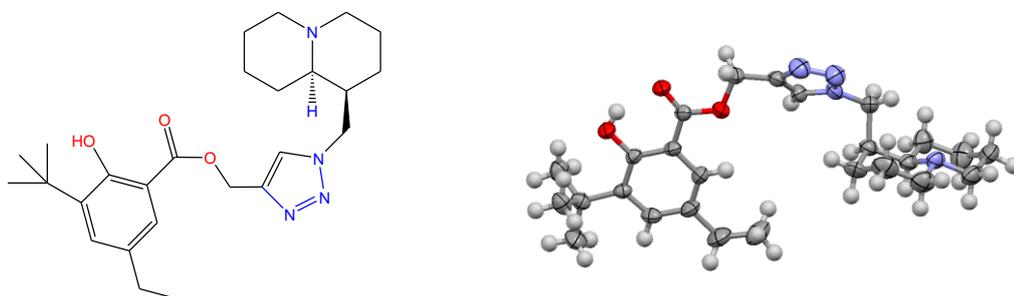


Сурет 31 – Лупининнің 1,2,3-ұшазолды қосылыстардың синтезі

1-(азидометил)октагидро-1*H*-хинолизиннің (15) әртүрлі арилалкиндермен өзара әрекеттесулері ДМФА ортасында мыс купоросы және натрийдің аскорбаты қатысында 75°C температурада қыздыру арқылы жүзеге асырылды. Бұл реакция Cu^1 катализаторлық әсерімен 1,3-диполяры қосылу механизмі бойынша жүреді. Тиісінше, 1,2,3-үшазол циклінің С-4 жағдайындағы арил-орынбасылған лупининнің үшазолды туындылары (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (Lup-43) (16), {1-[[[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lup-41) (17) қосылыстары алынды. Қосылыстар рентгендік дифракция арқылы дәлелденді (32, 33-суретер) [135].



Сурет 32 - (16) қосылыстың рентгендік құрылымдық талдауға сәйкес молекуланың кеңістіктік құрылымы



Сурет 33 - (17) қосылыстың рентгендік құрылымдық талдауға сәйкес молекуланың кеңістіктік құрылымы

Синтезделген қосылыстардың құрамы мен құрылымы ИҚ-, ЯМР ^1H - және ^{13}C -спектроскопия және масс-спектрометрия әдістерімен дәлелденілді. Лупинин азидінің (15) құрылысында орынбасылған N_3 -тобының болуы ИҚ спектрінің мәлімдемелерімен анықталды (2096 cm^{-1} аймағында азид тобының валенттік тербелістеріне сәйкес келетін қарқынды сіңіру жолағы байқалды).

Синтезделген 1,2,3-үшазолды қосылыстардың ЯМР ^1H - және ^{13}C -спектрлерінде хинолизин қаңқасына тән және тиісті орынбасылған функционалды топтарға қатысты сигналдар жиынтығы кездеседі. Күшті өріс аймағында (δ 1.17-1.70 м.ү.) интегралдық қарқындылығы 8H болатын кең мультиплеттік сигналдар орналасқан, олардың құрамына осьтік және экваторлық бағыттағы лупинин қаңқасының протондары (H-2*a*,*e*,8*a*,*e*,9*a*,*e*,3*a*,7*a*) кіреді. Мультиплет сигналы (δ 1.70-1.92 м.ү.) экваторлық бағытталған H-3,7

протондарына қатысты. Әрі қарай 4,6 (δ 1.88-2.08 м.ү.) аксиальді протондар, 9a (δ 2.05 2.18 м.ү) түйіндік протондар және C-1 (δ 2.18 2.30 м.ү) протондары резонанс тудырады. 4,6 Экваторлық бағыттағы протондар (δ 2.80-2.88 м.ү.) аймақтағы мультиплетпен ұсынылған. H-10 метилен тобының протондары δ 4.51-4.65 м.ү. аймағында екі дублет-дублет түрінде резонанстық жағдайға әкеледі. Қосылыстардың ЯМР ^1H спектріндегі түзілген 1,2,3-үшазолдық циклдардың протонына δ 7.37-7.71 м.ү. аймағында орналасқан синглетті сигнал жауап береді. ЯМР ^{13}C спектріндегі үшазол циклінің көміртегі атомдары сәйкесінше 119.3 122.4 м.ү. (C-5) және 146.2-156.8 м.ү. (C-4) дублет және синглет түрінде байқалады (спектрлер JMOD режимінде жазылды). Бұл мәлімдемелер CuAC реакциялар нәтижесінде 1,4-орынбасылған 1H-1,2,3 үшазолдардың түзілуін растайды.

Синтезделген қосылыстардың масс-спектрінде әр түрлі қарқындылықтағы молекулалық иондардың шыңдары кездеседі. Үшазолды туындылардың спектрлерінде молекуланың хинолизидинді қаңқасының C-10 атомы арқылы бөлінуіне сәйкес келетін $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}$ (150-151 ш.б.) фрагментті иондарының шыңдары сипатталған.

Лупининнің ((1R,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-илметил) метансульфонат (14) туындысын синтездеу:

CH_2Cl_2 (600 мл) ерітіндісіндегі лупинин (2) (10,0 г, 59,08 ммоль) және триэтиламиннің (23,91 г, 236,32 ммоль) мұзбен салқындалатын ерітіндісіне 60 мл CH_2Cl_2 ерітіндісіндегі метансульфонилхлоридтің (13,53 г, 118,16 ммоль) ерітіндісі тамшылатып қосылды. Реакциялық қоспа 0°C дейін салқындағаннан кейін 40 минут және бөлме температурасында 8 сағат бойы араластырылды (реакция жүру барысы ЖКХ әдісімен бақыланды), содан кейін натрий хлоридінің қаныққан ерітіндісімен (2×60 мл) жуылды, сусыз MgSO_4 кептірілді, кептіргіш агент сүзіліп, еріткіш вакуумда айдалды. Қосылыс флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (еріткіштер хлороформ, хлороформ-этанол, 50:1). Шығымы 9,3 г (93%). Ақ кристалды зат, балқу температурасы $57-58^\circ\text{C}$ (эфирде). $[\alpha]_D^{20}$ - 21.6 (с 1.4, CHCl_3).

Лупининнің 1-(Азидометил)октагидро-1H-хинолизин (15) туындысын синтездеу:

(2) қосылыстың (6,0 г, 24,25 ммоль) және 4,93 г (75,92 ммоль) натрий азидінің ДМФА (100 мл) қоспасы 75°C температурада 8 сағат бойы араластырылды (реакция жүру барысы ЖКХ әдісімен бақыланды). Реакция қоспасы еріткіштің буландырғышта булануы үшін Петри ыдысына құйылды. Қалдық CH_2Cl_2 -де ерітілді, натрий хлоридінің қаныққан ерітіндісімен жуылды, сусыз MgSO_4 кептірілді, кептіргіш агент сүзгіден өткізілді, еріткіш вакуумда дистилденді және қосылыс флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ-этанол, 50:1). Шығымы 5,0 г (83,3%). Ашық сары, майлы жылжымалы сұйық зат. $[\alpha]_D^{20}$ -29,85 (с 2.4, CHCl_3).

Лупининнің (1S,9aR)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1H-1,2,3-үшазол-1-ил}метил)октагидро-2H-хинолизин (16) (Lup-43) туындысын синтездеу:

100 мл ДМФА еріткішінде 4,0 г (20,65 ммоль) лупининнің азиді (15) ерітіліп, функционалды орынбасылған ароматты ацетилен 4-бензилокси-3-метоксифенилацетилен 0,257 г (1,03 ммоль), мыс купоросы (CuSO₄×5H₂O) 0,204 г (1,03 ммоль) және натрийдің аскорбаты 0.026 г (0.135 ммоль) қосылып 75°C температурада қыздыру жағдайында 7-8 сағат араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды). Салқындату жағдайында түзілген тұнба сүзіліп алынды, содан кейін гексан еріткішімен жуылып, кептіріліп, (16) ұшазолы алынды. Түзілген (16) ұшазол препаративті таза алу мақсатында флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: трихлорметан, трихлорметан: этил спирті, 100:1→10:1). Шығымы 3,0 г (75%). Ақ-сарғыш ұнтақты зат, балку т. 152-153°C. $[\alpha]_D^{25}$ - 15.1 (*c* 1.2, CHCl₃).

Лупининнің {1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил}-1*H*-1,2,3-ұшазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (17) туындысының синтезі (Lup-41)

45 мл ДМФА еріткішінде 3,0 г (15,80 ммоль) лупининнің азиді (15) ерітіліп, функционалды орынбасылған ароматты ацетилен проп-2-инил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаты 0,193 г (0,774 ммоль), мыс купоросы (CuSO₄×5H₂O) 0,153 г (0,774 ммоль) және натрийдің аскорбаты 0.018 г (0.126 ммоль) қосылып 75°C температурада қыздыру жағдайында 7-8 сағат араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды). Салқындату кезінде түзілген тұнба сүзіліп алынды, содан кейін гексан еріткішімен жуылып, кептіріліп, (17) ұшазол қосылысы алынды. Түзілген (5) қосылыс ұшазол препаративті таза алу мақсатында флеш бағанасында силикагел сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ, хлороформ: этил спирті, 100:1→10:1). Шығымы 2,46 г (82%). Ақ ұнтақты зат, балку т. 89-91°C. $[\alpha]_D^{20}$ - 11.9° (*c* 1.3, CHCl₃).

4.6.1 Лупинин туындыларының құрылысын физика-химиялық әдістермен зерттеу

((1*R*,9*aR*)-Октагидро-2*H*-хинолизин-1-илметил)метансульфонаттың құрылымын құру (14)

ИК спектрі (KBr), ν , см⁻¹: 1184, 1336 (OSO₂), 2740, 2757, 2798 (хинолизидинді сақина).

ЯМР ¹H спектрі (400 МГц, CDCl₃), δ , м. ү. (*J*, Гц): 1.12–1.26 (1H, м, H-2*a*); 1.28–1.51 (5H, м, H-2*e*,8*a*,8*e*,3*a*,7*a*); 1.54 (1H, м, H-9*a*); 1.59–1.77 (2H, м, H-3*e*,7*e*); 1.84–2.02 (5H, м, H-1,4*a*,6*a*,9*e*,9*a*); 2.73–2.80 (2H, м, H-4*e*,6*e*); 2.97 (3H, с, CH₃); 4.37 (1H, дд, *J* = 10.6, *J* = 9.8, , CH₂-10); 4.47 (1H, дд, *J* = 10.6, *J* = 5.3, , CH₂-10).

ЯМР ¹³C спектрі (101 МГц, CDCl₃), δ , м. д.: 20.6 (C-3); 24.7; 25.4 C-7,8); 26.3 (C-2); 29.8 (C-9); 37.0 (CH₃); 38.0 (C-1); 56.8; 57.1 (C-4,6); 64.0 (C-9*a*); 69.5 (C-10).

Масс-спектрі, *m/z* (%): 248 (1), 247 (7), 153 (10), 152 (100), 150 (3), 98 (6). Табылғаны, *m/z*: 247.1238 [M]⁺. C₁₁H₂₁NO₃S. Есептелгені, *m/z*: 247.1237.

1-(Азидометил)октагидро-1*H*-хинолизин туындысының (15) құрылымын құру:

ИҚ спектрі, ν , cm^{-1} : 1269, 2096 ($\text{N}\equiv\text{N}$), 2744, 2762, 2804 (хинолизидин).

ЯМР ^1H спектрі (400 МГц, CDCl_3), δ , м. ү. (J , Гц): 1.12–1.26 (1*H*, м, Н-2*a*); 1.30–1.57 (6*H*, м, Н-8*a*, 8*e*, 9*a*, 9*e*, 3*a*, 7*a*); 1.58–1.76 (3*H*, м, Н-2*e*, 3*e*, 7*e*); 1.80–1.99 (4*H*, м, Н-1, 4*a*, 6*a*, 9*a*); 2.72–2.82 (2*H*, м, Н-4*e*, 6*e*); 3.42 (1*H*, дд, $J = 12.6$, $J = 9.6$, CH_2 -10); 3.54 (1*H*, дд, $J = 12.6$, $J = 5.3$, CH_2 -10).

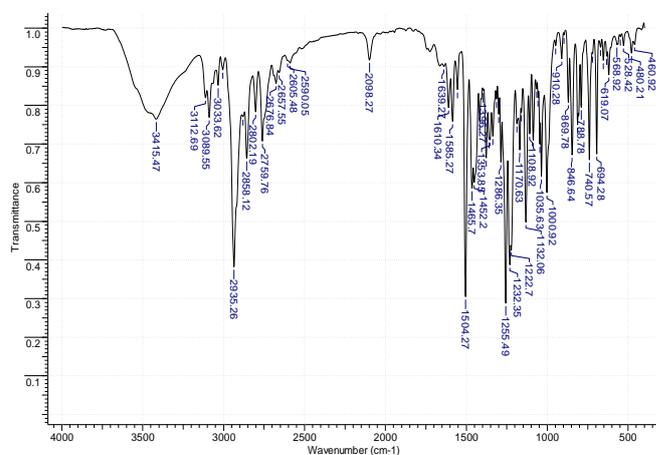
ЯМР ^{13}C спектрі (125 МГц, CDCl_3), δ , м. ү.: 20.7 (С-3); 24.9 (С-8); 25.4 (С-7); 27.3 (С-2); 29.6 (С-9); 38.2 (С-1); 50.4 (С-10); 56.8; 57.2 (С-4, 6); 64.3 (С-9*a*).

Масс-спектрі, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 194 (2), 153 (10), 152 (100), 137 (7), 136 (5), 98 (12), 84 (7), 83 (9), 82 (6), 55 (10), 41 (14). Табылғаны, m/z : 194.1528 [M] $^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_4$. Есептелгені, m/z : 194.1526.

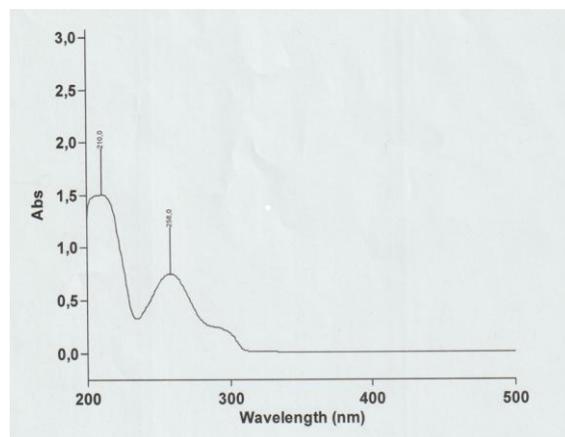
(1*S*, 9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (16) туындысының құрылымын құру (Lip-43):

ИҚ спектрі, ν , cm^{-1} : 3112 ($\text{C}=\text{C}$), 2098 азид тобының созылу тербелістеріне сәйкес келеді ($\text{N}=\text{N}$), 2759, 2858 (хинолизидинді сақина), 2800 (NCH_2 кеңейтілген), 1610 ($\text{C}=\text{C}$), 1585 ($\text{C}=\text{N}$), 1222, 1232 ($\text{C}-\text{O}$), 1132, 1053, 846, 788, 740, 694 (34 сурет а).

Қосылыстың УК спектрі 210 және 258 нм толқын ұзындықтарында жұтылу максимумына ие, бұл ароматты гетероциклмен конъюгацияланған хинолизидин сақинасына тән (34 сурет ә).



а) ИҚ-спектрі

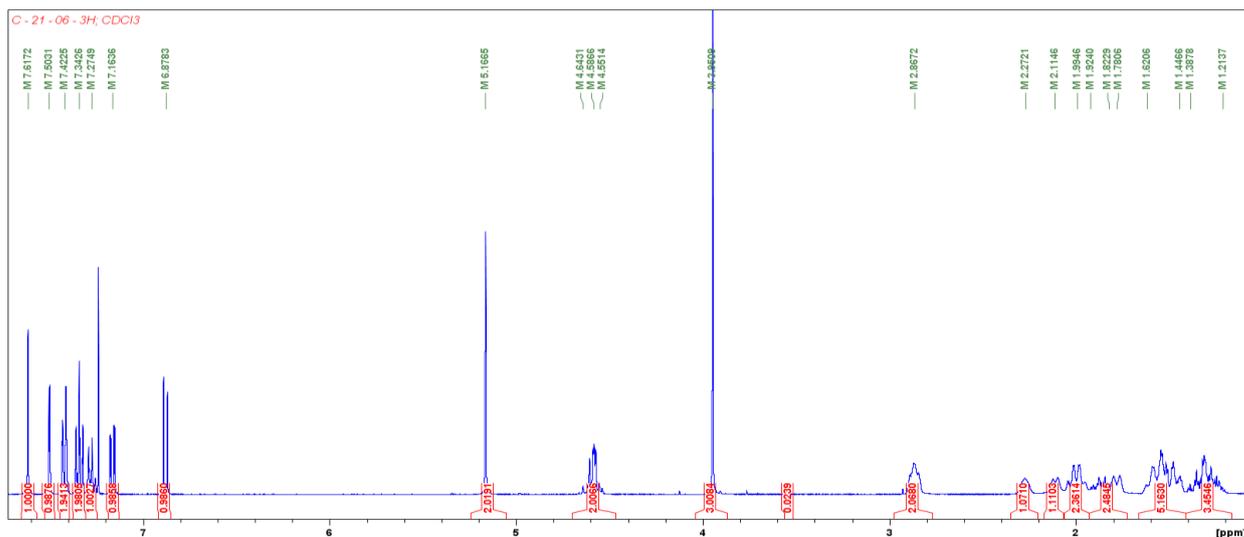


ә) УК-спектрі

Сурет 34 - (1*S*, 9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин қосылысының ИҚ-, УК-спектрі

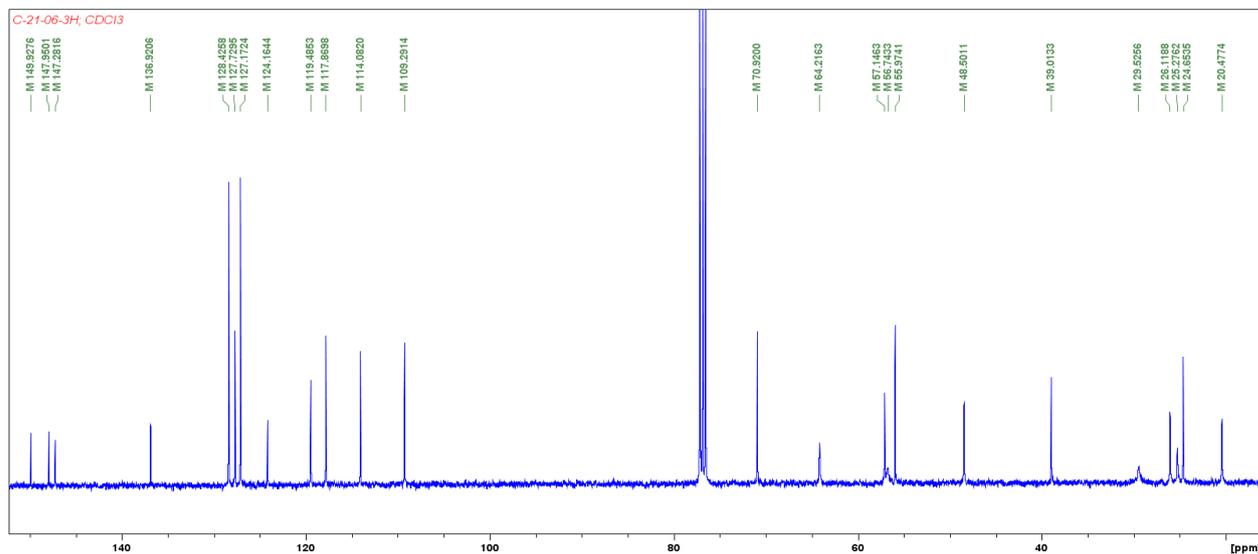
ЯМР ^1H спектрі (500 МГц, CDCl_3), δ , м. д. (J , Гц): 1.18–1.29 (3*H*, м, Н-2*e*- CH_2 экв., 2*a*, 8*a*- CH_2 акс.); 1.38–1.62 (5*H*, м, Н-8*e*, 9*e*- CH_2 экв., 3*a*, 7*a*, 9*a*- CH_2 акс.); 1.78–1.82 (2*H*, м, Н-3*e*, 7*e*- CH_2 экв.); 1.92–1.99 (2*H*, м, Н-4*a*, 6*a*- CH_2 акс.); 2.11 (1*H*, м, Н-9*a*- CH), 2.27 (1*H*, м, 1- CH); 2.80–2.86 (2*H*, м, Н-4*e*, 6*e*- CH_2 экв.); 3.95 (3*H*, с, OCH_3 при С-3'' Ar); 4.55 (1*H*, дд, $J = 13.8$, $J = 5.5$, Н-10); 4.61 (1*H*, дд, $J = 13.8$, $J = 12.1$, Н-10); 5.16 (2*H*, с, OCH_2); 6.86 (1*H*, д, $J = 8.3$, Н-5'' Ar); 7.16 (1*H*, дд, $J = 8.3$, $J = 2.0$, Н-6'' Ar); 7.27–7.34 (1*H*, м, C_6H_5 , Н-*p*); 7.31–7.37 (2*H*, м, C_6H_5 ,

H-*m*); 7.38–7.44 (1H, м, C₆H₅, H-*o*); 7.50 (1H, д, *J* = 2.0, H-2''); 7.62 (1H, с, H-5' ұшазол) (35 сурет).



Сурет 35 - (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-ұшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизиннің ЯМР ¹H спектрі (Lur-43)

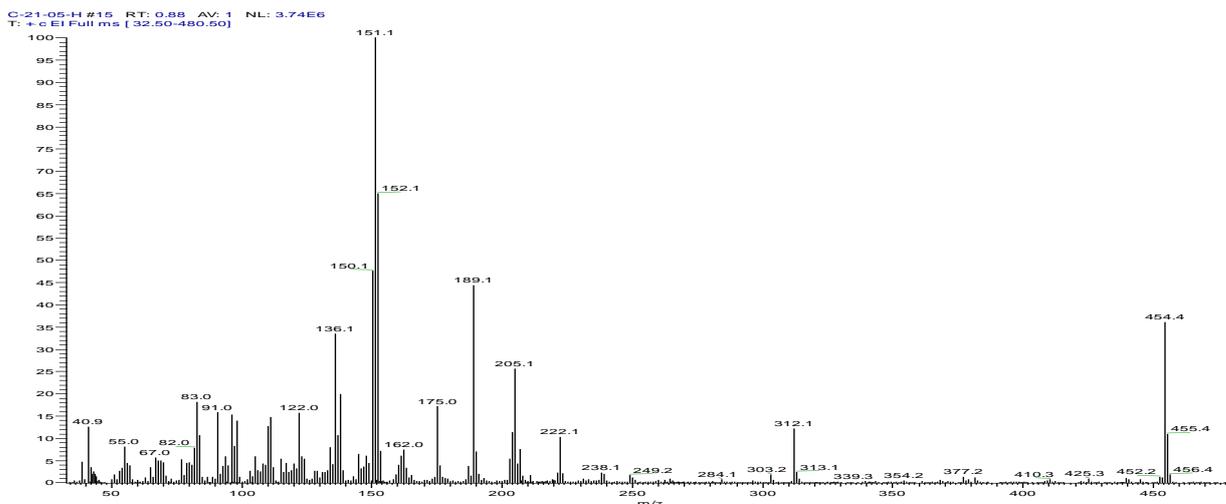
ЯМР ¹³C спектрі (125 МГц, CDCl₃), δ, м. д.: 20.4 (C-3); 24.65 (C-8); 25.27 (C-7); 26.1 (C-2); 29.5 (C-9); 39.1 (C-1); 48.5 (C-10); 55.9 (OCH₃); 56.7; 57.1 (C-4,6); 64.2 (C-9a); 70.9 (OCH₂); 109.3 (C-2''Ar); 114.1 (C-5''Ar); 117.9 (C-6''Ar); 119.5 (C-5' ұшазол); 124.2 (C-1''Ar); 127.2 (C-2''',6'''); 127.7 (C-4'''); 128.4 (C-3''',5'''); 136.9 (C-1'''); 147.3 (C-4'); 147.9 (C-4''); 149.9 (C-3'') (36 сурет).



Сурет 36 - (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-ұшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизиннің ЯМР ¹³C спектрі (Lur-43)

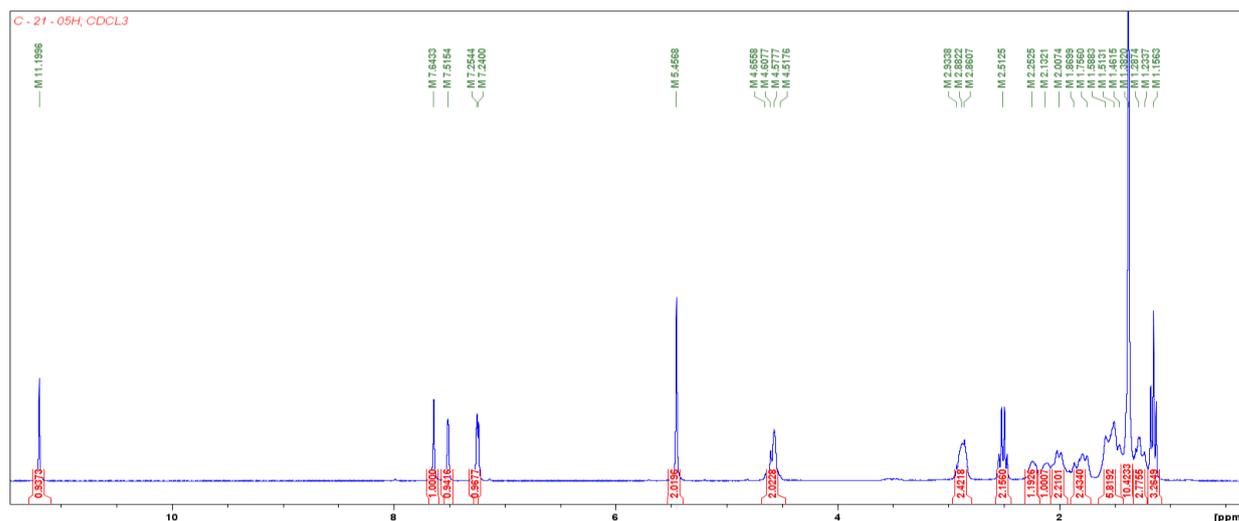
Масс-спектрі, *m/z* (*I*_{отн}, %): 434 [M+H]⁺ (2), 433 (12), 432 (41), 313 (18), 258 (15), 152 (50), 151 (52), 150 (38), 136 (17), 91 (100). Табылғаны, *m/z*: 432.2519 [M]⁺. C₂₆H₃₂N₄O₂. Есептелгені, *m/z*: 432.2520 (37 сурет).

(14), 96 (16), 83 (18), 41 (13). Табылғаны, m/z : 454.2942 $[M]^+$, $C_{26}H_{38}N_4O_3$.
Есептелгені, m/z : 454.2938 (39 сурет).



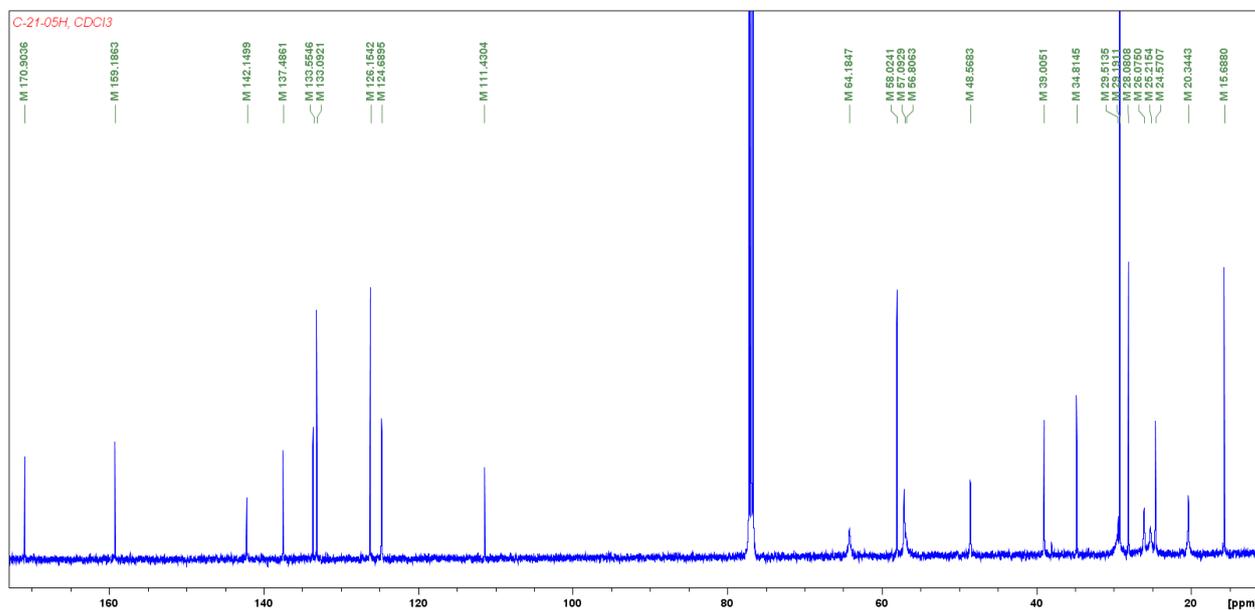
Сурет 39 - {1-[[((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаттың масс-спектрі

ЯМР 1H спектрі, δ , м.д. (J, Гц): 1.16 (3H, т, J=7.4, CH_3); 1.20–1.29 (3H, м, 2- CH_2 экв., 2,8- CH_2 акс.); 1.38 (9H, с, $C(CH_3)_3$); 1.40–1.62 (5H, м, 3,7,9- CH_2 акс., 8,9- CH_2 экв.); 1.74–1.91 (2H, м, 3,7- CH_2 экв.); 1.92–2.08 (2H, м, 4,6- CH_2 акс.); 2.09–2.19 (1H, м, 9*a*-CH); 2.19–2.29 (1H, м, 1-CH); 2.51 (2H, к, J=7.4, CH_2); 2.82–2.91 (2H, м, 4,6- CH_2 экв.); 4.51–4.66 (2H, м, 10- CH_2); 5.46 (2H, с, OCH_2); 7.25 (1H, д, J=1.8, H-4 Ar); 7.52 (1H, д, J=1.8, H-6 Ar); 7.64 (1H, с, H-5 үшазол); 11.20 (1H, с, OH) (39 сурет).



Сурет 40 - {1-[[((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат қосылысының ЯМР 1H спектрі

ЯМР ^{13}C спектрі, δ , м.д.: 15.7 (CH_3); 20.3 (C-3); 24.6 (C-8); 25.2 (C-7); 26.1 (C-2); 28.8 (CH_2); 29.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 29.5 (C-9); 34.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 39.0 (C-1); 48.6 (C-10); 56.8 (C-4(6)); 57.1 (C-6(4)); 58.0 (OCH_2); 64.2 (C-9a); 111.4 (C-1 Ar); 124.7 (C-5 үшазол); 126.2 (C-6 Ar); 133.1 (C-4 Ar); 133.6 (C-5 Ar); 137.5 (C-3 Ar); 142.1 (C-4 үшазол); 159.2 (C-2 Ar); 170.9 (C=C) (41 сурет).



Сурет 41 - {1-[[((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат қосылысының ЯМР ^{13}C спектрі

Осылайша, синтезделген лупининнің жаңа қосылыстардың құрылыстары ИК-, УФ-, ЯМР ^1H -, ^{13}C спектроскопия және масс-спектрометрия әдістері мен дәлелденілді.

4.7 Лупининнің (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил}метил)октагидро-2*H*-хинолизин субстанциясының сапа көрсеткіштерін зерттеу (Lup-43)

Lup-43 субстанциясын стандарттау мақсатында ҚР МФ және «Дәрілік заттарды өндіруші әзірлеген және дәрілік заттарға сараптама кезінде дәрілік заттардың сапасы жөніндегі нормативтік құжатты мемлекеттік сараптама ұйымымен келісу қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрінің 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-20 бұйрығының талаптарына сәйкес АІР-2 субстанциясы бойынша нормативтік құжаттамаға енгізілген сапа көрсеткіштерінің тізбесін қамтитын сапа спецификациясы әзірленді және бекітілді (21-кесте).

Кесте 21 - Lur-43 субстанциясының сапа спецификациясы

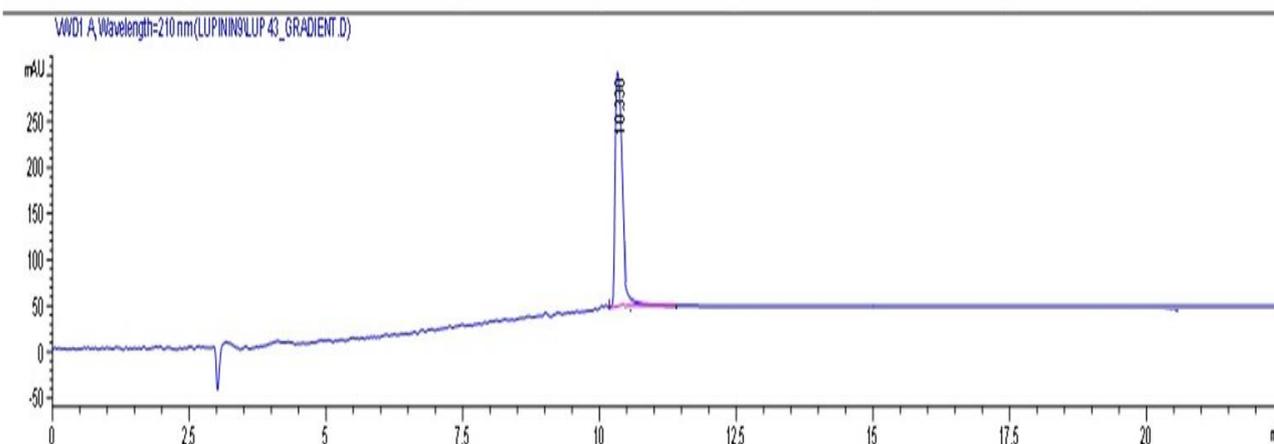
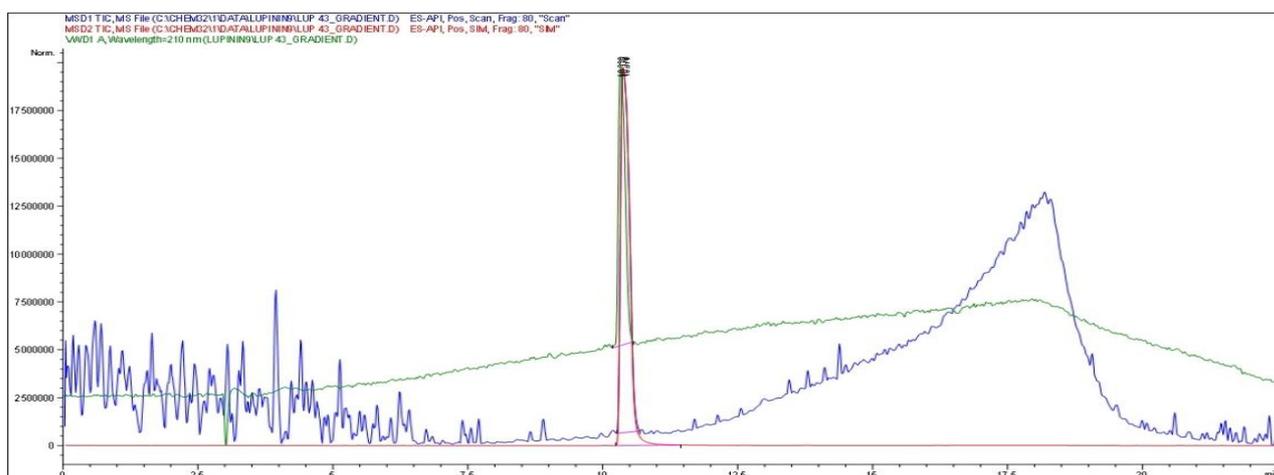
Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу әдістері
1	2	3
Сипаттамасы	Ақшыл-сарғыш түсті ұнтақ, иіссіз	ҚР МФ, т.1, «Субстанциялар» жалпы мақала
Ерігіштігі	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	ҚР МФ, т.1, 1.4
Сәйкестендіру: - Lur-43 субстанциясы	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрінде: 3112 (C=C), 2098 азид тобының созылу тербелістеріне сәйкес келеді (N=N), 2759, 2858 (хинолизидинді сақина), 2802 (NCH ₂ кеңейтілген), 1610 (C=C), 1585 (C=N), 1222, 1232 (C-O), 1132, 1053, 846, 788, 740, 694 см ⁻¹ . УК спектрі: 210±2 нм, 258±2 нм (96% этанол).	Инфрақызыл спектрометрия, ҚР МФ, т.1, 2.2.24 Ультра күлгін спектрофотометрия, ҚР МФ, т. 1, 2.2.25
Балқу температурасы	152 -154 °С.	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14
Айналу бұрышы	$[\alpha]_D^{20}$ - 15.1 (с 1.2, хлф)	ҚР МФ, т. 1, 2.2.7
Ерітіндісінің сапалық көрсеткіштері: мөлдірлігі	Субстанция ерітіндісін сумен салыстырғанда мөлдір болуы тиіс немесе опалесценция дәрежесі I салыстыру суспензиясынан аспауы керек	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1
Түсі	Субстанция ерітіндісінің түсі Y ₁ салыстыру ерітіндісінен интенсивті болмауы тиіс	ҚР МФ, т. 1, 2.2.2
pH	Субстанция ерітіндісінің pH мәні 5,5-6 аралығында болуы тиіс	ҚР МФ т.1, 2.2.3
Бөгде қоспалар	0,5 % артық емес	ЖТСХ, ҚР МФ, т. 1, 2.2.29
Сандық талдау	98,0 % кем емес	НҚ сәйкес
Кептіргендегі масса шығыны	0,5% артық емес. 1 г субстанцияны кептіргіш шкафта 100-105 ⁰ С	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32
Микробиологиялық тазалығы	Субстанция ҚР МФ I, т. 1, 5.1.4, 3В категория талаптарына сәйкес келуі тиіс. Өмір сүруге бейім аэробты микроағзалардың жалпы саны 1 г субстанцияда 10 ² көп емес, 1 г субстанцияда <i>Escherichia coli</i> мен <i>Salmonella</i> болмауы тиіс.	ҚР МФ, т. 1, 2.6.12, 2.6.13
Жалпы күл	1,0 % артық емес	ҚР МФ, т. 1, 2.4.16
Фармакологиялық әсері	Микробқа қарсы, АХЭ әсері бар	НҚ сәйкес
Орамдау	МЕСТ 30288-95 сәйкес винт мойынды сәуле өткізбейтін шыны бөтелкеге субстанцияны салып, 6-09-5311-87 ТЖ сәйкес қақпақпен жабылуы керек. Ыдыстарды сыртынан МЕМСТ 4665-62 сәйкес сәуле өткізбейтін қағазбен орайды. Бөтелкелерге таңбаланған этикеткаларды жабыстырады.	НҚ сәйкес

21 - кестенің жалғасы

1	2	3
Таңбалау	Жапсырмада өндіруші елді, өндіруші кәсіпорынды, оның мекен жайын, субстанция атауын қазақ, орыс және латын тілдерінде, субстанция массасын, серия номерін, өндірілген мерзімін, жарамдылық мерзімін және сақтау жағдайларын көрсетеді. Тасымалдаушы таңбалау ГОСТ 14192-96 сәйкес жүргізіледі.	НҚ сәйкес
Тасымалдау	МЕМСТ 17768-90 сәйкес	МЕМСТ 17768-90
Сақтау	Температура 25 ⁰ С аспауы керек	НҚ сәйкес
Сақтау мерзімі	24 ай	НҚ сәйкес

Сандық анықтау. Мас-детекторымен жабдықталған ЖТСХ әдісімен 2.2 тарауда көрсетілгендей жүргізілді (ҚР МФ, 1. т., 2.2.29).

Субстанциядағы Lur-43 мөлшері кем дегенде 98% екені анықталды (сурет 42).



Сурет 42 - Lur-43 субстанциясының хроматограммасы
 ($\lambda=210$ нм, 10,378 мин), тазалығы 98,32%

Еуразиялық экономикалық комиссия Алқасының 2021 жылғы 7 желтоқсандағы №169 «Өсімдік тектес фармацевтикалық субстанциялар мен өсімдік тектес дәрілік препараттардың тұрақтылығын зерттеуге қойылатын талаптарды бекіту туралы» шешіміне, сондай-ақ 2022 жылғы 4 қазандағы №137 «Дәрілік заттың сапасына арналған нормативтік құжатты әзірлеу жөніндегі нұсқаулықты бекіту туралы» шешіміне сәйкес Lur-43 қосылысының сақтау мерзімін анықтау мақсатында зерттеулер жүргізілді.

Сапа спецификациясына сай синтез арқылы алынған үш серия ұзақ мерзімді, нақты уақыт режимінде $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ температурада және $60\pm 5\%$ салыстырмалы ылғалдылық жағдайында зерттелді. Зерттеу барысында бірінші жылы сынақтар әр үш ай сайын, екінші жылы әр алты ай сайын жүргізіліп, жалпы зерттеу ұзақтығы екі жылды құрады. Одан кейінгі кезеңде бақылау жылына бір рет жүзеге асырылды.

Субстанцияның физика-химиялық, биологиялық және микробиологиялық көрсеткіштері бойынша алынған нәтижелер оның тұрақтылық спецификациясын қалыптастыруға негіз болды. Аталған сипаттамалар 22-кестеде келтірілген. Зерттеу барысында келесі сапа көрсеткіштері бағаланды: белсенді фармацевтикалық ингредиенттің сипаттамасы, сәйкестендіру, ерігіштік қасиеті, балқу температурасы, ерітінді рН-ының мәні, кептіру кезіндегі масса жоғалту, жалпы күл мөлшері, микробиологиялық тазалығы және сандық құрамы.

Зерттеу барысында сақтау кезеңдерінің барлық нүктелерінде (0, 3, 6, 9, 12, 18 және 24 ай) бастапқы қаптамада сақталған субстанция үлгілерінде белгіленген шарттарда құрамының тұрақты екендігі және сапа көрсеткіштері бойынша айтарлықтай өзгерістердің болмағаны анықталды. Бақыланған сапалық және сандық параметрлердің мәндері сапа спецификациясында және дәрілік заттың сапасын бақылау жөніндегі нормативтік құжаттарда белгіленген рұқсат етілген шектерден аспады. Қолданылған қаптама материалы субстанцияны сыртқы ортаның әсерлерінен тиімді қорғауды қамтамасыз ететіні дәлелденді. Алынған тұрақтылық зерттеулерінің нәтижелері зат құрамының ұтымды таңдалғанын, синтез технологиясының оңтайлылығын және сақтау шарттарының дұрыстығын растайды.

Lur-43 фармацевтикалық субстанциясының тұрақтылығын бағалау Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі мен Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясының қолданыстағы нормативтік талаптарына сәйкес жүргізілді. Сынақтар бойынша зерттеу нәтижелері 22, 23, 24 кестелерде берілген (Қосымша М).

Кесте 22 - Lur-43 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері
 Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай Серия 010222							
			1	3	6	9	12	18	24	
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақшыл-сарғыш түсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3417 (ОН), 3122 (C=C), 2098 (N=N), 2760, 2860 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1436 (-CH ₂ -), 1672 (C=O), 1558 (C=N), 1201 (C-O), 1122, 1051, 890, 800, 752, 727, 698 см ⁻¹ . УК спектрі: 210±2 нм, 258±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	152-154 ⁰ С	151-153	152-153	152-154	152-154	152-153	152-153	152-153	152-154
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 5,5-6 аралығында болуы тиіс	5,7	5,6	5,5	5,8	5,6	5,7	5,7	5,5
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,41	0,39	0,35	0,38	0,38	0,37	0,37	0,4
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,3	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,14	98,32	98,26	98,47	98,33	98,18	98,18	98,21

Кесте 23 - Lip-43 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері
 Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай. Серия 020222							
			1	3	6	9	12	18	24	
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақшыл-сарғыш түсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3417 (ОН), 3122 (C=C), 2098 (N=N), 2760, 2860 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1436 (-CH ₂ -), 1672 (C=O), 1558 (C=N), 1201 (C-O), 1122, 1051, 890, 800, 752, 727, 698 см ⁻¹ . УК спектрі: 210±2 нм, 258±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	152-154 ⁰ С	152-153	151-152	152-153	152-154	152-153	151-153	153-154	
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 5,5-6 аралығында болуы тиіс	5,8	5,7	5,6	5,7	5,6	5,9	5,6	
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,38	0,36	0,41	0,4	0,39	0,39	0,38	
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,21	98,29	98,46	98,41	98,29	98,37	98,26	

Кесте 24 - Lip-43 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері
 Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай. Серия 030222							
			1	3	6	9	12	18	24	
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақшыл-сарғыш түсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3417 (ОН), 3122 (C=C), 2098 (N=N), 2760, 2860 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1436 (-CH ₂ -), 1672 (C=O), 1558 (C=N), 1201 (C-O), 1122, 1051, 890, 800, 752, 727, 698 см ⁻¹ . УК спектрі: 210±2 нм, 258±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	152-154 ⁰ С	151-152	152-154	152-154	151-153	153-154	152-153	151-153	151-153
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 5,5-6 аралығында болуы тиіс	5,5	5,8	5,9	5,6	5,6	5,3	5,8	5,8
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,41	0,38	0,35	0,38	0,34	0,4	0,39	0,39
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	0,2	0,2
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,12	98,31	98,56	98,68	98,51	98,26	98,41	98,41

4.8 Лупининнің {1-[[((1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-ил)метил]-1H-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаттың (Lup-41) сапа көрсеткіштерін зерттеу

Lup-41 субстанциясын сапасын реттейтін нормативтік құжат қажет болғандықтан, ҚР МФ талаптарына сәйкес 3 партияның талдау нәтижелері негізінде нормативтік құжаттың жобасы әзірленді (25-кесте).

Кесте 25 - Lup-41 субстанциясының сапа спецификациясы

Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу әдісі
1	3	2
Сипаттамасы	Ақ түсті ұнтақ, иіссіз	ҚР МФ, т.1, «Субстанциялар» жалпы мақала
Ерігіштігі	96% этанолда, диметилформаидте, хлороформда жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	ҚР МФ, т. 1, 1.4
Сәйкестендіру: - Lup-41 субстанциясы	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрінде: 3417 (ОН), 3122 (C=C), 2098 (N=N), 2759, 2875 (хинолизинді сақина), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1436 (-CH ₂ -), 1672 (C=O), 1558 (C=N), 1201 (C-O), 1122, 1051, 890, 800, 752, 727, 698 ⁻¹ . УК спектрі: 214±2, 247±2 және 322±2 нм (96% этанол).	Инфрақызыл спектрометрия, ҚР МФ, т.1, 2.2.24 Ультра күлгін спектрофотометрия ҚР МФ, т. 1, 2.2.25
Балқу температурасы	89 - 91 ⁰ С.	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14
Айналу бұрышы	$[\alpha]_D^{25} -11.9^\circ$ (с 1.3, хлр).	ҚР МФ, т. 1, 2.2.7
Ерітіндісінің сапалық көрсеткіштері: мөлдірлігі	Субстанция ерітіндісін сумен салыстырғанда мөлдір болуы тиіс немесе опалесценция дәрежесі I салыстыру суспензиясынан аспауы керек	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1
Түсі	Субстанция ерітіндісінің түсі Y ₁ салыстыру ерітіндісінен интенсивті болмауы тиіс	ҚР МФ, т. 1, 2.2.2
рН	Субстанция ерітіндісінің рН мәні 6,5-7 аралығында болуы тиіс	ҚР МФ т.1, 2.2.3
Бөгде қоспалар	0,5 % артық емес	ЖТСХ, ҚР МФ, т. 1, 2.2.29
Сандық талдау	98,0 % кем емес	НҚ сәйкес
Кептіргендегі масса шығыны	0,5% артық емес. 1 г субстанцияны кептіргіш шкафта 100-105 ⁰ С	ҚР МФ, 1 т, 2.2.32
Микробиологиялық тазалығы	Субстанция ҚР МФ, т. 1, 5.1.4, 3В категория талаптарына сәйкес келуі тиіс. Өмір сүруге бейім аэробты микроағзалардың жалпы саны 1 г субстанцияда 10 ² көп емес, 1 г субстанцияда <i>Escherichia coli</i> мен <i>Salmonella</i> болмауы тиіс.	ҚР МФ, т. 1, 2.6.12, 2.6.13

25-кестенің жалғасы

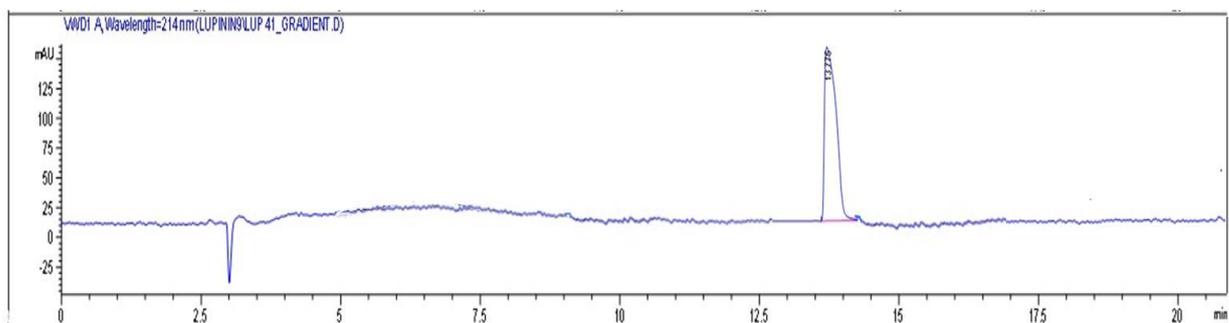
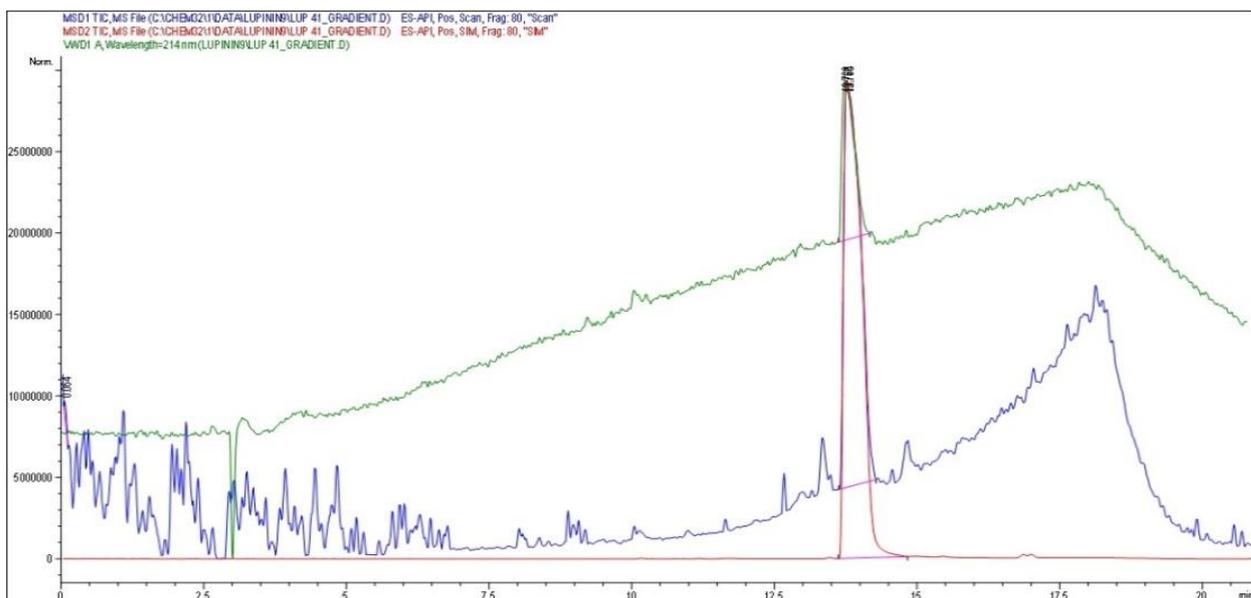
1	2	3
Жалпы күл	1,0 % артық емес	ҚР МФ, т. 1, 2.4.16
Фармакологиялық әсері	Вирусқа қарсы	НҚ сәйкес
Орамдау	МЕСТ 30288-95 сәйкес винт мойынды сәуле өткізбейтін шыны бөтелкеге субстанцияны салып, 6-09-5311-87 ТЖ сәйкес қақпақпен жабылуы керек. Ыдыстарды сыртынан МЕМСТ 4665-62 сәйкес сәуле өткізбейтін қағазбен орайды. Бөтелкелерге таңбаланған этикеткаларды жабыстырады.	НҚ сәйкес
Таңбалау	Жапсырмада өндіруші елді, өндіруші кәсіпорынды, оның мекен жайын, субстанция атауын қазақ, орыс және латын тілдерінде, субстанция массасын, серия номерін, өндірілген мерзімін, жарамдылық мерзімін және сақтау жағдайларын көрсетеді. Тасымалдаушы таңбалау ГОСТ 14192-96 сәйкес жүргізіледі.	НҚ сәйкес
Тасымалдау	МЕМСТ 17768-90 сәйкес	МЕМСТ 17768-90
Сақтау	Температура 25 ⁰ С аспауы керек	НҚ сәйкес
Сақтау мерзімі	24 ай	НҚ сәйкес

Сандық анықтау. Мас-детекторымен жабдықталған ЖТСХ әдісімен жүргізіледі (ҚР МФ, 1. т., 2.2.29). Субстанциядағы Lur-41 мөлшері кем дегенде 98% екені анықталды (43-суретте).

Сақтау кезіндегі Lur-41 субстанциясы үшін негізгі сапа параметрлері: сипаттамасы, ерігіштігі, идентификациясы, балқу температурасы, ілеспе қоспалар және Lur-41 сандық құрамы болды. Субстанцияның сапасын бақылау мерзімі тоқсан сайын бақылаумен 27 айды құрады.

Сапа спецификациясына сай синтез арқылы алынған үш серия ұзақ мерзімді, нақты уақыт режимінде 25±2 °С температурада және 60±5 % салыстырмалы ылғалдылық жағдайында зерттелді. Зерттеу барысында бірінші жылы сынақтар әр үш ай сайын, екінші жылы әр алты ай сайын жүргізіліп, жалпы зерттеу ұзақтығы екі жылды құрады. Одан кейінгі кезеңде бақылау жылына бір рет жүзеге асырылды.

Lur-41 фармацевтикалық субстанциясының тұрақтылығын бағалау Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі мен Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясының қолданыстағы нормативтік талаптарына сәйкес жүргізілді. Сынақтар бойынша зерттеу нәтижелері 26, 27, 28 кестелерде берілген.



Сурет 43 - Lur-41 субстанциясының хроматограммасы
 ($\lambda=214$ нм, 13,775 мин), тазалығы 98,27%

Осылайша, Lur-41 субстанциясының ҚР нормативтік құжаттың жобасы жасалды және стандартталды (Қосымша М).

Кесте 26 - Lur-41 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері

Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай. Серия 040222						
			1	3	6	9	12	18	24
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақтүсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформаидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3112 (C=C), 2098 ((азид тобының созылу тербелістеріне сәйкес келеді N=N), 2759, 2858 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1610 (C=C), 1585 (C=N), 1222, 1232 (C-O), 1132, 1053, 846, 788, 740, 694 ⁻¹ . УК спектрі: 214±2, 247±2 және 322±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	89 - 91 ⁰ С.	89 - 91	89 - 90	89 - 90	90 - 91	89 - 91	89 - 90	89 - 91
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 6,5-7 аралығында болуы тиіс	6,5	6,8	6,9	6,6	6,6	6,3	6,8
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,31	0,38	0,34	0,39	0,41	0,35	0,38
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,1	0,4	0,3	0,3	0,1	0,2	0,2
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,41	98,37	98,24	98,14	98,22	98,46	98,45

Кесте 27 - Lip-41 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері

Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай. Серия 050222							
			1	3	6	9	12	18	24	
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақтүсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3112 (C=C), 2098 ((азид тобының созылу тербелістеріне сәйкес келеді N=N), 2759, 2858 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1610 (C=C), 1585 (C=N), 1222, 1232 (C-O), 1132, 1053, 846, 788, 740, 694 ⁻¹ . УК спектрі: 214±2, 247±2 және 322±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	89 - 91 ⁰ С.	89 - 90	89 - 91	90 - 91	90 - 91	89 - 90	89 - 90	89 - 90	89 - 91
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 6,5-7 аралығында болуы тиіс	6,6	6,8	6,7	6,5	6,6	6,4	6,5	6,5
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,21	0,42	0,38	0,33	0,29	0,31	0,4	0,4
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,2	0,2	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,28	98,21	98,43	98,52	98,48	98,22	98,51	98,51

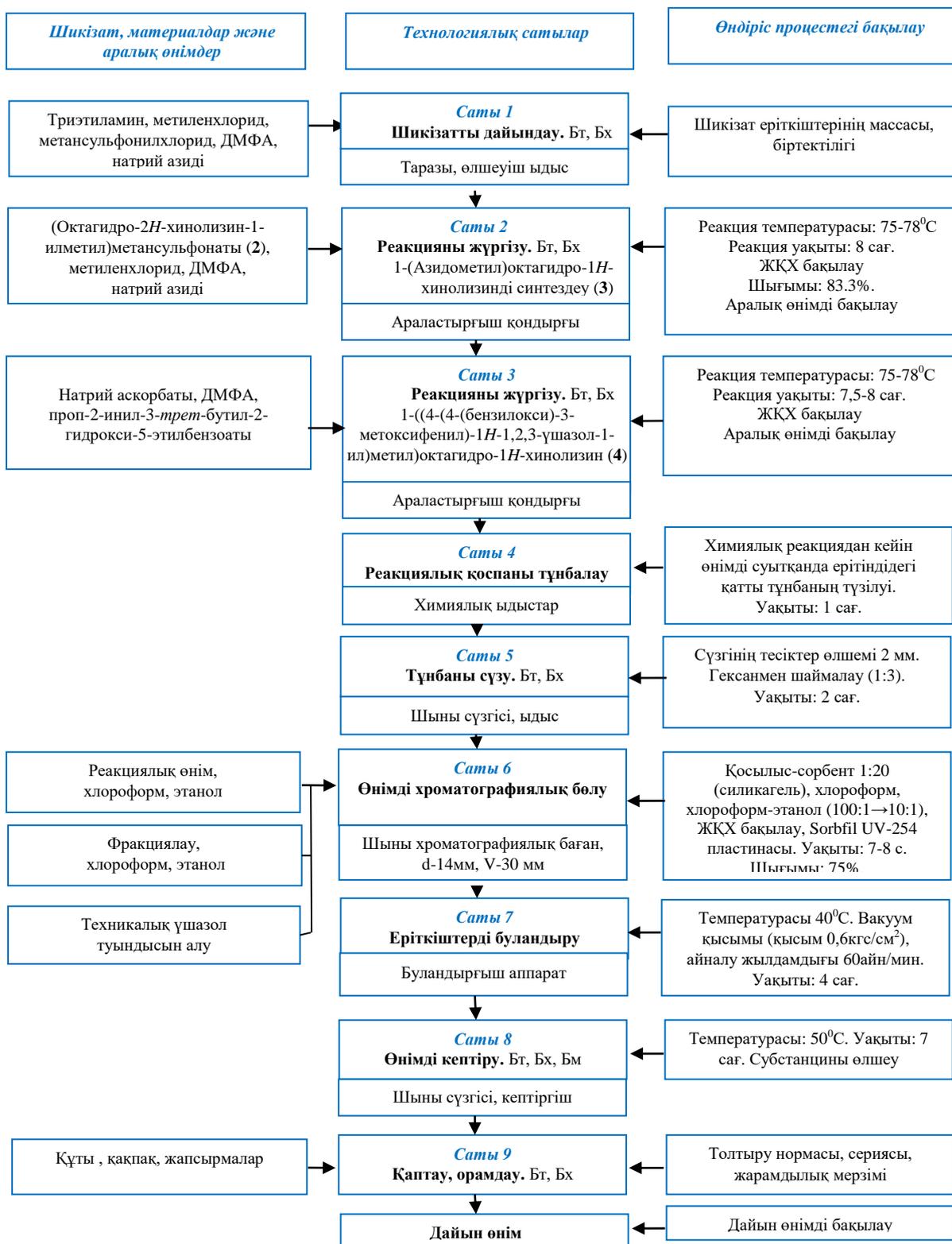
Кесте 28 - Lip-41 субстанциясының ұзақ мерзімді сынау режиміндегі зерттеу нәтижелері

Сынақ кезеңі: 02.02.22 ж. - 02.02.24 ж., T=25±2 °C, RH=60±5 %

Көрсеткіштері	Зерттеу әдістері	Сапа көрсеткіші: ауытқу нормалары	Бақылау кезеңдері, ай. Серия 060222						
			1	3	6	9	12	18	24
Сипаттамасы	Органолептикалық	Ақтүсті ұнтақ, иіссіз	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Ерігіштігі	ҚР МФ, т. 1, 1.4	96 % этанолда, хлороформда, диметилформамидте жақсы ериді, суда іс жүзінде ерімейді	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Сәйкестендіру:	ҚР МФ, т. 1, 2.2.24 ҚР МФ, т. 1, 2.2.25	Субстанцияның калий бромиды таблеткасында түсірілген ИҚ спектрнде: 3112 (C=C), 2098 ((азид тобының созылу тербелістеріне сәйкес келеді N=N), 2759, 2858 (хинолизидин сақинасы), 2800 (NCH ₂ кеңейтілген), 1610 (C=C), 1585 (C=N), 1222, 1232 (C-O), 1132, 1053, 846, 788, 740, 694 ⁻¹ . УК спектрі: 214±2, 247±2 және 322±2 нм (96% этанол).	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
Балқу температурасы	ҚР МФ, т. 1, 2.2.14	89 - 91 ⁰ С.	89 - 90	89 - 90	90 - 91	90 - 91	89 - 91	89 - 90	89 - 90
Мөлдірлігі	ҚР МФ, т. 1, 2.2.1	Субстанция ерітіндісі мөлдір болуы тиіс	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес	сәйкес
pH	ҚР МФ, т. 1, 2.2.3	pH мәні 6,5-7 аралығында болуы тиіс	6,4	6,5	6,8	6,9	6,8	6,4	6,7
Кептіргендегі масса шығыны	ҚР МФ, т. 1, 2.2.32	0,5 % аспауы қажет	0,29	0,31	0,41	0,37	0,42	0,29	0,37
Бөгде қоспалар	ҚР МФ, т. 1, 2.2.29	0,5 % аспауы қажет	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4	0,5	0,2
Сандық анықтау	НҚ сәйкес	98,0% кем емес	98,25	98,34	98,46	98,18	98,56	98,41	98,21

4.9 (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил}метил)октагидро-2*H*-хинолизин субстанциясын алудың технологиялық сызбанұсқасын жасау

Лур-43 (16) субстанциясын өндірудің технологиялық схемасы 44-суретте көрсетілген.



Сурет 44 - Лур-43 субстанциясын өндірудің технологиялық сызбанұсқасы

Өнім атауы. (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (16) субстанциясы .

Өнімнің негізгі мақсаты - АСhЕ тежеу белсенділігі бар дәрілік зат өндіру. Lup-43 субстанциясын алудың бастапқы шикізаты - тазалығы кемінде 98% болатын лупинин. 44-суретте Lup-43 қосылыстың алудың технологиялық сызбанұсқасы көрсетілген.

Процесс ағыны [136]

1-саты. Бастапқы субстанция мен реагенттерді өлшеу.

(Октагидро-2*H*-хинолизин-1-илметил)метансульфонатты (14) өлшеу.

6,0 г (Октагидро-2*H*-хинолизин-1-илметил)метансульфонатты (2), 4,93 г натрий азидін өлшеп 2-сатыға жібереміз.

Еріткішті дайындау.

Градуцирленген цилиндрге 100 мл ДМФА және 50 мл CH₂Cl₂ құйып, 2-сатыға жібереміз.

2 саты. 1-(Азидометил)октагидро-1*H*-хинолизиннің синтезі.

(14) қосылыстың (6,0 г, 24,25 ммоль) және 4,93 г (75,92 ммоль) натрий азидінің ДМФА (100 мл) қоспасы 75°C температурада 8 сағат бойы араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды). Реакция қоспасы еріткіштің буландырғышта булануы үшін Петри табақшасына құйылды. Қалдық CH₂Cl₂-де ерітілді, натрий хлоридінің қаныққан ерітіндісімен жуылды, сусыз MgSO₄ кептірілді, кептіргіш агент сүзгіден өткізілді, еріткіш вакуумда дистилденді және қосылыс флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ-этанол, 50:1). Шығымы 5,0 г (83,3%). Ашық сары, майлы жылжымалы сұйық зат. [α]_D²⁰ -29,85 (с 2.4, CHCl₃).

3 саты. Лупининнің (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (Lup-43) (16) туындысын синтездеу.

100 мл ДМФА еріткішінде 4,0 г (20,65 ммоль) лупининнің азиді (15) ерітіліп, функционалды орынбасылған ароматты ацетилен 4-бензилокси-3-метоксифенилацетилен 0,257 г (1,03 ммоль), мыс купоросы (CuSO₄×5H₂O) 0,204 г (1,03 ммоль) және натрийдің аскорбаты 0.026 г (0.135 ммоль) қосылып 75°C температурада қыздыру жағдайында 7-8 сағат араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды).

4 саты. Реакция қоспасының тұнбаға түсуі.

Реакция қоспасы салқындатылып, нәтижесінде ашық сары тұнба пайда болады.

5 саты. Тұнбаны сүзу.

Салқындату кезінде пайда болған тұнба сүзіледі, гексанмен екі рет жуылады (1:3) және кептіріледі, нәтижесінде Lup-43 заты (16) түзіледі. Нәтижесінде алынған лупининнің техникалық үшазол туындысы 6-сатыға жіберілді.

6 саты. Силикагель сорбетінде хроматографиялық бөлу.

Түзілген Lup-43 (16) субстанциясын препаративті таза алу мақсатында флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: трихлорметан, трихлорметан: этил спирті, 100:1→10:1). Шығымы 3,0 г (75%).

7 саты. Еріткіштің булануы.

Бағаналы хроматографиясынан фракциялары айналмалы буландырғышта буланады. Бұл 152-153°C температурасы бар 3,0 г (75%) ақ ұнтақты береді және 8 сатыға беріледі.

8 саты. Өнімді кептіру.

Бірінші кезеңде Lup-43 (16) субстанциясын сүзгі қағазында кептіріледі. Екінші кезеңде ол вакуумдық пеште тұрақты салмаққа жеткенше (температура 50°C) кептіріледі. Lup-43 лупининінің ұшазол туындысы ақ, иіссіз ұнтақ болуы керек. Lup-43 лупининінің ұшазол туындысын стандарттау нормативтік құжаттарға сәйкес жүзеге асырылады.

Лупининнің Lup-43 (16) ұшазол туындысы таразыда 10 г мөлшерінде өлшенеді және қаптамалау, таңбалау және жөнелтудің 9-кезеңіне ауыстырылады

9 саты. Lup-43 (16) субстанциясын қаптамалау және таңбалау.

Таңбалау

Жапсырмаларда өндірушінің атауы, мекенжайы, елі, сауда белгісі, дәрілік заттың ұлттық, орыс және ағылшын тілдеріндегі атауы, дәрілік заттың салмағы, сақтау шарттары, тіркеу нөмірі, партия нөмірі және жарамдылық мерзімі көрсетілген. Қаптамалар қоймаға беріледі.

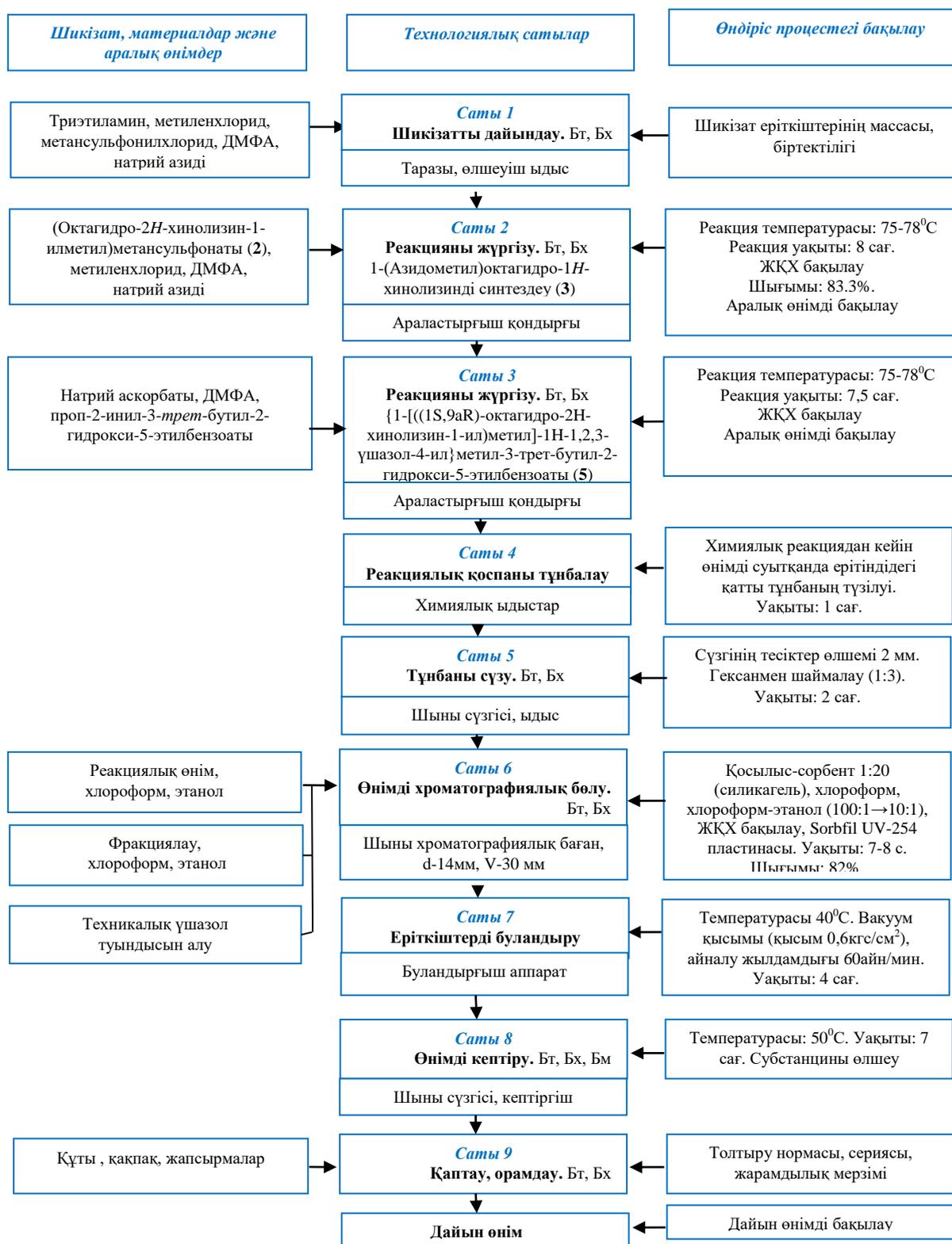
Осылайша, лупининнің (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-ұшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (16) (Lup-43) туындысын өндіруге арналған зертханалық регламенті жасалып, бекітілді (Қосымша Н).

4.10 {1-(((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил)-1*H*-1,2,3-ұшазол-4-ил} метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат субстанциясын алудың технологиялық сызбанұсқасын жасау

{1-(((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил)-1*H*-1,2,3-ұшазол-4-ил} метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (17) (Lup-41) субстанциясын өндірудің технологиялық схемасы 44-суретте, аппаратуралық сызбанұсқасы 45-суретте көрсетілген.

Өнім атауы. Лупининнің {1-(((1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил)-1*H*-1,2,3-ұшазол-4-ил} метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (5) субстанциясы

Субстанцияның негізгі мақсаты - вирусқа қарсы және микробқа қарсы белсенділігі бар препаратты өндіру. Lup-41 үшін бастапқы субстанция - тазалығы кемінде 98% болатын лупинин. 45-суретте Lup-41 субстанциясын өндірудің технологиялық сызбанұсқасы көрсетілген.



Сурет 45 - Lur-41 субстанциясын өндірудің технологиялық сызбанұсқасы

Процесс ағыны

1-саты. Бастапқы субстанция мен реагенттерді өлшеу

(Октагидро-2*H*-хинолизин-1-илметил)метансульфонатты (14) өлшеу.

6,0 г (Октагидро-2*H*-хинолизин-1-илметил)метансульфонатты (14), 4,93 г натрий азидін өлшеп 2-сатыға жібереміз.

Еріткішті дайындау

Градуцирленген цилиндрге 100 мл ДМФА және 50 мл CH_2Cl_2 қосып, 2-сатыға жібереміз.

2 саты. 1-(Азидометил)октагидро-1*H*-хинолизиннің синтезі

(2) қосылыстың (6,0 г, 24,25 ммоль) және 4,93 г (75,92 ммоль) натрий азидінің ДМФА (100 мл) қоспасы 75°C температурада 8 сағат бойы араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды). Реакция қоспасы еріткіштің буландырғышта булануы үшін Петри ыдысына құйылды. Қалдық CH_2Cl_2 -де ерітілді, натрий хлоридінің қаныққан ерітіндісімен жуылды, сусыз MgSO_4 кептірілді, кептіргіш агент сүзгіден өткізілді, еріткіш вакуумда дистилденді және қосылыс флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ-этанол, 50:1). Шығымы 5,0 г (83,3%). Ашық сары, майлы жылжымалы сұйық зат. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -29,85$ (с 2.4, CHCl_3).

3 саты. Лупининнің {1-[[*(1S,9aR)*-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (17) субстанциясы синтездеу (Lup-41)

45 мл ДМФА еріткішінде 3,0 г (15,80 ммоль) лупининнің азиді (15) ерітіліп, функционалды орынбасылған ароматты ацетилен проп-2-инил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат, 0,193 г (0,774 ммоль), мыс купоросы ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) 0,153 г (0,774 ммоль) және натрийдің аскорбаты 0,018 г (0,126 ммоль) қосылып 75°C температурада қыздыру жағдайында 7-8 сағат араластырылды (реакция жүру барысы ЖҚХ әдісімен бақыланды). Салқындату жағдайында түзілген тұнба сүзіліп алынды, содан кейін гексан еріткішімен жуылып, кептіріліп, (17) үшазолы алынды. Түзілген (17) үшазол препаративті таза алу мақсатында флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ, хлороформ: этил спирті, 100:1→10:1). Шығымы 2,46 г (82%). Ақ ұнтақты зат, балқу т. $89-91^\circ\text{C}$. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -11,9^\circ$ (с 1.3, CHCl_3).

4 саты. Реакция қоспасының тұнбаға түсуі

Реакция қоспасы салқындатылып, нәтижесінде ашық сары тұнба пайда болады.

5 саты. Тұнбаны сүзу

Салқындату кезінде пайда болған тұнба сүзіледі, гексанмен екі рет жуылады (1:3) және кептіріледі, нәтижесінде Lup-41 заты (17) түзіледі. Нәтижесінде алынған лупининнің техникалық үшазол туындысы 6-қадамға ауыстырылады.

6 саты. Силикагель сорбетінде хроматографиялық бөлу

Түзілген Lup-41 (17) субстанциясын препаративті таза алу мақсатында флеш бағанасында силикагель сорбентімен хроматографияланды (элюент: хлороформ, хлороформ: этил спирті, 100:1→10:1).

7 саты. Еріткіштің булануы

Бағаналы хроматографиясынан фракциялары айналмалы буландырғышта буланады. Бұл 89-92°C температурасы бар 2,46 г (82%) ақ ұнтақты береді және 8 сатыға жіберіледі.

8 саты. Өнімді кептіру

Бірінші кезеңде Lur-41 (17) субстанциясын сүзгі қағазында кептіріледі. Екінші кезеңде ол вакуумдық пеште тұрақты салмаққа жеткенше (температура 50°C) кептіріледі. Lur-41 лупининінің ұшазол туындысы ақ, иіссіз ұнтақ болуы керек. Lur-41 лупининінің ұшазол туындысын стандарттау нормативтік құжаттарға сәйкес жүзеге асырылады.

Лупининнің Lur-41 (17) ұшазол туындысы таразыда 10 г мөлшерінде өлшенеді және қаптамалау, таңбалау және жөнелтудің 9-кезеңіне ауыстырылады

9 саты. Lur-41 (17) субстанциясын қаптамалау және таңбалау.

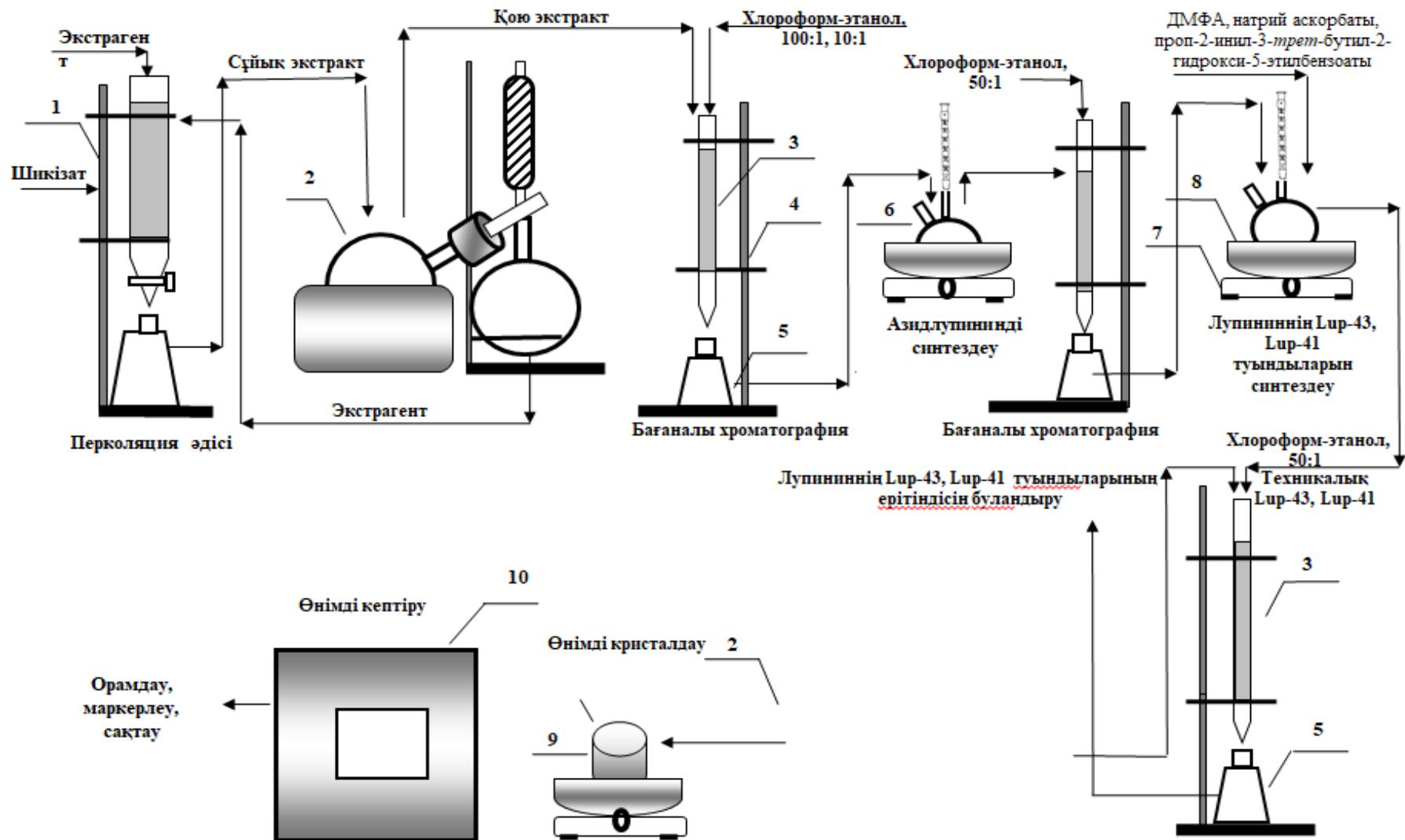
Таңбалау

Жапсырмаларда өндірушінің атауы, мекенжайы, елі, сауда белгісі, дәрілік заттың ұлттық, орыс және ағылшын тілдеріндегі атауы, дәрілік заттың салмағы, сақтау шарттары, тіркеу нөмірі, партия нөмірі және жарамдылық мерзімі көрсетілген. Қаптамалар қоймаға беріледі.

Lur-43 және Lur-41 субстанцияларын өндіруге арналған аппаратуралық сызбанұсқасы 46-суретте көрсетілген. 29-кестеде пайдаланылған жабдықтың тізімі берілген.

Кесте 29 - Құрал-жабдықтар тізімі

Белгілеулер	Атауы	Саны
-	Таразы	1
1	Өсімдік шикізатынан ББЗ бөліп алуға арналған қондырғы	1
-	Конус тәрізді колба	4
2	Буландырғыш ротор RV 05 basic	1
3	Бағаналы хроматография	3
-	Цилиндр	2
4	Лабораториялық штатиф	5
5	Фракцияларды жинауға арналған қабылдағыш	2
-	Дөңгелек түбі бар ыстыққа төзімді колба	2
6	Дөңгелек түбі бар, екі мойынды, ыстыққа төзімді колба	2
-	Дефлегматор	2
-	Термометр	2
7	Магнитті араластырғыш құрылғысы	2
8	Су моншасы	2
-	Шыны құттама	2
-	Бөлгіш воронка	2
-	Конус тәрізді воронка	2
9	Химиялық стакан	4
-	Шыны таяқша	2
-	Шлифі бар дөңгелек түбі бар колба	3
10	Кептіргіш шкаф	1



Сурет 46 - Lup-43 және Lup-41 субстанциясын алудың аппаратуралық сызбанұсқасы

Қазақстан Республикасында вирусқа қарсы белсенділігі бар субстанция жасау және дәрілік заттардың түрлерін кеңейту мақсатында {1-[[((1S,9aR)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат субстанциясын өндіруге арналған зертханалық регламенті әзірленіп, бекітілді, сондай-ақ мақаласы жарияланды [137] (Қосымша Н, П).

Төртінші бөлім бойынша тұжырым

1. Орталық Қазақстанда өсетін *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шөбінен экстракциялық заттардың жалпы мөлшерін алу үшін алғаш рет перколяция және мацерация әдісі қолданылды. Алғаш рет *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстракттарының химиялық құрамы ЖТСХ және ЖТСХ-MS/MS көмегімен зерттеліп, барлығы 26 қосылыс анықталып, сандық анықталды. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатының жер үсті бөліктерін зерттеу нәтижесінде перколяция арқылы алынған AS-70P және AS-90P экстракттарындағы лупининнің сандық мөлшері басым екені және 0,0176 мен 0,0098% аралығында ауытқып тұратыны анықталды. Жер асты бөлігінде мацерация әдісімен алынған ASK-90 және AS-КН экстракттарындағы алкалоид лупининнің мөлшері 0,006-0,0018% аралығында болады. Сілтілі жер үсті бөлігінен алынған AC-90tP экстрактындағы лупининнің мөлшері 0,0079% құрайды.

2. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактынан лупининді бөліп алудың ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын қолдану арқылы жаңа әдісі жасалды, бұл тиісті сападағы өнімнің қажетті мөлшерін тұрақты өндіруді қамтамасыз етеді.

3. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сапа сипаттамасы жасалды және стандарттау жүргізілді, сондай-ақ нормативтік құжаттың жобасы әзірленді. Тұрақтылықты зерттеу нәтижелері бойынша *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens қою экстрактының сақтау мерзімі 2 жыл болып белгіленді.

4. Потенциалды биоактивті 1,2,3-үшазол туындысын алу үшін С-10 жағдайда орналасқан лупинин алкалоидты құрылымын өзгертудің оңтайлы жағдайлары жасалды және тиісті Lup-43 және Lup-41 туындыларын жоғары өнімділікпен синтезделуге мүмкіндік берді. Лупинин субстанциясына негізделген 1,2,3-үшазол туындысын алудың технологиялық және аппаратуралық сызбанұсқасы жасалды, сондай-ақ Lup-43 және Lup-41 заттарын өндіруге арналған нормативтік құжаттар мен зертханалық регламенттер жасалды.

5. ҚМУ фармация Мектебінде *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens шикізатынан қою экстрактын, Lup-43 және Lup-41 субстанцияларын алу технологиясы сынақтан өткізіліп, енгізілді, сондай-ақ пилоттық партияларды өндіру ұйымдастырылды.

5 ЭКСТРАКТЫЛАРДЫҢ, ЛУПИНИН АЛКАЛОИДЫНЫҢ ЖӘНЕ ОНЫҢ ТУЫНДЫЛАРЫНЫҢ ФАРМАКОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ

5.1 *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстракттарының микробқа қарсы белсенділігін агар диффузиясы әдісімен зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік экстракттарының микробқа қарсы белсенділігі [68, с.172; 81, с.348; 138] әдісі бойынша грам-оң бактериялар үшін *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грам-теріс бактериялар *Escherichia coli* ATCC 8739 және ашытқы саңырауқұлағы *Candida albicans* ATCC 10231 штамдарына қарсы агар диффузиялық әдісін (ұңғымалар) қолдана отырып зерттелді. Салыстырмалы препараттар бактериялар үшін бензилпенициллин натрий тұзы және ашытқы саңырауқұлағы үшін нистатин болды. Зерттеу «Қарағанды медициналық университеті» ҚеАҚ (Қарағанды, Қазақстан) биомедицина кафедрасында жүргізілді. Сынақ үлгілерінің микробқа қарсы белсенділігін анықтау 2.2-бөлімде сипатталған дискілі-диффузиялық әдіспен орындалды.

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens сулы және сулы спиртті қою экстрактылары тазартылған суда, 70% және 90% этил спиртінде ерітілді. Кішкентай, орташа және үлкен дозалары бар ерітінділердің концентрациясы еселік қатынаста болды (1:1,5:2) - 0,025; 0,0375; 0,05 г үлгі (экстракт) 0,25 мл, 0,375 мл және 0,5 мл еріткішке сәйкесінше. Әрбір үлгі үш параллель тәжірибеде сыналды.

Статистикалық өңдеу орташа арифметикалық және стандартты қате есептеле отырып параметрлік статистика әдісімен жүргізілді. Зерттеудің нәтижелері 30-кестеде көрсетілген.

Кесте 30 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстракттарының микробқа қарсы белсенділігін зерттеу нәтижелер

Сынақ үлгілері	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
1	2	3	4	5
5 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері				
AS-водн-К	-	-	14.7±0,27	-
AS-водн-Н	-	-	15.00±0,57	-
AS-70P	10.7±0,72	-	14. 67±0,72	-
AS-90t	-	10,0±0,81	11.67±0,136	10.67±0,272
AS-90P	-	-	9,67±0,136	-
AS-К-90	9,67±0,136	9,67±0,136	12.33±0,7	11±1,115
Нистатин	-	-	-	-
Натрий бензилпенициллинді дискілер	-	-	23,33±1,36	-

30-кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
10 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері				
AS-водн-К	-	-	10.67±1,2	-
AS-водн-Н	-	-	-	-
AS-70P	-	-	13.67±2,33	-
AS-90t	-	7.67±0,272	14.67±0,8	-
AS-90P	-	-	12.67±2,02	7,67±0,2
AS-К-90	7.67±0,2	-	12.33±1,2	-
Нистатин	-	-	-	16,0±2,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер	-	-	13,3±1,36	-
20 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері				
AS-водн-К	-	-	13.67±0,272	9,33±0,136
AS-водн-Н	-	-	13.0±2,02	8.33
AS-70P	-	-	12.00±2,02	7,33±0,2
AS-90t	-	-	11.67±0,136	-
AS-90P	7,33±0,2	-	11.67±0,5	9.67±0,132
AS-К-90	7,67±0,27	-	13.0±2,9	11.3±2,02
Нистатин	-	-	-	15,0±1,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер	17,0±1,2	18,0±1,1	16,0±1,0	-
100 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері				
AS-водн-К	9.67±0,47	11.67±0,47	13.33±1,2	11.33±0,47
AS-водн-Н	11.67±0,47	9.67±0,47	21.67±2,081	10.33±0,47
AS-70P	19.33±0,47	27.67±0,47	11.0±1,24	16.67±0,47
AS-90t	18.33±0,94	12.0±0,47	14.0±2,081	-
AS-90P	12.33±0,47	9.33±0,47	17.67±4,1	13.33±0,9
AS-К-90	11.67±0,47	11.0±0,47	15.0±3,2	20.0±0,47
Нистатин	-	-	-	15,0±1,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер	16,0±1,2	16,0±0,2	15,0±0,2	-

AS-водн-К және AS-водн-Н үлгілері *Escherichia coli* штаммына қарсы әлсіз белсенділік көрсетті, орташа тежеу аймағының диаметрі сәйкесінше 14,67 мм және 15 мм болды, бұл олардың бактериялардың өсуін тежеу әлеуетін көрсетеді. Дегенмен, AS-70P, AS-90P және AS-К-90 сияқты басқа үлгілер тежеу аймағының диаметрі 10 мм-ден төмен *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* және *Candida albicans* сияқты сынақ штаммдарына қарсы айтарлықтай микробқа қарсы белсенділік көрсетпеді.

Алынған деректер 10 мг/мл дозасындағы *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens экстракттары сынақ микроорганизмдеріне қарсы әртүрлі деңгейдегі белсенділік көрсетеді деген қорытынды жасауға мүмкіндік береді. Мысалы, AS-водн-К және AS-70P үлгілері *Escherichia coli* штаммына қарсы сәйкесінше орташа және айқын белсенділік көрсетті. Дегенмен, AS-90t және AS-90P сияқты

басқа үлгілер кейбір сынақ штамдарына қарсы айтарлықтай микробқа қарсы белсенділік көрсетпеді. Статистикалық параметрлер алынған нәтижелердің сенімділігін бағалауға мүмкіндік беретінін және 10 мг/мл дозасындағы *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens үлгілерінің микробқа қарсы агенттер ретіндегі әлеуетті тиімділігін жақсырақ түсіну үшін қосымша зерттеулер қажет болуы мүмкін екенін атап өткен жөн.

20 мг/мл дозада AS-водн-К, AS-водн-Н және AS-70P үлгілері *Escherichia coli* штаммына қарсы белсенділік көрсетті, орташа тежелу аймағының мәндері сәйкесінше 13,67 мм, 13 мм және 12 мм болды. 20 мг/мл дозада AS-70P, AS-90t және AS-90P үлгілері *Candida albicans* штаммына қарсы белгілі бір белсенділік көрсетті, бірақ бұл белсенділік онша байқалмады. 20 мг/мл дозада AS-К-90 үлгісі *Escherichia coli* штаммына қарсы күшті белсенділік көрсетті, орташа тежелу аймағының мәні 13 мм және *Candida albicans* штаммына қарсы орташа белсенділік көрсетті. Натрий бензилпенициллині бұл зерттеуде белсенді болмағанын атап өткен жөн.

AS-70P және AS-К-х үлгілері 100 мг/мл дозада *Staphylococcus aureus* және *Bacillus subtilis*-ке қарсы айтарлықтай белсенділік көрсетті. AS-водн-Н үлгісі 100 мг/мл дозада *Escherichia coli* қарсы жоғары белсенділік көрсетті. AS-90P үлгісі 100 мг/мл дозада барлық сынақ штамдарына қарсы орташа белсенділік көрсетті.

Сәйкесінше, 5 мг/мл және 100 мг/мл дозаларындағы AS-водн-К және AS-водн-Н үлгілері *E. coli* штаммына қарсы орташа белсенділік көрсетті. Жоғары дозада айқын белсенділік көрсеткен AS-водн-н үлгісі ерекше назар аударарлық.

100 мг/мл дозадағы AS-70P үлгісі *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* және *Candida albicans* штамдарына қарсы айқын белсенділік көрсетті. Бұл көп мақсатты белсенділік бұл үлгіні одан әрі зерттеу үшін ерекше қызықты етеді. Оның құрамын немесе өндіріс әдістерін оңтайландыру оның тиімділігін арттыруы және оған негізделген жаңа микробқа қарсы агенттерді әзірлеуге әкелуі мүмкін. Әртүрлі дозалардағы AS-90t және AS-90P үлгілері әртүрлі бактериялық штамдарға қарсы орташа белсенділік көрсетті.

100 мг/мл дозадағы AS-К-90 үлгісі *Candida albicans*-қа қарсы айқын белсенділік көрсетті. Бұл үлгінің тиімділігін оңтайландыру және жаңа құрамдарды әзірлеу үшін қосымша зерттеу қажет.

Жоғарыда айтылғандарға сүйене отырып, AS-водн-К, AS-водн-Н, AS-70P, AS-90t, AS-90P және AS-К-90 үлгілері олардың микробқа қарсы тиімділігін оңтайландыру және оларға негізделген жаңа құрамдарды немесе қоспаларды әзірлеу бойынша қосымша зерттеулер жүргізу үшін перспективалы кандидаттар болуы мүмкін (Қосымша Р).

Зерттеу нәтижесінде, №10483 «Сортаң бұйырғын өсімдігінің этанолды экстрактын микробқа қарсы құрал ретінде қолдану», №10151 «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі» пайдалы моделге патент алынды [119, 139, 140] (Қосымша С).

5.2 *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens экстракттарының микробқа қарсы белсенділігін микросұйылту әдісімен зерттеу

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік экстрактыларының микробқа қарсы белсенділігі Люблин медициналық университетінде (Люблин, Польша) анықталды.

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens экстрактылары антибактериалды және зеңге қарсы белсенділікке *in vitro* сынақтан өткізілді, бұл сорпаның микросұйылту әдісін қолдана отырып, Еуропалық микробқа қарсы сезімталдықты тексеру комитетінде (EUCAST) [141] және Клиникалық және зертханалық стандарттар институтының (CLSI) нұсқауларында [142] сипатталған. Сынақ экстрактыларының ең төменгі тежегіш концентрациясы (MIC) Американдық типтік культуралар жинағынан (ATCC) алынған анықтамалық микроорганизмдерге қатысты бағаланды, оның ішінде 5 грам-теріс бактерия штаммы (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 12453 және *Salmonella typhimurium* ATCC 14028), 6 грам-оң бактерия штаммы (*Bacillus cereus* ATCC 10826, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Staphylococcus aureus* ATCC 1707, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228) және 3 саңырауқұлақ штаммы (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 90030 және *Candida parapsilosis* ATCC 22019). Микросұйылту әдісін қолдана отырып сынақ үлгілерінің микробқа қарсы белсенділігін анықтау 2.2-бөлімде сипатталған.

Экстракттардың MIC (минималды тежегіш концентрациясы) микросұйылту арқылы Мюллер-Хинтон сорпасында (бактериялар үшін) және стерильді 96 ұңғылы полистирол микротитр пластиналарында дайындалған MOPS (Roswell Park Memorial Institute 1640 сорпасы 3-(N-морфолино)пропансульфон қышқылымен буферленген) (саңырауқұлақтар үшін) қосылған RPMI 1640 сорпасында екі есе сұйылтуды қолдану арқылы анықталды. Стерильді 96 ұңғылы полистирол микротитр пластиналары (Nunc, Roskilde, Дания) сорпа ортасындағы сынақ экстракттарының тиісті сұйылтылуының 100 мкл-ін әрбір ұңғымаға сериялық екі есе сұйылтулар арқылы тарату арқылы дайындалды, бұл сынақ экстракттарының соңғы концентрациясын 0,0195-тен 10 мг/мл-ге дейінгі диапазонда алу үшін жасалды.

Инокулят 0,5 Макфарланд лайылық стандартына сәйкес келетін стерильді 0,85% тұзды ерітіндідегі жаңа микробтық дақылдардан дайындалды және бактериялар үшін 5×10^5 КОЕ/мл және ашытқылар үшін 5×10^4 КОЕ/мл (КОЕ-колония түзетін бірліктер) соңғы тығыздығына жету үшін ұңғымаларға қосылды. Олардың оптикалық тығыздығы Макфарланд стандартына сәйкес 0,5 болды. Содан кейін әрбір микробтық суспензия сорпа мен сынақ экстракттарының әртүрлі концентрациялары бар әрбір ұңғымаға қосылды. Инкубациядан кейін (жоғарыда көрсетілген шарттарда), микробтардың өсуін толығымен тежейтін ең аз үлгі концентрациясын жазып, спектрофотометриялық талдауды қолдану арқылы MIC (ең аз ингибиторлық концентрация) анықталды. Өсуді бақылау, DMSO бақылауы және стерильділікті бақылау да жүргізілді. *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens сығындысы жоқ орта бақылау ретінде қызмет етті.

Ең төменгі бактерицидтік концентрация (МВС) өсуді тежеуді көрсететін әрбір ұңғыманың 5 мкл субкультурасы, соңғы оң ұңғыманы және ұсынылған агар пластиналарындағы өсуді бақылау арқылы алынды. Пластиналар барлық микроорганизмдер үшін 35°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды. МВС микробтық өсуі жоқ экстрактылардың ең төменгі концентрациясы ретінде анықталды. Сынақ үлгілерінің бактерицидтік немесе бактериостатикалық әсерін анықтау үшін МВС/МИС қатынастары есептелді. Тәжірибе үш рет қайталанды [142, p.257]. Алкалоидтар, әдетте, грам-оң бактерияларға грам-теріс бактерияларға қарағанда күштірек әсер етеді. Грам-теріс бактериялардың цитоплазмалық мембрана арқылы цитоплазмаға биоцидтердің енуін реттей алатын және кейде алдын алатын күрделі тосқауыл жүйесіне ие екені белгілі [143].

Микробқа қарсы талдау *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens сабақтарынан және тамырларынан алынған экстрактылар (70% және 90% сулы этанолды экстрактылар) бактерицидтік және фунгицидтік белсенділік көрсететінін көрсетті 31-кестеде келтірілген.

Грамм-оң бактериялардың арақатынасын зерттеу нәтижелері:

Алынған нәтижелер зерттелген *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens экстрактыларының ішінде мацерация арқылы алынған этанол экстрактының (AS-70t) *Staphylococcus aureus* және *Staphylococcus epidermidis* (MIC=1,25 мг/мл, MIC=0,625 мг/мл, MBC=2,5, 2,5 мг/мл) және *Micrococcus luteus* штаммына (MIC=5,0 мг/мл және MIC=20 мг/мл) қарсы жоғары әсер ететінін көрсетті. AS-70t сығындысының басқа бактерияларға, атап айтқанда *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* және *Staphylococcus aureus*-қа қарсы белсенділігі сәйкесінше MIC=10 мг/мл, MBC=> 20 мг/мл және MIC=20 мг/мл, MBC=5 мг/мл болғанда сәл төмен болды.

AS-90P, AS-90t және Lup үлгісі стандартты *Enterococcus faecalis* штаммына қарсы жоғары белсенділік көрсетті (MIC=2,5 мг/мл, MIC=5,0 мг/мл, MIC=5,0 мг/мл және MBC>20 мг/мл-ден 10 мг/мл-ге дейінгі концентрация диапазонында). Барлық штамдардың ішінде *Micrococcus luteus* AS-90t, AS-70P, AS-70t, AS-90tP және Lup экстрактыларында ең жоғары белсенділікті көрсетті: MIC 0,625-5,0 мг/мл концентрация диапазонында және MBC 2,5-тен 10 мг/мл-ге дейінгі концентрация диапазонында.

Барлық стафилококк штамдары AS-90t экстрактысына және Lup үлгісіне ең сезімтал екені анықталды: грам-оң бактериялардың ішінде *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* және *Enterococcus faecalis*. *Staphylococcus epidermidis* және *Micrococcus luteus* штамдары 5 мг/мл MIC кезінде AS-70P сығындысына сезімтал болды, ал MBC 5-тен 20 мг/мл-ге дейінгі концентрация диапазонында табылды. Қалған стафилококктар мен бацилланың өсуі 10 мг/мл концентрациясында тежелді, ал жасушалар 2,5 мг/мл-ден >20 мг/мл-ге дейінгі концентрацияда жойылды.

Кесте 31 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактыларының бактериялар мен саңырауқұлақтардың анықтамалық штамдарына қатысты ең төменгі тежегіш концентрация (MIC), ең төменгі бактерицидтік концентрация (MBC), MIC/MBC ретінде көрсетілген.

Микроорганизм түрлері		AS-90P		AS-90t		AS-70P		AS-70t		AS-K90		AS-90tP		Lup	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC								
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Грам-оң бактериялар	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	10	5	5	10	70	20	5	>20	-	20	20	5	10
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC BA 1707	10	20	5	5	10	20	1.25	2.5	>20	-	20	20	10	10
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	10	10	5	5	5	5	0.625	2.5	>20	-	20	20	5	10
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240	10	20	0.625	2.5	5	20	5	20	>20	-	5	10	5	5
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10826	10	>20	5	>20	10	>20	10	>20	>20	-	>20	>20	5	20
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2.5	>20	5	>20	10	>20	10	>20	>20	-	>20	>20	5	10
Грам-теріс бактериялар	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	20	20	10	20	20	20	10	10	>20	-	10	10	5	>20
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	20	10	20	20	20	20	20	-	-	20	20	5	>20
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	20	20	5	20	20	20	10	20	-	-	20	20	5	10
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	5	5	5	20	10	10	1.25	2.5	-	-	20	>20	5	>20
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20	20	10	20	10	10	10	10	-	-	10	20	2.5	20

31 - кестенің жалғасы

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Саңырауқұлақтар	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	>20	>20	10	20	20	20	10	20	2.5	20	10	20	2.5	5
	<i>Candida albicans</i> ATCC 102231	>20	>20	5	20	10	20	10	20	1.5	10	10	10	2.5	5
	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	>20	>20	1.5	20	10	20	10	10	5	10	5	10	0.015	2.5
<p>Ескерту: Оң бақылау ретінде қолданылатын стандартты антибиотиктер (мг/мл): бактерияларға қарсы - ципрофлоксацин, ал саңырауқұлақтарға қарсы - нистатин. Кестедегі мәндер: *MIC және MBC мәндері мг/мл-мен көрсетілген.</p>															

Жер асты бөліктерінен (тамыр) алынған AS-K-90 экстракты грам-оң бактерияларға қарсы белсенділік көрсетпеді.

Грамм-теріс бактерияларға қарсы зерттеу нәтижелері

Грамм-теріс таяқша тәрізді бактериялардың ішінде AS-70t экстракты *Klebsiella pneumoniae*-ге қарсы ең жоғары белсенділікті көрсетті (MIC = 1,25 мг/мл және MBC = 2,5 мг/мл), ал AS-90P, AS-90t және Lup экстрактылары сәл төмен белсенділік көрсетті (MIC = 5 мг/мл және MBC 2,5 мг/мл-ден >20 мг/мл-ге дейінгі концентрация диапазонында). Lup препараты стандартты *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 2,5 мг/мл, MBC = 20 мг/мл) және грамм-теріс бактериялардың барлық штамдарымен (MIC = 5 мг/мл, MBC концентрациясы 10-нан >20 мг/мл аралығында) салыстырғанда күштірек тежегіш әсер көрсетті. *Proteus mirabilis* AS-90P экстрактысына және Lup бірдей MIC мәнімен (5 мг/мл) және MBC = 10–20 мг/мл сезімтал болды. Бұл микроорганизмдердің өсуін тежеуге немесе өлімге әкелетін барлық сығындылардың ең төменгі концентрациясы 10–20 мг/мл болды. AS-K-90 үлгі грамм-теріс таяқша тәрізді бактерияларға қарсы белсенділік көрсетпеді.

Candida ашытқы саңырауқұлақтарына қарсы зерттеу нәтижелері

Айта кету керек, Lup препараты *Candida* саңырауқұлақтарына, атап айтқанда *Candida parapsilosis* (MIC = 0,015 мг/мл, MBC = 2,5 мг/мл) және *Candida glabrata* және *Candida albicans* штамдарына MIC = 2,5 мг/мл, MBC = 5 мг/мл қарсы жоғары белсенділік көрсетті. AS-90t үлгісі стандартты *Candida parapsilosis* штаммына қарсы ең жоғары белсенділікті және *Candida albicans*-қа қарсы аз белсенділікті көрсетті (MIC = 1,5 мг/мл, MIC = 5 мг/мл, MBC = 20 мг/мл). AS-K-90 үлгісі мен AS-90t үлгі *Candida parapsilosis* қарсы белсенділігі төмен болды. Ашытқы өсуін тежейтін бұл сүлгінің ең аз концентрациясы 5 мг/мл, MBC = 20 мг/мл болды.

Осылайша, *Anabasis salsa* тамырының экстракты AS-K-90 бактерияға қарсы белсенділік көрсетпеді, ал сынақ үлгісі *Candida* туысының барлық штамдарына қарсы жоғары саңырауқұлаққа қарсы белсенділік көрсетті (MIC = 1,5–2,5 мг/мл, MBC = 10–20 мг/мл).

MBC/MIC және МФА/MIC қатынастарын ескере отырып, жалпы алғанда, *Anabasis salsa* сығындылары AS-90P, AS-90t, AS-70P, AS-70t, AS-90tP және Lup эталондық микроорганизмдерге қарсы бактерицидтік белсенділік көрсеткені көрсетілді (MBC/MIC мәндері). Өз кезегінде, бұл сығындылар үшін MBC/MIC қатынасы *Bacillus cereus* және *Enterococcus faecalis* үшін анықталмады, себебі MBC >2 болды. Ал *Anabasis salsa* AS-K-90 тамырлары белсенді емес болды, себебі MBC >20 болды.

Дегенмен, AS-K-90 тамыр сығындысы кандидоздың эталондық түрлеріне қарсы зеңге қарсы белсенділік көрсетті (MIC=1,5-2,5 мг/мл, MBC=10-20 мг/мл). AS-90R сығындысы кандидоздың барлық эталондық түрлеріне қарсы зеңге қарсы белсенділік көрсетпеді, себебі MIC және MBC >20 мг/мл болды.

Авторлардың білуінше, *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens сабақтарынан және тамырларынан алынған экстрактылардың бұрын микробқа қарсы белсенділігі туралы хабарланбаған, сондықтан бұл нәтижелерді басқа басылымдармен одан әрі салыстыру мүмкін емес. Дегенмен, басқа *Anabasis* L.

түрлерінен алынған кейбір сығындылардың бактерияға қарсы немесе зеңге қарсы белсенділігі туралы жекелеген есептер бар [134,с.239; 143, р.254; 144, 145].

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens алкалоидты экстрактылары грам-оң бактерияларға қарсы айқын тежегіш белсенділік көрсетті, ал грам-теріс бактерияларға қарсы белсенділік орташа деп саналды. Lup-тың микробқа қарсы белсенділігі бұрыннан сипатталған [146], және хинолизидин алкалоидтары өсімдіктің микробқа қарсы қорғанысында (флавоноидтар мен изофлавоноидармен бірге) рөл атқарады деген болжам жасалды. Осылайша, зерттелген өсімдік сығындыларының микробқа қарсы белсенділігін скринингтеу стандартты *Candida* түрлеріне қарсы бағытталған *K. pneumonia* ATCC 13883-ке қарсы грамтеріс таяқша тәрізді бактериялар *S. aureus* ATCC 1707, *S. epidermidis*, *M. luteus* және *E. faecalis* эталондық грам-оң бактерияларға қарсы айтарлықтай белсенділік көрсетті (Қосымша Р).

5.3 Лупининнің Lup-43, Lup-41 субстанцияларының қауіпсіздігі мен биологиялық белсенділігін зерттеу

Субстанциялардың қауіпсіздігін және микробқа қарсы белсенділігі әдістемелік нұсқаулықтарда сипатталған әдістерді қолдану арқылы жүргізілді [68, с.172; 81, с.348; 134, с.239]. Заттардың микробқа қарсы белсенділігі 2.2-тармақшада сипатталған агар диффузиясы әдісін қолдану арқылы анықталды. Зерттеу Қарағанды медициналық университетінің биомедицина кафедрасында (Қарағанды, Қазақстан) жүргізілді. Қарағанды медициналық университетінің ҒЗК бекітті (2024 жылғы 19 маусымдағы №9 отырыс хаттамасынан үзінді (Қосымша Т). Зерттеу КеАҚ «Қарағанды медицина университетінде» виварийде іске асырылды.

Лупининнің Lup-43, Lup-41 субстанцияларының жедел уыттылық индексін анықтау

Тәжірибелер үшін кәдімгі виварий диетасымен қоректенетін ақ тышқандар қолданылды. Барлығы 24 тышқан зерттелді, олардың әрқайсысында 6 жануар бар. Бақылау және тәжірибелік жануарлар ұқсас жағдайда болды және бастапқы орташа салмағы бірдей болды. Заттың енгізілген дозасын реттеу үшін апта сайын салмақ өлшеу жүргізілді.

Тәжірибелер тәжірибелік жануарларды пайдалана отырып жұмыстарды жүргізу үшін қажетті ережелерді сақтай отырып жүргізілді. Зерттелетін зат 500 мг/кг дозада жануарларға бір рет асқазанға енгізілді. 1500 мг/кг, 2500 мг/кг (әр тәжірибелік топта 6 жануар). Еріткіш ретінде пайдаланылған асқазанішілік тазартылған судың баламалы көлемін алған жануарлар бақылау қызметін атқарды. Жануарлар санитарлық нормаларға толық сәйкес, азық-түлік пен суға үнемі қол жетімділікпен ұсталды. Зерттелетін затты енгізуден 24 сағат бұрын жануарлар азық-түлікке қол жеткізуден айырылды. Сынақ үлгісін енгізгеннен кейін жануарлар 6 сағаттан кейін тағамға қол жеткізді.

Жедел уыттылықты зерттеу кезінде жануарларды бақылаудың жалпы ұзақтығы 14 күнді құрайды. Препаратты енгізгеннен кейін бірінші күні жануарлар үздіксіз бақылауда болды. Жануарлардың жалпы жағдайы, олардың мінез-құлқының ерекшеліктері, қозғалыс белсенділігінің қарқындылығы мен сипаты, дене салмағының динамикасы және ішкі органдардың массасының өзгеруі тұрақты түрде тіркелді.

Қанның биохимиялық көрсеткішін бағалау үшін зертханалық тышқандардың қан сарысуында жалпы ақуыз, мочевино, холестерин, глюкоза, жалпы және байланысқан билирубин метаболизмінің негізгі ферменттерінің белсенділігінің, аспартаминотрансфераза (АСТ) және аланинаминотрансфераза (АЛТ) белсенділігінің ең ақпараттылық көрсеткіштерінің кешенін анықтадық. Биохимиялық қан индикаторын анықтау үшін URIT-800 vet қолданылды.

Деректерді есептеу Microsoft Excel бағдарламалық құралы арқылы орындалды.

Сынаманы асқазан ішіне енгізгеннен кейін жануарлардың жағдайы қалыпты болды. Келесі 14 күнде тышқандардың сыртқы түріне, мінез-құлқына және белсенділігіне ешқандай өзгерістер байқалмады. 32-кестеде бір рет асқазанішілік инъекциядан кейін үлгінің тышқандардың өміршеңдігіне әсері бойынша зерттеу нәтижелері берілген.

Кесте 32 - Бір рет асқазанға енгізгеннен кейін тышқандар үшін зерттелетін заттың уыттылығын өлшеу нәтижелері

Үлгі дозасы (мг/кг)	Жануарлардың жалпы саны		Өлімге ұшыраған жануарлардың саны		Өлімге ұшыраған жануарлардың пайызы
	еркек	ұрғашы	еркек	ұрғашы	
500	3	3	0	0	0
	6		0		
1500	3	3	0	0	0
	6		0		
2500	3	3	0	0	0
	6		0		

Алынған мәліметтер негізінде, субстанцияны асқазанға бір рет енгізгеннен кейін жануарлардың саны, 14 күн бақылауда өлімге әкелетін нәтиже анықталмады.

Эксперименталды зерттеудің 14 күніндегі зерттеу топтарындағы тышқандардың дене салмағының динамикасында айтарлықтай өзгерістер табылған жоқ. Бақылауда жануарлардың жағдайы қалыпты болды. 14 күннен кейін тышқандардың басы жеңіл кесіліп, ішкі ағзаларының жағдайы бағаланды. Бақылау және эксперименттік топтардағы мүшелердің салмағы туралы мәліметтер 33-кестеде келтірілген.

Тышқандардың ішкі мүшелерінің салыстырмалы массасы физиологиялық норма шегінде қалды. Аутопсия кезінде морфологиялық сурет қалыптыдан тыс өзгерістерді анықтаған жоқ. Инъекция орнын макроскопиялық зерттеу

патологиялық өзгерістердің болуын анықтаған жоқ. Кеуде және құрсақ қуысы мүшелерінің орналасуы анатомиялық жағынан дұрыс.

Кесте 33 - Тышқандардың дене салмағының индекстері

Мөлшері, мг/кг	Саны	Өкпе	Жүрек	Бауыр	Көкбауыр	Бүйрек
Бақылау	6	0,30±0,05	0,16±0,14	1,35±0,12	0,16±0,14	0,36±0,06
500	6	0,29±0,13	0,09±0,21	1,37±0,18	0,14±0,19	0,33±0,05
1500	6	0,33±0,15	0,12±0,05	1,34±0,14	0,12±0,13	0,31±0,03
2500	6	0,36±0,21	0,13±0,09	1,39±0,3	0,13±0,10	0,35±0,08
Ескерту: * – бақылау жануарларындағы мәндермен салыстырғанда $p < 0,05$						

33-Кесте деректеріне және макроскопиялық зерттеуге сәйкес келесі өзгерістер анықталды: жүрегі - қара қоңыр түсті, көлемі ұлғаймаған, қарынша қуысы қалыпты, кесіндіде өзгерістер байқалмайды. бауыр - бауыр капсуласы жылтыр, тегіс. Түртіп алғанда, бауыр орташа тығыз консистенцияға ие; кесу кезінде органның ұлпасы толық қанды, қою қызыл түсті, қосындылары жоқ. Көкбауыр - қара қоңыр түсті, көлемі өзгермеген; бүйрек - қоңыр түсті, көлемі өзгермеген; бөлімінде қыртыс пен мишық жақсы сараланған.

Лупинин туындысының сынама үлгісінің әсерінен тәжірибелік жануарлардың қан сарысуының биохимиялық талдауларының нәтижелері 34-кестеде келтірілген.

Кесте 34 - Ақ тышқандардың қанының негізгі биохимиялық көрсеткіштеріне лупинин туындысының әсері

Көрсеткіш	Жыныс	Бақылау		500		1500		2500	
		n	$x \pm c.o.x$	n	$x \pm c.o.x$	n	$x \pm c.o.x$	n	$x \pm c.o.x$
Ақуыз, г/л	♂	3	61,4±1,3	3	63,1±2,14	3	61,9±3,07	3	63,1±1,4
	♀	3	62,3±2,1	3	64,7±2,19	3	62,9±2,14	3	61,8±2,1
Мочевина, ммоль/л	♂	3	2,41±1,15	3	2,0±1,14	3	3,2±2,1	3	3,7±2,4
	♀	3	2,0±1,26	3	3,1±1,2*	3	2,17±1,1	3	2,6±2,5
Глюкоза, ммоль/л	♂	3	7,5±1,12	3	6,36±1,25	3	7,4±1,6	3	7,2±2,18
	♀	3	7,03±2,60	3	6,96±1,16	3	6,91±1,14	3	7,03±1,25
Жалпы билирубин, ммоль/л	♂	3	0,42±0,005	3	0,35±0,007	3	0,28±0,004	3	0,23±0,006
	♀	3	0,41±0,004	3	0,23±0,006	3	0,42±0,005	3	0,31±0,007
АСТ, ммоль/л-с	♂	3	41,16±0,6	3	42,56±0,27	3	41,46±0,5	3	39,46±0,51
	♀	3	42,28±0,17	3	41,39±0,13	3	39,99±0,7	3	40,51±0,88
АЛТ, ммоль/л-с	♂	3	47,31±0,03	3	48,54±0,05	3	42,17±0,03	3	41,10±0,4
	♀	3	48,18±0,04	3	46,11±0,05	3	45,18±0,06	3	47,31±0,7
ХС, ммоль/л	♂	3	2,19±0,8	3	1,49±0,5	3	1,56±0,9	3	2,74±0,8
	♀	3	1,99±0,57	3	1,78±0,6	3	2,1±0,78	3	1,91±0,6
Ескерту: * - бақылаумен салыстырғандағы айырмашылық Стьюдент 1-тестіне сәйкес маңызды ($p < 0,05$)									

34-Кестеде макроскопиялық зерттеудің мәліметтері бойынша келесі өзгерістер байқалды: жүрек: қара - қоңыр түсті, мөлшері ұлғаймаған, бірқалыпты, қарынша қуысында өзгеріс байқалмады; бауыр: қою қызыл түсті, бауыр капсуласы тегіс, жылтыр, дақтар жоқ; көкбауыр: қара-қоңыр, мөлшерінде өзгеріс байқалмады; бүйрек: қоңыр түсті, мөлшері бірқалыпты, өзгеріссіз.

Зерттеу нәтижелерінен көрініп тұрғандай, зерттелетін субстанция 500, 1500, 2500 мг/кг дозада енгізу қанның зерттелетін биохимиялық көрсеткіштерінің деңгейін жоғарылатпаған. Осылайша, зертханалық тышқандардың қанын биохимиялық зерттеу кезінде енгізілген дозаларға қарамастан жалпы ақуыз мөлшерінің жоғарылауы байқалмады. Мочевина деңгейінің өсуі іс жүзінде байқалмады. Тәжірибе тобындағы зертханалық жануарларда глюкоза, холестерин, жалпы билирубин, АЛТ және АСТ деңгейлері бақылау тобының нәтижелерінен ерекшеленбеді ($p < 0,05$).

Тәжірибелік жануарлардың жалпы жағдайы мен мінез-құлқын бақылау нәтижесінде нормадан ауытқудың жоқтығы анықталды. Осылайша, барлық экспериментті бақылау кезінде салмақ жоғалтудың болмауы және жануарлардың бақылау және тәжірибелік топтарында дене салмағының жоғарылауы байқалды. Алынған деректер лупинин туындысының субстанцияның уытты әсерінің жоқтығын көрсетеді.

Осылайша, лупинин туындысы үлгісінің клиникаға дейінгі сынақтары оң жедел спецификалық емес уыттылығы жоқ екенін көрсетті. Тышқандарға бір рет асқазанішілік енгізу кезінде ең жоғары қол жеткізуге болатын доза 2500 мг/кг құрайды және қауіпсіз. Эксперименттік тышқандарды 500, 1500, 2500 мг/кг дозада лупинин туындысын жедел енгізгеннен кейін 7 және 14 күн бойы жүргізілген талдаулар мен бақылаулардың нәтижелері олардың сыртқы түріне теріс әсер етпейтінін көрсетті. жануарлардың жалпы жағдайы, дене салмағы және мінез-құлқы. Сондай-ақ қанның биохимиялық көрсеткіштеріне және дененің негізгі физиологиялық функцияларына теріс әсер етпейді. Алынған эксперименттік деректер сыналған лупинин туындысы үлгісін V класына – іс жүзінде улы емес заттарға жатқызуға мүмкіндік береді (Қосымша У).

Лупинин туындыларын микробқа қарсы белсенділігін зерттеу

Лупинин туындыларын жеке заттардың микробқа қарсы қасиетін Қарағанды медицина университетінің оқу микробиология зертханасында биомедицина кафедрасында, *in vitro* жағдайында [68,с.172; 146,147] жүргізілді және диффузиялық әдіспен ингибирлеу аймағы анықталды, зерттей келе келесідей нәтижелерге ие болды. Бақылау ретінде лупинин және оның туындылары қолданылды. Субстанциялардың микробқа қарсы белсенділігі 2.2-тармақшада сипатталған агар диффузиясы әдісін қолдану арқылы анықталды.

35 - Кестеде лупинин және лупинин туындыларының микробиологиялық белсенділігінің көрсеткіш нәтижелері көрсетілген.

Кесте 35 - Лупининин және оның туындыларының микробқа қарсы белсенділігін зерттеу нәтижелері

№	Үлгі	Микроорганизмдердің өсуін тежейтін аймақтың диаметрі, мм				
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>5 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері</i>						
1	Lup	7,1±0,7	-	-	-	7,0±0,2
2	Lup-N	8,2±1,2	-	-	-	-
3	Lup-P	7,7±0,8	-	-	-	-
4	Lup-41	12,8±0,6	10,0±0,8	10,4±1,0	-	-
5	Lup-43	7,7±0,5	7,2±0,5	-	-	-
Нистатин		-	-	-	-	16,2±1,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер		20,2±1,0	19,0±1,0	18,0±1,3	17,2±0,8	-
<i>10 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері</i>						
1	Lup	8,2±0,9	7,8±0,7	-	-	-
2	Lup-N	7,0±1,2	10,8±1,3	-	-	-
3	Lup-P	9,4±0,5	9,7±0,4	-	-	-
4	Lup-41	11,6±0,6	16,6±1,0	10,2±0,3	-	10,6±0,7
5	Lup-43	7,0±0,9	7,1±0,7	-	-	-
Нистатин		-	-	-	-	15,0±1,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер		18,0±0,2	18,2±1,3	16,6±1,5	18,1±0,3	-
<i>20 мг/мл концентрлі сынақ үлгілері</i>						
1	Lup	7,8±1,2	7,1±0,5	-	-	7,0±0,1
2	Lup-N	7,0±0,4	7,5±1,4	-	-	-
3	Lup-P	7,2±0,9	9,3±1,0	-	-	-
4	Lup-41	15,2±0,4	11,6±1,4	12,1±0,7	-	10,0±0,1
5	Lup-43	9,4±0,6	7,2±1,1	-	-	-
Нистатин		-	-	-	-	15,0±1,0
Натрий бензилпенициллинді дискілер		19,0±1,2	18,0±1,1	16,0±1,0	17,0±1,3	-
Ескерту: *- салыстыру тобымен салыстырғанда айырмашылықтардың маңыздылығы p<0,05						

35-кестеде келтірілген лупинин үлгілерінің микробқа қарсы және зеңге қарсы белсенділігін скринингтеу нәтижелері Lup-41 үлгісі 20 мг/мл концентрациясында *Staphylococcus aureus* грам-оң сынақ штамдарына қарсы, орташа тежеу аймағының мәні 15,2 мм екенін, оның әсері диаметрі шамамен 19,0 мм болған натрий бензилпенициллинмен салыстыру кезінде **орташа белсенділік** көрсетті. Бұл қосылыс *Escherichia coli* грам-теріс сынақ штаммына қарсы **әлсіз** микробқа қарсы белсенділік көрсетті. Тежеу аймағының орташа мәні 12,1 мм болды, бұл үлгінің бактериялардың өсуін тежеу мүмкіндігін көрсетеді. Сондай-ақ, бұл қосылыс 10 мг/мл дозада *Bacillus subtilis* штаммына қарсы орташа белсенділік көрсеткені анықталды.

Зерттелген қосылыстардың *Staphylococcus aureus* шатмының микробқа қарсы белсенділігін бағалау Lup, Lup-N, Lup-P, Lup-41 және Lup-43 туындыларына бактериостатикалық әсерің көрсетеді, ал *Pseudomonas aeruginosa* штамына іс жүзінде ешқандай әсер көрсетпеді. Lup-41 қосылысы әлсіз микробқа қарсы белсенділікпен сипатталады.

Осылайша, синтезделген лупинин туындыларының ішінде *Staphylococcus aureus* штамына қарсы орташа белсенділік және *Bacillus subtilis* штамына орташа микробқа қарсы белсенділік көрсететін Lup-41 субстанциясы анықталды. Бұл зерттеуде алынған нәтижелер жаңа лупинин қосылыстарының микробқа қарсы қасиеттерін олардың фармакологиялық әсерін күшейту және патогендік микроорганизмдерде төзімділіктің дамуын болдырмау үшін одан әрі зерттеу мүмкіндігін көрсетеді (Қосымша Ф).

5.4 Лупининнің Lup-43 субстанциясының ацетилхолинэстеразаны (AChE) тежеу белсенділі

Тәжірибе Қарағанды медициналық университетінің микробиология кафедрасының оқу микробиология зертханасында жүргізілді.

Ацетилхолинэстераза (AChE) тежеу белсенділігі *in vitro* стандартты Элман әдісін қолдана отырып зерттелді [91, с.124; 92, с.46; 93]. AChE белсенділігі 2.2-тармақшада сипатталған әдісін қолдану арқылы анықталды.

Препараттар мен реагенттер: Ацетилхолинэстераза (Sigma-Aldrich, США), концентрациясы 3,2 ЕД/л; Антихолинэстеразды дәрі - галантамин (Tocris Bioscience, США), стандартты ингибитор ретінде; ацетилхолинэстераза ингибиторларын скринингтеу жинағы (Sigma-Aldrich, США); 5,5'-дитиобис-2-нитробензой қышқылы (DTNB) (Элман реактиві) (Sigma-Aldrich, США); ацетилхолин хлориді (Sigma-Aldrich, США); калий-фосфатты буфер ерітіндісі (рН 7,4).

Ерітінді дайындау: Лупинин және оның 1,2,3-үшазол туындысы (Lup-43) (әрқайсысы 5 мг) 25 мл көлемдік колбадағы мұздық сірке қышқылы мен судың 1:15 қоспасында ерітілді. Ерітінді тазартылған сумен белгіге дейін жеткізілді. Концентрациясы 1 мг/мл болатын жұмыс ерітіндісін алу үшін негізгі ерітіндінің аликвотасы (5 мл) 100 мл көлемдік колбаға ауыстырылып, белгіге дейін тазартылған сумен толтырылды. Әрі қарай, жұмыс ерітіндісінің екі есе сұйылтылуы 0,5 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,125 мг/мл, 0,0625 мг/мл және 0,03125 мг/мл соңғы концентрацияларымен дайындалды. Бақылау ерітіндісі ретінде пайдалану үшін 0,5 мг/мл концентрациясы бар бақылау ерітіндісі (галантамин) дәл осылай дайындалды. Галантамин AChE талдаулары тежегіш белсенділігін салыстыру үшін оң бақылау ретінде пайдаланылды. Сынамалар AChE тежеу белсенділігі спектрофотометриялық әдіспен өлшенді.

AChE тежеу белсенділігінің ингибирлеу пайызы (5) формула бойынша есептеліп нәтижелері 36-кестеде келтірілген. IC₅₀ - ацетилхолинэстераза белсенділігінің 50% тежелуін тудыратын концентрация. IC₅₀ пробитталдауы арқылы есептелді. Барлық сынақтар үш рет орындалды (n=3). Нәтижелер орташа мән ± орташа мәннің стандартты қателігі (M±SEM) ретінде көрсетіледі.

Кесте 36 - Ацетилхолинэстераза белсенділігін (IC₅₀) анықтау нәтижелері

№	Сынақ үлгілері	IC ₅₀ (мкМ)
1	Лупинин	10,7 ± 1,4
2	(1 <i>S</i> ,9 <i>aR</i>)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1 <i>H</i> -1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2 <i>H</i> -хинолизин (Lup-43)	7,2 ± 1,1
3	Галантамин (бақылау)	8,3 ± 1,3

Лупининнің 1,2,3-үшазол туындысы Lup-43 ацетилхолинэстеразаны тежеу белсенділігі (IC₅₀ мәні 7,2 мкМ), бұл Альцгеймер ауруының жеңіл түрін емдеуде қолданылатын галантаминнің белсенділігімен салыстырмалы болды (IC₅₀ = 8,2 ± 1,3 мкМ).

Белсенділіктің бұл айырмашылығы ферменттің белсенді орталығына тән химиялық құрылымы мен аффинділігіне байланысты болуы мүмкін. Алынған нәтижелер құрылымды оңтайландыру және осы қосылыстардың биологиялық тиімділігін бағалау бойынша одан әрі зерттеулер үшін негіз болып табылады. Lup-43 құрылымында 4-бензилоксифенил тобының болуы оның максималды белсенділігін қамтамасыз етті, бұл оның АСhE ингибиторы ретіндегі әлеуетті ролін көрсетуі мүмкін. Ацетилхолинді жоятын фермент холинэстеразаға тежегіш әсер етеді. Жүйке - бұлшықет өткізгіштігін жақсартады

Осылайша, (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил} метил)октагидро-2*H*-хинолизин (Lup-43) қосылысы аралас типті тежегіш белсенділік көрсетеді және Альцгеймер ауруын емдеу аясында одан әрі зерттеулер үшін перспективалы кандидат болуы мүмкін [137] (Қосымша X).

5.5 Лупининнің Lup-41 субстанциясының вирусқа қарсы белсенділігі

Зерттеу жұмысы «Микробиология және вирусология орталығы» зертханасында 2022 жылы жүргізілген.

Вирусқа қарсы белсенділікті анықтау үшін әртүрлі антигендік формулалары бар H3N2 және H1N1 тұмау вирусының штамдары пайдаланылды. Сынақ Lup-41 үлгінің вирусқа қарсы белсенділігі химиялық терапиялық индексті (ХТИ) анықтау үшін 0,0016%-дан 0,2%-ға дейінгі концентрацияларда зерттелді, бұл тауық эмбрионына 0,003-0,4 мг (0,06-8 мг/кг) дозаларына сәйкес келеді (37-кесте). Зерттеу нәтижелерінде {1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-*tert*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lup-41) туындысы H3N2 тұмау вирусының штаммына қарсы айқын вирусқа қарсы әсерге ие екені, салыстырмалы препараттардың: Тамифлу (Осельтамивир) белсенділігінен 6,3 есе және Ремантадиннен 2,1 есе асып түсетіні, сондай-ақ H1N1 тұмау вирусының штаммына қарсы айқын вирусқа қарсы белсенділікке ие екені және салыстырмалы препараттардың: Тамифлу (Осельтамивир) белсенділігінен 5,8 есе және Ремантадиннен 2,1 есе асып түсетіні анықталды.

Кесте 37 - Lur-41 тұмау вирустарына қарсы зерттеу нәтижелері

Сынақ үлгілері	Сынақ үлгісінің химиотерапиялық индексі	
	H3N2	H1N1
«{1-[[[(1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1ил)метил]-1H-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lur-41)	65.0	64.0
Тамифлю (Осельтамивир)	10.3	11.0
Ремантадин	29.9	30

Осылайша, Lur-41 қосылысы тұмаудың антигендік құрылымына және вирусқа қарсы препараттарға сезімталдығына қарамастан жоғары вирусқа қарсы белсенділік көрсететін, оған негізделген тиімді тұмауға қарсы агентті әзірлеу үшін перспективалы болып табылатыны анықталды (Қосымша Ц).

Айта кету керек, соңғы жылдары лупининге және оның туындыларына қызығушылық айтарлықтай артты, бұл ең алдымен оның фармакологиялық әсерінің жан-жақтылығына және атап айтқанда, Альцгеймер ауруын емдеуде қолданылуына байланысты. Lur-41 қосылысы әртүрлі антигендік құрылымдары бар тұмау вирусының штамдарына қарсы жоғары терапиялық белсенділік көрсетеді және тұмауға қарсы препараттарды өндірудің қосымша көзі ретінде қарастырылуы мүмкін. Осыған байланысты лупининнің жаңа өсімдік көздері, сондай-ақ оны өсімдік экстрактыларынан қосылыстарды бөлу және оған негізделген синтездеу әдістері іздестірілуде.

Зерттеу нәтижесі бойынша, №10740 «{1-[[[(1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1ил)метил]-1H-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-терт-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаты вирусқа қарсы емдеу» пайдалы модельге патент алынды [148].

5.6 Сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens) өсімдік шикізатына негізделген дәрілік препараттарды алудың әдістемелік сызбанұсқасы

Әдебиеттер мен өз зерттеу деректерімізді талдау бізге жалпы әдіснамалық тәсілді тұжырымдауға мүмкіндік берді, оны бірнеше тізбекті зерттеу бірнеше кезеңдерге бөлуге болады: ақпарат іздеу, шикізаттың сапа көрсеткіштерін анықтау, шикізатты стандарттау, субстанцияның технологиясын әзірлеу, субстанцияны стандарттау, дайын дәрілік форманы әзірлеу, дайын дәрілік форманы стандарттау, тәжірибелі-өнеркәсіптік технология, фармакологиялық зерттеулерден құралған. *Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens шикізатына негізделген дәрілік препараттарды алудың әдіснамалық негізін 47-суретте көрсетілген.



Сурет 47 - *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатынан дәрілік препараттарды әзірлеудің әдіснамалық сызбанұсқасы

ҚОРЫТЫНДЫ

Зерттеу нәтижесінде келесі қорытындылар жасауға болады:

1. Алғаш рет сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) шикізаттың морфологиялық және анатомиялық диагностикалық қасиеттері зерттелді. Өркендердің көлденең қималары, гүлшоғырларының беткі препараттары және тамырлардың көлденең қималары бойынша гистохимиялық сынақтардың нәтижесінде флавоноидтар мен алкалоидтар анықталып, олардың локализациясы анықталды.

Тәжірибелік жұмыстардың нәтижелері бойынша Қарағанды облысында Қазақстан Республикасының аумағында өсетін *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) өсімдік шикізатының фармакогностикалық және технологиялық параметрлері анықталып, экстракция үшін экстрагент таңдалды. Экстракция процесінің оңтайлы шарттарын таңдау үшін *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) шикізатының технологиялық параметрлері зерттелді және экстрагент ретінде 70% этанол таңдалды, өйткені ол экстракцияланатын заттардың жоғары шығымдылығын қамтамасыз етеді.

2. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) экстрактыларының химиялық құрамы алғаш рет ЖТСХ-УК және ЖТСХ-МС/МС қолдану арқылы зерттеліп, 26 қосылыс (алкалоидтар, флавоноидтар және олардың гликозидтері, фенолды қосылыстар, амин қышқылдар) анықталды. Анықталған барлық қосылыстар бұрын *Anabasis* L. тұқымдасының басқа түрлерінде табылған, дегенмен, ұсынылған компоненттердің көпшілігі *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) өсімдік шикізатында алғаш рет сипатталған. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) шикізатының жер үсті және жер асты бөліктеріндегі алкалоид лупининнің сандық мөлшері зерттелді. Сонымен қатар, перколяция әдісімен алынған AS-70P және AS-90P экстракттарындағы лупининнің мөлшері басым және 0,1769 мен 0,0098% аралығында ауытқиды. Жер асты бөлігінде мацерация әдісімен алынған ASK-90 және AS-KH экстракттарындағы алкалоид лупининнің мөлшері 0,006-0,0018% аралығында. Сілтілі жер үсті бөлігінен алынған AS-90tP экстрактындағы лупининнің мөлшері 0,0079% құрайды.

3. *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) экстрактысынан лупининді ортадан тепкіш үлестіру хроматографиясын қолдана отырып бөліп алудың жаңа әдісі жасалды, бұл тиісті сападағы өнімнің қажетті мөлшерін тұрақты өндіруді қамтамасыз етеді.

Потенциалды биоактивті 1,2,3-үшазол туындысын алу үшін С-10 атомындағы лупинин алкалоидты құрылымын өзгертудің оңтайлы жағдайлары жасалды. Жасалған жағдайлар тиісті (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-үшазол-1-ил}метил)октагидро-2*H*-хинолизиннің (Lup-43) және {1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил}метил-3-*трет*-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаттың (Lup-41) жоғары шығыммен синтезделуге мүмкіндік берді. Алынған қосылыстардың құрылымы заманауи физика-химиялық (ИК-, УК-, ¹H-, ¹³C- ЯМР спектроскопия, элементтік анализ, масс-спектрометрия және РҚТ) әдістерімен дәлелденді.

4. Алғаш рет *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстрактылары, атап айтқанда, жер үсті бөлігінің 70% этанол сығындысы *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* және *Klebsiella pneumoniae* эталондық штамдарына жоғары әсер ететіні анықталды. Бұл бактериялар үшін ең төменгі тежегіш және бактерицидтік концентрациялар сәйкесінше 0,625-1,25 мг/мл және 2,5 мг/мл болды. Басқа грам-оң микроорганизмдер де осы экстрактқа өте сезімтал болды, атап айтқанда: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* және *Bacillus cereus* (MIC = 2,5-5 мг/мл және MBC = 10 мг/мл-ден >20 мг/мл-ге дейін). Lupинин үлгісі барлық грам-оң бактерияларға қарсы белсенділік көрсетті (MIC = 5-10 мг/мл және MBC = 5 мг/мл-ден 20 мг/мл-ге дейін). Зерттелген *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) экстрактыларының ішінде тамыр экстракты ең белсенді зенге қарсы агент болып табылды, ол *Candida* туысының барлық эталондық штамдарына қарсы жоғары белсенділікке ие.

Lup-43 субстанциясының биологиялық белсенділікті зерттеу нәтижесінде АХЭ әсері бар екені, ал Lup-41 қосылысы микробқа қарсы және H3N2 тұмау вирусының штаммына қарсы әсер көрсететіні анықталды.

«Сортаң бұйырғын қою экстракты», «Лупинин субстанциясы», «Lup-43 субстанциясы» және «Lup-41 субстанциясы» нормативтік құжаттың жобасы әзірленіп стандартталды, заттардың тұрақтылығы зерттелді. «Lup-43 субстанциясы» және «Lup-41 субстанциясы» өндірісінің зертханалық регламенті әзірленіп, бекітілді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Флора Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1956. 548 с.
- 2 Калиев Б. Русско-казахский словарь названий растений. - Алматы: Ана тілі, 1993. - 102 с.
- 3 Бекишева П.Ж., Итжанова Х.И., Нурмаганбетов Ж.С. *Anabasis* L. как источник биологически активных алкалоидов (обзор литературы) // Фармация Казахстана. - 2023. - №5. – С.349-355.
- 4 Садыков А.С. Химия алкалоидов *Anabasis aphylla*. - Ташкент: Изд-во Акад. наук УзССР, 1956. – 222 с.
- 5 Shakeri A., Hazeri N., Vlizabeth J., Ghasemi A., Zaker F. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. Extract // Kragujevac Journal of Science // Kragujevac Serbia. 2012. – Vol. 34. – P. 71-78.
- 6 Флора СССР. Изд-во АН СССР. – М., 1936. – Т. VI. – С. 45-353.
- 7 Гемеджиева Н.Г. Изучение и сохранение биоразнообразия алкалоидоносных растений Казахстана // Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биология. – Алматы, 2009. – №1(40). – С. 5-14.
- 8 Sukhorukov P.A. Fruit anatomy of the genus *Anabasis* (*Salsoloideae*, *Chenopodiaceae*) // Australian Systematic Botany. Australia. – 2008. – №21(6). – P. 431-442.
- 9 Мирзадинов Р.А., Орынбекова Н. Биоргуны (*Anabasis*) в растительности Казахстана // «Российская наука в современном мире» XLVI Международная научно-практическая конференция. – М., 2022. – С. 28-30.
- 10 Сагындыкова М.С., Иманбаева А.А., Гасанова Г.Г. К изучению ресурсов лекарственных растений Атырауской области // Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология. Медицина. География». – Караганда, 2022. – № 4(108). – С. 118-125.
- 11 Shegebayev Z., Turgumbayeva A., Datkhayev U., Zhakipbekov K., Kalykova A., Kartbayeva E., Beyatli A., Tastambek K., Altynbayeva G., Dilbarkhanov B. Pharmacological Properties of Four Plant Species of the Genus *Anabasis*, *Amaranthaceae* // *Molecules*. - 2023. - №28(4454). - P.1-19.
- 12 Садыков А.С., Ашрапова Н.А. ДАН УзССР. - 1950. - №9. –17 с.
- 13 Ying Pei, Zhong Duo Yang, Jie Sheng. Chemical constituents of *Anabasis salsa* // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2014. - Vol.50, №5. – P.957-958.
- 14 Нурмаганбетов Ж.С. Нейротропные средства на основе природных алкалоидов и их производных // Фармацевтический бюллетень. - 2012. - №2–3. - С. 15-32.
- 15 Садыков С.А., Асланов Х.А., Кушмурадов Ю.К., Алкалоиды хинолизидинового ряда. Химия, стереохимия, биогенез. - М., 1975. – 655 с.
- 16 Кедик С.А., Марахова А.И. Алкалоиды: синтез, методы выделения и анализа: учебное пособие. - М., 2010. - 246 с.
- 17 Гудвин Т., Мерцер Э. Введение в биохимию растений. – М.: Мир, 1986. - Т. 2. - 308 с.

18 Байкенова Г.Г. Синтез, строение и биологическая активность новых 1,2-аминобифункциональных производных алкалоидов анабазина и сальсолидина: автореф. дис. канд. хим. наук: 02.00.04. - Алмата, 1995. - 23 с.

19 Фаустов А.С., Чубирко М.И., Бобрешова О.В., Попов В.И., Аристов И.В., Кулинцов П.И. Лизин - одна из важнейших незаменимых аминокислот в обеспечении полноценного питания. - Воронеж: Воронежский государственный университет, 2003. - 88 с.

20 Андреева А.П., Газалиев А.М. Получение штаммов продуцетов анабазина на основе *Anabasis aphylla* L. // Монография. Карагандинский государственный технический университет. - Караганда: Изд-во КарГТУ. - 2013. - 149 с.

21 Коничев А.С., Баурин П.В. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки // Вестник МГОУ. Серия естественные науки, 2011. - №3. - С.49-54.

22 Чуешов В.И., Гладух Е.В., Ляпунова О.А., Сайко И.В., Сичкарь А.А., Рубан Е.А., Крутских Т.В. Промышленная технология лекарств. Харьков, Национальный фармацевтический университет, 2010. - 208 с.

23 Адекенов С.М. Экологически чистые технологии в производстве лекарственных препаратов. // Вестник КазНУ им.Аль-Фараби. Серия химическая. - 2010. - №4(60). - С.216-220.

24 Букеева А.Б., Кудайбергенова С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ Хабаршысы - Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. - 2012. - №2. - С. 192-197.

25 Orekhov A.P. *Chimia alkaloidov*. - М.: USSR Academy of Sciences, 1955. - 828 s.

26 Shegebayev Z., Turgumbayeva A., Datkhayev U., Zhakipbekov K., Kalykova A., Kartbayeva, E., Beyatli, A., Tastambek K., Altynbayeva G., Dilbarkhanov B. Pharmacological Properties of Four Plant Species of the Genus *Anabasis*, *Amaranthaceae* // *Molecules*. - 2023. - №28(4454). - P.1-19.

27 Tileubai B.S., Akhtaeva N.Z., Mamurova A.T., Osmonali B.B., Aidosova A.A. *Anabasis aphylla* morphologicaly zhane anatomyalyk erekshelikteri // *Pharmacia Kazakhstana*. Almaty. - 2021. - №2(235) - S. 66-68.

28 Hua Dua, Ye Wang, Chen Yan, Li-Gang Zhou and Xiao-Jiang Hao. Alkaloids from *Anabasis aphylla* L. // *Journal of Asian Natural Products Research*. - 2008. - T.10, №11. - P.1093-1095.

29 Imangaliev T.A., Akilov T.K., Jalilov K.A., Adikhodzhaeva K.B., Toktibaeva K.R., Atakhanova N.A., Alpysbayeva E.T. Electrochemicheskii syntheses i biologiceskaia activnost substanci pachycarpina // *Chemicheskii nayki*. - Tashkent, 2013. - №10. - P. 2644-2648.

30 Sadykov A.S. *Chimia alkaloidov Anabasis aphylla*. - Tashkent, 1956. - 160 s.

31 Babaev B.N., Dalimov D.N., Tilyabaev Z., Tlegenov R.T. Synthesis, structure and biological properties of phosphorylated derivatives of anabasine // *Khimia Rastitelnogo Syrya*. - 2010. - №2. - P.57-62.

- 32 Рабинович М.С., Коновалов Р.А. Окисление анабазина перманганатом калия // Журнал прикладной химии. – 1949. – Т. 22. – С. 995-997.
- 33 Шевелев В.А., Банковский А.И., Ростоцкий Б.К. Получение и фармакологические свойства некоторых производных анабазина // Медицинская промышленность. – 1951. – №3. – С. 20–22.
- 34 Abbasov B., Turgunov R., Karimov B. Alkaloids of *Anabasis salsa* and their biological activity // Fitoterapia. – 2021. – №152. 104929. doi:10.1016/j.fitote.2021.104929.
- 35 Amtaghri S., Slaoui M., Eddouks M. The Genus *Anabasis*: A Review on Pharmacological and Phytochemical Properties // Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. – 2025. – №23(1). –P.11-28. <https://doi.org/10.2174/0118715257276051240111060414>
- 36 Toderich K.N., Shuyskaya E.V., Khujanazarov T.M., et al. Halophytes of the Aralkum Saline Desert - Adaptation Mechanisms and Potential Use. Springer / UNESCO. – 2015. - P. 85-87.
- 37 Boutrif O., Belyagoubi-Benhammou N., Benmahieddine A., Abbou F., Di Marco G., Agostino A. Antioxidant and in vivo anti-inflammatory properties of alkaloid-rich fractions from the aerial parts of the Algerian *Anabasis articulata* // Plant Biosystems. – 2024. – №158(6). –P.1264-1274. doi:10.1080/11263504.2024.2404429.
- 38 Hua Dua, Ye Wangb, Chen Yanb, Li-Gang Zhoua, Xiao-Jiang Haob. Alkaloids from *Anabasis aphylla* L. // Journal of Asian Natural Products Research. - 2008. - Vol. 10, № 11. – P.1093-1095.
- 39 Nurkenov O.A., Fazylov S.D., Gazaliev A.M., Nurmaganbetov Zh.S. Chinolizidine alkaloidy lupinin and cytisin. – Karaganda: Glasir, 2022. – 400 s.
- 40 Тлегенов Р.Т. Синтез новых диалкиламиноуксусных эфиров алкалоида лупинина // Химия и химическая технология. - 2007. – Т.50, Вып. 12. – С. 125-127.
- 41 Orazbekova S.O. Ecologiya rastitelnykh alkaloidov v culture kletok // Respublicanskiy nauchnyi jurnal "Vestnik Kazakhtansko-Amerikanskogo svobodnogo Universita" posvashennoi problemam ekologii, matematiki i informacionnykh tehnologii. - Ust-Kamenogorsk, 2011. Vypusk 6. – S. 92-95.
- 42 Abduvakhobov A.A., Tlegenov R.T., Khaitbaev Kh.Kh., Vaizburg G.I. Synthes slojnykh afirov lupinina I ih vsaimodeistvie s choliesterasami. // Chimia prirodnykh soedinenii. – Tashkent, 1990. - №1. – S. 75-80.
- 43 Толкачев О.Н., Шейченко О.П., Крепкова Л.В., Савина Т.А., Сидельников Н.И. Растительные препараты ВИЛАР на основе хинолизиновых, пирролизиновых, пептидных, мономерных и димерных изохинолиновых алкалоидов: химико-технологические исследования. Часть 2. Семейства Aprocynaceae, Papaveraceae, Menispermaceae, Berberidaceae // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. - 2014. - №2. - С. 4-19.
- 44 Molyneux Russell J., Gardner Dale R., James Lynn F., Colegate Steven M. Polyhydroxy alkaloids: chromatographic analysis // Journal of Chromatography A. - 2002. - Vol. 967, Iss 1. - 57 p. 47.

- 45 Разакова Д.М., Бессонова И.А., Юнусов С.Ю. // ДАН УзССР 1976. - 791 с.
- 46 Kumarasamy Y., Cox P.J., Jaspars M., Nahar L., Sarker S.D. Isolation, structure elucidation and biological activity of hederacine A and B, two unique alkaloids from *Glechoma hederaceae* // *Tetrahedron*. - 2003. - Vol. 59, Iss 34. - 6403 p.
- 47 Минаева С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. - М.: Гэотар-Мед, 2004. - 558 с.
- 48 Foucault A., Marchal L., Renault J.H., Intes O., Norrant E. Reduction of solvent consumption and intensification of the injection in Centrifugal Partition Chromatography // *GPEEPIC 2nd International Congress on Green Process Engineering 2nd European Process Intensification Conference, Venice (Italy)*. - 2009. - 156 p.
- 49 Ito Y., Conway W.D. (Eds.), *High-Speed Countercurrent Chromatography, Chemical Analysis*, vol. 132, New York, Wiley-Interscience. - 1996. - 430 p.
- 50 Hostettmann K., Marston A. Countercurrent chromatography in the preparative separation of plant-derived natural products // *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. - 2001. - Vol. 24, Iss. 11-12. - P. 1711-1721.
- 51 Yang F., Zhang T., Zhang R., Ito Y. Application of analytical and preparative high-speed counter-current chromatography for separation of alkaloids from *Coptis chinensis* Franch // *Journal of Chromatography A*. - 1998. - Vol. 829, Iss. 1-2. - 137 p.
- 52 Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste, United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology. - 2008. - 266 p.
- 53 Renmin L., Xin Ch., Ailing S., Lingyi K. Preparative isolation and purification of alkaloids from the Chinese medicinal herb *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by high-speed counter-current chromatography // *Journal of Chromatography A*. - 2005. - Vol. 1074. - P. 139-144.
- 54 Vieira M.N., Leitao S.G., Porto P.C.C., Oliveira D.R., Pinto S.C., Braz-Filho R., Leitao G.G. Application of pH-zone-refining countercurrent chromatography for the separation of indole alkaloids from *Aspidosperma rigidum* Rusby // *Journal of Chromatography A*. - 2013. - Vol. 1319. - P. 166-171.
- 55 Мукушева Г.К. Новые комбинированные производные на основе природных соединений // *Фармацевтический бюллетень*. - 2014. - №3-4. - С. 78-90.
- 56 Нуркенов О.А., Кулаков И.В., Фазылов С.Д. Синтетические трансформации алкалоида цитизин. - Караганда: Гласир, 2012. - 210 с.
- 57 Тилябаев З., Абдувахабов А.А. Алкалоиды *Anabasis aphylla* и их холинергическая активность // *Химия природ. соед.* - 1998. - №3. - С. 327-330.
- 58 Артемьев А.В., Малышева С.Ф., Гусарова Н.К., Белогорлова Н.А., Федоров С.В., Тимохин Б.В., Смирнов В.И., Трофимов Б.А. Новые

производные хинина, лупинина и анабазина дитиофосфинатными группами // Химия природ. соед. - 2012. - №3. - С. 478-482.

59 Басова Н.Е., Кормилицын Б.Н., Перчёнок А.Ю., Розенгарт Е.В., Сааков В.С., Суворов А.А. Изомерные производные лупинина и эпилупинина – фосфорорганические ингибиторы холинэстераз // Укр. биохим. журн. - 2012. - Т.84, №1. - С. 26-33.

60 Palamarchuk I.V., Ogurtsova D.N., Seilkhanov T.M., Kulakov I.V. Synthesis of N-derivatives of cytisine, anabasine and salsoline alkaloids with pharmacophore 3-aminopyridine-2(1H)-one and 5-methyl-7-phenyloxazole[5,4-b]pyridine cycles // Russian Journal of General Chemistry. – 2019. – Vol. 89, № 12. – P. 2487-2491.

61 Rostovtsev V.V., Green L.G., Fokin V.V., Sharpless K.B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes // Angew Chem Int Ed – 2002. – Vol. 41, №14. - P. 2596-2599.

62 Nurwala H., Takizawa L., Odukale A., Thibault R.J., Taft B.R., Lipshultz B.R., Hawker C.J. Synthesis and characterization of isomeric vinyl-1,2,3-triazole materials by azide-alkyne click chemistry // Macromolecules. – 2009. – Vol. 42, №16. – P. 6068-6074.

63 Li J., Zheng M., Tang W., He P.L., Zhu W., Li T., Zuo J.P., Liu H., Jiang H. Syntheses of triazole-modified zanamivir analogues via click chemistry and anti-AIV activities // Bioorg. Med. Chem. Lett. - 2006. – V.16, №19. - P. 5009-5013.

64 Bakulev V.A., Berezkina T.V. NH-1,2,3-triazoles: synthesis and reactions with electrophilic reagents // Chem Heterocycl Compd. –2016. – V.52. № 1. – P.4-6.

65 Нурмаганбетов Ж.С., Савельев В.А., Гатиллов Ю.В., Нуркенов О.А., Сейдахметова Р.Б., Шульгау З.Т., Мукушева Г.К., Фазылов С. Д., Шульц Э.Э. Синтез и анальгетическая активность 1-[(1,2,3-триазол-1-ил)метил]хинолизинов на основе алкалоида лупинина // Химия гетероциклических соединений. - 2021. - №57(9). – С. 911-919.

66 Schepetkin I.A., Nurmaganbetov Zh.S., Fazylov S.D., Nurkenov O.A., Khlebnikov A.I., Seilkhanov T.M., Kishkentaeva A.S., Shults E.E., Quinn M.T.. Inhibition of Acetylcholinesterase by Novel Lupinine Derivatives // Molecules. – 2023. - №28. –3357 p. <https://doi.org/10.3390/molecules28083357>

67 Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2014. – Т. 3. – 872 с. ISBN 9965-759-96-0.

68 Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2008. – Т. 1. – 592 с. ISBN 9965-759-97-9).

69 Самылина И.А., Сорокина А.А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. Учебное пособие. Изд.МИА. 2007. – 672 с.

70 Sukhorukov A.P. Fruit anatomy of the genus *Anabasis* (Salsoloideae, Chenopodiaceae // Australian Systematic Botany. - 2008. - №21. - P. 431–442.

71 Tacchini M., Spagnoletti A., Marieschi M. Phytochemical profile and biological activity of traditional Ayurvedic decoctions and hydro-alcoholic macerations of *Boerhaavia diffusa* L. and *Curculigo orchoides* Gaertn // Nat Prod Res. – 2015. - №29(22). – P. 2071-2079. doi:10.1080/14786419.2015.1037168

- 72 Santi K., Sengottuvel R. Qualitative and quantitative phytochemical analysis of *Moringa concanensis* Nimmo // Int J Mod Microbiol Appl Sci. – 2016. –V.5. – P.633-640.
- 73 Shaikh JR, Patil MK. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview // Int J Chem Stud. – 2020. - V.8. – P. 603-608.
- 74 Ramasubramaniam R. Pharmacognostic and phytochemical studies including GC–MS analysis of ethanolic extract of leaves of *Abutilon indicum* (Linn.). Asian J Pharm Anal. – 2011. – №1(4). – P. 88-92.
- 75 Zhenis Zh. Chemistry of natural compounds: a teaching aid. Almaty: Kazak University, 2020. – 208 p. ISBN 978-601-04-4952-7
- 76 Saeed M., Khan H., Khann M.A. Quantification of various metals and cytotoxic profile of aerial parts of *Polygonatum verticillatum* // Pak. J. Bot. - 2010. - Vol. 42, № 6. - P. 3995-4002.
- 77 Khan S.A., Khan S.B., Khan L.U., Farooq A., Akhtar K., Asiri A.M. Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application in Functional Groups and Nanomaterials Characterization // In: Sharma, S., Ed., Handbook of Materials Characterization. Springer, Cham. – 2018. –P. 317-344. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92955-2_9
- 78 Gul R., Jan S.U., Faridullah S., Sherani S., Jahan N. Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* indigenous to Balochistan // The Scientific World Journal. – 2017. 5873648. doi:10.1155/2017/5873648
- 79 Pan X., Welti R., Wang X. Quantitative analysis of major plant hormones in crude plant extracts by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry // Nature Protocols. – 2010. -№5(6). –P.986-992. doi:10.1038/nprot.2010.58
- 80 Popiołek Ł., Biernasiuk A., Malm A. Synthesis and antimicrobial activity of new 1,3-thiazolidin-4-one derivatives obtained from carboxylic acid hydrazides. Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem. – 2015. - №190. – С. 251–260.
- 81 Лабинская А.С., Блинковая Л.П., Ещина А.С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: учебное пособие. / под ред. А.С. Лабинская и др. 3-е изд., стер. - СПб.: Лань, 2020. - 608 с.
- 82 Shakeri A., Hazeri N., Vlizadeh J., Ghasemi A., Zaker Tavallaei F. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. Extracts // Kragujevac J Sci. - 2012. – V.34. - P. 71-78.
- 83 Hashem H., Al-Fattly H.H. Study of antimicrobial effect for some extracts of *Anabasis aphylla* on *Salmonella* // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2016. – V.7. – P.1938.
- 84 Навашин С.М., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия // Справочник. – М.: Медицина. - 1982. – 496 с.
- 85 Jiang L., Wang F., Han F., Prinyawiwatkul W., No H.K., Ge B. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives // Journal of Applied Microbiology. - 2013. - №114. – P. 956-963.

86 Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С. и др. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: уч. пос. - 3-е изд., стер. - СПб.: Лань, 2020. - 608 с.

87 Abolfazl Shakeri, Nourallah Hazeri, Jafar Vlizabeth, Ali Ghasemi, Fatemeh Zaker Tavallaei. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. Extracts // Kragujevac J. - 2012. - №34. - P. 71-78.

88 Онищенко Г.Г. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.12.1890-04.–2022. - 91 с. <http://docs.cntd.ru/document/1200038583>

89 Миронова А.Н., Бунатян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. Миронова и др. - М.: «Гриф и К». - 2012. – Ч.1. - 944 с.

90 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Хабриева Р.У. - М.: ОАО «Издательство «Медицина». - 2005. - 151 с.

91 Иванов И.И., Петров П.П. Исследование активности ацетилхолинэстеразы // Биохимический журнал. - 2020. - Т. 85, №4. - С.123–130.

92 Кожевников А.Ю. Галантамин как ингибитор ацетилхолинэстеразы: обзор // Журнал медицинской химии. - 2019. - Т. 12, №2. - С.45-56.

93 Zainullina L., Mirzaev R., Makhmudov N. Phytochemical studies of Central Asian halophytes // J Appl Bot Food Qual. – 2017. -№90. –P.123-131.

94 Гемеджиева Н.Г. Изучение и сохранение биоразнообразия алкалоидоносных растений Казахстана // Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биология. – Алматы, 2009. – №1(40). – С. 5-14.

95 Abdelaziz A.M, Abdel-Maksoud D., Fatima M.S., Almutairi S., Kiani B.H, Hashem A.H. *Anabasis setifera* leaf extract from arid habitat: A treasure trove of bioactive phytochemicals with potent antimicrobial, anticancer, and antioxidant properties. PLoS ONE. 2024. - №19(10). – P.1-20.

96 Nadaf M., Halimi Khalil Abad M., Gholami A., Taghavizadeh Yazdi M. E., Iriti M., & Mottaghipisheh J. Phenolic content and antioxidant activity of different Iranian populations of *Anabasis aphylla* L. Natural Product Research. - 2024. - №38(9). - P. 1606–1610. <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2150621>.

97 Иманбаева А.А., Ишмуратова М.Ю., Туякова А.Т. Изучение перспективных кормовых популяций ежовника солончакового на территории Мангышлака // Приволжский научный вестник. - 2015. - №5(45). – С.53-58.

98 Rakhimova N.K., Rakhimova T. The status of *salsolaarbusculiformis* and *Anabasis salsa* Shrub grasslands on the Ustyurt plateau in Karakalpakstan (Uzbekistan) // Arid Ecosystems. - 2022. - №12. – P. 286-295. <http://dx.doi.org/10.1134/S2079096122030106>

99 Бекишева П.Ж., Итжанова Х.И., Ишмуратова М.Ю., Нурмаганбетов Ж.С. Морфологическая характеристика сырья *Anabasis salsa* (*Chenopodiaceae*) // XI Международной научно практической конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровье сбережения». Москва, 2023. –С.18-22.

100 Itzhanova Kh.I., Bekisheva P.Zh., Ishmuratova M.Yu., Nurmaganbetov Zh.S., Serikbay A.T., Ewa Poleszak. Histochemical analysis of plant raw materials of *Anabasis salsa* growing in the territory of the central Kazakhstan // Research Journal of Pharmacy and Technology, 2024. №17 (7), - P.3334-3338. DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00521

101 Итжанова Х.И., Бекишева П.Ж., Нурмаганбетов Ж.С., Махмұтова А.С., Ногаева А.Н. *Anabasis salsa* шикізатының сапа көрсеткіштерін және технологиялық параметірлерін зерттеу// Фармация Қазақстана, 2025. -№5. – С.73-81.

102 Турганбек Ш.Б., Бекишева П.Ж., Итжанова Х.И., Садықбай А.Б., Сарсенбаева Б.К. Изучение аминокислотного состава сырья *Anabasis salsa*, произрастающего на территории Казахстана // XI Международной научно-практической конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровье сбережения». Москва, 2023. –С.92-95.

103 Gheraissa N., Chemsa A.E., Cherrada N., Ebru E., Elsharkawy E.R. *Anabasis oropediorum* Maire as a source of health-promoting: phytochemical content, in vitro antioxidant, antidiabetic, antibacterial, and anti-inflammatory potential. J Res Pharm. – 2023. -№27(5). –P.1924-1935. <http://dx.doi.org/10.29228/jrp.474>

104 Племенков В.В. Природные соединения – основной базис поиска химиотерапевтических субстанций // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы V Всероссийской научной конференции. Барнаул. - 2009. -Т. 2. -С.11-14.

105 Захарченко А.В., Базарнова Н.Г., Орлова А.С. Фитохимический анализ экстрактивных веществ, извлеченных разными методами из подземной части *Aconitum septentrionale* L., и разработка крем-гелей на их основе. Химия растительного сырья. -2022. -№4. -С.291–298. DOI: 10.14258/jcprgm.20220412151

106 Адекенов С.М., Хабаров И.А., Искаков А. Оптимизация технологии экстракции корней *Peganum harmala* L. Химия растительного сырья. -2020.-№3. -С. 279–284. DOI: 10.14258/jcprgm.2020037763

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

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

109 Левин Б.Д., Федюлин А.С. Влияние гидромодуля на выход биологически активных веществ // Вестник КрасГАУ, 2006. -№2. –С.266-269.

110 Namdar D., Mulder P.P.J., Ben-Simchon E., Nacham Y., Basheer L., Cohen O., Sternberg M., Shelef O. NewAnalytical Approach to Quinolizidine Alkaloids and Their Assumed Biosynthesis Pathways in Lupin Seeds. Toxins. - 2024. - № 16. – 163 p. <https://doi.org/10.3390/toxins16030163>

111 Min Hwang, Hae-Won Lee, Hee Min Lee, Ji-Su Yang, Hye Young Seo, Yun-Jo Chung, and Sung Hyun Kim. Cite This: Rapid and Simultaneous Quantification of Five Quinolizidine Alkaloids in *Lupinus angustifolius* L. and Its Processed Foods by UPLC–MS/MS // ACS Omega. – 2020. - №5. – P.20825–20830. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c01929>

- 112 Nakonieczna S., Susniak K., Bozhadze A., Grabarska A, Głowniak-Lipa A., Głowniak K., Kukula-Koch W. Optimized Centrifugal Partition Chromatography (CPC) Protocol for Isolation of Urease Inhibitors: Magnoflorine and Berberine from *Berberis vulgaris* Extracts. *Separations*. – 2024. - №11. – 94 p. <https://doi.org/10.3390/separations11040094>
- 113 Gawęł-Beben K., Czech K., Strzepek-Gomółka M., Czop M., Szczepanik M., Lichtarska A., Kukula-Koch W. Assessment of Cucurbita spp. Peel Extracts as Potential Sources of Active Substances for Skin Care and Dermatology// *Molecules* – 2022. -№ 27. –P. 7618. <https://doi.org/10.3390/molecules27217618>
- 114 Mohammed H.A., Ali H.M., Qureshi K.A., Alsharidah M., Kandil Y.I. Said R., Mohammed S.A. Al-Omar M.S., Rugaie O.A., Abdellatif A.A.H., et al. Comparative Phytochemical Profile and Biological Activity of Four Major Medicinal Halophytes from Qassim Flora. *Plants*. – 2021. - №10. – 2208 p. <https://doi.org/10.3390/plants10102208>
- 115 Saniia Abdykerimova, Zuriyadda Sakipova, Sylwia Nakonieczna, Wojciech Koch, Anna Biernasiuk, Aneta Grabarska, Anna Malm, Kaldanay Kozhanova, Wirginia Kukula-Koch. Superior Antioxidant Capacity of *Berberis iliensis*-HPLC-Q-TOF-MS Based Phytochemical Studies and Spectrophotometric Determinations // *Antioxidants*. - 2020. - № 9. –504 p. doi:10.3390/antiox9060504
- 116 Lasota M., Lechwar P., Kukula-Koch W., Czop M., Czech K., Gawęł-Beben K. Pulp or Peel? Comparative Analysis of the Phytochemical Content and Selected Cosmetic-Related Properties of *Annona cherimola* L., *Diospyros kaki* Thumb., *Cydonia oblonga* Mill. and *Fortunella margarita* Swingle Pulp and Peel Extracts. *Molecules*. – 2024. - №29. – 1133 p. <https://doi.org/10.3390/molecules29051133>
- 117 Nabila Belyagoubi-Benhammou, Larbi Belyagoubi, Angelo Gismondi, Gabriele Di Marco, Antonella Canini, Fawzia Atik Bekkara. GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata* // *Medicinal Chemistry Research*. - 2019. - № 28. – P. 754-767. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02332-6>
- 118 Pei Y., Yang Zh.D., Sheng J. Chemical constituents of *Anabasis salsa* // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2014. - Vol. 50, № 5. – P. 957-958.
- 119 Bekisheva P.Zh. Study of chemical composition and isolation of lupinine from aerial parts of *Anabasis salsa* growing in central Kazakhstan // *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry Research*. - 2026. – Vol.8, №2. – P. 715-728. <https://doi.org/10.48309/jmpcr.2026.519173.1667>
- 120 Hwang I.M., Lee H.W., Lee H.M., Yang J.S., Seo H.Y., Chung Y.J., Kim S.H. Rapid and simultaneous quantification of five quinolizidine alkaloids in *Lupinus angustifolius* L. and its processed foods by UPLC–MS/MS // *ACS Omega*. - 2020. – V.5, №33. – P.20825–20830. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01929>
- 121 Eugelio F., Palmieri S., Fanti F., Messuri L., Pepe A., Compagnone D., Sergi M. Development of an HPLC-MS/MS Method for the Determination of Alkaloids in Lupins. *Molecules*. - 2023. - №28. – 1531 p. <https://doi.org/10.3390/molecules28041531>

- 122 Kotland A., Chollet S., Diard C., Autret J.-M., Meucci J., Renault J.-H., Marchal L. Industrial case study on alkaloids purification by pH-zone refining centrifugal partition chromatography J. Chromatogr A. – 2016. - №1474. – P. 59–70.
- 123 Nakonieczna S., Susniak K., Bozhadze A., Grabarska A., Głowniak-Lipa, A., Głowniak K., Kukula-Koch W. Optimized Centrifugal Partition Chromatography (CPC) Protocol for Isolation of Urease Inhibitors: Magnoflorine and Berberine from *Berberis vulgaris* Extracts. Separations. – 2024. - №11. – 94 p. <https://doi.org/10.3390/separations11040094>
- 124 Hidalgo J. Mater. Environ. structural studies and spectroscopic properties of quinolizidine alkaloids (+) and (-)-Lupinine in different media // Journal of Materials and Environmental Sciences. - 2019. - №10 (9). - P.854-871.
- 125 Mironets R.V., Garazd Y.L., Garazd M.M. Synthesis of conjugates of the alkaloids cytisine and lupinine // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. - № 55. – P.1115-1118.
- 126 Aniszewski T., Alkaloids- secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance// Applications and Ecological Role. - 2007. – 455 c.
- 127 Koziol A., Kosturkiewicz Z., Podkowinska H. Structure of the alkaloid lupinine // Acta Cryst. B34. – 2018. – P.3491–3494. <https://doi.org/10.1107/S0567740878011437>
- 128 Hwang I.M., Lee H.W., Lee H.M., Yang J.S., Seo H.Y., Chung Y.J., Kim S.H., Rapid and simultaneous quantification quinolizidine alkaloids of in five *Lupinus angustifolius* L. and its processed foods by UPLC-MS/MS // ACS Omega. – 2020. -№5. – P. 20825-20830.
- 129 Gusarova N.K., Malysheva S.F., Oparina L.A., Belogorlova N.A., Tantsyrev A.P., Parshina L.N., Sukhov B.G., Tlegenov R.T., Trofimov B.A. Synthesis of novel alkaloid derivatives from vinyl ether of lupinine and pH-addends // Arkivoc. - 2009. –C.260-267.
- 130 Tasso B., Mattioli L.B., Tonelli M., Boido V., Chiarini A., Sparatore F., Budriesi R. Further quinolizidine derivatives as antiarrhythmic agents-3 // Molecules. - 2023. - №28. – 6916 p.
- 131 Нұрмағанбетов Ж.С., Нұркенов О.А., Фазылов С.Д., Ибрайбекова А.М., Хабдолда Г., Әшірбекова Б. Лупинин азидінің орынбасылған арилацетилендермен өзара әрекеттесулері // ҚазТБУ Хабаршысы. - 2024. - Т.2, №23. - Б.188-197. <https://doi.org/10.58805/kazutb.v.2.23-358>
- 132 Nurmaganbetov Z.S., Savelyev V.A., Gatilov Y.V., Nurkenov O.A., Seidakhmetova R.B., Shulgau Z.T., Mukusheva G.K., Fazylov S.D., Shults E.E. Synthesis and analgesic activity of 1-[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]quinolizines based on the alkaloid lupinine // Chem.Heterocycl.Comp. - 2021. - №5. – P.911–919.
- 133 Nurmaganbetov Z.S., Fazylov S.D., Turdybekov K.M., Nurkenov O.A., Turdybekov D.M., Mukusheva G.K., Minayeva Y.V., Khabdolda G. Synthesis and Structure of 4-substituted (1S,9aR)-1-[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]octahydro-1H-quinolysines of Lupinine / Bull. Univ. Karaganda Chem. - 2022. - №106. – P.12-22.
- 134 Айитгали Г.И., Бекишева П.Ж., Махмутова А.С., Ногаева А.Н. Синтез и прогнозирование биологической активности триазолпроизводных лупинина // Достижения и перспективы создания новых лекарственных растительных

препаратов: сборник научных статей по материалам Международного научного Симпозиума «От растения до лекарственного препарата». - М.: ФГБНУ ВИЛАР, - 2025. – С.238-242.

135 Turdybekov D., Nurmaganbetov Zh., Makhmutova A., Baev D., Gatilov Y., Pankin D., Smirnov M., Bekisheva P., Kopbalina K. Study of structural, vibrational, and molecular docking properties of (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(benzyloxy)-3-methoxyphenyl]-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl}methyl)octahydro-2*H*-quinolizine // *Molecules*. - 2026. - №31(2). –218 p. <https://doi.org/10.3390/molecules31020218>

136 Сборник законодательных и нормативных актов по фармацевтической деятельности. – Под ред. Девятко В.Н., Абдуллин К.А. – Алматы. – 1998. – С. 258-305.

137 Nurmaganbetov Zh.S., Bekisheva P.Zh., Itzhanova Kh.I., Seidakhmetova R.B., Wirginia Kukula-Koch, Tukhmetova Zh.K., Sotchenko R.K., Khabdolda G. Synthesis and technology for obtaining 1-((4-(4-(benzyloxy)-3-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)octahydro-1*H*-quinolizine // *Research Journal of Pharmacy and Technology*. - 2025. - Vol.18, №9. - P.4281-4288. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2025.00615>

138 Shakeri A., Hazeri N., Vlizadaeh J., Ghasemi A., Zaker Tavallaei F. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. Extracts // *Kragujevac J.* - 2012. - №34. - P. 71-78.

139 Патент №10483 от 27.02.2025 на полезную модель «Сортаң бұйырғын өсімдігінің этанолды экстрактын микробқа қарсы құрал ретінде қолдану».

140 Патент №10151 от 14.06.2024 на полезную модель «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі».

141 European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. EUCAST discussion document E. Dis 5.1. *Clin. Microbiol. Infect.* – 2003. - № 9. – P.1-7.

142 Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. M27-S4; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA. - 2012. – P.255-262.

143 Popiołek Ł., Biernasiuk A., Malm A. Synthesis and antimicrobial activity of new 1,3-thiazolidin-4-one derivatives obtained from carboxylic acid hydrazides // *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* - 2015. - № 190. – P. 251-260.

144 Wiegand I., Hilpert K., Hancock R.E.W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances // *Nat. Protoc.* – 2008. - №3. – P.163–175.

145 Sangadzhieva L.Ch., Bambaeva E.N., Davaeva Ts.D., Sangadzhieva O.S., Tsombueva B.V. Features of alkaloid accumulation in medicinal plants due to growing conditions and age characteristics // *Medical & pharmaceutical journal "Pulse"*. - 2020. - №22(12). – P.88-96. <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-12-88-96>

146 Al-Joufi F.A., Jan M., Zahoor M., Nazir N., Naz S., Talha M., Sadiq A., Nawaz A., Khan F.A. *Anabasis articulata* (Forssk.) Moq: A Good Source of

Phytochemicals with Antibacterial, Antioxidant, and Antidiabetic Potential. *Molecules*. - 2022. - №27. - P.3526. <https://doi.org/10.3390/molecules27113526>

147 Gheraissa N., Chems A.E, Cherrada N., Ebru E., Elsharkawy E.R. Anabasis oropediorum Maire. as a health-promoting source: Phytochemical content, in vitro antioxidant, antidiabetic, antibacterial, and anti-inflammatory potential // *Journal of Research in Pharmacy*. - 2023. – V.27. -№5. – P.1924-1935. <http://dx.doi.org/10.29228/jrp.474>

148 Патент на полезную модель №10740 «Антивирустық белсенділікке ие {1-[[[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1ил)метил]-1*H*-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоаты».

ҚОСЫМША А

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының қорларын зерттеу нәтижелері туралы есеп

УТВЕРЖДАЮ
Декан биологического факультета
КарНУ им. академика С.А. Букетова
Г. Жумина
2025 г.



ОТЧЕТ О РЕЗУЛЬТАТАХ ПРОВЕДЕННОГО РЕСУРСНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЗАПАСОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Согласно Постановлению Правительства РК №1034 от 31 октября 2006 года «Об утверждении Перечней редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений и животных» вид растения *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. Ex Volkens. не является редким и находящимся под угрозой исчезновения. Но, тем не менее, периодически обновлять данные по изучению сырьевых запасов и определению возможных объемов сбора отдельных видов, в том числе растений рода *Anabasis* L., на определенной территории Казахстана является актуальной задачей ботаники и фармакогнозии.

Цель работы: проведение ресурсного обследования запасов травы *Anabasis salsa* (ежовник солончаковый) на территории Западного, Южного и Центрального Казахстана в рамках научно-исследовательской работы PhD-докторанта Бекишевой П.Ж. по теме «*Anabasis salsa* шикізатынан лупинин алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу» по специальности 8D07201 – «Технология фармацевтического производства».

Объект обследования: трава *Anabasis salsa* (ежовник солончаковый).

Перечень обследованных районов Казахстана: горы Жельтау, урочище Сары-Булак, Атырауская область; Хребет Северный Актау, Мангистауская область; Зимовка Жамбыл, 63 км от г. Актау, не доезжая хребта Южный Актау, Мангистауская область; Окр.пос. Таушик, Мангистауская область; Северное Прибалхашье, окрестности гор Бектауата, Карагандинская область.

Методы обследования: Ресурсное обследование, а именно распространения сырья, площадь заросли и оценку урожайности (плотность сырьевых запасов), так же определение возможных объемов изъятия (сбора) сырья ежовника солончакового с учетом эксплуатационного запаса на территории Казахстана, проводили согласно методике, описанной в Приказе и.о. Министра экологии и природных ресурсов РК №103 от 30 марта 2023 года «Об утверждении Методики проведения ресурсного обследования запасов растительных ресурсов и определения лимитов их использования».

Ключевые места зарослей определяли по отношению растения к влаге: *Anabasis salsa* – полиморфное растение, не требователен к плодородию почвы и условиям увлажнения. Места обитания приурочены к глинистым засоленным участкам или каменистым суглинистым участкам.

Площадь заросли определяли, приравнивая ее очертания к геометрической фигуре (квадрату) и измеряли параметры (длину, ширину), необходимые для расчета площади этой фигуры. При не равномерном расположении растений на территории они образовали отдельные пятна в пределах растительного сообщества, вначале определяли площадь всей территории, где встречается данный вид, а затем процент площади, занятой этим видом. Эта процедура осуществляется путем прокладки на обследуемом участке серии параллельных и перпендикулярных маршрутных ходов, разбитых на равные по длине отрезки. В пределах каждого отрезка подсчитывают часть, пройденную по пятну, занятому изучаемым видом. Определение урожайности (плотности запаса сырья) Существуют различия между понятиями урожайность и плотность запаса сырья. Урожайность (плотность запаса сырья) - величина сырьевой фитомассы, полученная с единицы площади (1 м², 1 га), занятой зарослью. Реальная урожайность значительным образом варьирует в разных зарослях и зависит от многих факторов.

ҚОСЫМША Б

Anabasis salsa (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens өсімдік түрлерін сәйкестендіру туралы қорытынды

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о видовой принадлежности растительного сырья

На основании анализа представленной Бекишевой П.Ж. образцов сырья лекарственных растений подтверждаем:

Образец сырья, собранной в 3-й декаде августа 2023 года вдали от поселка Акжал (Шегский район, Карагандинская область, координаты 47°72'040" с.ш. 74°06'698" в.д.) в фазе цветения – действительно является ежовником солончаковым (*Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens.).

Зав. Кафедрой ботаники
НАО «Карагандинский национальный
исследовательский университет
имени академика Е.А. Букетова», к.б.н.

С.У. Тлеуенова

Профессор-исследователь кафедры ботаники
НАО «Карагандинский университет
национальный
исследовательский
имени академика Е.А. Букетова»,
к.б.н., профессор



М.Ю.Ишмуратова

ҚОСЫМША В

Академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды ұлттық зерттеу университетінің
биология және география факультетінің оқу үрдісіне ғылыми-зерттеу
нәтижелерін енгізу акті

Декан биологического факультета
КарНИИ им. академика Е.А. Букетова
Жумина
2025 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ НИР В УЧЕБНЫЙ ПРОЦЕСС, ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ОРГАНИЗАЦИЙ И ПРЕДПРИЯТИЙ

Мы, нижеподписавшиеся, представители кафедры ботаники биолого-географического факультета Карагандинского национального исследовательского университета имени Е.А. Букетова и представители Карагандинского медицинского университета, составили настоящий акт о том, что результаты научно-исследовательской работы PhD-докторанта Бекишевой П.Ж. по теме «*Anabasis salsa* шикізатынан лупинин алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу», проводимой в рамках запланированной диссертационной работы на соискание степени PhD по специальности 8D07201– «Технология фармацевтического производства», внедрены в учебный процесс кафедры ботаники в следующем виде:

- результаты фармакогнозического исследования лекарственного сырья *Anabasis salsa* (С. А. Mey.) Benth. ex Volkens) (ежовник солончаковый) для разработки новых фитопрепаратов и расширения ассортимента растительного сырья и лекарственных средств отечественного фармацевтического рынка используются при преподавании дисциплины «Фармакогнозия» студентам специальности 6B05102 - «Биотехнология».

Использование указанных результатов позволяет:

1. Повышение уровня подготовки специалистов в области ботаники, фармакогнозии и фитохимических исследований (для казахского и русского отделений);
2. Расширение сведения по ассортименту новых лекарственных растений Казахстана;
3. Выполнение исследований, связанных с идентификацией и описанием изученного сырья на макроскопическом и микроскопическом уровнях в соответствии с нормативными документами РК, принципами «GACP» (Надлежащая практика выращивания и сбора исходного сырья растительного происхождения) и «GMP» (Надлежащая производственная практика).

Форма внедрения: Информация о растительном сырьедурнишнике обыкновенном включена в лекционный курс, тематику лабораторных работ и СРС, методы фармакогнозического изучения сырья дурнишника обыкновенного включены в лабораторный практикум.

От НАО «Карагандинский медицинский университет»

Научные консультанты:
д.фарм.н., профессор, академик НАН РК
Х.И. Итжанова _____
к.х.н., асоц. профессор
Ж.С. Нурмаганбетов _____

Исполнитель:
PhD докторант, П.Ж. Бекишева _____

От НАО «Карагандинский национальный исследовательский университет имени академика Е.А. Букетова

Зав.кафедрой ботаники, к.б.н.
С.У. Тлеукунова _____

Профессор- исследователь кафедры ботаники, к.б.н., профессор
М.Ю.Ишмуратова _____

ҚОСЫМША Г

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының аминқышқылдар құрамын зерттеу протоколы

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
«Табиғи өнімдер мен технологияларды ғылыми-зерттеу институты» ЖШС
050046, Алматы қаласы, Абай даңғылы, 150.



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
ГОО «Научно-исследовательский институт природных продуктов и технологий»
050046, г. Алматы, Проспект Абая, 150.

«Research Institute for Natural Products & Technologies» LLP
e-mail: rinptech@gmail.com
г. Алматы, БИН 220640019870

Исх № 139 от «14» 11 2023 г.

С 27 октября 2023 года по 14 ноября 2023 года в был проведен анализ на определение влажности, зольность, аминокислот растений *Anabasis salsa*.

1. Определение влажности растительного сырья

Навеску сырья около 1 г помещают в высушенный и доведенный до постоянной массы бюкс, ставят в сушильный шкаф при температуре 100-105 °С на 30 минут. Затем бюкс охлаждают и взвешивают, и повторяют высушивание до постоянной массы (разница между двумя последними взвешиваниями не более 0,1 г). Влажность сырья (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(M - M_1)}{M} * 100$$

где,

M – первоначальная масса сырья, в г;

M₁ – масса сырья, доведенная до постоянного веса, в граммах.

2. Определение общей золы

1 г условного фитопрепарата (точная навеска) или 3 г измельченного лекарственного растительного сырья помещают в прокаленный и точно взвешенный фарфоровый, кварцевый или платиновый тигель, равномерно распределяя вещество по дну. Затем тигель осторожно нагревают на плитке, давая сначала веществу сгореть или улетучиться при возможно более низкой температуре. Сжигание оставшихся частиц угля проводят при более низкой температуре; после того как уголь сгорел почти полностью, увеличивают пламя (помещают в муфельную печь). При неполном сгорании частиц угля остаток охлаждают, смачивают водой или насыщенным раствором аммония нитрата, выпаривают на водяной бане и остаток прокалывают. В случае необходимости такую операцию проводят несколько раз. Прокаливание ведут при слабом красном калении (около 500 °С) до постоянной массы, избегая сплавления золы и спекания ее со стенками тигля. Поокончании прокалывания тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Процентное содержание общей золы X, в абсолютно сухом сырье вычисляют по формуле (2):

$$X = \frac{m * 100 * 100}{M_1 * (100 - W)}$$

где,

m – масса золы, в г;

HCl или 1n HNO₃ (второй вариант предпочтительнее) и переносят в мерную колбу на 25мл, доводят объём до метки.

Параллельно проводят холостой опыт, заключающийся в том, что готовят раствор той же концентрации из той же кислоты с применением той же посуды.

Подготовленный по вышеописанной методике образец, исследуют методом атомно-адсорбционной спектроскопии на приборе «ASSIN» фирмы «Карл Цейс».

Результаты анализа

Таблица 1

№	Наименование работы	<i>Anadasis salsa</i> , %
1	Определение влажности растительного сырья	4,7
2	Определение общей зольности	29,8

Таблица 2

Аминокислоты	Количество в растении, мг/100г	Аминокислоты	Количество в растении, мг/100г
Аланин	620	Аспаратат	1056
Глицин	195	Цистин	20
Лейцин	320	Оксипролин	2
Изолейцин	290	Фенилаланин	205
Валин	202	Тирозин	246
Глютамат	2105	Гистидин	155
Треонин	196	Орнитин	2
Пролин	425	Аргинин	344
Метионин	58	Лизин	265
Серин	318	Триптофан	62

Таблица 3

Элемент	<i>Anadasis salsa</i> , мкг/мл
Cu	0,0851
Fe	10,8834
Zn	2,0766
Ni	0,1323
Mn	3,2203
Pb	0,1994
Cd	0,0628
Ca	825,642
Mg	305,1964
K	352,0788
Na	740,0027

Генеральный директор
«НИИШПТ»:

Исполнитель:



Ж. Нурдан

Ж. Асжигитова

ҚОСЫМША Д

Anabasis salsa (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens өсімдік шикізатының «Радиациялық қауіпсіздікті қамтамасыз етудің санитарлы-эпидемиологиялық талаптары»

 KZ.T.10.0716 TESTING	МООА1G6 Қарағанды қаласы Лобода көшесі 40 құрылыс БСН 920 540 000 504 БСК HSBKKZKX АҚ КХБ KZ 726 010 191 000 015 428 Тел.: 8 7212 42 56 17 info@ecoexpert.kz		МООА1G6 г. Қарағанды улица Лободы, строение 40 БИН 920 540 000 504 БИК HSBKKZKX АО НБК KZ 726 010 191 000 015 428 Тел.: 8 7212 42 56 17 info@ecoexpert.kz
--	--	--	---

Аттестат аккредитации № KZ.T.10.0716 от 11.05.2020 г.

Ф-ДПиц/ЭЭ-7.8-03-С.01

ПРОТОКОЛ РАДИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ № 785

от «02» декабря 2024 г.

Всего листов 1
Лист 1

Заявка	от 25.11.2024г.
Наименование продукции	Растительное сырье <i>Anabasis salsa</i>
Заявитель образцов продукции	ф.л. Бекишева П.Ж
Дата поступления образцов	25.11.2024г.
Регистрационный номер	761
Дата проведения испытаний	28.11.2024г.
НД на испытываемую продукцию	ГН «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности», КР ДСМ-71 от 02.08.2022 г.,
Вид испытаний	Контрольные
Условия проведения испытаний	температура 21°С; влажность 50%

Наименование показателей, Единица измерения	НД на методы испытаний	Нормы по НД	Фактически полученные данные
1	2	3	4
Содержание Cs-137 Бк/кг	МИА KZ.07.00.03126-2015	400 Бк/кг	<1,2
Содержание Sr-90 Бк/кг	МИА KZ.07.00.03125-2015	200 Бк/кг	<11

Протокол распространяется только на образцы, подвергнутые испытаниям.

Начальник ИЦ - ответственный за подготовку протокола испытаний	 П.С. Тимошенко
Исполнитель	 А.К. Мукашев

Ответственность за отбор проб и их представительность несет заказчик
Запрещается полная или частичная перепечатка протокола без разрешения
Испытательного Центра

ҚОСЫМША Е

«*Anabasis salsa* (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens, шөбі»
арналған нормативтік құжат жобасы

**УТВЕРЖДЕН**
Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
2015 г.

СОГЛАСОВАН
РГП на ПВХ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК
МЗ РК _____
« _____ » _____ 20__ г.

ПРИКАЗ
РГУ «Комитет медицинского и
фармацевтического контроля МЗ РК»
от « _____ » _____ 20__ г.
№ _____

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственного растительного сырья:

Anabasis salsa herba

Сортаң бұйырғын шөбі

Ежовник солончаковый трава

Название производящего растения:

Anabasis salsa (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens

Сортаң бұйырғын

Ежовник солончаковый

Название семейства:

Chenopodiaceae Vent.

Алабұталар

Маревые

Время сбора или фаза вегетации: фаза плодоношения

Форма: лекарственное растительное сырье

Наименование и страна организации-производителя:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного удостоверения:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Область применения: исходное сырье для получения алкалоидов

НД РК № _____

вводится впервые

Срок введения установлен с

« _____ » _____ 202__ г.

Срок действия

до « _____ » _____ 202__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА НЕ РАЗРЕШАЕТСЯ

ҚОСЫМША Ж

Report about the work of a scientific internship

In the period from 06/05/2024 to 25/05/2024, Bekisheva Pernesh Zhaidarbekovna, a second-year doctoral student in the specialty "Pharmaceutical Production Technology" of the NJSC "Medical University of Karaganda", underwent an internship at the Medical University in Lublin (Poland) in the Department of Pharmacognosy under the guidance of a foreign scientific consultant, prof. dr. Wirginia Kukuła-Koch and dr. Małgorzata Kozyra.

Doctoral student Bekisheva P.Zh. at the Department of Pharmacognosy, together with a foreign scientific consultant, they developed a method for isolating the alkaloids lupinine and anabasin using centrifugal preparative chromatography (CPC). Thanks to the application of this method, high purity alkaloids were obtained from the *Anabasis salsa* plant material extract using specially developed protocols.

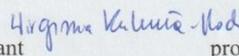
Selected solvent systems were prepared in a separatory funnel. The introduced extract (600 mg) was dissolved in the minimum possible volume of a 50:50 (v/v) mixture of the upper and lower phases. Fractionation was performed using a CPC equipped with a 250 mL stainless steel column, UV detector and fraction collector (Spot CPC, Armen, Sainte-Avenue, France). All fractions were collected by monitoring UV absorbance at 254, 280, 320 and 365 nm. After analysis, fractions were filtered, evaporated to dryness using an Eppendorf Concentrator Plus evaporator (Hamburg, Germany), redissolved in methanol, and subjected to HPLC-MS analysis.

The qualitative composition of natural compounds of aqueous-alcoholic extracts was carried out using the method of percolation and maceration using high-performance liquid chromatography in combination with mass spectrometry (HPLC-MS). Alkaloids were identified based on high-resolution mass analysis, retention time, and fragmentation patterns from literature data using the Agilent Technologies program MassHunter Workstation.

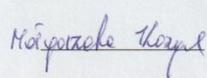
At the Department of Microbiology, studies of *Anabasis salsa* extracts for antibacterial and antifungal activity were carried out.

Thus, *Anabasis salsa* samples collected in Kazakhstan were assessed. This is the first large-scale study on extracts of the Kazakh species. An analysis of the chemical composition showed the presence of alkaloids and polyphenolic compounds from this type of raw material, which requires further research. The extracts studied showed good activity against gram-positive bacteria and fungal species.

Doctoral student  Bekisheva P.Zh.

Foreign scientific consultant  prof. dr. Wirginia Kukuła-Koch

prof. dr hab. n. farm,
Wirginia Kukuła-Koch

 dr. Małgorzata Kozyra

dr n. farm. Małgorzata Kozyra

profesor UM

ҚОСЫМША И

Қарағанды медицина университетінің, фармация Мектебінің оқу үрдісіне ғылыми-зерттеу нәтижелерін енгізу акті

Ф КМУ 6-03/01

И.о. декана Школы фармации
НАО «Қарагандинский медицинский университет»
А.А. Шахабаева

« 12 »

07
ШКОЛА 2026г.

ФАРМАЦИЯ

Акт внедрения

результатов научно-исследовательских работ в учебный процесс

Школы фармации НАО «Қарагандинский медицинский университет»

1. **Наименование научно-исследовательских работ:** Результаты научно-исследовательской работы на тему «*Anabasis salsa* шикізатынан лупинин алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу», проводимой в рамках диссертационной работы Бекишевой П.Ж. на соискание степени PhD по специальности 8D07201 – «Технология фармацевтического производства».

2. **Краткая аннотация:** в учебный процесс Школы фармации НАО «Қарагандинский медицинский университет» внедрены результаты работы по дисциплине «Технология фармацевтического производства» для студентов образовательных программ 6В10103 «Фармация» и 6В07201 «Технология фармацевтического производства» в раздел: «Технология получения экстрактов из растительного сырья», «Химия природных соединений», «Общие методы исследования и анализ лекарственных средств».

3. **Эффект от внедрения** (экономический, социальный, экологический), подчеркнуть область эффекта: Повышение уровня подготовки специалистов в области технологии фармацевтического производства, фармации и фитохимических исследований;

Разработка оптимальной технологии получения экстракта из растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А.Мей) Benth. ex Volkens:

- сбор, сушка и хранение растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А.Мей) Benth. ex Volkens;

- морфологическое, анатомическое и гистохимическое исследование растительного сырья

Anabasis salsa (С.А.Мей) Benth. ex Volkens;

- определение химического состава современными физико-химическими методами;

- составление нормативного документа;

- экстракция методами мацерации, перколяции;

- статистическая обработка и сравнение результатов экстракции;

- разработка оптимальной технологии экстракции;

- оценка качества полученного экстракта.

4. **Место и дата внедрения:** Школа фармации НАО «КМУ», 2025-2026 учебный год.

5. **Форма внедрения:** Информация о данном виде растительного сырья включена в лекционный курс, тематику СРС, методы экстракции растительного сырья включены в лабораторный практикум.

Материалы к настоящему акту рассмотрены на заседании Совета школы фармации (протокол № 1 от «12» 07 2026г.)

Представители заявители,
внедрившие результаты научно-
исследовательских работ

Представители организации в которую
внедряются результаты научно-
исследовательских работ

Д.фарм.н., ассоциированный профессор
Итжанова Х.И.

Председатель комиссии по обеспечению
качества Школы фармации
Исабаева М.Б.

К.х.н., ассоциированный профессор
Нурмаганбетов Ж.С.

Руководитель образовательной программы
«Технология фармацевтического производства»
Власова Л.М.

Докторант PhD
Бекишева П.Ж.

Руководитель образовательной программы
«Фармация»
Лосева И.В.



ҚОСЫМША К

«Сортаң бұйырғынның қою экстракт» субстанциясына арналған нормативтік құжат жобасы

УТВЕРЖДЕН
Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
«10» 2025г.



СОГЛАСОВАН

РГП на ПВХ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК
МЗ РК _____
« _____ » _____ 20__ г.

ПРИКАЗ

РГУ «Комитет медицинского и
фармацевтического контроля МЗ РК»
от « _____ » _____ 20__ г.
№ _____

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственной субстанции:

Anabasis salsa extractum spissum

Сортаң бұйырғынның қою экстрактысы

Ежовника солончакового экстракт густой

Международное непатентованное наименование:

Anabasis salsa (С. А. Mey.) Benth. ex Volkens (Ежовник солончаковый)

Форма: экстракт густой

Наименование и страна организации-производителя:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного удостоверения:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

НД РК № _____

Срок введения установлен с

« ____ » _____ 202__ г

вводится впервые

Срок действия

до « ____ » _____ 202__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА НЕ РАЗРЕШАЕТСЯ

ҚОСЫМША Л

«Лупинин субстанциясы» арналған нормативтік құжат жобасы

УТВЕРЖДЕН
Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
2025 г.



СОГЛАСОВАН
РГП на ПВХ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК
МЗ РК _____
« _____ » _____ 20__ г.

ПРИКАЗ
РГУ «Комитет медицинского и
фармацевтического контроля МЗ РК»
от « _____ » _____ 20__ г.
№ _____

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственной субстанции:

Lupinin substance
Лупинин субстанциясы
Лупинин субстанция

Международное непатентованное наименование:

Lupinin (лупинин)

Форма: субстанция

Наименование и страна организации-производителя:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного удостоверения:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Область применения: для приготовления лекарственных препаратов

НД РК № _____	Срок введения установлен с « _____ » _____ 202__ г.
Вводится впервые	Срок действия до « _____ » _____ 202__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА НЕ РАЗРЕШАЕТСЯ

ҚОСЫМША М

«Lup-43 субстанциясы» арналған нормативтік құжат жобасы

УТВЕРЖДЕН
Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
2025 г.



СОГЛАСОВАН
РГП на ПВХ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК
МЗ РК _____
« _____ » _____ 20__ г.

ПРИКАЗ
РГУ «Комитет медицинского и
фармацевтического контроля МЗ РК»
от « _____ » _____ 20__ г.
№ _____

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственной субстанции:

Lup-43 substance
Lup-43 субстанциясы
Lup-43 субстанция

Международное непатентованное наименование:

(1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-триазол-1-ил}метил)октагидро-2*H*-хинолизин

Форма: субстанция

Наименование и страна организации-производителя:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного удостоверения:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Область применения: для приготовления лекарственных препаратов

НД РК № _____ Срок введения установлен с
« _____ » _____ 202__ г.

Вводится впервые Срок действия
до « _____ » _____ 202__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА НЕ РАЗРЕШАЕТСЯ

«Lup-41 субстанциясы» арналған нормативтік құжат жобасы

УТВЕРЖДЕН
Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
10 2025 г.



СОГЛАСОВАН
РГП на ПВХ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК
МЗ РК _____
« _____ » _____ 20__ г.

ПРИКАЗ
РГУ «Комитет медицинского и
фармацевтического контроля МЗ РК»
от « _____ » _____ 20__ г.
№ _____

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Наименование лекарственной субстанции:

Lup-41 substance
Lup-41 субстанциясы
Lup-41 субстанция

Международное непатентованное наименование:

{1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил}метил-3-*трет*-
бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат

Форма: субстанция

Наименование и страна организации-производителя:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного удостоверения:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Наименование и страна организации-упаковщика:

НАО «Карагандинский медицинский университет», Караганда, Казахстан

Область применения: для приготовления лекарственных препаратов

НД РК № _____ Срок введения установлен с
« _____ » _____ 202__ г

Вводится впервые Срок действия
до « _____ » _____ 202__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА НЕ РАЗРЕШАЕТСЯ

ҚОСЫМША Н

«Lup-43 субстанциясын алу» арналған зертханалық регламенті

Для служебного использования. Экз. № _____

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«КАРАГАНДИНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УТВЕРЖДЕН

Председатель Правления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»

Б.Н. Кошерава

2025 г.



ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ
на получения субстанции
«Lup-43»

Срок действия регламента до «07» 10 2024.

Караганда 20__ г.

«Lip-41 субстанциясын алу» арналған зертханалық регламенті

Для служебного использования. Экз. № ___

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«КАРАГАНДИНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УТВЕРЖДЕН
Председатель Управления – Ректор
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Б.Н. Кошера
«07» 10 2025 г.



ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ
на получения субстанции
«Lip-41»

Срок действия регламента до «07» 10 2025 г.

Караганда 20__ г.

ҚОСЫМША П

Қарағанды медицина университетінің, фармация Мектебінің оқу үрдісіне ғылыми-зерттеу нәтижелерін енгізу акті

Ф КМУ 6-03/01

И.о. декана Школы фармации
НАО «Қарағанды медицина университеті»
А.А. Исабаева

« 12 » 01 2026 г.



Акт внедрения

результатов научно-исследовательских работ в учебный процесс
Школы фармации НАО «Қарағанды медицина университеті»

1. Наименование научно-исследовательских работ: Результаты научно-исследовательской работы на тему «*Anabasis salsa* шикізатынан лупинин алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу», проводимой в рамках диссертационной работы Бекишевой П.Ж. на соискание степени PhD по специальности 8D07201 – «Технология фармацевтического производства».

2. Краткая аннотация: в учебный процесс Школы фармации НАО «Қарағанды медицина университеті» внедрены результаты работы по дисциплине «Технология фармацевтического производства» для студентов образовательных программ 6B10103 «Фармация» и 6B07201 «Технология фармацевтического производства» в раздел: «Контроль качества лекарственных средств», «Химия природных соединений», «Химия и технология синтетических лекарственных веществ».

3. Эффект от внедрения (экономический, социальный, экологический), подчеркнуть область эффекта: Повышение уровня подготовки специалистов в области технологии фармацевтического производства, фармации и фитохимических исследований;

Разработка оптимальной технологии получения субстанции Lur-41 из хинолизидинового алкалоида лупинина:

- целенаправленная модификация на основе молекулы лупинина, позволяющая получить субстанцию {1-(((1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоата (Lur-41) обладающей антивирусной активностью;
- установление структуры молекулы современными физико-химическими методами;
- разработка оптимальной технологии синтеза;
- оценка качества полученной субстанции;
- составление нормативного документа на субстанцию.

4. Место и дата внедрения: Школа фармации НАО «КМУ», 2025-2026 учебный год.

5. Форма внедрения: Информация о субстанции лупинина и его производному включены в лекционный курс, тематику СРС, методы синтеза включены в лабораторный практикум.

Охраноспособность объекта: Патент РК на полезную модель №10740 «{1-(((1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат, обладающий антивирусной активностью» зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан.

Материалы к настоящему акту рассмотрены на заседании Совета школы фармации (протокол № 1 от « 12 » 01 2026 г.)

Представители заявители,
внедрившие результаты научно-
исследовательских работ
Д.фарм.н., ассоциированный профессор
Итжанова Х.И.

К.х.н., ассоциированный профессор
Нурмаганбетов Ж.С.

Докторант PhD
Бекишева П.Ж.

Представители организации в которую
внедряются результаты научно-
исследовательских работ
Председатель комиссии по обеспечению
качества Школы фармации
Исабаева М.Б.

Руководитель образовательной программы
«Технология фармацевтического производства»
Власова Л.М.

Руководитель образовательной программы
«Фармация»
Тосева И.В.



ҚОСЫМША Р

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens қою экстрактының микробқа қарсы және зеңге қарсы белсенділігінің сынақ есебі

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной и клинической работе
НАО «Медицинский университет Караганды»
Тургунов Е.М.
«31» 01 2024 г.


АКТ

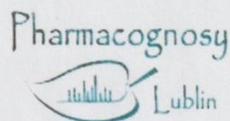
испытаний на антибактериальную, противогрибковую активности,
выполненных на базе кафедры биомедицины в учебной микробиологической
лаборатории НАО «Медицинский университет Караганды»

Объекты исследований: водные (AS-водн-К, AS-водн-Н) и спирто-водные экстракты растительного сырья *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens (AS-70, AS-90t, AS-90, AS-K-90).

Цель работы: изучить антибактериальную и противогрибковую активности экстрактов AS на противобактериальную и противогрибковую активность.

Материал и методы исследований:
Метод тестирования антибактериальной и противогрибковой активности – метод диффузии в агар с тестт-культурами: *S. aureus* 1518; *B. subtilis* 6633; *E. coli* 0524; *C. albicans* 0475 [1, 2].
Препараты сравнения - бензилпенициллина натриевая соль для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*.
В качестве контроля использовали дистиллированную воду, ГОСТ 6706-72, спирто-водные растворы 70% (729 мл спирта 96%, вода дист. до 1 л) и 90% (937 мл спирта, вода дист. до 1 л). Этиловый спирт 96%, ГОСТ 5962-2013, ТОО «Фармация 2010», РК, Карагандинская обл., г.Караганда, р-н им. Казыбек Би, ул. Чкалова, стр. 7А.
Питательные среды для культивирования бактерий:
Питательный агар (Nutrient agar): это универсальная среда, содержащая питательные вещества, минеральные соли и агар-агар (желатиноподобное вещество, которое придаёт среде желатиновую консистенцию). Она обеспечивает хороший рост большинства бактерий ссылка.
Среда Luria-Bertani agar (LB agar): это богатая питательная среда, содержащая пептиды, глюкозу, минеральные соли и агар-агар. Она широко используется для культивирования различных штаммов бактерий, таких как *E. coli*.
Питательные среды для выращивания грибов:
Сабуро-агар (Sabouraud agar): это среда, разработанная специально для выращивания грибов и дрожжей. Она содержит глюкозу, пептоны, агар-агар и антимикробные вещества, которые подавляют рост бактерий и способствуют росту грибов.
Разведение и дозировка:
Испытуемые образцы экстрактов *Anabasis salsa* (далее *A. salsa*) были в виде концентрированных растворов, в дозировке 1 мкг [3, 4]. Концентрация для препаратов сравнения составляло 1000 мкг. Разведение было выполнено с использованием водного раствора.
Разведение производилось, в соотношении 1:1000.
Стерилизация:
Стерилизация выполнена с помощью автоклавирования при давлении 2 атмосферы при температуре 132⁰С в течение 30 минут.
Метод определения противобактериальной активности:
Дисковая диффузия: на питательную среду наносятся диски с испытуемыми веществами, затем на диски наносятся тестовые организмы. Для сравнения эффективности используются диски с нистатином для гриба *C. albicans* при различных дозировках, а

Anabasis salsa (C.A. Mey.) Benth. ex Volkens қою экстрактының микробқа қарсы белсенділігінің сынақ есебі



Department of Pharmacognosy with Medicinal Plants Garden
 Medicinal University of Lublin
 1, Chodzki str, 20-093 LUBLIN
 tel. + 48 81 4487080
 e-mail: wirginia.kukula-koch@umlub.pl

Antimicrobial activity
 of extracts of *Anabasis salsa* (C. A. Mey.) Benth. ex Volkens)

Gram-Positive Bacteria	AS-90P		AS-90t		AS-70P		AS-70t		AS-K90		AS-90tP		Lup	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC								
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	10	5	5	10	70	20	5	>20	-	20	20	5	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC BA 1707	10	20	5	5	10	20	1.25	2.5	>20	-	20	20	10	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	10	10	5	5	5	5	0.625	2.5	>20	-	20	20	5	10
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240	10	20	0.625	2.5	5	20	5	20	>20	-	5	10	5	5
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10826	10	>20	5	>20	10	>20	10	>20	>20	-	>20	>20	5	20
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2.5	>20	5	>20	10	>20	10	>20	>20	-	>20	>20	5	10
Gram-negative bacteria														
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	20	20	10	20	20	20	10	10	>20	-	10	10	5	>20
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	20	10	20	20	20	20	20	-	-	20	20	5	>20
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	20	20	5	20	20	20	10	20	-	-	20	20	5	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	5	5	5	20	10	10	1.25	2.5	-	-	20	>20	5	>20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20	20	10	20	10	10	10	10	-	-	10	20	2.5	20
Yeasts														
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	>20	>20	10	20	20	20	10	20	2.5	20	10	20	2.5	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 102231	>20	>20	5	20	10	20	10	20	1.5	10	10	10	2.5	5
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	>20	>20	1.5	20	10	20	10	10	5	10	5	10	0.015	2.5

Table Legend: *values of MIC, MBC and MFS were expressed as mg/ml.

Wirginia Kukula-Koch
 Professor Department of Pharmacognosy,
 Medical University of Lublin

Wirginia Kukula-Koch
 DEPARTMENT OF PHARMACOGNOSY
 WITH THE MEDICINAL PLANT GARDEN
 MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN
 1 Chodzki str., 20-093 Lublin, POLAND
 tel. +48 81 448 7080

ҚОСЫМША С

№10151 «Микробқа қарсы белсенділігі бар сортаң бұйырғын (*Anabasis salsa*) өсімдігінің экстрактін алу тәсілі» пайдалы моделіне патент алынды



№10483 «Сортаң бұйырғын өсімдігінің этанолды экстрактын микробқа қарсы құрал ретінде қолдану» пайдалы моделіне патент алынды



№10740 «Антивирустық белсенділікке ие {1-(((1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-ил)метил]-1H-1,2,3-үшазол-4-ил} метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат» пайдалы моделіне патент алынды



ҚОСЫМША Т

Жергілікті этика комитетін бекіту 2024 жылғы 19 маусымдағы №9 отырыс хаттамасы

ЛОКАЛЬНАЯ КОМИССИЯ ПО БИОЭТИКЕ
НАО «МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ КАРАГАНДЫ»

100000, Караганда қаласы, Гоголь көшесі, 40
E-mail: lkbnaomuk@gmail.com

100000, город Караганда, улица Гоголь, 40
E-mail: lkbnaomuk@gmail.com

Письмо-заклучение ЛКБ НАО МУК
По заявке Бекишевой П. Ж.
(присвоенный №43 от 06.06.2024 г.)

Выписка из протокола № 9
Заседания Локальной Комиссии по биоэтике
при Медицинском университете Караганда
от 19 июня 2024 года

г. Караганда, НАО «Медицинский университет Караганда»
Председатель заседания: Вистерничан Ольга Александровна.

Повестка заседания

Рассмотрение первичной заявки на проведение исследования по протоколу «Разработка технологии получения субстанции на основе алкалоида лупинина из сырья *Anabasis salsa*».

Спонсор исследования – *отсутствует*

Главный исследователь: Бекишева Пернеш Жайдарбековна докторант, «8D07201»
«Технология фармацевтического производства».

Руководители исследования: Итжанова Х. И., профессор школы фармации, д.ф.н., член-корр. НАН РК.
Нурмаганбетов Ж. С., ассоц. Профессор школы фармации к.х.н.

Слушали: Заключение эксперта по этической экспертизе касательно предоставленных документов.

Для рассмотрения представлены следующие документы:

1. Заявление на этическое одобрение;
2. Заявка на первичную экспертизу (версия 1 от 06.06.2024 г.);
3. Протокол исследования (версия 1 от 06.06.2024 г.);
4. Декларация о конфликте интересов главного исследователя (версия 1 от 06.06.2024 г.);
5. Заявление по животным (CV) (версия 1 от 06.06.2024 г.);
6. Резюме исследователя (CV) (версия 1 от 06.06.2024 г.);

7. Формы по оценке.

Заключение

Одобрить проведение клинического исследования по протоколу «**Разработка технологии получения субстанции на основе алкалоида лупинина из сырья Anabasis salsa**».

Спонсор исследования – *отсутствует*

Главный исследователь: Бекишева Пернеш Жайдарбековна докторант, «8D07201» «Технология фармацевтического производства».

Руководители исследования: Итжанова Х. И., профессор школы фармации, д.ф.н., член-корр. НАН РК.
Нурмаганбетов Ж. С., ассоц. Профессор школы фармации к.х.н.

База исследования:

НАО «Карагандинский Медицинский университет», г. Караганда, ул. Гоголя, 40

Спонсор исследования – *отсутствует*

Представлять промежуточные отчеты каждые 12 месяцев с момента начала исследования, а также заключительный отчет после завершения исследования.

Заявитель – Бекишева Пернеш Жайдарбековна

Председатель



О. А. Вистерничан

Дата: 19.06.2024 г.

ҚОСЫМША У

Лупинин мен оның туындысының жедел уыттылық сынағының есебі

«Утверждаю»

Проректор по научной и клинической работе
НАО «Медицинский университет Караганды», д.м.н.

Гургунов Е.М.

2024г.



АКТ

Изучение острой токсичности образца LupP

Цель - изучение острой токсичности образца LupP.

Материалы и методы исследования.

Эксперименты поставлены в соответствии с требованиями по изучению новых фармакологических веществ [Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Москва, 2000]. В экспериментах использованы беспородные белые мыши. Животные находились на обычном рационе вивария. Каждая группа состояла из 6 животных, всего исследовано 24 мышей. Контрольные и опытные животные находились в аналогичных условиях и имели одинаковую исходную среднюю массу, контролируемую еженедельным взвешиванием для коррекции вводимой дозы вещества.

Опыты выполняли, соблюдая необходимые правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. Исследуемое вещество вводили животным внутривенно однократно, в дозе 500 мг/кг, 1500 мг/кг, 2500 мг/кг (по 6 животных в каждой опытной группе). Контролем служили животные, получавшие, в эквивалентном объеме внутривенно дистиллированную воду, которую использовали в качестве растворителя.

Содержание животных соблюдалось в полном соответствии с санитарными нормами, с постоянным доступом к пище и воде. За 24 часа до введения испытуемого вещества, животных лишали доступа к пище. После введения исследуемого образца животные получали доступ к пище через 6 часов.

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности составляет 14 суток. В первый день после введения препарата животные находились под непрерывным наблюдением. Регулярно фиксировали общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, динамику массы тела и изменение массы внутренних органов.

Для оценки биохимического показателя крови провели определение в сыворотке крови лабораторных мышей комплекса наиболее информативных показателей активности ключевых ферментов метаболизма – общего белка, мочевины, холестерина, глюкозы, билирубина общего и связанного, активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) (таблица 4). Для определения биохимического показателя крови использовали анализатор URIT-800 vet.

Данные обрабатывались традиционными методами вариационной статистики и отображались как среднее арифметическое (M) и его стандартная ошибка (t). Статистическая обработка результатов исследования оценивалась по параметрической статистике, критерию Стьюдента достоверности, а также

ҚОСЫМША Ф

Лупинин, Lup-43, Lup-41 субстанцияларының микробқа қарсы және зенге қарсы белсенділігін сынау актісі

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной и клинической работе
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Тургунов Е.М.
«18» 05 2025 г


АКТ

испытаний на антибактериальную, противогрибковую активности,
выполненных на базе кафедры биомедицины в учебной микробиологической
лаборатории НАО «Карагандинский медицинский университет»

Объекты исследований:
Lup – лупинин.
Lup-N – азидпроизводное лупинина.
Lup-P – 1-(2-(1-(октагидро-хинолизин-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-илметил-2,3,4,5,6-гексагидро-(2,3')бипиридинил-10.
Lup-41 – 1-(1-(октагидро-1H-хинолизин-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил-3-(трет-бутил)-5-этил-2-гидроксibenзоат.
Lup-43 – 1-(4-(4-(бензилокси)-3-метоксифенил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)метил октагидро-1H-хинолизин.

Задача исследования: Оценить антимикробную активность 5-и образцов лупининов в отношении к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и к дрожжевому грибку *Candida albicans* методом диффузии в агар (лунок) [Навашин, С.М. Рациональная антибиотикотерапия / С.М. Навашин, И.П. Фомина // Справочник.– М.: Медицина.- 1982.– 496 с.].

Материал и методы исследований:
Объектами исследования были новые производные лупинина.
Метод тестирования антибактериальной и противогрибковой активности – метод диффузии в агар с тестт-культурами: *S. aureus* ATCC 6538; *B. subtilis* ATCC 6633; *E. coli* ATCC 25922; *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231 [ГФ Республики Казахстан. Т.1. Алматы: Изд.дом «Жібек жолы», 2008. 592 с.; Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: уч. пос./ А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, А.С. Ещина и др.- 3-е изд., стер. - СПб.: Лань, 2020. - 608 с].

В качестве препарата сравнения использовали диски с бензилпенициллином для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*. В качестве контроля использовали дистиллированную воду, ГОСТ 6706-72, спирто-водный раствор 90% (937 мл спирта, вода дист. до 1 л). Этиловый спирт 96%, ГОСТ 5962-2013, ТОО «Фармация 2010», РК, Карагандинская обл., г.Караганда, р-н им. Казыбек Би, ул. Чкалова, стр. 7А.

Питательные среды для культивирования бактерий:
Питательный агар (Nutrient agar): это универсальная среда, содержащая питательные вещества, минеральные соли и агар-агар (желатиноподобное вещество, которое придаёт среде желатиновую консистенцию). Она обеспечивает хороший рост большинства бактерий ссылка.
Среда Luria-Bertani agar (LB agar): это богатая питательная среда, содержащая пептиды, глюкозу, минеральные соли и агар-агар. Она широко используется для культивирования различных штаммов бактерий, таких как *E. coli*.

Питательные среды для выращивания грибов:
Сабуро-агар (Sabouraud agar): это среда, разработанная специально для выращивания грибов и дрожжей. Она содержит глюкозу, пептоны, агар-агар и антимикробные вещества, которые подавляют рост бактерий и способствуют росту грибов.

ҚОСЫМША Х

Лупинин, Lup-43 субстанцияларының АЦХ тежеу белсенділігін сынау актісі

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной работе
НАО «Карагандинский медицинский университет»
Клюев Д.А.
«02» 10 2015 г.



АКТ

результатов выполненных работ по определению ацетилхолинэстеразной активности выполненных на базе кафедры биомедицины в учебной микробиологической лаборатории НАО «Карагандинский медицинский университет»

Объекты исследования:

- Lup – лупинин.
- Lup-43 – (1S,9aR)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил} метил)октагидро-2H-хинолизин.

Цель работы:

Оценка антихолинэстеразной активности образцов алкалоидов.

Материалы и методы:

Исследование активности ацетилхолинэстеразы (AChE) проводилось *in vitro* с использованием стандартного метода Эллмана [Ellman G.L., 1961]. Эксперимент проводился в учебной микробиологической лаборатории на базе кафедры микробиологии НАО «Карагандинский медицинский университет».

Препараты и реагенты:

- Ацетилхолинэстераза (Sigma-Aldrich, США), концентрация 3,2 ЕД/л.
- Галантамин (Tocris Bioscience, США), используемый как стандартный ингибитор.
- Набор для скрининга ингибиторов ацетилхолинэстеразы (Sigma-Aldrich, США).
- 5,5'-дитиобис-2-нитробензойная кислота (DTNB) (реактив Эллмана) (Sigma-Aldrich, США).
- Ацетилхолин хлорид (Sigma-Aldrich, США).
- Калий-фосфатный буферный раствор (pH 7,4).

Приготовление растворов:

Лупинин (Lup) и его 1,2,3-триазолпроизводное (Lup-43) в количестве по 5 мг растворяли в смеси ледяной уксусной кислоты и воды (1:15) в мерной колбе объемом 25 мл. Доводили до метки очищенной водой.

Для получения рабочего раствора с концентрацией 1 мг/мл аликвоту маточного раствора (5 мл) переносили в мерную колбу объемом 100 мл и доводили до метки очищенной водой.

Далее готовили двухкратные разведения рабочего раствора с конечными концентрациями 0,5 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,125 мг/мл, 0,0625 мг/мл и 0,03125 мг/мл. Аналогично готовили контрольный раствор (галантамина) с концентрацией 0,5 мг/мл для использования в качестве контроля.

Ход исследования:

1. Подготовленную смесь ацетилхолинэстеразы (20 мкл) (3,2 ЕД/л) добавляют в микропланшет.
2. В каждую лунку добавляют 25 мкл раствора исследуемого алкалоида (двукратные разведения) или галантамина, а также 25 мкл калий-фосфатного буферного раствора (pH 7,4), доводя объем до 300 мкл.
3. Инкубируют смесь при 37°C в течение 15-20 минут.
4. Реакцию начинают с добавлением 25 мкл ацетилхолина хлорида (0,02 М) и 25 мкл 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты (DTNB) (0,02 М).

ҚОСЫМША Ц

Сур-41 субстанциясының вирусқа қарсы белсенділігін зерттеу туралы есеп

ТОО «НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР МИКРОБИОЛОГИИ И
ВИРУСОЛОГИИ»

УДК 619:616-07



ПРОВЕРЖАЮ
М. директора по научной работе, к.б.н.
Баймаханова Б.Б.
2022г.

ОТЧЕТ
По договору

по теме:
«ИЗУЧЕНИЕ 8 ОБРАЗЦОВ СОЕДИНЕНИЙ НА НАЛИЧИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ
АКТИВНОСТИ».
(годовой)

Научный руководитель темы:

зав. лаб., д.б.н., проф.

 А.П. Богоявленский

Алматы 2022