

ӘӨЖ:547.972:582.916.21

Қолжазба құқығында

МУКАЖАНОВА ЖАЗИРА БИГАЛИЕВНА

Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасына жататын кейбір өсімдіктердің химиялық құрамын және биологиялық белсенділіктерін зерттеу

6D060600 - Химия

Философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық кеңесшілер:
х.ғ.к., қауымдастырылған
профессор Ескалиева Б.К.
PhD докторы Ибраева М.М.

Шетелдік ғылыми кеңесші:
PhD докторы, қауымдастырылған
профессор Ахмет Бейатли
Стамбул, Түркия

МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІ СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР ЖӘНЕ ҚЫСҚАРТУЛАР.....	5
КІРІСПЕ.....	7
1 ӘДЕБИ ШОЛУ.....	12
1.1 Сабынкөкгүлділер (<i>Scrophulariaceae</i>) тұқымдасының жалпы сипаттамасы.....	12
1.1.1 <i>Verbascum orientale</i> L. (шығыс аюқұлақ).....	13
1.1.2 <i>Verbascum densiflorum</i> L. (ұзын аюқұлақ).....	13
1.1.3 <i>Verbascum phoeniceum</i> L. (күлгін аюқұлақ).....	13
1.2 Сабынкөкгүлділер тұқымдасына жататын өсімдіктердің химиялық құрамы.....	14
1.3 Табиғи полифенолды қосылыстардың жіктелуі және биологиялық белсенділіктері.....	18
1.4 Фенилпропаноидтар. Фенилпропаноидтардың жіктелуі.....	19
1.4.1 Фенилпропаноидтардың биосинтезі және өсімдік әлемінде таралуы	26
1.5 Флавоноидтардың жіктелуі және биосинтезі.....	28
1.5.1 Өсімдік шикізатынан флавоноидтарды алу және анықтау әдістері	33
1.5.2 Флавоноидтарды идентификациялау үшін қолданылатын спектрлі әдістер.....	39
1.6 Полифенолдардың фармакологиялық және биологиялық белсенділіктері.....	42
2 ТӘЖІРИБЕЛІК БӨЛІМ.....	46
2.1 Шикізат және қолданылған материалдар.....	46
2.2 Зерттеу әдістері.....	47
2.2.1 Қағазды және жұқа қабатты хроматография	47
2.2.2 Жоғарыэффективті сұйықтық хроматографиясы	47
2.2.3 Масс - спектрометрия (EI/MS, ESI/MS және FAB/MS)	48
2.2.4 Газды хроматография - масс-спектрометриясы.....	49
2.2.5 Құрылымдық талдау	51
2.2.6 Параллель тәжірибелердің нәтижелерін статистикалық өңдеу	52
2.3 Биологиялық белсенді заттарға сандық талдау жасау.....	52
2.3.1 Шикізаттағы экстрактивті заттарды анықтау.....	53
2.3.2 Флавоноидтардың сандық мөлшерін анықтау	54
2.3.3 Фенилпропаноидтардың сандық мөлшерін анықтау.....	54
2.3.4 Өсімдік шикізаты құрамындағы май қышқылдарын талдау	55
2.3.5 Өсімдік шикізаты құрамындағы амин қышқылдарын талдау	56
2.4 <i>Verbascum</i> текті өсімдіктерді экстракциялау және биологиялық белсенді заттар алу.....	56
2.4.1 <i>Verbascum orientale</i> L. шикізатынан мацерациялық экстракциялау нәтижесінде алынған фитопрепараттардан жеке заттар бөлу	58
2.4.2 <i>Verbascum densiflorum</i> L. шикізатынан Сокслет аппаратында циркуляциялық экстракциялау нәтижесінде алынған фитопрепараттардан жеке заттар бөлу.....	60

2.5	Шикізат экстракттеріне биологиялық скрининг жасау.....	61
2.5.1	Иммунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы) белсенділікті талдау.....	61
2.5.2	Бактерияға қарсы белсенділікті талдау.....	62
2.5.3	Тотығуға қарсы белсенділікті талдау.....	62
2.5.4	Цитотоксикалық белсенділікті талдау.....	63
2.5.5	Фитотоксикалық белсенділікті талдау.....	65
3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ.....	66
3.1	<i>Verbascum</i> текті өсімдіктердің шынайылығын анықтау және биологиялық белсенді топтардың сандық мөлшері мен сапалық құрамын талдау.....	66
3.2	Өсімдіктер құрамындағы микро - және макроэлементтік талдау..	70
3.3	Өсімдік шикізаттарынан амин және май қышқылдарының мөлшерін анықтау.....	72
3.4	<i>Verbascum</i> текті өсімдіктердің липофилді құрамын анықтау.....	75
3.5	<i>Verbascum текті</i> өсімдік шикізаты құрамынан биологиялық белсенді кешенді бөлуді оңтайландыру және жеке заттар алу.....	80
3.6	<i>Verbascum orientale L.</i> текті өсімдіктен бөлінген жеке заттарды идентификациялау.....	84
3.7	<i>Verbascum densiflorum L.</i> текті өсімдіктен бөлінген жеке заттарды идентификациялау.....	104
3.8	Аюқұлақ текті өсімдіктердің биологиялық белсенділіктері.....	111
3.8.1	Иммунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы) белсенділік.....	111
3.8.2	Бактерияға қарсы белсенділік.....	112
3.8.3	Тотығу үрдісіне қарсы белсенділік.....	114
3.8.4	Цитотоксикалық белсенділік.....	115
3.8.5	Фитотоксикалық белсенділік.....	118
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	119
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ.....	121
	ҚОСЫМША А - Патент.....	132
	ҚОСЫМША Ә - Оқу үрдісіне енгізу актісі.....	134
	ҚОСЫМША Б - ЯМР және масс - спектрлері.....	137
	ҚОСЫМША В - Жоғарыэффективті сұйықтық хроматография (recycling preparative HPLC) хроматограммасы	144
	ҚОСЫМША Г - Бактерияға қарсы белсенділік протоколы	145

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста келесі стандарттарға сәйкес сілтемелер келтірілген:

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясы. 1 т. – Алматы: «Жібек жолы» баспа үйі, 2008. – 592 бет

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясы. 2 т. – Алматы: «Жібек жолы» баспа үйі, 2008. – 804 бет

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясы. 3т – Алматы: «Жібек жолы» баспа үйі, 2014. – 872 бет

MEMСТ 2237-75	Өсімдік шикізаты. Гүлдер, жапырақтар, шөптер. 1 бөлім. – Стандарттар баспасы, 1994, 159б.
MEMСТ 24027.0-80	Өсімдік шикізаты. Гүлдер жинау әдістері мен қабылдау ережелері.
MEMСТ 24027.1-80	Дәрілік өсімдік шикізаты. Шынайылығын, зиянды қосылыстар мен уланбағандығын және құрамын зерттеу әдістері.
MEMСТ 24027.2-80	Дәрілік өсімдік шикізаты. Өсімдіктің ылғалдылығын, күлінің құрамын, экстрактивті заттар, эфир майлары және тері илегіш заттарды анықтау әдістері. Дәрілік өсімдік шикізатын талдау.
MEMСТ 17768-90	Дәрілік өсімдік шикізаты. Орау, таңбалау, тасымалдау және сақтау.
MEMСТ 42-3-84	Өсімдік шикізатын сақтау ұзақтығы. Өсімдік шикізатының сапасын бақылау
MEMСТ 64-060-88	Өсімдік шикізатын сақтау, темір жол арқылы тасымалдау және қайта өңдеудегі шығын нормалары, нұсқаулар.
MEMСТ 31791	Эфир майлары және гүлді-шөпті эфир майлы шикізат көзі
MEMСТ 7.32-2001	Халықаралық стандарттар. Кітапханалық және баспалық мәліметтер бойынша стандарттар жүйесі. Ғылыми зерттеу жұмыстары бойынша есеп беру. Жобалаудағы ережелер мен келтірулер.
MEMСТ 6.38-90	Құжаттар жүйесін сәйкестендіру. Құжаттарды реттеу талаптары.
MEMСТ 8.417-81	Өлшем бірліктерді реттейтін мемлекеттік жүйе. Физикалық өлшем бірліктері.
MEMСТ 30178-96	Шикізат және тағамдық өнімдер. Уытты элементтерді атомдық адсорбциялық әдісімен анықтау.
MEMСТ1770-74	Тәжірибелік өлшеуіш шыны ыдыстар. Жалпы техникалық шарттар.

АНЫҚТАМАЛАР

Бұл диссертациялық жұмыста келесі терминдерге сәйкес анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар қолданылған:

Scrophulariaceae – Сабынкөкгүлділер тұқымдасы

Шығыс аюқұлақ (***Verbascum orientale***), тығыз гүлді немесе ұзын аюқұлақ (***Verbascum densiflorum***), күлгін аюқұлақ (***Verbascum phoeniceum***) – Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасына жататын өсімдік түрлері

Фенилпропаноидтар – құрылымында бір немесе бірнеше фенилпропан (C_6-C_3) фрагменттері бар ароматты фенолды қосылыстар

Флавоноидтар – құрамында γ – пирон сақинасымен байланысқан екі фенилді қалдығы бар бензо - γ – пиронның туындылары

Электронды иондану (соқтығысу) (EI) – энергетикалық электрондардың қатты немесе газ фазасының атомдарымен немесе молекулаларымен әрекеттесіп, ион түзу әдісі. Масс - спектрометрия үшін алғашқы ионизациялау техникаларының бірі

Broad Band (BB) – кең жолақты ажырату: барлық спин - спинді байланысы ажыратылатын ^{13}C - ЯМР спектроскопия әдісі, нәтижесінде барлық сигналдар синглет ретінде тіркеледі

Distortion Less Enhancement by Polarization Transfer (DEPT) – поляризация көмегімен көміртектің бастапқы, екінші және үшінші атомдарының болуын анықтайтын ^{13}C - ЯМР спектроскопия әдісі.

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

ББЗ	– биологиялық белсенді заттар
ББК	– биологиялық белсенді кешен
Д	– дублет
Дд	– дублет дублет
ЖҚХ	– жұқа қабатты хроматография
ЖЭСХ	– жоғары эффектілі сұйықтық хроматографиясы
ИҚ	– инфрақызыл аймақ
ҚХ	– қағазды хроматография
М	– мультиплет
м.ү.	– миллиондық үлес
ПМР	– протондық магниттік резонанс
С	– синглет
УК	– ультракүлгін аймақ
ЯМР	– ядролық магниттік резонанс
А	– айналу бұрышы
COSY	– спектрде бір-біріне диагоналды орналасқан протондардың корреляцияланған шындарды тіркейтін гомоядролы корреляцияланған спектроскопия
DMSO - d_6	- дейтерийленген диметилсульфоксиді
EI/MS	– электронның әсер, масс - спектрометрияға электронның әсері
ESI	– электрлік шашырату арқылы иондану
GC/MS	– масс - спектрометрия - газ хроматографиясы
HMBC	– спектрде бір мезгілде ^1H және ^{13}C ЯМР спектрлері қарастыратын гетероядролы корреляцияланған спектроскопия
IC ₅₀	– максималды жартылай ингибиторлық концентрация
NOESY	– бір-біріне жақын орналасқан сутегі атомдарын анықтайтын гомоядролы корреляцияланған спектроскопия
HMQC	– спектрде бір мезгілде ^1H және ^{13}C ЯМР спектрлерін қарастыратын гетероядролы корреляцияланған спектроскопия
Rf	– хроматографиялық заттардың жылжу жылдамдығын көрсететін өлшемсіз бірлік
Rf	– заттардың хроматографиялық жылжу жылдамдығын көрсететін өлшемсіз бірлік көрсеткіші
Sephadex LN - 20	– LH-20 маркалы сефадекс сорбенті

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс Шығыс Қазақстанда өсетін *Scrophulariaceae* (Сабынкөкгүлділер) тұқымдасына жататын *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. текті өсімдік түрлерінен жеке таза заттарды алу және олардың биологиялық белсенділіктерін зерттеуге, биологиялық белсенді заттарды бөлудің тиімді блок-сызбанұсқасын оңтайландыруға, олардың химиялық құрамын талдап, құрылысын дәлелдеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Соңғы онжылдықтарда фитотерапияға деген қызығушылық тұрақты түрде артуда. Себебі дәрілік өсімдіктердің басты артықшылығы адам ағзасына жанама әсерлерінің аздығы және шөптік препараттарды ұзақ уақыт қолдану мүмкіндігінде болып табылады. Қазіргі таңда Қазақстанда ассортименті жүйелі түрде жаңартылып отыратын емдік мақсатта 3000-ға жуық препараттар мен субстанциялар қолданылады және барлық дәрілік заттардың 1/3 бөлігі дәрілік өсімдіктер мен емдік шөптерден өндіріледі. Бұл таза түрде бөлінген жаңа препараттардың санын көбейтуге және фитохимиялық зерттеулерді дамытудың келешегін арттыруға мүмкіндік береді.

Қазақстанның флорасында отандық фармацевтикалық өндірісте қолданылатын биологиялық белсенді заттарға бай 6000-нан астам өсімдік түрлері бар. Қазақстан Республикасы Үкіметінің дәрілік заттармен қамтамасыз ету бойынша алға қойған негізгі міндеттерінің бірі елімізде отандық өсімдік шикізаты негізіндегі дәрілік препараттарды өндіретін дәрілік фармацевтикалық өнеркәсіпті дамыту болып табылады. Отандық фармацевтикалық кәсіпорындар дәрілік препараттардың 15%-ын өндіреді, оның ішіндегі дәрілік заттардың 40 % өсімдік текті дәрілерді құрайды. Сондықтан өнімділігі жоғары препараттарды жасау мен биологиялық белсенді кешендерді бөліп алудың жаңа тәсілдерін ұсыну өзекті мәселе болып саналады.

Шығыс Қазақстан аймағы өсімдіктердің алуан түрлілігімен ерекшеленеді. *Scrophulariaceae* тұқымдасы әлем бойынша 4,6% түр және 9,5% тектік құрамынан тұратын 20 тегі және 137 түрі бар кең тараған өсімдік. Дегенмен, *Verbascum* (аюқұлақ) текті өсімдіктердің барлық түрлері жүйелі зерттелмегендіктен, олардың химиялық құрамын талдау, фитопрепараттар мен биологиялық қосылыстарды бөлу әдістерін жасау, биологиялық белсенділікті зерттеу өте өзекті, себебі олар Қазақстан Республикасының медициналық препараттарының түрлерін кеңейтуге мүмкіндік беретін жоғары тиімді отандық фитопрепараттарды жасауға ықпал етеді.

Зерттеу жұмысының мақсаты мен міндеттері. Зерттеу жұмысының негізгі мақсаты – Шығыс Қазақстанда өсетін *Scrophulariaceae* тұқымдасына жататын *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. текті өсімдіктерден биологиялық белсенді заттардың жаңа көздерін алу тәсілін жасау және олардың химиялық құрамын анықтау.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Зерттеуге алынған Сабынкөкгүлділер тұқымдасына жататын шығыс аюқұлақ (*Verbascum orientale* L.), ұзын аюқұлақ (*Verbascum densiflorum* L.) және күлгін аюқұлақ (*Verbascum phoeniceum* L.) өсімдік түрлерінің биологиялық белсенді заттары (ББЗ) негізгі топтарының сапалық және сандық құрамын зерттеу, салыстырмалы талдау жасау;

2. Биологиялық белсенді заттарды (флавоноидтар, фенилпропаноидтар, иридоидтар) алу және бөлудің оңтайлы технологиялық параметрлерін дайындау;

3. Химиялық және физика - химиялық талдау әдістерін қолдана отырып, заттарды жеке күйінде бөліп алу және олардың құрылысын дәлелдеу;

4. Бөлінген шартты фитопрепараттар мен жеке заттардың биологиялық белсенділіктерін анықтау.

Зерттеу нысандары: Шығыс Қазақстанда өсетін *Scrophulariaceae* (Сабынкөкгүлділер) тұқымдасына жататын *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L., *Verbascum phoeniceum* L. өсімдік түрлерінің жер үсті бөліктері шикізаттары. Өсімдіктер Шығыс Қазақстан аймағынан 2018-2019 жылдары үш вегетациялық кезеңде (бүршіктенуі – маусым, гүлденуі – шілде және жеміс беруі – тамыз-қыркүйек айларында) жиналған.

Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі қағидалары:

- Биологиялық белсенді заттардың ең көп мөлшері *Verbascum orientale* L. өсімдік түрінің құрамында болады.
- *Verbascum orientale* L. өсімдігінің жер үсті бөлігінен ББЗ бөлудің оңтайлы параметрі шикізат пен еріткіштің сәйкесінше 1:9 қатынасы болып табылады.
- *Verbascum orientale* L. өсімдік түрінде бұрын әдебиетте сипатталмаған зат лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси)-циннаматы бар.
- *Verbascum orientale* L. өсімдіктерінен алынған этилацетатты, бутанолды сығындылар мен жеке зат лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси)-циннаматы ибупрофен деңгейінде иммунтүрлендіргіш белсенділік көрсетеді.

Ғылыми жаңалығы

1. Іргелі ғылыми-зерттеу бағдарламасы аясында Шығыс Қазақстанда өсетін *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. өсімдік түрлерінің химиялық құрамы бойынша зерттеулер жүргізілді. Зерттелетін өсімдік үлгілеріне салыстырмалы фитохимиялық талдау жасалды.

2. Алғаш рет биологиялық белсенді заттарды (полифенолды қосылыстарды) бөлу және алудың оңтайлы блок - сызбанұсқасы ұсынылды. Өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды алу және бөлу технологиясын оңтайландыру үшін классикалық мацерация және Сокслет аппаратындағы циркуляциялық экстракциялау әдістері қолданылды. *Verbascum* текті өсімдіктерден иммунтүрлендіргіш белсенділігі бар фенилпропаноидты кешенді алу үшін тиімді сорбент ретінде МСІ СНР-20Р гелі ұсынылды және жеке

қосылыстар препаративті жоғарыэффективті сұйық хроматографиясы көмегімен алынды.

3. *Verbascum* текті өсімдіктердің зерттеу үлгілерінен 13 биологиялық белсенді қосылыстар бөлінді, оның біреуі, бұрын әдебиетте келтірілмеген жаңа зат: лютеолиннің 7-О-β-D – глюкопиранозил – 3-О-(3 – гидроксид – 4 - метокси) - циннаматы. Сонымен қатар гександы экстрактыдан 87 липофильді заттар идентификацияланды. Қосылыстардың құрылысы химиялық (қышқылдық, сілтілік гидролиз) және спектрлік: ЯМР (¹H, ¹³C), 2D ЯМР (HMBC, HMQC, COSY, NOESY) УК, ИҚ - спектроскопия және (EI-MS, ESI-MS, FAB-MS) масс-спектрометрия заманауи әдістерімен расталды.

4. Шығыс Қазақстанда өсетін *Verbascum* текті өсімдіктерден 12 шартты фитопрепараттар және 1 жеке қосылыстың үлгілері әзірленіп, биологиялық белсенділіктері зерттелді. Алынған фитопрепараттардан цитотоксикалық, фитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш, тотығуға және бактерияға қарсы белсенділіктер анықталды.

Жұмыстың тәжірибелік маңызы. *Verbascum* текті өсімдіктер биологиялық белсенді заттарды алудың жаңа көзі болып табылады.

Verbascum (аюқұлақ) текті өсімдіктерден алынған шартты экстрактілер мен биологиялық белсенді заттардың биологиялық скрининг нәтижелері цитотоксикалық, фитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш, тотығуға және бактерияға қарсы белсенділіктер көрсетіп, жеке күйде бөлінген лютеолиннің 7 – О – β – D – глюкопиранозил – 3 – О - (3 – гидроксид - 4-метокси) - циннаматы айқын қабынуға (иммунтүрлендіруші) қарсы белсенділік танытты, ал *Verbascum phoeniceum* L. өсімдігінен алынған экстрактілер тотығу үрдісіне және бактерияға қарсы белсенділіктер көрсетті. Осыған орай, алынған нәтижелер агроөндірісте және фармацевтикалық нарықта арнайы белсенділігі бар жоғарыэффективті отандық дәрі - дәрмектер жасау тәжірибесінде қолданысқа ие болады. Зерттеу жұмысының нәтижелері «Табиғи қосылыстар химиясы», «Табиғи қосылыстардың химиясы және технологиясы» пәндері бойынша оқу үдерісіне енгізілді.

Алынған нәтижелер мен бастапқы мәліметтерді нақты қолданылуы жөнінде ұсыныстар

Шығыс Қазақстанда өсетін *Scrophulariaceae* тұқымдасының *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. текті өсімдіктерінен алынған фитопрепараттар биологиялық скрининг нәтижесінде цитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш, тотығуға және бактерияға қарсы белсенділіктер көрсетті. Зерттеу нәтижелерін отандық фармациямен ауыл шаруашылығында, биоорганикалық химияда пайдалануға ұсынуға болады. Флавоноидты және фенилпропаноидты қосылыстарды бөлу және алу әдістері оқу үрдісі тәжірибесіне енгізуге ұсынылды. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері «Табиғи қосылыстардың химиясы», «Табиғи қосылыстардың химиясы және технологиясы» пәндерінің дәрістерінде қолданылады. Зерттеу жұмысының нәтижелері Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінің «Қабынуға қарсы әсері бар кешен алу әдісі» (№6334, бюлл. №33 20.08.2021)

пайдалы модельге патентімен қорғалды. 6B01504 – Химия, 6B01507-Химия - Биология және 7M05302 – Химия білім беру бағдарламасына «Табиғи қосылыстар химиясы», «Табиғи қосылыстардың химиясы және технологиясы» пәндері бойынша оқу үрдісіне енгізу актісі (№1, 26.10.2021) құрастырылды.

Зерттеу нәтижелерін енгізуді техника - экономикалық тұрғыдан бағалау

– Диссертациялық жұмыста Сабынкөкгүлділер тұқымдасының *Verbascum* текті өсімдіктерінен жаңа биологиялық белсенді заттарды алу және бөлудің оңтайлы блок - сызбанұсқасы ұсынылды. Зерттеу нәтижесінде бөлінген жеке қосылыстардың құрылысы талдаудың: ИҚ, УК, EI-MS, ESI-MS, FAB-MS, ЯМР (^1H , ^{13}C) және 2D ЯМР (HMBC, HMQC, COSY, NOESY) заманауи спектрлік әдістерін қолдану арқылы расталды.

– Бұрын әдебиетте келтірілмеген 1 жаңа зат – лютеолиннің 7 – О – β – D – глюкопиранозил – 3 – О - (3 – гидроксид – 4 - метоксид) циннаматы айқын иммунтүрлендіргіш белсенділік көрсетті.

– Ғылыми–зерттеу жұмыстары барысында алынған биологиялық белсенді кешендер мен жеке заттардың биологиялық скрининг нәтижелері көрсеткен: цитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш, тотығуға және бактерияға қарсы белсенділік көрсеткіштері медицинада отандық жоғары тиімді жаңа препараттар түрлерін арттырып, сонымен бірге оқу үрдісі мен ауыл шаруашылық саласына қолдануға өз үлесін қосады.

Автордың жеке үлесі зерттеу бағытын таңдау, жұмыстың мақсаты мен міндеттерін анықтау, диссертация тақырыбы бойынша әдеби деректерді іздеу мен талдау, өсімдік шикізаттарын жинау, диссертациялық жұмыстың теориялық және тәжірибелік бөлігін орындау, материалдарды өңдеу, келтірілген зерттеу нәтижелерін талдау және рәсімдеуді, сондай-ақ ғылыми мақалаларды республикалық және халықаралық басылымдарда жариялауды автор өзі іске асырды.

Жұмыстың мемлекеттік ғылыми бағдарламаларының жоспарымен байланыстылығы. Диссертациялық жұмыс С. Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан университеті химия кафедрасының ғылыми-зерттеу жоспары бойынша және Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Ғылыми техникалық бағдарламасы АР05131716 «Медицина және ауыл шаруашылығына арналған өсімдік шикізатынан жаңа отандық препараттарды бөліп алудың ғылыми негіздерін жасау» (мемлекеттік тіркеу нөмірі 0118RK00459, 2018-2020 ж.ж.) жоспарына сәйкес орындалды.

Сенімділік деңгейі мен жұмыстың сыннан өтуі. Диссертацияның негізгі нәтижелері мен тұжырымдамалары келесі республикалық және халықаралық конференцияларда баяндалды және талқыланды:

1. «Қазіргі замандағы ғылым және білімнің дамуындағы тенденциялар» атты Уәлиев оқулары-2018 (қараша 2018 ж., Өскемен қ - сы, Қазақстан);

2. XLII Международная научно - практическая конференция: Results of research activities 2018: inventions, methods, innovations (желтоқсан 2018ж., Москва қ-сы, Ресей);

3. Materials of the V International Scientific – Practical Conference «Integration of the Scientific Community to the Global Challenges of Our Time» (12 - 14 ақпан 2020 ж., Токио қ - сы, Жапония);

4. Materials of the VI International Scientific – Practical «Integration of the Scientific Community to the Global Challenges of Our Time» Conference (10 - 12 ақпан 2021 ж., Иокохама қ - сы, Жапония);

5. Ғылым мен білімді дамытудың өзекті мәселелері» атты Уәлиев оқулары – 2020 халықаралық ғылыми – тәжірибелік онлайн – конференциясы (қазан 2020ж., Өскемен қ - сы, Қазақстан);

6. VII Международная научно – практическая конференция «Европа и тюркский мир: наука, техника и технологии» (4 - 6 мамыр, 2022 ж., Мерсин қ - сы, Түркия).

Жариялымдар. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері мен қорытындылары бойынша 11 ғылыми еңбектер жарияланды, оның ішінде 1 мақала импакт - факторы нөлдік емес халықаралық рецензияланған Scopus және Wef of Science (Q4) басылымда, 3 мақала ҚР БҒМ Білім және ғылым саласындағы сапаны қамтамасыз ету Комитеті ұсынған басылымдарда, «ҚР БҒМ «Сәрсен Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан университеті» КЕ АҚ», РМК «Ұлттық зияткерлік меншік институтында» «Қабынуға қарсы әсері бар кешен алу әдісі» атты 1 пайдалы модельге патент және 6 мақала баяндамалары халықаралық және республикалық конференциялар жинақтарында жарияланды.

Диссертацияның құрылысы мен көлемі. Диссертация кіріспе, үш бөлім, қорытынды, 161 пайдаланылған әдебиеттер тізімі және 5 қосымшадан тұрады. Диссертация компьютерде терілген 146 беттен, 65 суреттен және 32 кестеден құралған.

1 ӘДЕБИ ШОЛУ

1.1 Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасының жалпы сипаттамасы

Сабынкөкгүлділер тұқымдасының түрлері саналуан болғандықтан таралуы жағынан алдыңғы қатардағы көпжылдық немесе біржылдық қосжарнақты өсімдіктер болып табылады [1]. *Scrophulariaceae* тұқымдасына 250-ден аса туыс, 5000 - ға жуық түрлері енген. Тұқымдастың жапырақтары, қарама қарсы және апикальды кезектесіп орналасқан, гүл шоғырлары жарғақшалар, масақшалар немесе қалқанша тәрізді қарапайым зигоморфты дара күйде шоғырланып өседі [2]. Олар бұталы, сирек ағашты, кейбірі жартылай паразиттік (*Odontites* туыстары), паразитті болып келеді [3]. Көбіне субтропикалық және таулы аймақтарда таралған [4, 5]. Елімізде *Scrophulariaceae* тұқымдасының 23 туысы, 171 түрі кездеседі [3, б. 28], [6]. Тұқымдастың *Mumulis*, *Penstemon*, *Digitalis*, *Verbascum* және *Veronica* тәрізді түрлері өздерінің емдік қасиеттеріне байланысты медицинада кеңінен қолданылады. Неуууд мәліметтеріне сүйенсек, *Verbascum* текті өсімдіктердің 360 - ға жуық түрлері Азия, Еуропа, Солтүстік Америкада таралған, сонымен қатар Батыс және Орталық Азия (әсіресе, Анатолия аралдары) туыс түрлерінің негізгі орталығы болып саналады [7].

Verbascum (аюқұлақ) — Сабынкөкгүлділер тұқымдасына жататын шалғындар мен тау беткейлерінде өсетін екі жылдық өсімдік. Жапырақтары 10 - 40см, сабағындағы жапырақтары эллиптикалық - ланцетті, төмен иілген қарама қарсы немесе кезекті орналасқан. *Verbascum* атауы латынша «*barba*» сақал сөзінен шыққан, яғни жапырақтарының төмен қарап орналасуына байланысты аталған. Сонымен қатар, өсімдіктің мулен «*mullein*» атауы ағылшын тілінен *moleune*, ескі французша *moleine*, жапырағына қарай «жұмсақ» деп те аталып кеткен [8].

Аюқұлақ Азия мен Еуропада таралған, кейін Солтүстік Америкаға емдік шөп - дәрі ретінде әкелінген. Ол 1700 жылдардың ортасында Вирджинияға балықтарға у ретінде кіргізіліп, артынша тез тарап кеткен [9]. Түркияда Қара теңіздің жағалауына (Орду, Риза, Чорух) кең таралған. *Verbascum* жабайы түрде тасты топырақтар мен тоғайлы егістіктерде өсе береді.

Қазақстан Флорасының Павлов Н.В. ұсынған мәліметтер бойынша *Verbascum* текті өсімдіктердің 9 түрі [3, б. 30], соңғы деректер сай Байтенов М.С. 10 түрі кездесетін келтірген [10]:

- *Verbascum orientale* L (шығыс аюқұлақ);
- *Verbascum densiflorum* L .(ұзын аюқұлақ);
- *Verbascum phoeniceum* L .(күлгін аюқұлақ);
- *Verbascum thapsus* L. (қарапайым аюқұлақ);
- *Verbascum macrocarpum* L. (мулен);
- *Verbascum turkestanicum* L. (Түркістан аюқұлағы);
- *Verbascum lychnitis* L. (шайырлы аюқұлақ);
- *Verbascum songoricum* L. (жонғар аюқұлағы);

- *Verbascum phlomoides* L. (дәрілік аюқұлақ);
- *Verbascum marschallianum* L. (Маршалла аюқұлағы).

1.1.1 *Verbascum orientale* L. (шығыс аюқұлақ)

Verbascum orientale L. Еуропа, Кавказ, Батыс Сібір, Орталық Азия, Балкан және Батыс Қытай елдерінде және еліміздің таулы, жазықты далаларында Тарбағатай, Жоңғар - Алатау бөктерлерінде, Балқаш, Алакөл жағалауларында кеңінен таралған. Өсімдік биіктігі 50 - 100 см, сабағы тік, қабырға тәріздес, жоғарғы жағы шашақты, жасыл жапырақты қалың, төменге салбыраңқы өседі. Жапырақтарының ұзындығы 10 - 30 см, ені 4 - 12 см. Гүл шоғыры сары түсті, 2 - 5 гүлдері сабақтарда және оның бұтақтарында отырады. Көпжылдық немесе екі жылдық шөптесін өсімдіктер. КСРО - да 46 түрі, Қазақстанда 9 түрі кездеседі [3, б. 31].

1.1.2 *Verbascum densiflorum* L. (ұзын аюқұлақ)

Ұзын немесе тығызгүлді аюқұлақ Евразияның және Ресейдің батыс бөлігі мен Кавказдың құмды топырақты, құрғақ, орман және дала шалғындарында, тасты және құмды беткейлерде, өзендердің жағалауында, жол жиектерінде өседі. Сабағының биіктігі 20 - 120 см, қалың жапырақты, тармақталмаған, көбінесе жоғарғы жағы ғана аздап тармақталған, сұр немесе сарғыш - сұр түсті екі жылдық өсімдік. Жапырақшаларының ұзындығы 2 - 5 см, базальды жапырақтары 10 - 40 см, ені 4 - 10 см ұзын немесе ұзын - эллиптикалық болып келеді. Сабақтарындағы жапырақтарының төменгі жағы ұзын, өткір, негізгі шеттері созылған, төмен орналасқан. Жоғарғы бағаналы жапырақтары сопақша, ұшты немесе ұзыншақ, сабақтарының бойымен орналасқан. Гүлдері (2)3 - 4(8) шоқтарында жиналған, жоғарғы жағы қалыңдау, төменге қарай сирек кездеседі. Маусымнан бастап тамыз айының соңына дейін гүлдейді. Тұқымдары кішкентай, қоңыр - қара болып келеді [3, б. 32].

1.1.3 *Verbascum phoeniceum* L. (күлгін аюқұлақ)

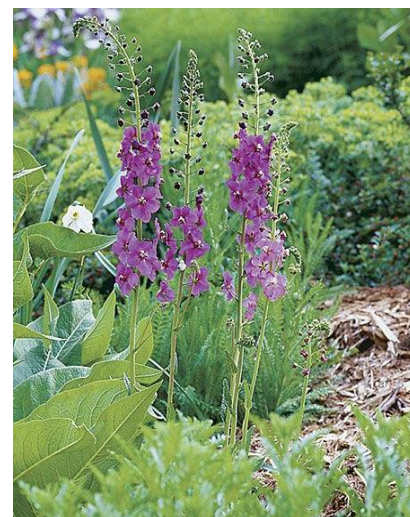
Күлгін аюқұлақ Орталық Еуропа, Орталық Азия және Батыс Қытайда, сондай - ақ АҚШ және Канаданың кейбір таулы аймақтарында өсетін екі немесе көп жылдық өсімдік. Америка құрама штаттарының кей аймақтарында қысқы мерзімде өседі және күлгін - қызғылт гүлдері басқа мулен түрлеріне карағанда бақшада ерте гүлдейтін сәндік көп жылдық өсімдік. Жапырақтары өсетін ортаға байланысты эллипс тәрізді, сопақша, хорда немесе ланцет тәрізді болады. Бес жапырақшалы гүлдері масағында гүл шоғыры ретінде өседі. Гүлдері күлгін, қызғылт, кейде ақ түсті болады. Гүл реңінің өзгеруі басқа мулендермен будандастырғанда өзгереді. Маусым айында гүлдеген гүлдері шоғырлана өсіп, бір ай бойы сақталып тұрады. Өсімдік биіктігі 60 - 80 см аралығында болады. Гүлдену мерзімі – мамыр - тамыз айлары, қыркүйек - қазан айларында жеміс береді [11].



а)



ә)



б)

Сурет 1 – *Verbascum* текті өсімдік түрлері: а) *Verbascum orientale* L.
ә) *Verbascum densiflorum* L. және б) *Verbascum phoeniceum* L.

1.2 Сабынкөкгүлділер тұқымдасына жататын өсімдіктердің химиялық құрамы

Verbascum текті өсімдіктердің биологиялық белсенді топтары – 11% қанттар, 2,5% шырыш, иридоидтар, фенилпропаноидтар, флавоноидтар, кумариндер, сапониндер (вербаскосапонин), тері илегіш заттар, фенол қышқылдары және оның эфирлері, жоғары май қышқылдары, бояғыш заттардан тұрады [12].

Verbascum phlomoides L. және *Verbascum densiflorum* L. жер үсті бөліктері шикізаттарынан иридоидты гликозидтер: аукубин, гарпагид, каталпол гликозидтері мен фенилпропаноидтардың гликозидтері бөлінген [13]. Өсімдік гүлдерінде алкалоидтар: анабазин, тритерпен сапониндері бар. Аюқұлақ өсімдіктерінде С дәрумені, эфир майлары, гесперидин, рутин, кверцетин, каротиндер, К, Са, Мn, Zn, Sn, Li тұздары, тамырларында β - ситостерол мен стигмастан – 3 - ол, сабағында β - ситостерол мен хондрилластерол бар екендігі анықталған. *Verbascum nigrum* L. құрамынан полифенолдар – кверцетин, гесперидин, розмарин, кофе, феруоил қышқылдары алынып, құрылыстары дәлелденген [14].

Өсімдік шикізатынан бөлінген биологиялық белсенді заттар, полифенолды қосылыстар (фенилпропаноидтар мен флавоноидтар) толық қанды зерттелмегендіктен, олардың фармакологиялық белсенділіктерін зерттеудің орны ерекше. Флавоноидтар және олардың туындылары теориялық және практикалық қызығушылық тудырғандықтан, әрі әдебиеттерге сүйене отырып, фитохимиялық зерттеулер жеткіліксіз екендігі анықталғандықтан, полифенолдарға бай өсімдіктерді зерттеу маңызды мәселелердің бірі болып табылды. *Verbascum* текті өсімдіктерден бөлінген жаңартылған қосылыстар 1 - кестеде келтірілген.

Кесте 1 – *Verbascum* тектес өсімдік түрлерінен бөлінген биологиялық белсенді заттар

Өсімдік шикізаты	Зат атауы	Физика - химиялық мағлұматтары	Әдебиет
1	2	3	4
<i>Verbascum salviifolium</i> Boiss.	Каталполдың 6 – О-β-D-глюкопирано-зиді	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅ Аморфты ұнтақ зат, [α] ₂₀ D – 8.1, молекулалық массасы HR-ESIMS (m/z 547,1630 [M+Na] ⁺), LC-ESIMS (m/z 547 [M+Na] ⁺) және ЯМР деректерінің (m/z 547 [M+Na] ⁺) комбинациясы. УК 206 нм - де максималды көрсетті, бұл иридоидты енол эфир жүйесінің болуын болжайды. Сол сияқты, ИҚ жұтулары [3470 (OH), 1650 (C=C - O) см ⁻¹]	[15]
<i>Verbascum salviifolium</i> Boiss.	6 – О - (6" – О – транс – п – гидроксидиннамоил) – β – D – глюкопиранозил аукубин	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₆ Аморфты ұнтақ, [α] ₂₀ D – 101.9, HR - ESI MS m/z 677,1939 [M+Na] ⁺ 2 LC-ESI MS m/z 677 [M+Na] ⁺ . УК иридоидты енол эфир жүйесінің 205 нм және хош иісті ацил бөлігі 316 нм. ИҚ (OH) 3430 см ⁻¹ , конъюгацияланған күрделі эфир карбониліне 1705 см ⁻¹ , - C = C - 1643 см ⁻¹ және ароматты сақинаға 1604, 1546, 1363 см ⁻¹	[15]
<i>Verbascum thapsus</i> L.	6 – О –сирин-гоил - аюгол	C ₂₄ H ₃₂ O ₁₃ Аморфты ұнтақ. [α] _D ²³ – 140, 7 ⁰ УК λ _{max} MeOH нм (ұзын толқында ε): 217 (4.54), 277 (4.10). FAB-MS m/z: 551 (M+Na) ⁺ , 529 (M ⁺ H) ⁺	[16]
<i>Verbascum thapsus</i> L.	6 – О - [α - L- (4 - кафеоил) – рамнопирано - зил] - каталпол	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₇ Аморфты ұнтақ. [α] _D ²² –162.8 ⁰ УК λ _{max} MeOH нм (ұзын толқында ε): 217 (4.23), 235, 244 (4.06), 301, 330 (4.30). FAB-MS m/z: 693 (M+Na) ⁺ , 671 (M+H) ⁺	[16]
<i>Verbascum thapsus</i> L.	6 – О - [α – L -(4 – изофе-рулоил) рамно-пиранозил] – каталпол	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₇ Аморфты ұнтақ. [α] _D ²² –139.8 ⁰ УК λ _{max} MeOH нм (ұзын толқында ε): 216 (4.26), 233, 242 (4.10), 296 (4.21), 326 (4.27). FAB - MS m/z: 707 (M+Na) ⁺ , 685 (M+H) ⁺	[16]
<i>Verbascum thapsus</i> L.	6 - О - [α - L - (2 - 3, 4 - диметоксицинамоил) – рамнопиранозил] - каталпол	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₇ Аморфты ұнтақ. [α] _D ²² –126.2 ⁰ УК λ _{max} MeOH нм (ұзын толқында ε): 217, 234 (4.15), 297 (4.21), 323 (4.31). FAB-MS m/z: 721 (M+Na) ⁺ , 699 (M+H) ⁺	[16]
<i>Verbascum thapsus</i> L.	6 - О - [α – L - (3 - 3, 4 – диметокси – циннамоил) – рамнопирано - зил] - каталпол	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₇ Аморфты ұнтақ. [α] _D ²² –94.8 ⁰ (с= 0.67 УК λ _{max} MeOH нм (ұзын толқында ε): 231 (sh), 294 (4.12), 321 (4.19). FAB-MS m/z: 721 (M+Na) ⁺ , 699 (M+H) ⁺	[16]
<i>Verbascum bugulifolium</i> Lam.	Апигениннің 7 – О - рутинозиді	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄ М = 578.1676 Қайнау температурасы: 261 - 262°C УК: 269,334; + NaOAc 270,330; + NaOAc + H ₃ BO ₃ : 270,330; + EtONa:280,375; ИҚ: 3550, 1665, 1595, 1500, 1450, 1090, 1058, 1000	[17]

1 - кестенің жалғасы

1	2	3	4
		¹ H ЯМР (Пиридин): 3,40 - 4,10 (10H), 1,25 (3H, д, J = 6, CH ₃), 5,38 (2H, br c, H - 1"), 5,62 (1H, д, J = 7, H-1"), 6,72 (1H, д, J = 2, H-6), 6,85 (1H, c, H - 3), 6,99(1H, d, J = 2, H-8), 7,15 (2H, д, J = 8, H-3), 6,99 (1H, д, J = 2, H - 8), 7,15 (2H, д, J = 8, H-3,5), 7,82 (2H, д, J=8, H - 2,6), 13,25 (1H, c, 5 - OH)	
<i>Verbascum undulatum</i>	Аукубиннің 6 - 0 - [3 - 0 - (3, 4 диметокси циннамоил) - α - L - рамно-пиранозиді немесе Ундулозид II]	¹ H ЯМР (CD ₃ OD, 400 MHz, м.Ү.): 7.71 (1H, д, J = 16 Hz, H-7"), 7.23 (1H, д, J = 1.7 Hz, H-2"), 7.19 (1H, дд, J = 8.5, 2 Hz, H-6"), 6.98 (1H, д, J = 8.5 Hz, H-5"), 6.48 (1H, д, J = 16 Hz, H-8"), 6.35 (1H, дд, J = 5.9, 1.8 Hz, H - 3), 5.89 (1H, c, br H - 7), 5.17 (1H, дд, J = 5.9, 3.9 Hz, H - 4), 5.07 (1H, дд, J = 9.5, 3.5 Hz, H - 3"), 4.95 (1H, д, J = 7 Hz, H - l), 4.85 (1H, д, H - l'), 4.69 (1H, д, J = 7.9 Hz, H - l'), 4.50 (1H, м, H - 6), 4.37 (1H, д, J = 15.1, H - 10α), 4.18 (1H, д, J = 15.1, H - 10b), 4.01 (1H, дд, J = 3.5, 1.6, H - 2"), 3.87 (3H, c, OCH ₃), 3.87 (1H, м, H - 6 a'), 3.87 (1H, д, J = 9.5, 5.8, H - 5"), 3.86 (3H, c, OCH ₃), 3.70 (1H, т, J = (9.5, H - 4"), 3.67(1H, м, H - 6b'), 3.40 (1H, т, J = 9, H-3'), 3.30 (1H, т, J = 9, H - 4'), 3.29 (1H, м, H -5'), 3.25 (1H, дд,) 3.26 (1P, дд, J=9,7,9, H - 2'), 2.90 (1H, т, J = 7, H - 9), 2.85 (1H, м, H - 5), 1.32 (3H, д, J = 5.8, H - 6') ¹³ ЯМР (CD ₃ OD, 50 MHz, м.Ү.): 169.0 (C - 9"), 152.4 (C - 4"), 150.4 (C - 3"), 149.5 (C - 8), 147.0 (C - 7"), 141.8 (C - 3), 128.8 (C - 1"), 127.0 (C - 7), 123.8 (C - 6"), 115.4 (C - 3", 2'), 71.5 (C - 4", 5"), 70.3 (C - 4', 2"), 62.6 (C - 6'), 61.4 (C - 10), 56.4 (2xOC H ₃), 47.99 (C - 9), 44.2 (C - 5), 18.1 (C - 6").	[18]
<i>Verbascum undulatum</i>	Аукубиннің 6 - 0 - [3 - 0 - (p-метоксиуиннамоил) - α - L - рамнопирано-зиді немесе Ундулозид III]	¹ H ЯМР (CD ₃ OD, 400 MHz): 7.71 (1H, д, J = 16, Hz, H - 7"), 7,54 (2H, д, J = 8.6 Hz, H -2", 6"), 6.94 (2H, д, J = 8.6 Hz, H - 3" 5"), 6.43 (1H, д, H -8"), 6.34 (1H, дд, J = 5.9, 1.7 Hz, H - 3), 5.89 (1H, c, H - 7), 5.17 (1H, дд, J = 5.9, 3.9 Hz, H-4), 5.07 (1H, дд, J = 9.5, 3.5 Hz, H-3"), 4.93 (1H, д, J = 7 Hz, H - l), 4.85 (1H, д, J = 1.6 Hz, H - l'), 4.68 (1H, д, J = 7.9 Hz, H - l'), 4.47 (1H, м, H - 6), 4.37 (1H, д, J = 15.1, H - 10a), 4.17 (1H, д, J = 15.1, H -10b), 3.98(1H, дд, J = 3.5, 1.59, H - 2"), 3.87 (1H, м, H - 6 a'), 3.87 (1H, д, J = 9.5, 5.8, H-5"), 3.81 (3H, c, OCH ₃), 3.70 (1H, т, J = 9.5, H-4"), 3.68 (1H, м, H-6 b'), 3.41 (1H, т, J = 9, H3'), 3.30 (1H, т, J = 9, H - 4'), 3.29 (1H, м, H -5'), 3.25 (1H, дд, J = 7, H - 9,7,9, H - 2'), 2.89 (1H, т, J = 7, H - 9), 2.82 (1H,	[18]

1 - кестенің жалғасы

1	2	3	4
		м, H - 5), 1.28 (3H, J = 5.7, H - 6'). ¹³ C ЯМР (CD ₃ OD, 50 MHz): 169.5 (C - 3'''), 162.7 (C - 4'''), 149.5 (C - 8), 146.2 (C - 7'''), 141.8 (C - 3), 130.1 (C - 2''', 6'''), 128.4 (C - 1'''), 127.0 (C - 7), 115.3 (C - 3''', 5''', 8'''), 105.4 (C - 4), 101.0 (C - 1''), 99.8 (C - 1'), 98.1 (C - 1), 89.1 (C - 6), 78.2 (C - 5'), 77.8 (C - 3'), 74.8 (C - 3'', 2'), 71.5 (C 4', 5''), 70.3 (C - 4', 2''), 62.6 (C - 6'), 61.4 (C - 10), 56.4 (OCH ₃), 48.1(C - 9), 44.3 (C - 5), 18.0 (C - 6'').	
<i>Verbascum cilicicum</i>	[6 - O - (4 - O - транс - циннамоил) - α - L - рамнопиранозил каталпол]	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅ , УК (MeOH) λ max 220, 240, 278 нм, ИҚ (KBr) ν _{max} 3373 (OH), 1705 (C=O), 1635 (C=C), 1604, 1546, 1363 (ароматты сақина) см ⁻¹ , LC - ESIMS оң ионды m/z 661 [M ⁺ Na] ⁺ , LC - ESIMS теріс ионды m/z 637 [M ⁻ H] ⁻) ¹ H (500 MHz, DMSO - d ₆) және ¹³ C (125 MHz, DMSO - d ₆)	[19]
<i>Verbascum cilicicum</i>	Вербаспинозид [6 - O - (2 - O - транс - цинна-моил) - α - L - рамнопиранозил каталпол]	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅ УК (MeOH) λ max 216, 242, 280 нм, ИҚ (KBr) ν _{max} 3379 (OH), 1705 (C=O), 1643 (C=C), 1604, 1546, 1363 см ⁻¹ , LC-ESIMS оң ионды m/z 661 [M+Na] ⁺ , LC-ESIMS теріс ионды m/z 637 [M ⁻ H] ⁻	[19]
<i>Verbascum cilicicum</i>	Саккатозид [6-O - (2 - O - транс - р - кумароил) - α - L - рамно-пиранозил каталпол]	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₆ УК (MeOH) λ max 216, 252, 314 нм, ИҚ (KBr) ν _{max} 3430 (OH), 1706 (C = O), 1643 (C = C), 1604, 1546, 1363 ароматты сақина) см ⁻¹ , LC - ESIMS оң ионды m/z 677 [M ⁺ Na] ⁺ , LC - ESIMS теріс ионды m/z 653 [M - H]. ¹ H (500 MHz, DMSO - d ₆) және ¹³ C (125 MHz, DMSO - d ₆)	[19]
<i>Verbascum thapsus</i>	Вербатазин А	УК λ max (MeOH) 203 нм; ИҚ ν max (KBr) 3386, 2902, 1737, 1659см ⁻¹ ; FAB m/z[M-H] - 183; ¹ H ЯМР: 4.35 (дд, J = 11.8, 4.1, H - 1a), 4.23 (дд, J = 11.8, 3.8, H1б), 4.13 (м, H - 3), 5.70 (м, H - 4), 4.39 (м, H - 6), 2.82 (м, H - 7a), 2.47 (м, H - 7б), 3.30 (м, H - 8), 2.65 (м, H - 9) ¹³ C ЯМР: 67.6 (т, C - 1a), 59.8 (т, C - 3), 129.9 (д, C - 4), 147.0 (с, C - 5), 82.8 (д, C-6), 29.7 (т, C-7a), 44.0 (д, C - 8), 44.3 (д, C - 9), 174.2 (с, C - 10) 82.8 (д, C-6), 29.7 (т, C-7a), 44.0 (д, C - 8), 44.3 (д, C - 9), 174.2 (с, C - 10)	[20]

1.3 Табиғи полифенолды қосылыстардың жіктелуі және биологиялық белсенділіктері

Барлық өсімдік шикізатының полифенолды қосылыстарын гидролизденетін таниндерге (глюкоза мен басқа қант қосылған галл қышқылының эфирлері) және фенилпропаноидтарға бөледі. Полифенол туындылары өсімдік жасушасындағы зат алмасуда белсенді метоболиттер болып табылады, олар әртүрлі физиологиялық өсімдіктерді, жәндіктерді, бактерияларды, саңырауқұлақтарды және вирустарды әртүрлі патогендердің зақымдануынан және ультракүлгін сәулелерден қорғайды [21]. Фенилпропаноидтар құрылымы жағынан бірнеше топтарды қамтиды: гликозилденген фенилпропаноидтер (фенилпропаноидтар гликозидтері), флавоноидтар, изофлавоноидтар, кумариндер, стилбеноидтер, куркуминоидтар және лигнандар [22] (1 - сурет).



Сурет 2 – Табиғи полифенолды қосылыстардың негізгі топтары

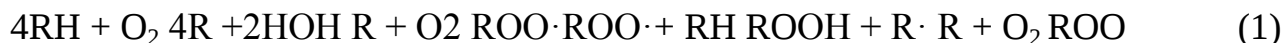
Орто-, пара-, және мета- фенолдар жылдам тотығу қабілетін көрсетеді. Тотығу нәтижесінде семихионды радикалдар және хинондар түзіледі. Құрамында метокси топтары бар флороглюцин мен резорцин туындыларының тотығуға ұшырамау себебін, гидроксил тобымен көршілес көміртектің алкилдеу реакциясына түсуге бейімділігі түсіндіреді [23, 24]. Полифенолдар целлюлозамен бірігіп, патогенді саңырауқұлақтардың енуіне жақсы әсер етеді.

Илік немесе тері илегіш заттар өсімдік қабықтарында орналасып, оларды саңырауқұрақтар мен жәндіктерден қорғайды. Беткі ұлпаларда фенолдардың көп болуы патогенді микроағзалардың енуінен сақтайды.

Полифенолды қосылыстар тамақпен бірге адам ағзасына күнделікті түсуі қажет. Адам ағзасында Р дәруменінің жетіспеуі гипертония, қант диабеті және екіқабат кезде геморрагиялық ауруға шалдықтырады. Фенолдар – аскорбин қышқылдарымен бірлесе коллаген биосинтезін жылдамдата отырып бүйрек қызметін жақсартады.

Гиалуронидаза ферментінің белсенділігін ингибирлеуші - фенолды қосылыстар. Фенолды (рутин, катехин, гесперидин) қосылыстардың маңызды қасиеттері - гиалуронидаза ферментінің белсенділігін тежеу. Рутин мен гесперидин аскорбин қышқылының тежеу қызметін арттырады. Полифенолдар (кверцетин, рутин, гесперидин, антоциандар, кумариндер), олардың туындылары және фенолқышқылдары қан тамырлары қабырғаларын нығайтушы қасиетке ие. Кверцетиннің туындылары цитотоксикалық және антирадикалдық қасиет көрсетеді. Капилляр нығайтушы қасиет көрсететін – катехиндер, димерлі проантоцианиндер [25].

Өсімдіктерде фенолдар ферментативті гидроксилденіп, гидроксил топтардың саны артып тотығу процесіне бейім болады. Гидроксилдену реакциясы мен сақинаның үзілуі және қайта бірігуі (топтасуы) нәтижесінде ароматты қосылыстар ыдырап (қайта топтасып) жаңа зат түзіледі [26]. Фенолды қосылыстардың ең маңызды қасиеті – тотығу үрдісі:



Түзілген радикалдар – нейтрал молекулаларды реакцияға тартады. Тотығу үрдісін тез тоқтату үшін, белсенді инактивациялаушы антиоксидант қажет. Нейтрал молекуламен радикал арасында жаңа нейтрал молекула және жаңа радикал түзіледі.



Антиоксидантты эффект түзілгенде реакция кезіндегі фенолды ингибирленген радикал тотығу тізбегін жалғастырмайды, себебі бастапқы радикалдан тотығу энергиясы төмен болады.

1.4 Фенилпропаноидтар. Фенилпропаноидтардың жіктелуі

Фенилпропаноидтар құрылымында бір немесе бірнеше фенилпропан (C₆ - C₃) фрагменттері бар ароматты фенолды қосылыстар. Берілген класс өкілдері өсімдік әлемінде кеңінен таралған, дегенмен соңғы кездері осы топ негізінде дәрілік заттарды жасау мақсатында биологиялық заттарды зерттеу өзекті мәселелердің бірі болып отыр [27].

Фенилпропаноидтар - негізінен фенилаланинамин және амин қышқылы арқылы шикимат жолымен синтезделетін өсімдік текті органикалық

қосылыстарының тобы. Құрылымдық фрагменті - тармақталмаған үш көміртекті тізбек бекітілген бензол сақинасы. Фенилпропаноидтар, микробтық аурулардан және ультракүлгін сәулелерден қорғау, жасуша қабырғаларының құрылымдық компоненттері, пигментті прекурсорлар мен сигналдық молекулалар қызметі функцияларын атқарады [27, б. 347], [28].

Фенилпропаноидтарды зерттеу барысында басқа да жаңа туындылары бөлініп, кластың жіктелуі толықтырылған. Профессор В. А. Куркиннің ұсынған жіктелуі бойынша фенилпропаноидтар табиғи қосылыстарда жеке класс ретінде қарастырылған [29].

1. Қарапайым фенилпропаноидтар

- а) корич қышқылы және олардың туындылары
- ә) циннамоиламидтар
- б) корич спирттері және олардың туындылары
- в) корич альдегидтері
- г) фенилпропандар.

2. Күрделі фенилпропаноидтар

- а) фенилэтаноидтар негізді фенилпропаноидтардың гликозиді
- ә) фенилпропаноидтардың тотыққан өнімдері (лигноидтар)
 - лигнандар
 - флаволигнандар
 - ксантонолигнандар
 - кумаринолигнандар
 - алкалоидолигнандар
 - неолигнандар.

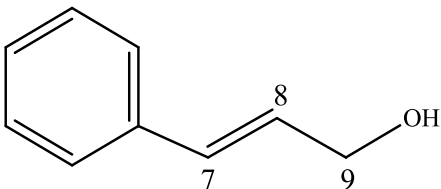
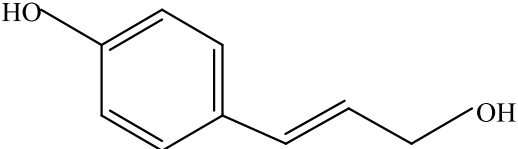
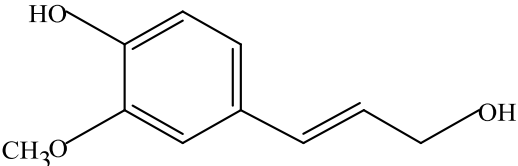
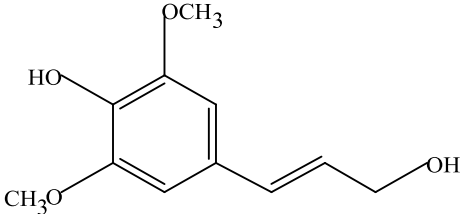
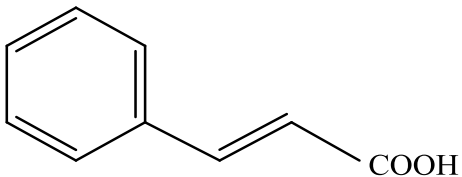
3. Фенилпропаноидты қосылыстардың биогенетикалық туындылары (флавоноидтар, кумариндер және тағы басқалары).

Кең танымал стилбеноидтердің бірі - ресвератрол, оның фармакологиялық белсенділіктердің кең, тұт пен жүзімнің қабығы мен тұқымында кездеседі [30]. Куркума сығындысының құрамында 75 - 95% куркумин бар, куркума дәмдеуіштер ретінде пайдаланылады. Сонымен қатар, куркума ежелден халықтық медицинада әртүрлі қабынуды емдейтін құрал ретінде қолданылған.

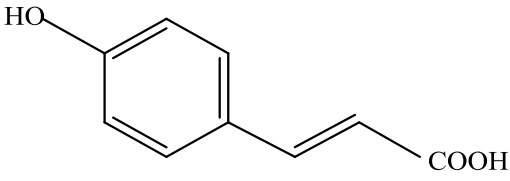
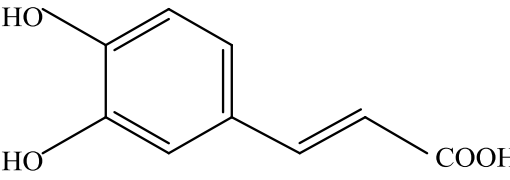
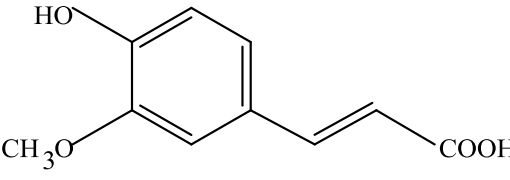
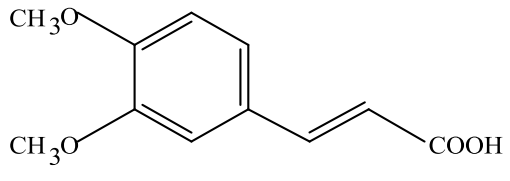
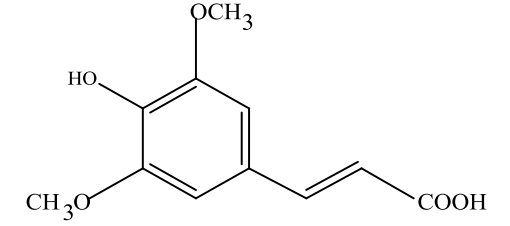
Фенилпропаноидтардың жіктелуі, қабық спирті мен қабық қышқылының негізгі қызметі болып табылатын фенолды қосылыстардың биосинтезіне негізделген (2-кесте) [31 - 34].

Фенилпропаноидтар молекулаларындағы құрылымдық фрагменттерінің әртүрлі белгіленуі мен номенклатурасына байланысты қабық қышқылының мысалында фенилпропаноидтардың көміртек атомындағы біріңғай нөмірлеуінен С - 7, С - 8 және С - 9 молекулаларынан пропанды фрагменттен нақты бөлуге болатыны көрсетілген, сәйкесінше, С - α , С - β және С - γ деп белгіленеді [35].

Кесте 2 – Қабық спирттері мен қышқылдарының физика-химиялық мәліметтері

Қосылыстардың құрылысы	Физика – химиялық константалар, Өсімдік шикізаттары
1	2
Қабық спирті 	$C_9H_{10}O$ (M^+ 134), балқу темп. $33 - 34^\circ$ (хлф-гексан), λ_{max} 252нм, 200°- дағы масс- спектр, m/z (қарқындылық, %): M^+134 (70), 115 (40), 105 (52), 92 (100), 91 (80), 78 (80), 77 (50). Дейтероацетондағы 1H-ЯМР – спектрлер (100 МГц. М.д.): 7.2-7.4 (м, 5 ароматты-Н), 6.65 (д, 16 Гц, Н-7), 6.4 (дт, 6 және 16 Гц, Н-8), 4,3 (м, 2Н-9)
Кумар спирті 	$C_9H_{10}O_2$ (M^+ 150), балқу темп. $116 - 118^\circ$ (су), λ_{max} 264 нм. 100° - дағы масс - спектр: M^+150 (100), 149 (7), 134 (1), 133 (11), 132 (25), 122 (2), 108 (22), 107 (100), 103 (38), 94 (95). Дейтероацетондағы 1H-ЯМР – спектрлер (100 МГц, М.д.): 7.2 - 7.4 (м.5Ar - Н), 6.65 (д, 16 Гц, Н - 7), 6.4 (дт, 6 және 16 Гц, Н - 8), 4,3(м, 2Н - 9).
Кониферил спирті 	$C_{10}H_{12}O_3$ (M^+ 180), балқу темп. $74 - 75^\circ$. 100° - дағы масс- спектрлер: M^+180 (39), 167 (48), 163 (46), 152(4), 1151 (3), 149 (100), 137 (6), 136 (11), 124 (4), 117 (7), 115 (3), 91 (50).
Синап спирті 	$C_{10}H_{12}O_3$ (M^+ 210), балқу темп. $63 - 65^\circ$. 70° - дағы масс - спектрлер: M^+210 (4), 183 (7), 182 (100), 181(48), 168 (10), 167 (48), 155 (3), 154 (2), 153 (4), 152 (1), 151 (3),150(6), 149 (6).
Қабық қышқылы 	$C_9H_8O_2$ (M^+ 148), балқу темп. $119 - 121^\circ$ (хлф-гексан) <i>Populus L. aurifoliaopulus Ledeb.</i> (бүршіктері) <i>Salicaceae</i> тұқымдасы

2 - кестенің жалғасы

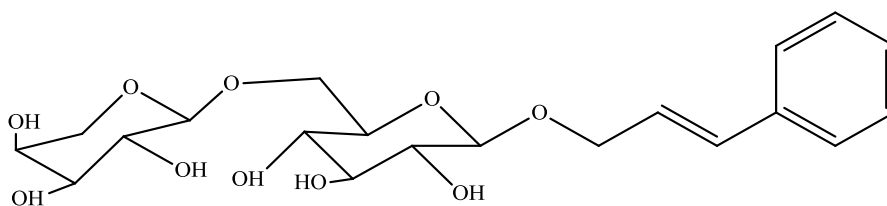
1	2
п – кумар қышқылы 	$C_9H_8O_3$ (M^+ 164), балқу темп. 207 – 209^o (хлф-MeOH), λ_{max} 227, 295 пл. 309 нм. <i>Cerasusserrulata</i> Don. (гүлдері), <i>Rozaceae</i> тұқымдасы; <i>Rhodiolarasea</i> L. (биомасса); <i>Populusbalsamifera</i> L. (бүршіктері), <i>Salicaceae</i> тұқымдасы; <i>Eleutherococcussenticasus</i> (Rupr. EtMaxim.) Maxim. (тамырлары), <i>Araliaceae</i> тұқымдасы.
Кофеин қышқылы 	$C_9H_8O_4$ (M^+180), балқу темп. 218 – 222^o (сулы ацетон), λ_{max} 247, 299 пл. 327 нм. 100^o - дағы масс - спектрлер: M^+ 180/ 100, 163 (31), 152, 136. Дейтероацетондағы 1H - ЯМР – спектрлер: (100 МГц, м.ү.): 7.56 (д, 16 Гц, Н - 7), 7.2 (с, Н - 2), 7.14 (д, 9 Гц, Н - 6), 6,88 (д, 9 Гц, Н - 5), 6.28 (д, 16 Гц, Н - 8)
Ферул қышқылы 	$C_{10}H_{10}O_4$ (M^+194), балқу темп. 168 – 170^o (сулы спирт), λ_{max} 242, 292пл. 324нм. Дейтероацетондағы 1H - ЯМР – спектрлер: (100 МГц, м.ү.): 8.14 (д, 16 Гц, Н - 7), 7.68 (д, 2 Гц, Н - 6), 7.24 (дд, 2 және 9Гц, Н - 2), 6.98 (д, 9 Гц, Н - 5), 6.90 (д, 16 Гц, Р - 8), 3.80 (с, CH₃O).
3,4 – диметоксиабық қышқылы 	$C_{11}H_{12}O_4$ (M^+206), балқу темп. 142 – 145^o (сулы ацетон), Дейтероацетондағы 1H - ЯМР – спектрлер: (100 МГц. м.ү.): 7.44 (д, 16 Гц, Н - 7), 7.26 (д, 2 Гц, Н - 6), 7.14 (дд, 2 және 9 Гц, Н - 2), 7.00 (д, 9 Гц, Н - 5), 6.43 (д, 16Гц, Н - 8), 3.98 (с, CH₃O), 3.96 (с, CH₃O).
Синап қышқылы 	$C_{11}H_{12}O_5$. Балқу темп. 191 – 192^o (сулы спирт). <i>Brassica oleracea</i> (жапырақтары), <i>Brassicaceae</i> тұқымдасы.

Қарапайым фенилпропаноидтардың ішінде биологиялық белсенділіктеріне және құрылымдық талдауына қарай қабық спиртінің гликозидтері және қабық қышқылының туындыларына: *Rhodiola srecies* циннамилгликозидтері (қабық қышқылының гликозидтері), *Echinacea purpurea* кофе қышқылы негізіндегі конъюгаттар, *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. Et Maxim) және *Maxim Syringa vulgaris* L. синап спирті негізіндегі фенилпропаноидтардың гликозидтері және осы класс өкілдерінің басқа да қосылыстары жатады.

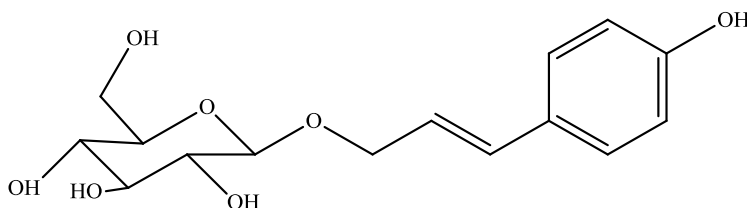
Қарапайым фенилпропаноидтардың ішінде ерекше орын алатын оттекті функционалды топтан айырылған пропанды фрагмент - фенилпропандар: анетол, эстрагол, эвгенол, олар тек эфир майларының құрамында емес өсімдік құрамында гликозилді түрде болады, мысалы эвгенол. Монотерпендер және олардың туындыларының анальгетикалық, антибактериялық, антиконвульсанттық, қабынуға, вирусқа, Альцгеймер мен Паркинсон ауруларына қарсы түрлі фармакологиялық қасиеттер көрсететіні дәлелденген [36]. Қазақстан флорасындағы 6000-ға жуық дәрілік өсімдіктердің құрамындағы жоғары биологиялық белсенді заттардың пайдалы қасиеттері көрсетілген [37]. Бұл жердегі маңызды нәрсе, ферментативті үрдіс кезінде гликозидтер агликондарға ыдырап, нәтижесінде өсімдік шикізатында эфир майларының мөлшері артады.

Күрделі фенилпропаноидтар тобының жіктелуі фенилпропаноидтың $C_6 - C_3$ көміртек фрагментінің құрылымындағы гликозидтердің әртүрлі болуына байланысты болады. Ең көп тараған гликозидтер тобы - фенилэтаноидтардың туындылары (күрделі фенилпропаноидтар - актеозид, форзитиазид, эхинакозид, плантомайозид) [38-42].

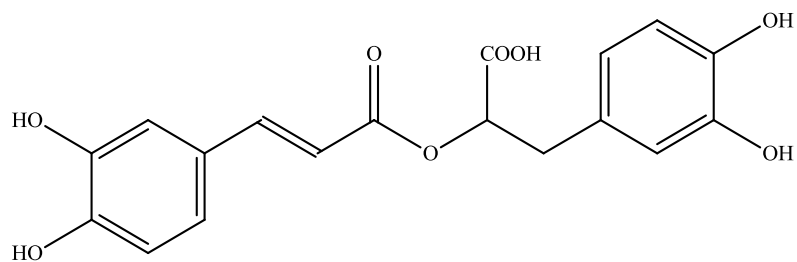
Дәрілік өсімдіктердегі фенилпропаноидтардың негізгі өкілдері [43-45] (3-9- сурет).



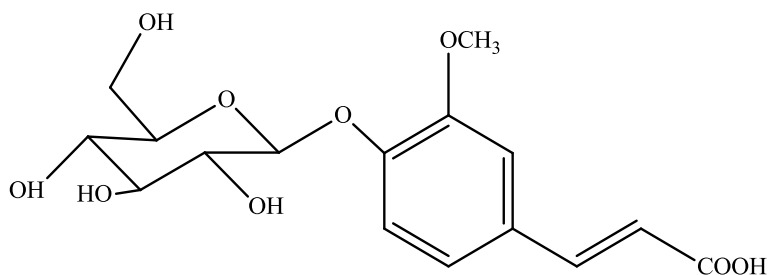
Сурет 3 – Розавин: *Rhodiola rosea* L.



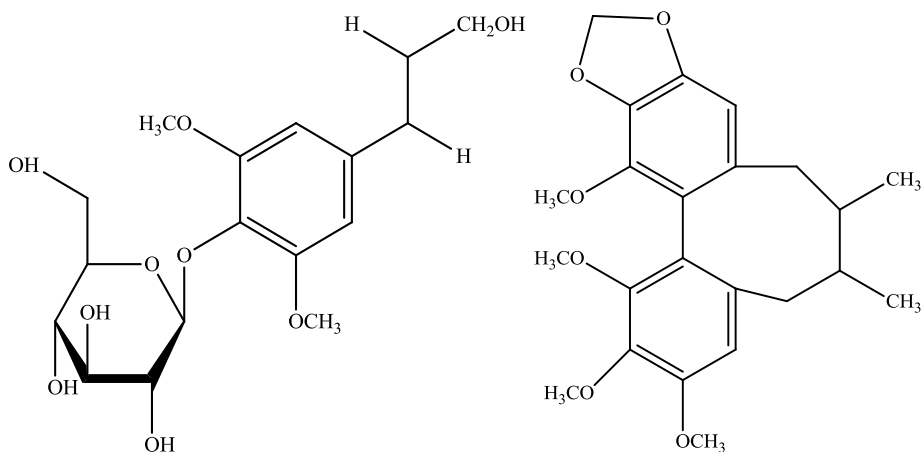
Сурет 4 – Триандрин: *Rhodiola rosea* L. өсімдігі



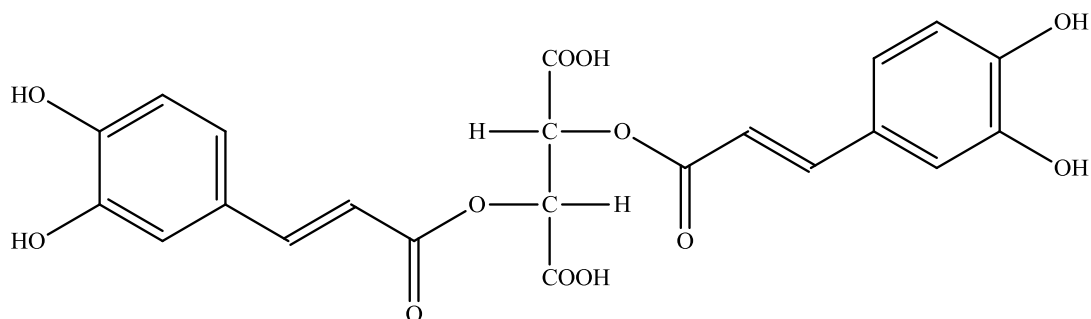
Сурет 5 – Розморин қышқылы: *Melissa officinalis L.* өсімдігі



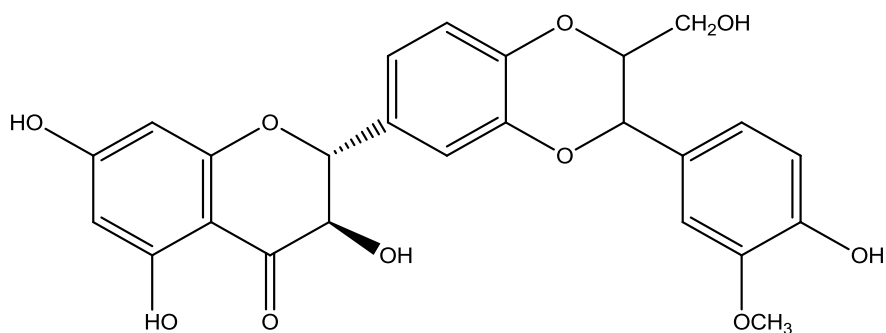
Сурет 6 – Лавандозид: *Lavandula spica L.* өсімдігі



Сурет 7 – Сирингин (Элеутерозид В): γ -Схизандрин:
Eleutherococcus senticosus өсімдігі Maxim *Schizandra chinensis Baill* өсімдігі



Сурет 8 – Цикорий қышқылы: *Echinacea purpurea L.* өсімдігі



Сурет 9 – Сибилін: *Silybum marianum* өсімдігі

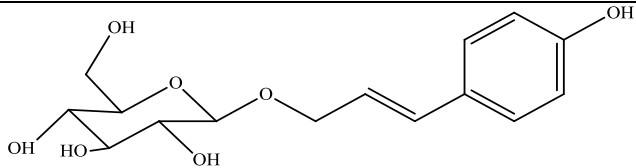
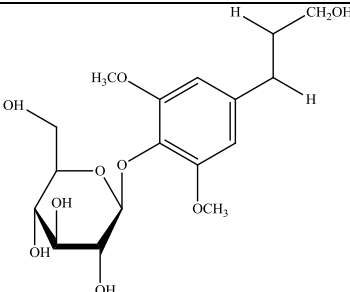
Кесте 3 – Иммуңтүрлендіргіш қасиеттері бар фенилпропаноидтар ($P_a > P_i$) [46].

Зат атауы	Химиялық құрылысы	P_a	P_i
Розавин		0,669	0,018
Триандрин		0,595	0,037
Элеутерозид В		0,567	0,046
Қабық спирті		0,470	0,098
n – кумар қышқылы		0,434	0,133

Кесте 4 –Тотығуға қарсы қасиеттері бар фенилпропаноидтар ($P_a > P_i$) [47].

Зат атауы	Химиялық құрылысы	P_a	P_i
Розавин		0,502	0,015

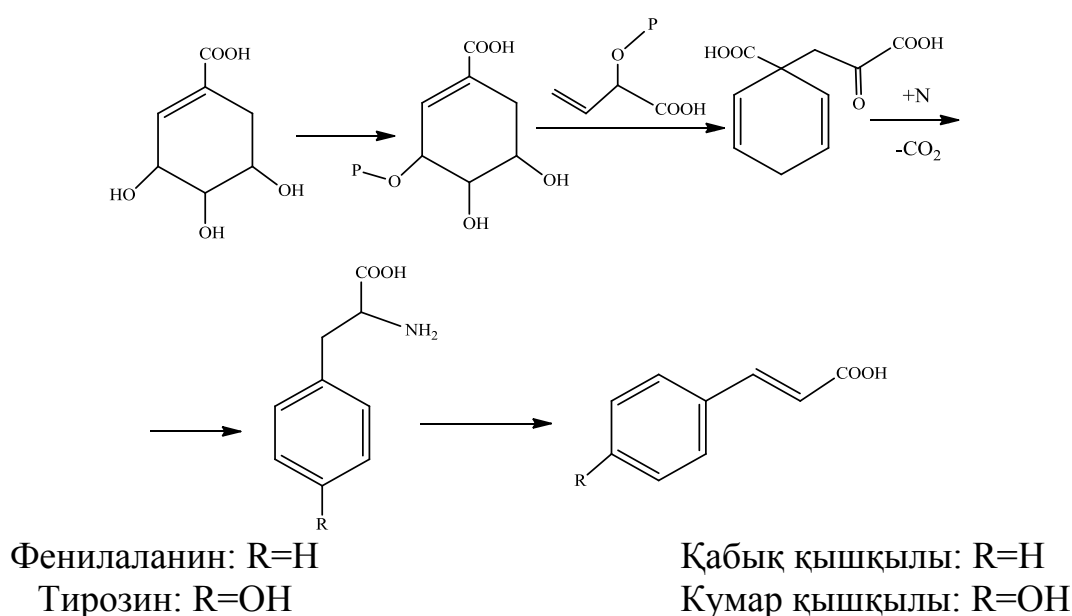
4 - кестенің жалғасы

Триандрин		0,553	0,012
Элеутерозид В		0,431	0,023

1.4.1 Фенилпропаноидтардың биосинтезі және өсімдік әлемінде таралуы

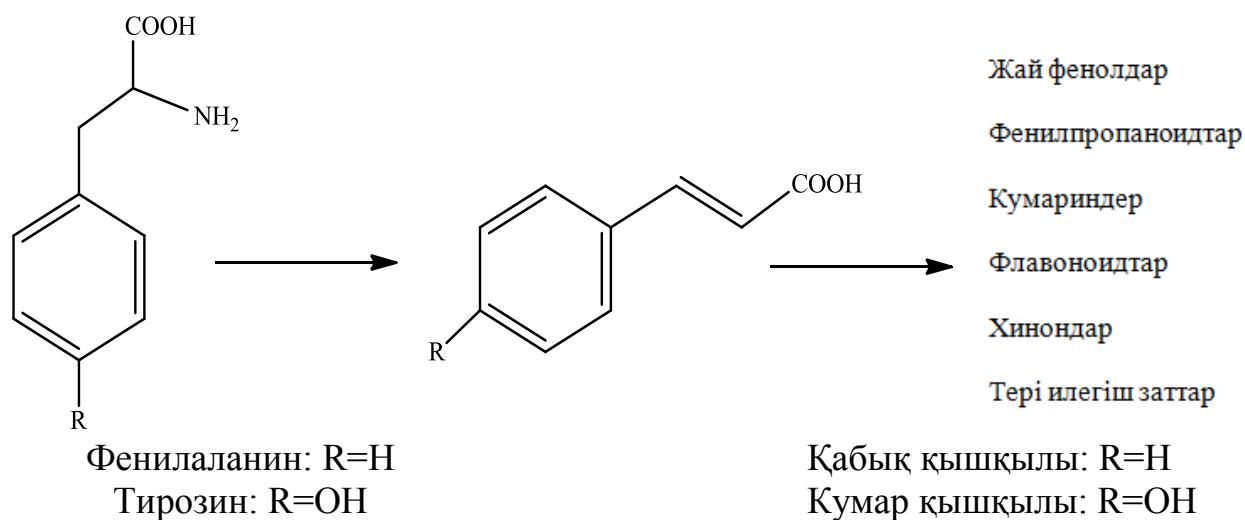
Биосинтез химизмі бойынша фенолды қосылыстарды лигнандар және лигноидтар, тотыққан жағдайда және ацетат шикиматты жолмен халкон-синтаз реакциясы, гидроксилдеу және изомерлену реакциялары мен конденсациясы нәтижесінде көміртектік қаңқаға байланысты кластарға (флавоноидтар, кумариндер, жай фенолдар және тері илегіш заттар) бөлуге болады [48, 49].

Oleaceae тұқымдасының *Forsythia intermedia* L. текті өсімдіктен алынған лигнанды қосылыстардың биосинтезінің механизмін зерттеу кезінде фенилаланин мен ферул қышқылы - лигнандардың (арктигенин, эпипинорезинол, филлогенин) таптырмас биогенетикалық бастапқы заттары. Реакция кониферил спиртінің екі молекуласының тотығуынан басталады: ферул қышқылы→ферулоил-S-CoA→кониферил альдегиді→кониферил спирті→лигнан. *Forsythia intermedia* L. өсімдік шикізатында 10% - ға дейін лигнанды гликозидтер жинақталады екен [50] (10 - сурет).



Сурет 10 – Фенилпропаноидтардың биосинтезі

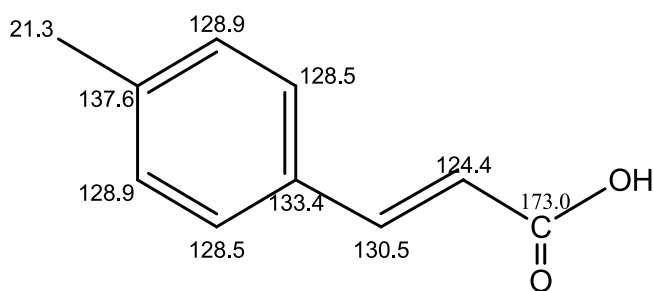
Фенилпропаноидтар (әсіресе қабық спирті мен қышқылы) флавоноидтар, кумариндер, лигнандар, хинондар, жай фенолды қосылыстар мен тері илегіш заттардың алғашқы биогенетикалық бастамасы болып табылады [51, 52] (11-сурет).



Сурет 11 – Фенолды қосылыстардың синтезі

Фенилпропаноидтарды талдау барысында жұқа қабатты хроматография, бағаналы хроматография, спектрофотометрия, ^1H - ЯМР спектроскопия, масс - спектрометрия әдістері және әртүрлі химиялық түрлендірулер қолданылады.

^1H - ЯМР спектрлері Bruker AM 300 (300 МГц) құрылғысында, массалық спектрлер Kratos MS-30 масс - спектрометрінде, ал УК спектрлері Specord 40 спектрофотометрінде (Analytic Jena) анықталған.



Сурет 12 – Фенилпропаноидтардың ЯМР спектрі

Хроматографиялық силикагельді (силикагель L 40/100) бағананы хлороформмен және хлороформ - этил спиртінің әртүрлі пропорциядағы жүйемен элюирлеген. Заттардың бөлінуі хлороформ - этанол (9:1), хлороформ - метанол - су (26:14:3), сірке қышқылы - су (4:1:2), сонымен қатар n - бутанол жүйелеріндегі Sorbfil пластиналарында ЖҚХ талдауымен жүргізіледі [53-55].

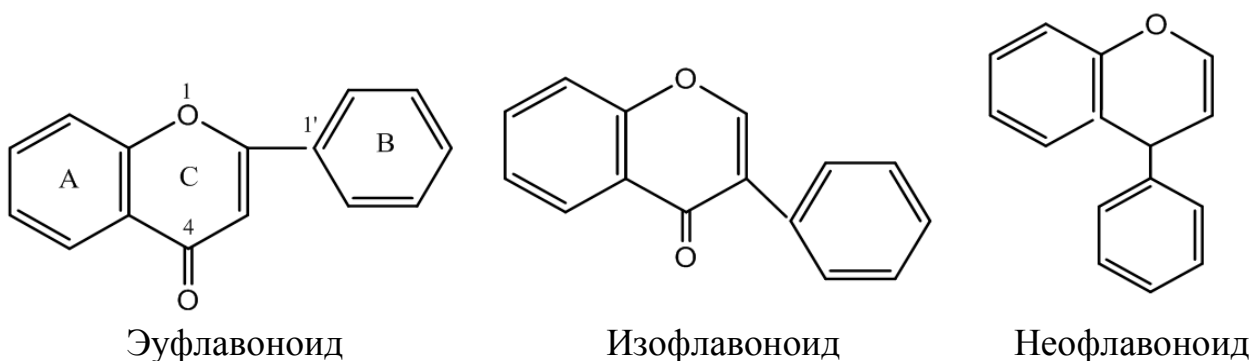
Фенилпропаноидтар мен фенолды қосылыстардың басқа да топтары арасындағы тығыз байланысты ескере отырып, құрамында флавоноидтар, кумариндер, хромондар және тағы басқа кластар бар дәрілік өсімдіктерде

фенилпропаноидтардың жоқ екендігін анықтауға болады. Әдеби мәліметтерге сүйенсек, күрделігүлділер немесе астра (*Asteraceae*) [56], жасаңшөптер (*Crassulaceae*), аралия (*Araliaceae*) [57], сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*), талдар (*Salicaceae*), бақажапырақтар (*Plantaginaceae*) [58], алқа (*Thymelaecaceae*) [59], еріндігүлділер (*Lamiaceae*) [60] және зәйтүн (*Oleaceae*) [61] тұқымдасты өсімдік шикізаттарында фенилпропаноидтардың көп мөлшері таралғандығы анықталды.

1.5 Флавоноидтардың жіктелуі және биосинтезі

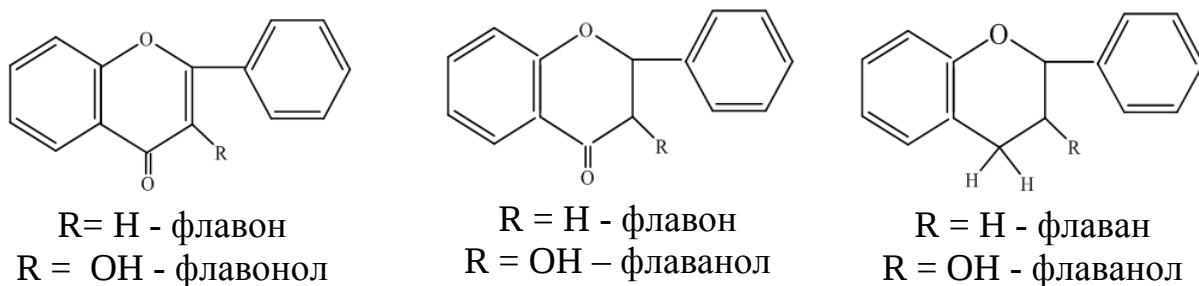
Полифенолдардың негізгі топтарының бірі – флавоноидтар болып табылады. Флавоноидтар γ - пиронның туындылары, он бес көміртегі атомынан тұрады. Құрылысы екі ароматты А және В сақинадан, бірнеше гидроксил немесе басқа орынбасарлардан тұрады.

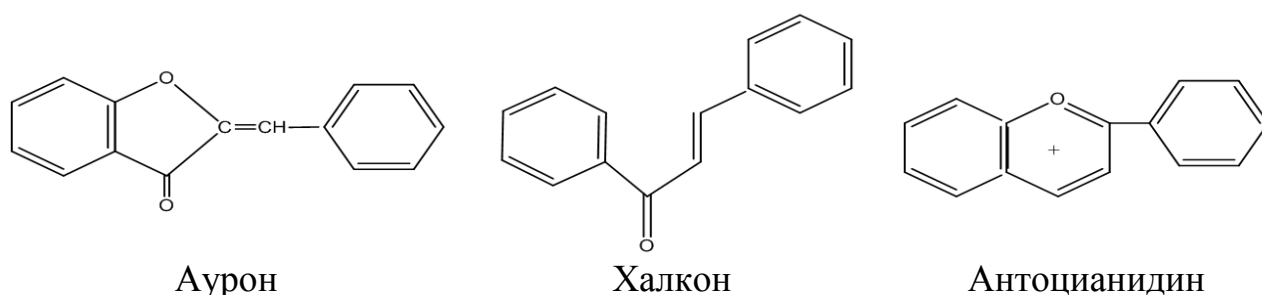
Флавоноидтардың В сақинасының орналасуына байланысты төмендегідей жіктеледі [62] (13 - сурет).



Сурет 13 – Флавоноидтардың В сақинасының орналасуына байланысты түрлері

Флавоноидтар ($C_6—C_3—C_6$) – өсімдік текті ароматты қосылыстар, олар хроман және хромондардың туындылары болып келеді. Эуфлавоноидтар табиғатта көп кездеседі. Олар тотығу дәрежесіне байланысты флаван, флавонон, флавонол, флавононол, антоцианидин, халкон және аурондар деп жіктеледі [63] (14 - сурет).





Сурет 14 – Флавоноидтардың тотығу дәрежесіне байланысты жіктелуі

Табиғатта мономерлі флавоноидтардан басқа олардың димерлі формалары бар (мысалы, бифлавоноидтар) [64]. Флавоноидтар өзара және басқа фенолды қосылыстар арасында конденсациялануы мүмкін: фенолкарбон және гидроксидинамикалық қышқылдар, лигнандар, сондай - ақ изопреноидтар мен алкалоидтар [65].

Өсімдіктерде флавоноидтар негізінен гликозидтер түрінде көп кездеседі. Оның себебі, флавоноид құрамында глюкозалардың (қанттар) шоғырлануы, агликондармен байланысу орны және глюкозаның циклдері мен гликозидтік байланыстарының орналасу ретіне, конфигурацияларына (фураноза және пираноза формалары) байланысты. Олар - моносахаридтер, D - және L-изомерлер, α - немесе β - байланысты болып бөлінеді.

Байланыс түріне қарай флавоноидтардың O – және C - гликозидтерге ажыратылады [66]. O – гликозидтер қышқылдар және ферменттермен оңай гидролизденеді, ал C - гликозидтер ферменттер және сұйытылған қышқылдармен гидролиздену реакцияна түспейді. Олар концентрлі тұз және сірке қышқылдарымен гидролизденеді [67].

Физика-химиялық қасиеттері. Флавоноидтар (лат. flavus – сары) – құрылымына қарай ақ түстен сары – қызғылт түске ие кристалды оптикалық белсенді заттар [68-69]. Мысалы, флавандар, изофлавандар түссіз, флаванолдар мен флавонолдар сары, халкондар мен аурондар ашық сары, қызыл - қызғылт сары, антоцианиндер ортаның рН мәніне байланысты қызыл немесе көк түсті болады [70]. Флавоноидтар иіссіз, кейбіреулерінің дәмі ащы. Ең ащы – нарингенин, ол хинин гидрохлоридінен 5 есе ащы болып келеді. Агликондар диэтил эфирінде, ацетонда және спирттерде оңай ериді, ал бензол мен хлороформда ерімейді. Флавоноидты гликозидтер спирттерде және спирт - су қоспаларында ериді. Моногликозидтер күшті спиртке, дигликозидтер – 50% спиртке, үш және одан да көп қанттары бар гликозидтер – әлсіз спиртке, тіпті суда жақсы ериді [71].

Флавоноид гликозидтері оптикалық белсенділік көрсетеді, олар арқылы кейбір стандарттың сапа көрсеткіштерін анықтау үшін үлгі ретінде (датисцин, рутин, гиперозид және т.б.) қолданылады [72].

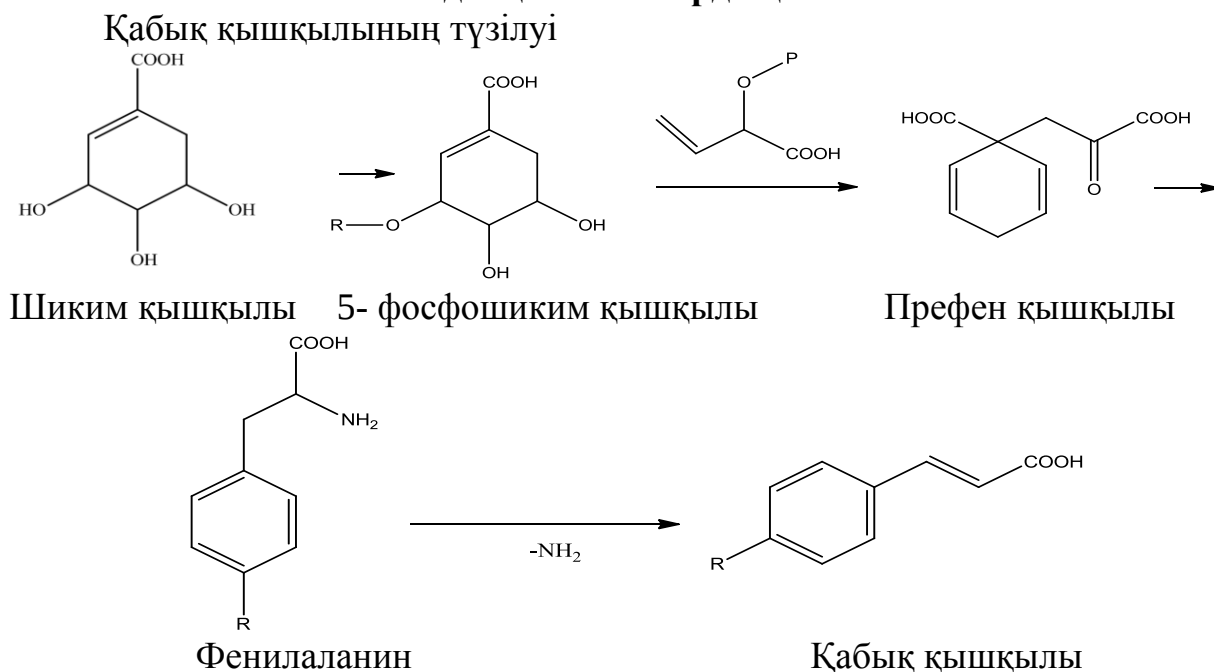
Флавоноидтық гликозидтерге тән қасиеттердің бірі қышқылдық және ферментативті гидролизге қабілеттілігі, флавоноидтардың құрылымына байланысты гидролиз жылдамдығы және оны жүзеге асыру шарттары әртүрлі

болады [73]. Флавонол – 3 - гликозидтер минералды қышқылдардың әлсіз ерітінділерімен (0,1 - 2%) қыздырғанда оңай гидролизденеді, ал флавоноидтардың 7 – О - гликозидтері (цинарозид) қатаң жағдайда – 2 сағат қыздырғанда гидролизденеді. Керісінше, 5 – О - гликозидтер әлсіз қышқылдардың әсерінен де, қыздырусыз - ақ бірден гидролизденеді (трицин – 5 – О - глюкозиді) [74]. Сонымен қатар, флавоноидтар ферментативті гидролизге ұшырайды, мысалы, глюкозидтер (бірнеше ерекшеліктерді қоспағанда) 3 - глюкозидазамен оңай ыдырайды [75].

Флавоноидтардың биосинтезі. Флавоноидтардың түзілуі хлоропласттарда жүреді және екі биосинтетикалық жолмен жүзеге асады: шикимат (В сақинасы) және ацетат (А сақинасы). Бұл кверцетин (қарақұмық), цианидин (қызыл қырыққабат өскіндері), катехин (шай өсімдігі жапырақтары) және т.б. жағдайында дәлелденген [76]. Флавоноидтар биосинтезіндегі бастапқы реакция белсендірілген гидроксидин қышқылының молекуласының ацетил - КоА немесе малонил - КоА үш молекуласымен конденсациялануы флавоноидтың (халкон арқылы) түзілуіне әкелетінін Г. Гризебах мәлімдеді. Хальконсинтаза ферментінің қатысуымен халкондардың түзілуі флавоноидтар биосинтезіндегі барлық өкілдер үшін бірінші және ортақ екенін атап өткен дұрыс [77]. Осыған байланысты хальконсинтазасы орасан зор реакциялардың әртүрлі флавоноидтар пайда болуына әкелетін реакциялар тізбегіндегі негізгі фермент болып табылады. Хальконсинтаза реакциясының нәтижесінде халкон түзіледі, ол сәйкес флаванонға, атап айтқанда, нарингенинге оңай изомерленеді [78].

Микросомол гидроксилаза флавоноид молекуласына ОН тобын енгізуге жауапты. Флавоноидтардың метилденуі О - метилтрансферазаның, гликозилдену – гликозилтрансферазаның қатысуымен жүзеге асады [79, 80] (15 - сурет).

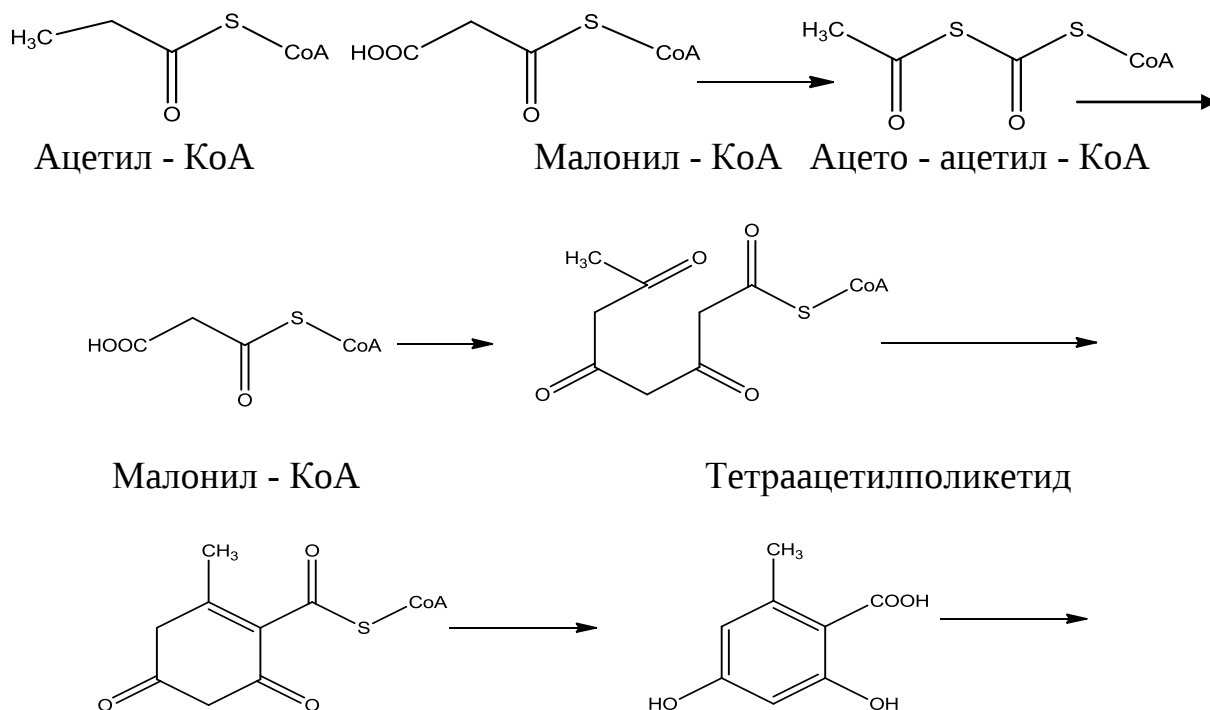
Фенолды қосылыстардың биосинтезі



Сурет 15 – Қабық қышқылының түзілуі

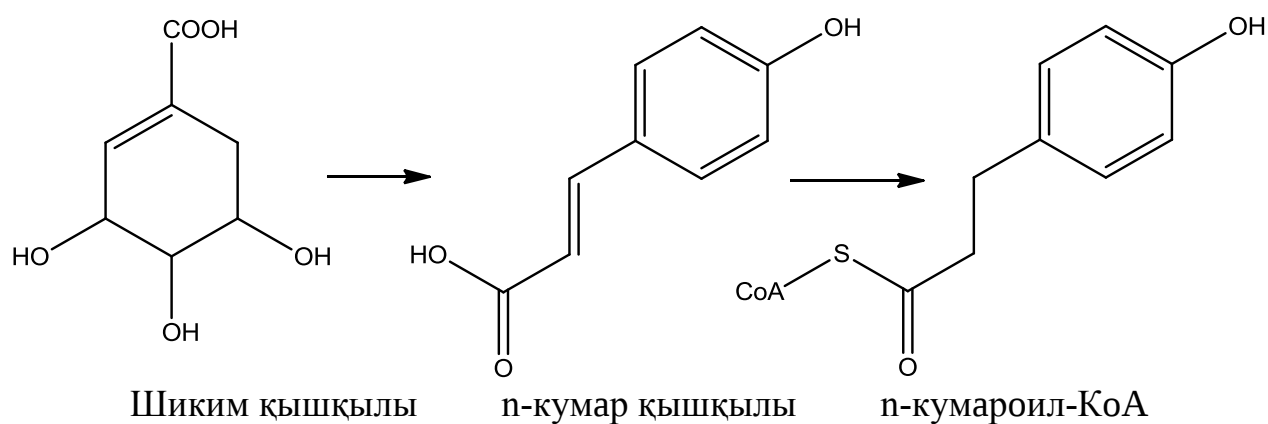
Жай фенолдар, фенилпропаноидтар, флавоноидтар, кумариндер

2. Ацетатты-малонатды реакция (16 - сурет).



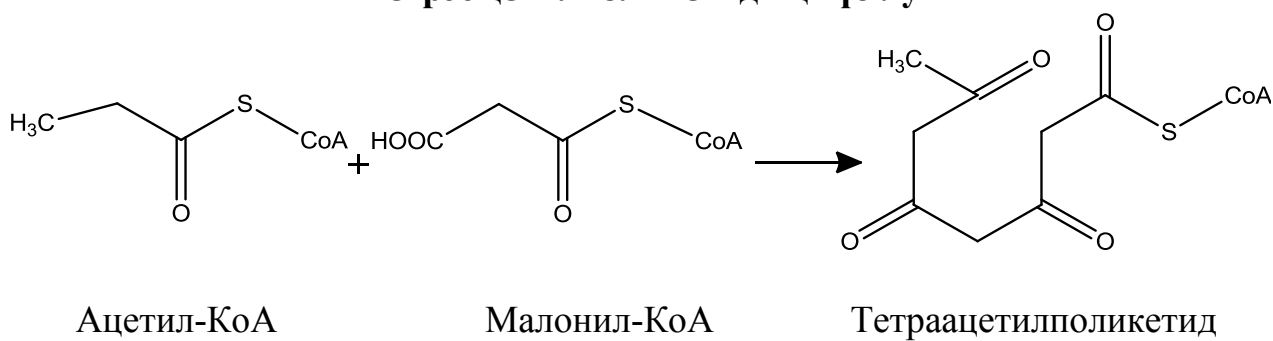
Сурет 16 – Ацетатты - малонатды реакция

Флавоноидтардың биосинтезі



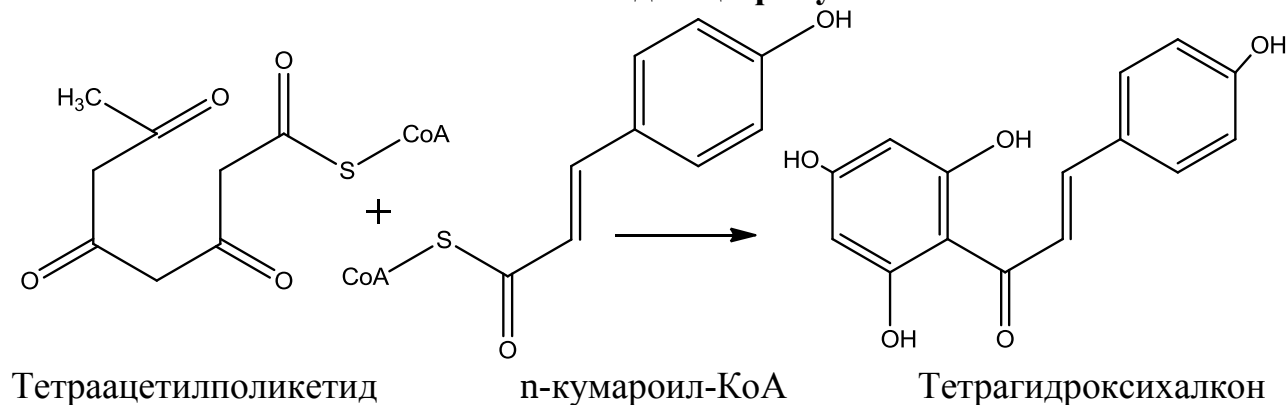
Сурет 17 – Қабық қышқылының түзілуі

Тетраацетилполикетидтің түзілуі



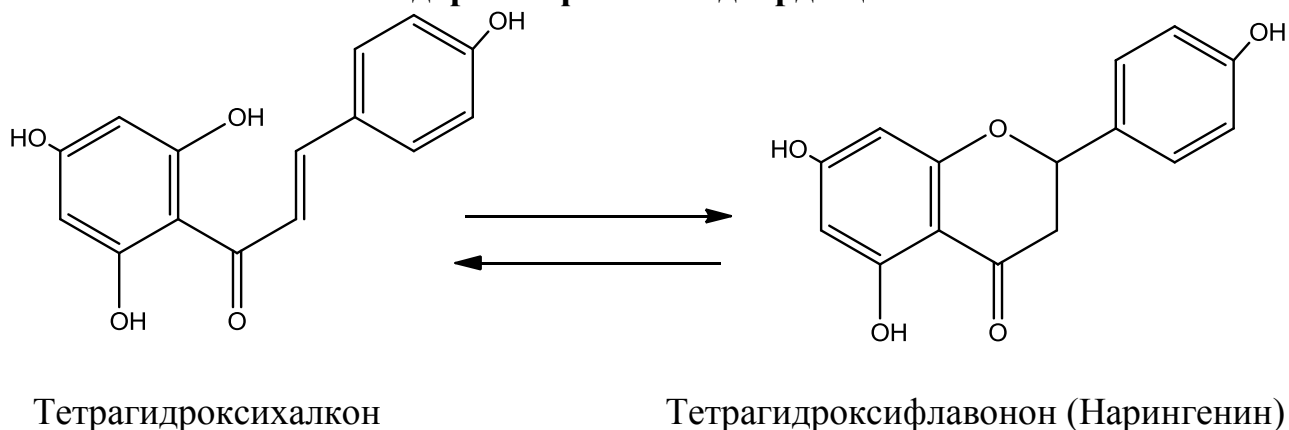
Сурет 18 – Тетраацетилполикетидтің түзілуі

Флавоноидтың түзілуі



Сурет 19 – Флавоноидтың түзілуі

Флаванондар мен флавоноидтардың биосинтезі



Сурет 20 – Флаванондар мен флавоноидтардың биосинтезі

1.5.1 Өсімдік шикізатынан флавоноидтарды алу және анықтау әдістері

Өсімдіктерден флавоноидтарды бөлу үшін, олардың шикізаттарын этанол, метанол немесе сулы - спирттермен (көбінесе экстрагенттердің 70% спирт оңтайлы) экстракциялау жүргізіледі.

Өсімдік шикізаттарынан бөліп алынған спиртті немесе сулы – спиртті экстрактілер буландырылып, ыстық су қосылып, салқындатылып әрі қарай еріткіштермен (хлороформ немесе төрт хлорлы көміртек) жуылып, полярлы емес қосылыстар (хлорофиллдер, эфир майлары, майлар, шайырлар, стериндер, каротининоидтар, липофилді заттар) сулы фазадан жойылады.

Флавоноидтарды сулы фазадан этил эфирімен (агликондарды), этилацетатпен (монозидтерді), биозидтер мен дигликозидтерді n – бутанолмен жуу арқылы бөліп алады. Полярлы флавоноидтар: триозидтер мен гидрофильді заттар сулы фазада қалады.

Сефадекс LH-20, силикагельді, полиамидті сорбентті және целлюлозалы бағаналы хроматография әдісі флавоноидтарды бөліп алу үшін қолданылады. Флавоноидтарды бөлу және тазарту үшін алюминий оксидін қолдануға болмайды, себебі флавоноидты қосылыстармен қайтымсыз реакция өнімдері лактар түзеді.

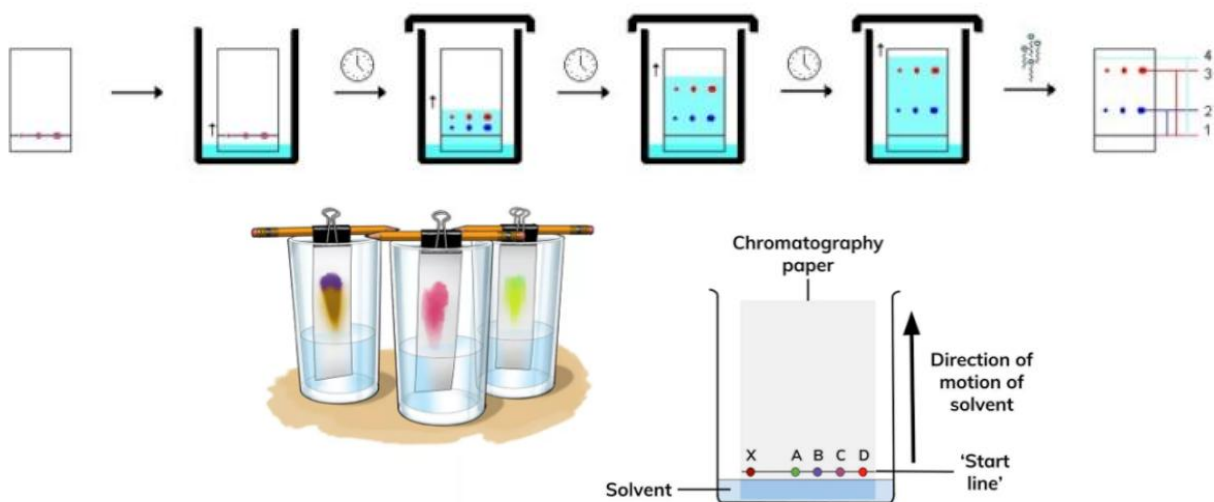
Заттарды хлороформды, әрі қарай градиентті режимде хлороформның метил немесе этил спирті қоспасымен элюент қоспасының полярлылығын арттыра отырып (спирт концентрациясы 1 - 30% диапазонында) элюирлейді.

Жеке флавоноидтарды бөліп алу үшін рехроматография, қайта кристалдау немесе арнайы әдістер қолданылады. Сонымен, рутинді жапон софорасының бүршіктерінен бөліп алу үшін ыстық сумен экстракциялайды. Салқын сулы экстрактіден рутинді (түнбаға түскен) сүзіп алып, қайта кристалдау әдісімен спирттен тазартады. Датисцин қарасора жапырақтарынан метанолмен өңдеу арқылы бөлінеді, ары қарай буландырылып, хлороформмен өңделінеді.

Анықтаудың хроматографиялық әдістері. Өсімдік шикізаттарынан көптеген биологиялық белсенді заттарды бөлу мен сәйкестендірудің алғашқы әдістері - жұқа қабатты және флеш – хроматография (21 - сурет). Бұл әдістер

карапайым және арзан. Жоғары эффекті және екі өлшемді жұқа қабатты хроматография фенолдардың күрделі табиғи көздерін анализдеу үшін пайдалануға болады. Олардың құрамында тотығуға бейім гидроксил топтарының болуы бұл қосылыстарды хроматографиялық және электрофоретикалық (электрохимиялық детекторлі ЖЭСХ) әдістермен анықтауға мүмкіндік береді [81].

Хромофор топтарының болуы оларды хроматографиялық бөлуден кейін спектрофотометриялық және гибридік (ЖЭСХ - УК, КЭ - УК) әдістермен детектрлеу арқылы анықтауға мүмкіндік береді [44 - 46]. Өсімдіктер мен биологиялық нысандардағы полифенолдарды анықтаудың кең тараған әдісі ультракүлгін немесе электрохимиялық (ЭД) детектрлі жоғары эффективті сұйық хроматографиясы (ЖЭСХ). Полифенолдарды анықтауда электрохимиялық әдістің сезімталдығы өте жоғары. Мысалға эпикатехинді электрохимиялық әдіспен анықтаудың сезімталдығы спектрофотометриялық әдіспен салыстырғанда ондаған есе жоғары [82].



Сурет 21 – Қағазды және жұқа қабатты хроматография

Сорбенттердің жоғары селективтілігі, диод-матрицалық, ультракүлгін, флуоресцентті, масс-спектрометриялық детекторлардың сезімталдығы және талдаудың тиімді температуралық жағдайлары осы әдістің артықшылығы болып табылады. Құрамы күрделі өсімдік шикізаттарының экстракттерін зерттеу үшін екі өлшемді еріткіш жүйелері бар ЖЭСХ мен диоднометрлік детекторлі фазалық бағандар қолданылады.

Қазіргі таңда масс - спектрометриялық детекторлы ЖЭСХ, әртүрлі иондану көздері бар диод – матрицалы және масс - спектрометрлік детекторлі әдістерді өсімдік шикізаты мен тамақ өнімдерінің құрамындағы фенолдарды идентификациялауда кеңінен қолданады. Масс – спектрометрлік детекторлы әдіс - әртүрлі жемістер, көкөністер және өсімдіктердің құрамында болатын ацилденген флавоноидты гликозидтерді анықтауда құнды болып табылады.

УК - детекторлы жоғарыэффективті масс - спектрометрия әдісімен полифенолдарды анықтауда детектрлеудің тиімді толқын ұзындығын таңдау аса маңызды. Фенолдарды анықтау кезінде әртүрлі толқын ұзындықтары алынады: 230, 280, 306, 360, 503 нм және т.б. Катехиндердің жұтылу спектрінде 200 және 280 нм екі максимум бар. 200 нм-де сіңіру қарқындылығы максималды, бірақ бұл толқын ұзындығында катехиндерден басқа қосылыстар да сіңірілуі мүмкін. Сондықтан күрделі үлгілерді талдау кезінде катехиндерді анықтаудың тиімді толқын ұзындығы ретінде 275-280 нм қолданылады [83].

200 нм-де анықтау көбінесе көк шайды анализдеуде қолданылады. Көптеген фенолдарда бірнеше сіңіру максимумы болады, сондықтан оларды анықтау үшін диод - матрицалық детектрлеудің бірнеше толқын ұзындығымен бір уақытта сканерлеу жиі қолданылады. Тамақ өнімдері мен сусындардағы фенолдарды анықтау үшін диод - матрицалық детекторлық жоғарыэффективті сұйықтық хроматография әдісі қолданылады. Оның басты артықшылығы - анықтау шегінің төмендігі. Мысалы, [84] жұмыста көк шай сығындысындағы катехиндерді анықтау шегі $0,05 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ (205 нм) көрсетілген. Гидроксикорич қышқылдары 320 нм, флавонолдар – 370 нм, антоцианиндер - 530 нм-де анықталады. УК детекторлы ЖЭСХ әдісімен «Пассифит» дәрілік шәрбаты құрамынан лютеолин, тимол, рутин, сорбин қышқылы және адам зәрінен кверцетин сәйкестендірілді. Анықтау шегі 5 нг/мл болды.

Азық - түлік пен сусындардағы фенолдық қосылыстарды анықтау жиі модификацияланған кремний гельдерімен жүргізіледі, себебі бөлудің селективтілігі жоғары, нәтижелердің қайталанғыштығы жақсы, бағананы ұзақ қолдануға болады. Тамақ өнімдерінің, сусындардың және дәрі - дәрмектердің антиоксиданттық белсенділіктерін бағалау үшін амперометриялық детекторлы хроматография қолданылады [85]. Табиғи биоактивті фенолдардың көпшілігі электродта тотығуға қабілетті, сондықтан оларды анықтау үшін амперометриялық детекторды қолдану ыңғайлы. Бұл фенолдардың күрделі табиғи көздеріндегі белгісіз қосылыстарды анықтауға мүмкіндік береді, ал классикалық химиялық әдістердің көмегімен үлгінің жалпы антиоксиданттық биологиялық белсенділігін немесе белгілі қосылыстың белсенділігін анықтауға болады.

Өсімдік шикізаты майларының құрамындағы фенолдардың сапалық құрамы мен сандық мөлшерін кулонометриялық әдіспен анықтайды. Кулонометриялық детекторлы анықтаудың артықшылығы, оның құрылысының қарапайымдылығы мен әртүрлі тотығу потенциалды элюирленген заттарды бір уақытта анықтау мүмкіндігі болып табылады. Бұл детектор ультракүлгін детекторымен салыстырғанда төмен анықтау шегін көрсетеді және өсімдік сығындыларындағы биоактивті фенолдарды сандық анықтау үшін қолданған кезде жоғары селективтілік танытады. Фенол қышқылдары мен токоферолдардан кулонометриялық детектордың төмен потенциалда (100 - 450 мВ) максималды сигнал анықталды, ал флавоноидтар максималды сигналды 0 - 300 және 600 - 900 мВ екі интервалда көрсетеді. Атмосфералық қысымда химиялық ионизацияланған масс - спектрометриялық детекторлы ЖЭСХ

әдісімен жемістер мен көкөністердің 40 - қа жуық түрлері сығындыларының сапалық және сандық құрамын анықтап, жеті флавоноидті бөліп, оларды сәйкестендірген [86]. Мысалы, зерттелген алма үлгісінің 100 г – да 2 мг кверцетин, ал ақжелкен үлгісінің 100 г – да 185 мг апигенин бар екендігі анықталған.

Адам зәріндегі гидроксидиннаматтарды, кофеин және хлороген қышқылдарын, катехин мен эпикатехинді бір уақытта анықтау үшін атмосфералық қысымда химиялық ионизацияланған масс - спектрометриялық детектерлі сұйық хроматография әдісімен анықтаған. Градуирлеу графиктері 10 - 100 нг / мл диапазонында сызықты. Жеке катехиндерді сапалық және сандық анықтау үшін адсорбциялық жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) әдісі қолданылды. Сорбент силикагель қозғалмайтын фаза ретінде алынды.

Силикагель пластинкаларында жылжымалы фаза ретінде хлороформ – этилформиат – бутанол - құмырсқа қышқыл жүйесі қолданылып, бес негізгі катехин мен кофеиннің бөлінуі сипатталған.

Он үш полифенолды қосылыстарды, соның ішінде галл қышқылын, катехин және эпикатехинді сорбент силикагельде бөлу мүмкіндігі [87] көрсетілген. Сегіз катехинді жоғары эффективті жұқа қабатты хроматография әдісімен бөлудің тиімді жағдайлары ұсынылған. Шараптар мен көк шайдың құрамындағы галл қышқылын люминисцентті анықтау үшін жұқа қабатты хроматография әдісі қолданылған. Айқындағыш ерітінді ретінде триоктилфосфиноксидтің (ТОФО) қатысуымен тербий (III) хлоридін қолдану ұсынылды. Ол хроматографиялық пластинада лантанид ионының сенсбилизацияланған люминесценциясының пайда болуын тудырады. ЖҚХ әдісінің артықшылықтары: құралдың қол жетімділігі мен талдаудың экспрессивтілігі. Жоғары эффективті және екі өлшемді жұқа қабатты хроматография әдістерін фенолды қосылыстардың табиғи көздерін талдауда пайдаланады [88]. Жасанды (фальсификациялы) дәрі – дәрмектерді анықтау үшін «саусақ іздері» және биологиялық сұйықтықтарды хроматографиялық талдау әдістері қолданылады.

Электрохимиялық анықтау әдістері. Барлық полифенолды қосылыстар, олардың молекулаларының құрамындағы гидроксил топтарының көп болуына байланысты оңай тотығады, сондықтан олар жоғары электродты белсенді заттарға жатады. Электродтарда оңай тотығу қасиеттеріне байланысты полифенолды қосылыстарды анықтау үшін электрохимиялық әдістер қолданылады [89].

Фармацевтикалық препараттардағы флавонолдарды кверцетиннің тотығу толқынының шыңын 0,1 М H_2SO_4 немесе 0,1 М HCl фонында платиналы электродта тіркеуге негізделген вольтамперометрлік анықтау ұсынылған. Талдаудың катодты және импульсті вольтамперометрлік әдістері өсімдік шикізаты сығындыларының тотығуға қарсы белсенділіктерін анықтауда қолданылады.

Тағам өнімдеріндегі биологиялық белсенді қоспалар мен шарап құрамындағы табиғи антиоксиданттар құрамын анықтау үшін - амперометрлік

әдіс қолданылады. Бұл әдіс тек тотығуға қарсы әсерді анықтауда селективті. Талдау үшін химиялық реактивтер (стандарттар ғана қажет) қажет емес, сондықтан өлшеу құны өте арзан. Потенциалдың шамасын өзгерте отырып, антиоксиданттарды кластарға жіктеуге болады.

Соңғы кездері ультракүлгін детекторлы капиллярлық электрофорез әдісі кең таралуда. Өсімдік шикізаттары құрамындағы полифенолдарды, сулы жүйеде нашар еритін қосылыстарды бөлуге мүмкіндік беретін сулы емес капиллярлық электрофорез әдісімен анықтау ұсынылды. Сулы емес буферлік электролитте полифенолды қосылыстарды бөлудің селективтілігі артатыны көрсетілген.

Полифенолдарды анықтау үшін буферлік электролит құрамына тетраэтиламмоний тетрафторбораты алынды. Буферлік электролит ретінде рН 8,0 - 9,5 – тең бораттар жиі қолданылады, себебі бораттар флавоноидтардың гидроксил топтарымен өзара әрекеттеседі және бөлуді жеңілдететін кешендер түзеді. Модификатор ретінде - циклодекстриндер пайдаланылды. Шығыр майының құрамындағы флавоноидтарды бөлу үшін модификатор – диметил – β - циклодекстрин алынды.

Диод - матрицасындағы детекторды қолдану, белгісіз қосылыстарды сіңіру спектрі бойынша анықтауға мүмкіндік береді. Сонымен, авторлар [90] антиоксиданттық белсенділігі бар полифенолды және басқа қосылыстардың құрамын анықтау арқылы балдырлардың тотығуға қарсы белсенділігін анықтаған. Балдырлар сығындысындағы әртүрлі қосылыстардың спектрлері сапалы талдау үшін пайдаланылды. Қазіргі уақытта капиллярлық электрофорез әдісі фенолдарды қосылыстарды бөлу және анықтау кезінде жоғары эффективті сұйық хроматографияға қосымша қолданылады. Фенолдарды анықтаудың кең таралған әдістерінің бірі - кулонометриялық анықтау.

Бұл әдістің амперометриялық анықтаудан айырмашылығы, зерттеуге алынған қосылыстар толығымен тотығады. Спектроскопиялық анықтау әдістері хромофорларды алу (Фолин Кокто әдісі, HCl-BuOH , ванилин және т.б.) реакциясына негізделген. Алайда, бұл әдістер жеке қосылыстардың саны мен құрылымын анықтамайды.

Тотығу - тотықсыздану реакциясына негізделген құрылымдық жағынан ұқсас флавонолдарды Фолин - Денис әдісімен анықтауды спектрофотометриялық әдістерден бөліп көрсеткен дұрыс. Фолин - Денис әдісі фенолдық қосылыстардың сілтілік ортада вольфрам қышқылымен көгілдір тотығу өнімдерінің түзілуіне негізделген. Бұл әдіс флавоноидтардың қосындысын ғана анықтайды және реакция нәтижесінде тұнба түзіліп нәтижелер төмендейді. Полифенолдардың ультракүлгін аймақтарындағы сіңіру жолақтары олардың жалпы мөлшерін анықтау үшін қолданылады.

Өсімдік шикізатының сапалық құрамын анықтаудың спектрофотометриялық әдісі батбақты мажыра тамырының сулы – спиртті экстрактісінің жұтылу спектрлерін полифенолдың сәйкес стандартты үлгілерінің спектрімен салыстыру арқылы анықтауға мүмкіндік береді. Бұл

жағдайда флавоноидтардың сандық құрамы хлороген қышқылына қайта есептеледі.

Флавоноидтардың жалпы құрамын алюминий хлоридімен флавоноидтардың кешен түзілу реакциясы арқылы спектрофотометриялық әдіспен анықтайды. Цитрус сығындыларының жалпы тотығуға қарсы белсенділігін тиобарбит қышқылымен реакциясы нәтижесінде флавоноидтардың аскорбат – және ферроиндукцияланған Твин - 80 малон альдегидіне дейін тотығуын тежеу дәрежесі бойынша бағалайды. Шайлардағы полифенолдарды анықтау әдісі бос катион - радикалдардың 2, 2' – азино - 5ис(3 – этилбензотиазолин – 6 - сульфокышқылдар) түзілуін тежеуге негізделген, ерітіндінің түсі – көкшіл - жасыл. Радикалдардың катехиндермен (немесе көк шай сығындысымен) әрекеттесуі нәтижесінде ерітінді түссізденеді. Түс қарқындылығының төмендеуін спектрофотометриялық түрде бақылайды [91].

Таниндерді анықтаудың оңтайлы әрі қарапайым әдісі фосфорлы - молибден қышқылы тотықсызданатын тотығу – тотықсыздану реакциясына негізделген – Фолин - Чокальтеу спектрофотометриялық әдісі.

Таниндерді осы әдіспен анықтауда инфузиядағы тотықсызданатын кант, аскорбин қышқылы, ақуыздар мен амин қышқылдарының (цистеин мен тирозин) болуы кедергі жасайды. Шайдың құрамындағы фенол қосылыстарының мөлшерін салыстырмалы талдау титриметрлік, гравиметрлік және спектрофотометрлік әдістерімен жүргізілді.

Ең жиі қолданылатыны - Левенталдың классикалық әдісі. Бұл әдісте шай экстрактісін индигокармин индикаторы қатысында калийдің перманганатымен титрлейді. Титрлеу барысында тек фенолдар ғана емес басқа да қосылыстар тотығады.

Шайдың құрамындағы полифенолдарды гравиметриялық анықтау әдісін Дейс әзірлеген және ол таниндердің артық формальдегидпен әрекеттесу өнімдерін салмақтық анықтауға негізделген. Бұл әдістің негізгі кемшілігі, таниндердің мөлшерінің азаюы нәтижесінде әдістің қателігі артады. Танинді - катехинді қоспа өте күрделі және көп компонентті жүйе болғандықтан, бұл үш әдіс фенол компоненттерінің жалпы құрамын бағалауға мүмкіндік береді, сонымен қатар әртүрлі әдістермен анықтауда әртүрлі нәтижелер алынады.

Өлшеудің үлкен қателікті гравиметриялық әдіс, аз қателік – перманганатометриялық әдісте, ең төмен қателік – спектрофотометрия әдісінде байқалды. Шай үлгілеріндегі фенол қосылыстарының құрамын анықтаудың қарастырылған үш: спектрофотометриялық (Фолин - Чокальтеу реактивінің көмегімен), перманганатометриялық титрлеу және инфузияның Дейс бойынша салмақты анықтау әдістерінің ішінде инфузияның фенол компоненттеріне сезімтал және спецификалық әдіс спектрофотометрия болып саналады.

Полифенолдарды анықтаудың сезімтал әдісі - химилюминесцентті әдіс болып табылады.

Әдісті орындау үшін полифенолдардың оңай тотығу және қабынуға қарсы әсерлері қолданылады [92]. Оттекті флавоноидтардың люминесценттік қасиеттері зерттелген. Окси алмастырылған флавоноидтарды сәйкестендіру

үшін ИҚ және ЯМР спектроскопия әдістерімен қатар жұқа құрылымды спектрлі фосфоресцентті талдауды қолдануға болады. [93]. Кверцетинді аспирин мен салицил қышқылының қатысында анықтау әдісі ұсынылған, ол алюминиймен түзілген кешенінің люминесценция қарқындылығын тіркеуге негізделген.

Люминесценцияның қозуы $\lambda = 445$ нм кезінде жүзеге асырылады, $\lambda = 490$ нм кезінде тіркеледі. Шайдың негізгі компоненттерінің құрылымын анықтау үшін (катехиндер, олардың туындылары, кофеин, галл қышқылы, глюкоза және т.б.) протонды магниттік резонанс және көміртегі ^{13}C изотопының ядроларында ядролық магниттік резонанс қолданылады.

Барлық спектроскопиялық әдістердің басты кемшілігі - қоспадағы компоненттерді жеке анықтау мүмкін еместігі. Олар сынамадағы полифенолды қосылыстардың жалпы құрамын ғана анықтауға мүмкіндік береді.

Соңғы кездері полифенолды қосылыстарды анықтаудың сорбциялық - спектроскопиялық әдістері қолданыла бастады. Өсімдік шикізаты мен фармацевтикалық препараттардағы флавоноидтарды (кверцетин, рутин, морфин) қатты фазалы люминесцентті анықтау әдістері ұсынылды [94].

Фенолкарбон қышқылдарының туындыларын – тағамдық және косметикалық майлардағы пропилгаллатты және кофе дәндеріндегі хлороген қышқылын сорбциялық - люминесценттік анықтау әдістері белгілі. Дәрілік өсімдік шикізатындағы полифенолды қосылыстардың мөлшерін қатты фазалық экспресс анықтау тамақ және фармацевтика өнеркәсібіндегі ең өзекті мәселе болып табылады. Күрделі матрицасы бар нысандарды талдау үшін хроматографиялық және электрохимиялық әдістерді қолданған дұрыс.

1.5.2 Флавоноидтарды идентификациялау үшін қолданылатын спектрлі әдістер

УК – спектроскопия. Флавоноидты қосылыстарды анықтауда кең тараған әдістердің бірі тура немесе дифференциалды спектрофотометриялық анықтау. Флавоноидты қосылыстардың ультракүлгін спектроскопиясы бойынша жинақталған мәліметтерді отырып, флавоноидтардың негізгі құрылымын, гидроксил топтарының саны мен қант қалдықтарының мөлшерін, олардың орналасу орнын анықтау мүмкіншілігі зор. Спектрофотометриялық талдау әдісі зерттеуге алынған заттардың ерітіндісімен монохроматикалық жарықтың селективті сіңірілуіне негізделген. Жұтылу донорлық орынбасардың орбитасынан бензол сақинасының немесе акцептордың бос орбитасына электронды ауысуымен байланысты. Ультракүлгін спектріндегі флавоноидтар үшін ұзын толқын аймағында 320 - 380 нм (І жолақ) және қысқа толқын аймағында 240 - 270 нм (ІІ жолақ), ал флавоноиддар үшін сәйкесінше 350 - 390 нм және 250 - 270 нм, қосымша максимум 300 нм. Флавоноиддар үшін маңызды максимумдар аралығы 93 - 125 нм, бұл олардың ерекше белгісі.

Флавоноидты қосылыстардың спиртті ерітінділерін спектрлік зерттеу, жұтылу максимумдарының батохромды - гипсохромды ығысуы гидроксил топтарының позицияларына әсер ететінін көрсетеді. Карбонилмен байланысқан оттегі топтары үлкен әсер етеді, басқа топтар көмекші мәнге ие [95, 96].

Сондықтан, ультракүлгін спектрлерін алып тастағанда флавоноидтардың хромофорлық жүйесіне әсер ететін 29 түрлі реактивтер қолданылады, бұл негізгі сіңіру максимумдарының батохромды немесе гипсохромды ығысуы түрінде көрінеді. Иондаушы және күрделі қоспалар ретінде натрий этилаты, натрий ацетаты, бор қышқылды натрий ацетаты, алюминий хлориді және лимон қышқылды цирконил хлориді кеңінен қолданылады. С - 7 позициясында гидроксил тобы болған кезде натрий ацетаты әсерінен І жолақтың батохромды ығысу байқалады. Флавоноиддар мен флавонолдарда 4 - жағдайдағы бос гидроксил тобы қарқындылықты төмендетпей бірінші жолақтың 40 - 64 нм-ге батохромды ығысуы бойынша натрий этилатының қатысуымен белгіленеді [97, 98]. Флавонолдардағы С - 3 позициясындағы гидроксил тобы С - 4-те гидроксил болмаған кезде қарқындылығының төмендеуімен 50 - 60 нм бірінші жолақтың батохромиясын тудырады. Егер С - 3 және С - 4 - орындарында гидроксил топтары орналасса, гипсохромды ығысу бір мезгілде байқалады. Бұл 4" орындағы оксифлавонолдардың сілтілік ортада тотығуы мен ыдырауына байланысты. Бор қышқылымен натрий ацетаты әсерінен фенильді радикалдағы орто – диокси топтасуды бірінші жолақтағы 25 нм батохромды ығысу көрсетеді. Алюминий хлориді мен және цирконил тұздары әсерінен 1 - жолақтағы батохромды ығысу С - 3 және С - 5 орындарындағы бос гидроксил топтарын анықтауға мүмкіндік береді [99].

Лимон қышқылымен әсер еткенде батохромды ығысу жойылса, 5-орындағы гидроксил тобы қозғалады. Цирконил хлориді әсерінен 1 - жолақта қос батохромдық ығысу пайда болып, С - 3 және С - 5 - орындардағы гидроксилдер тобын анықтайды..

$AlCl_3$ мен HCl қатысында флавонолдар бірінші жолақта 50 - 60 нм, ал екінші жолақта 20 - 26 нм батохромды ығысады. Флавоноидты қосылыстардың молекулалалық құрылысын анықтау және дәлелдеу үшін инфрақызыл спектроскопия әдістері қолданылады. Бұл әдіс молекулалардың конфигурациясы мен конформациясын анықтауға мүмкіндік береді. Олардың спектрлері молекулаларындағы атомдар тербелісіне, атомдар арасындағы валенттік байланысқа байланысты және олардың энергиясы әртүрлі болады. Молекуладағы атомдардың тербелісі осы зат үшін жеке сіңіру жолақтарымен анықталады [100].

Заттарды сәйкестендіру үшін ($1400 - 650\text{ см}^{-1}$) аймақтағы «саусақ іздері» қолданылады. Ол зерттеуге алынған және салыстырмалы бақылау үлгісінің инфрақызыл спектрлерін салыстыра отырып сәйкестендіруде қолданылады. Спектрлердің белгілі бір аймақта жұтылуына байланысты флавоноидтардың молекуласындағы функциональді топтар анықталынады. Флавоноидтардың $1660 - 1690\text{ см}^{-1}$ инфрақызыл спектрлерінде флаванонның карбонил тобы сіңірілетіні анықталған. Флавонолдар $1637 - 1650\text{ см}^{-1}$ жұтылу аймағында $C = O$ карбонил тобының валенттік тербелісі байқалады. С - 7 орнында гидроксил тобының болуы осы топтың валенттік тербеліс жиілігін $15 - 10\text{ см}^{-1}$ төмендетеді. $C = O$ топтары арасындасутегі байланысының пайда болуы және С - 5 позициясында $C = O$ жиілігінің 1640 см^{-1} дейін төмендеуін түсіндіреді. Қос

байланыстың валенттік тербелісі $1600 - 1470 \text{ см}^{-1}$ аймағында бірнеше қарқынды сіңіру жолақтары байқалады. Спектрлердің $3130 - 3110 \text{ см}^{-1}$ аймағында $C = O$ - мен байланысқан қос байланысты, хош иісті сақиналар тобының тербелісі байқалып, $3625 - 3600 \text{ см}^{-1}$ аралығында бос алифатты гидроксил топтары сіңіріледі.

$3300 - 2700 \text{ см}^{-1}$ жұтылу аймағында агликонның фенолды қосылыстары, ал $3600 - 3300 \text{ см}^{-1}$ жұтылу аймағында көмірсулардың OH – топтары бар екендігін көрсетеді. Моносахаридтер мен олардың туындыларының L - және D -аномерлері инфрақызыл спектрлердің (ИҚ) көмегімен ажыратылады. $C - O$ байланысының 1 - конфигурациясы үшін $844 \pm 8 \text{ см}^{-1}$ жолағы, L -конфигурациясы үшін - $891 \pm 7 \text{ см}^{-1}$ жолағы тән. ИҚ - спектроскопиялық сорбент пен жұқа қабатты хроматография зерттеуге алынған үлгінің сапалық құрамын анықтаудың селективтілігін арттырады. Жұқа қабатты хроматограммада зерттелетін үлгінің шағын мөлшері инфрақызыл спектрлерін алу үшін жеткілікті. Бұл өсімдіктердегі құрамы аз болатын биологиялық белсенді заттарды талдауда ИҚ - спектроскопиясын қолдануға мүмкіндік береді. ЯМР спектроскопиясы флавоноид молекулаларының құрылымын, олардың конформациясын және электронды тығыздықтың таралуын анықтауда қолданылады [101].

Ультракүлгін және инфрақызыл спектроскопиясымен бірге ЯМР спектроскопия флавоноидтардың құрылымы туралы өте құнды ақпарат береді. ЯМР спектрі беретін сигналдар саны молекуладағы протондар санын, ал сигналдардың орналасуы протондар түрін анықтауға мүмкіндік береді. Бұл әдісте пайдаланылатын еріткіштерде гликозидтер нашар еритін болғандықтан, оларды ацетиль немесе триметилсилил туындылары түрінде зерттейді. ПМР спектрлерінің көмегімен флавоноидтың A және B сақиналарындағы орынбасарлардың орналасуы, көмірсулардың табиғаты мен компоненттік құрылымы, гликозидті байланыстың конфигурациясы мен конформациясы анықталады.

ЯМР флавоноидтардың құрылымын және кеңістіктікте орналасуы туралы ақпарат беріп, заттың құрамындағы протондардың спектрін анықтайды.

Бір өлшемді (1H - ЯМР, ^{13}C - ЯМР) спектроскопия, масс - спектрометрия және рентген құрылымдық талдау әдістері молекуланың құрылымы мен стереоконфигурациясын анықтауға мүмкіндік береді.

1H - ЯМР және ^{13}C - ЯМР негізінде мирицетиннің $3 - O - \alpha - L$ - рамнопиранозиді құрылымы анықталды. Нәтижесінде 1H - ЯМР, δ , (CD_3OD), м.ү.: 0.95 (3H, d, $J = 6\text{Hz}$, CH_3 - рамн.), 3.25 (1H, t, H - 5''), 3.62 (1H, dd, H - 3''), 3.72 (1H, dd, H - 2''), 4.98 (1H, dd, H - 4''), 5.30 (1H, s, H - 1''), 6.19 (1H, d, $J = 2\text{Hz}$), 6.36 (1H, d, $J = 2\text{Hz}$), 6.93 (2H, s).

^{13}C - ЯМР, δ , ($DMSO - d_6$), м.ү.: 17.59 (CH_3 - рамн), 70.72 (C-5''), 70.65 (C - 3''), 71.40 (C - 4''), 93.69 (C - 8), 98.84 (C - 6), 102.02 (C - 1''), 104.09 (C - 10), 108.05 (C - 2', 6'), 119.73 (C - 1), 134.39 (C - 3), 136.62 (C - 4), 145.86 (C3', 5'), 156.55 (C - 9), 157.56 (C - 2), 161.39 (C - 5), 164.47 (C - 7), 177.85 (C - 4).

1.6 Полифенолдардың фармакологиялық және биологиялық белсенділіктері

Полифенолдар – биологиялық және тотығуға қарсы белсенділіктер көрсететін табиғи қосылыстардың көп таралған класы. Олар көкөністер, жемістер, дәндер, дәмдеуіштер және ақ шарап, көк және қара шай, кофе, какао сияқты өнімдердің құрамында кездеседі. Полифенолдар, қатерлі ісікке, бактерияға қарсы және имунтүрлендіргіш белсенділіктер көрсетеді. Өсімдік шикізаты құрамындағы жеке полифенолдардың құрамы, олардың түсін, хош иісін, жеміс - жидектердің дәмін анықтайды. Анти - канцерогендік, анти-склеротикалық және антиаллергиялық қасиеттері бар биофлавоноидтар ерекше құнды. Биофлавоноидтардың антиоксиданттық белсенділігі табиғи үйлесімі бойынша С, Е дәрумендері мен каротиноидтардан он есе артық.

Антиоксиданттардың негізгі көздері болып жемістер, көкөністер, жидектер, бал, шай, қызыл шарап, өсімдік майлары табылады. Құрамында гидроксил тобы бар фенолды қосылыстар биологиялық белсенді және табиғатта көп таралған заттар. Фенолдық гидроксилдің болуы осы қосылыстардың ерекшелігі. Фенолдық қосылыстар өсімдіктердің құрамында бос күйде немесе гликозидтер түрінде болады. Олар (таниндер) 30% - дан астам болады. Химиялық құрылысына байланысты фенолды қосылыстар: хош иісті бір, екі сақиналы және полимерлі фенолдық қосылыстар болып екіге бөлінеді. Хош иісті бір сақиналы қосылыстарға қарапайым фенолдар, қышқылдар, оксикорикалық қышқылдар және олардың туындылары, лигнандар, кумариндер, хромондар жатады [102]. Фенол қышқылдарына протокатех қышқылы, оксибензой қышқылы, галл, салицил қышқылдары жатады. Өт қышқылының тотығуға қарсы әсері күшті, бірақ майлардың нашар ерігіштігіне байланысты практикада қолданыс таппады. Оның эфирлері - галлаттар, концентрациялары 0,02 - 0,05% болатын этилгаллат майлары мен құрамында майы бар өнімдері антиоксидант болып саналады. Концентрациясы 0,001% - дық препарат пен 0,03% - ды лимон қышқылының қоспаны тұздалған майшабақты ұзақ (бір жылға дейін) мерзім сақтау үшін қолдану ұсынылған [103].

Тамақ және парфюмерия өнеркәсібінде өт қышқылының эфирлері тотығуға қарсы қолданады [104]. Олардың бактериялар мен вирустарға қарсы белсенділігі жоғары. Соңғы уақытта пропилгаллаттың және өт қышқылының басқа эфирлерінің ісікке қарсы және сәулеленуге қарсы әсері анықталды [105]. Сол топқа фенолоспирттер мен олардың гликозидтері жатады. Олар өсімдіктерде кең таралған, бірақ жалпы препараттардың емдік әсеріне қатысатын ілеспе заттар болып саналады. Родиолада адаптогендік агент ретінде қолданылатын қызғылт және родиоланың басқа түрлері (Алтын тамыр) бар (дененің тиімділігі мен қарсылығын арттырады). Оларға көптеген жемістер мен жидектер құрамындағы табиғи фенол қышқылдарының негізгі бөлігін құрайтын оксикорикалық - С6 - С3 - фенилпропаноидтар мен хлороген қышқылдары жатады. Хлороген қышқылдарына даршын және Хин қышқылдарының моно - және диэфірі жатады. Кофе және Хин қышқылдары түзетін ең көп таралған

хлороген қышқылдары. Олардың ішінде нақты үшеуін ажыратуға болады: 3-кофеойлхин (3-QSA немесе неохлаороген), 4 - кофеойлхин (4 - QSA немесе криптохлаороген) және 5 - кофеилхин (5 - QSA), оны көбінесе хлороген қышқылы деп атайды.

Кристалды түрінде хлорогенқышқылы алғаш рет кофе дәндерінен оқшауланған. Хлороген қышқылы - 1,3,4,5 - тетрагидроксициклогексан карбон қышқылы 3 - (3, 4 - дигидроксициннамат), орталық жүйке жүйесінің (ОЖЖ) стимуляторы болып табылады. Тәжірибе жүзінде алынған кофеиннің әлсіз әсері ми тініндегі ақуыз алмасуының қарқындылығын арттыруға мүмкіндік береді. Хлороген қышқылы ағзадағы глюкозаның сіңуін тежейді, бұл қандағы қант деңгейін реттеуге көмектеседі. Хлороген қышқылы орталық жүйке жүйесінің жұмысын ынталандырумен қатар, ми мен жүректің қан тамырлары тонусының өзгеруіне ықпал етеді, шаршау мен бас ауруын азайту және алдын алудың ең жақсы құралдарының бірі болып табылады [106]. Хлороген қышқылдарының бай көзі – кофе дәндері және көптеген тұтынушылар үшін бұл фенол қышқылдарының негізгі көзі, сонымен қатар тұтқыр эвкоммияның жапырақтары. Олардың жоғары концентрациясы кофе какао, көк, қара және шөп шайларымен, көптеген жеміс шырындары мен салыстырғанда антиоксиданттық белсенділік көрсетеді. Кофені құрайтын негізгі заттар қант диабетінің даму қаупін төмендететіні анықталды.

Кофеинмен бірге адамдар хлороген қышқылының көп мөлшерін (тәулігіне 0,5 – тен 1 г-ға дейін) тұтынады, ол бауыр ферменті – глюкоза – 6 - фосфатазаның белсенділігін басуға қабілетті, ол қан плазмасындағы глюкоза концентрациясын гомеостатикалық реттеуде маңызды рөл атқарады. Кофенің кардиопротекторлық әсері эксперименталды түрде расталды, кофені үнемі тұтыну өт тастарының пайда болуын азайтты. Шикі кофе дәндерінің құрамында шамамен 7-10% хлороген қышқылдары бар. Розин түріндегі кофеде (Робуста) олардың концентрациясы Арабика түріндегі кофеге қарағанда (5,5 - 8%) көп (9 - 11 %). Хлороген қышқылдарының негізгі бөлігі кофеил қышқылы (хлороген және хлороген емес). Мөлшері төмен флавоноидтар - катехиндер, ал ең тотықтырылғандары – флавонолдар. Флавоноид мөлшері аз қосылыстар (катехиндер, лейкоантоцианидиндер) түссіз, ал тотыққан қосылыстар сары - қызғылт сары түске боялған. Флавоноидтар бос (катехиндер) және гликозидтер түрінде кездеседі. Полифенолдардың көп мөлшері шай жапырағында болады және бұл топ көк шай жапырағының ең құнды бөлігін құрайды [34, 209 б.]. Шай жапырағында 7 катехин бар: 4 қарапайым: (±) катехин (с), (-) эпикатехин (ЕС), (±) галлокатехин, (-) эпигаллокатехин (EGC); 3 Күрделі галлик катехин: (-) эпикатехингаллат (ECG), (-) эпигаллокатехингаллат (EGCG) және (+) галлокатехингаллат. Көк шайдың барлық бөліктерінде эпикатехин галлат және эпигаллокатехин галлат басым болады [107].

Катехиндер жоғары биологиялық белсенділікке ие; адам ағзасында олар капиллярлардың өткізгіштігін реттейді және қабырғаларының икемділігін арттырады, сонымен қатар аскорбин қышқылының биожетімділігін арттырады. Сондықтан, катехиндер Р - дәрумендік белсенділігі бар заттарға жатады және

олар капиллярлық функциялардың бұзылуымен және ісінумен байланысты ауруларды емдеуде қолданылады. Қазіргі уақытта 5000 - нан астам флавоноидтар белгілі. Олар флорада кең таралған және алуан түрлілігімен ерекшеленеді. Флавоноидтар мен флаван – 3 - ол (катехиндер) табиғатта кең таралған. Өсімдіктердің жапырақтары мен гүлдерінің 50% - дан астамын флавоноидтар (кверцетин, кемпферол, мирицетин, рутин т.б.) құрайды. Флавоноидтарға бай танымал өсімдіктер: шай, тау күлі мен итмұрын жемістері (Р - дәрумендік әсері), долана (жүрек - тамырға әсері), мия (экспекторант, антиаллергиялық әсер) және т. б.

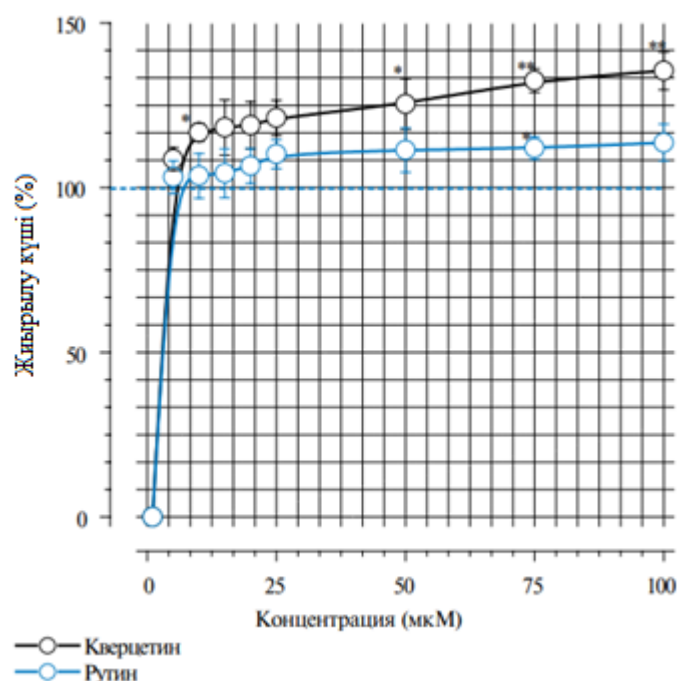
Полифенолдарды анықтау әдістері. Олардың құрылымында оңай тотығатын гидроксил және хромофор топтарының болуына байланысты полифенолдарды анықтаудың негізгі әдістері спектроскопиялық, хроматографиялық, электрохимиялық және химиялық болып табылады. Полифенолды қосылыстарды талдаудың негізгі әдістері: хроматографиялық және химиялық болып табылады [108, 109].

Табиғи полифенолды қосылыстарды гидролизденетін таниндер (глюкоза және басқа қант қосылған өт қышқылының эфирлері) мен фенилпропаноидтарға бөлуге болады. Фенилпропаноидтар - функциялары әртүрлі табиғи полифенолдардың ең үлкен тобы, соның ішінде өсімдіктерді әртүрлі қоздырғыштардың, жәндіктер, бактериялар, саңырауқұлақтар мен вирустардың зақымдануынан, ультракүлгін сәулелерден қорғау жатады [110, 111].

Орталық Азия елдерінің заманауи халықтық медицинасында аюқұлақ диуретик ретінде қолданылады. Өсімдіктің қайнатылған жапырақтары мен гүлдері жөтелге, кеуде демікпесіне, бронхитқа, кеуде тыныс жолдарының катаральды ауруларына қарсы жұмсартқыш ретінде тұтынылады. Оның қайнатылған тұқымдарының тұнбасын эметик ретінде пайдаланады. Аюқұлақ тамырларының қайнатындысы қуықтың созылмалы қабынуы, асқазанның қабынуы, бауыр аурулары, көкбауыр, ревматизм, басаурулары үшін гемостатикалық агент ретінде қолданылады. Аюқұлақ гүлдерінен дайындалған 1 тостаған шайді таңертең аш қарынға экспектор ретінде және жүрек аурулары қарсы ішеді. Өсімдіктің қайнатылған жапырақтары абсцесске, лихенге қолданылады [112, 113].

Қазақ халық медицинасында *Verbascum* бронхит, туберкулез, астма және түрлі қабынуларды, гипертонияны және жүрек - қантамыр жүйесі ауруларын емдеу үшін қолданылады [114-116] (22-сурет).

Беларуссия халық медицинасында аюқұлақ гүлдерінің қайнатпасы жүрек, бүйрек, туберкулез, жүйке жүйесінің бұзылуы, бронх демікпесі, венерологиялық аурулар үшін қолданылады. Шөптің қайнатпасын эпилепсия ауруына қарсы ішуге болады.



Сурет 22 – Рутин мен кверцетиннің 10-100 мкМ дозасындағы инотропты әсері

Болгар халық медицинасында *Verbascum* гүлдерінің ыстық инфузиясын (15 г 1 литр су үшін) ауырсынуды басатын, қабынуға қарсы, антиконвульсант ретінде ішеді. Кептірілген аюқұлақ тамырынан алынған қайнатпа (күніне 200 г дейін) диуретик ретінде қолданылады.

Неміс халық медицинасында шөптің қайнатпасы суыққа қарсы, Адыгей халық медицинасында аюқұлақ экспекторант, қабынуға қарсы, суыққа қарсы қолданылады [117].

Қазіргі ғылыми медицинада аюқұлақтың ыстық инфузиясы антипиретикалық, диафоретикалық белсенділік көрсетеді. Шөптің қайнатпасын себорея және бас терісі ауруларына қарсы қолданады. *Verbascum nigrum* сығындылары айқын диуретикалық қасиет көрсетеді. Өсімдік сығындыларының антиоксидантты және антихолинэстеразды қасиеттері анықталды [118-122].

Verbascum өсімдікдігі жапырақтарының метанол сығындылары азот оксидінің прекурсорларының синтезін тежейді, осылайша ацетилхолинді ортаның бұлшық еттерінің босаңсуына жол бермейді. Сапониндердің болуына байланысты өсімдік препараттары антитуморлық әсер көрсетеді [123].

Аюқұлақ текті өсімдіктердегі вербаскозидтер фенилэтаноидты гликозидтері антиоксидантты, қабынуға қарсы, ісікке қарсы, жараларды емдейтін, нейропротекторлық қасиеттерге ие. Аюқұлақтың барлық түрлерінің жараларды емдеу, антиульцерогендік қасиеттері бары анықталды [124-127].

2 ТӘЖІРИБЕЛІК БӨЛІМ

2.1 Шикізат және зерттеу материалдары

Зерттеуге Шығыс Қазақстанда өсетін Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасына жататын шығыс аюқұлақ (*Verbascum orientale*), ұзын аюқұлақ (*Verbascum densiflorum*), күлгін аюқұлақ (*Verbascum phoeniceum*) өсімдік түрлерінің жер үсті бөліктері шикізаты алынды. Өсімдіктер Шығыс Қазақстан аймағынан 2018-2019 жылдары үш вегетациялық кезеңде (бүршіктенуі – маусым, гүлденуі – шілде және жеміс беруі – тамыз-қыркүйек айларында) жиналған. Өсімдік шикізаттары бөлме температурасында бір апта кептіріліп, арнайы шарлы ұнтақтағышпен тиімді мөлшерге дейін ұнтақталады.

Жұмыс барысында қолданылған еріткіштер:

- экстракциялауға арналған: гексан, хлороформ, этилацетат, этанол, бутанол, метанол және су.

- ЯМР әдісінде қолданылатын еріткіштер: хлороформ, метанол, пиридин, диметилсульфоксид.

- ТСХ, ҚХ және ЖЭСХ әдісінде қолданылатын еріткіштер: гексан, хлороформ, дихлорметан, этилацетат, метанол және су.

Заттарды жеке күйде бөлуге арналған жұқа қабатты және бағаналы хроматография әдісінде пайдаланылған сорбенттер мен реагенттер:

- Silica gel «E. Merck, 230 - 400 мкм меш»
- Sephadex LH-20 «Lot 54HO151, Merck, Fluka»
- Al_2O_3
- MCI Gel CHP20P «Mitsubishi Chemical Corporation»
- ODS – 18 «Wako Pure Chemical Industries LTD»
- ЖҚХ пластинкалары «Alugram SILG\UV254 Macherey - Nagel»
- ЖҚХ пластинкалары «RP-18, F254S «Merck»»

Бүркеуіш реагенттері:

- 1%-ды $AlCl_3$ – тің этил спиртіндегі ерітіндісі: флавоноидтарды анықтау үшін қолданылды.

- Диазотталған n – нитроанилин (ДзПНА): 0,3% нитроанилин ерітіндісін 8% HCl – да ерітіп үстіне 5% $NaNO_3$ –ның бірнеше тамшысын қосады. Ерітінді зерттеу жұмысын бастар алдында даярланады. Дайын ерітіндімен хроматограмманы бүркіді, бөлме температурасында кептіреді және 20%–дық сода ерітіндісімен өңдейді. Фенолқышқылдарды анықтауда қолдануға болады.

- o – толуидин айқындағышы: 4г салицил қышқылы мен 0,5 мл толуилинді концентрациясы 96% - дық көлемі 10 мл этил спиртінде ерітеді. Хроматограмманы осы ерітіндімен өңдеп, кептіріп, $105^{\circ}C$ 5 мин қыздырады. Глюкоза, галактоза - көк, арабиноза, ксилоза қызыл, рамноза - қоңыр түс береді.

- Нингдрин реактиві: нингдриннің ацетондағы 1 % - дық ерітіндісі. Амин қышқылдарын анықтауда қолданылады.

- Ванилин реактиві: HCl тұз қышқылында ерітілген ванилиннің 1 % - дық ерітіндісі. Осы ерітіндімен флавандарды айқындайды.

- Аммиак булары (NH_3): аммиак (NH_3) буын флавоноидтарды анықтауда қолданады.
- 10%, 20% күкірт қышқылы H_2SO_4 терпендерді, флавоноидтарды анықтайды.
- Драгендорф реактивімен алкалоидтарды анықтайды.
- 60% - дық күкірт қышқылындағы церий сульфаты $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

2.2 Зерттеу әдістері

2.2.1 Қағазды және жұқа қабатты хроматография

Экстракттердің және жеке қосылыстардың сапалық құрамын зерттеу үшін қағаз хроматографиясы («Watman S2 маркалы қағаз, Германия») және жұқа қабатты хроматография («Silicagel - Alugram 60 UV254, Merck») қолданылады.

Фракциялар мен заттарды экстракт құрамынан бөлу үшін қолданылатын еріткіштер жүйесі.

Қағазды хроматография (ҚХ):

- *n*-Бутанол: сірке қышқылы: су (БСС) (40:12,5:29)
- 6%-ды сірке қышқылы
- *n* - Бутанол: сірке қышқылы: су (4:1:5) + 0.01 гнингидрин
- *n* - Бутанол: сірке қышқылы: су (4:1:5)

Жұқа қабатты хроматография:

- *n* - Гексан: этилацетат (9:1, 8:2, 7:3)
- Дихлорметан: метанол (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1)
- Хлороформ: метанол: су (65:35:5)
- Хлороформ: метанол (9:1, 1:1)
- Ацетон: су (9:1)
- Этилацетат: метанол: (9:1) RP - 18 жұқа қабатты хроматография үшін:
- Метанол: су (9:1, 1:1)

2.2.2 Жоғарыэффективті сұйықтық хроматографиясы

Өсімдік шикізатынан құрылымы ұқсас биологиялық белсенді кешенді немесе дара заттарды тез және і бөлу үшін препаративті ЖЭСХ әдісі қолданылды. Бұл әдіс қозғалмалы және қозғалмайтын фаза типіне байланысты NP-HPLC (нормалды-фазалы) мен RP-HPLC (кері-айналмалы-фазалы) хроматография болып бөлінеді. Силикагель Sil-D-60-10 (250 × 20 нм × 5 мкм) бағанасында CHCl_3 -MeOH (9:1) еріткіштер жүйесінде нормалды-фазалы препаративті ЖЭСХ (preparative recycling JAI-LC-908 HPLC, Japan Analytical Industry Co., Токио, Жапония) көмегімен заттарды соңғы тазалау жүргізілді.

Ал ODS-H80 (150 × 20 нм × 5 мкм) бағанасында MeOH-H₂O (1:1) ерітінділер жүйелерінде кері-айналмалы-фазалы препаративті ЖЭСХ (preparative recycling HPLC, Токио, Жапония) көмегімен полярлығы жоғары жеке заттар бөлінді. Hewlett-Packard 1100 Series (Perlan Technologies, АҚШ) жүйесінде, төрттік сораппен (HP 1311 A), вакуумды дегазатор (HP 1322 A), УК-

көрінетін детектор (HP 1314 A) және 20 мкл инжектор үлгісімен (Rheodyne 7725) қамтылған кері айналмалы-фазалы ЖЭСХ (RP-HPLC) жүргізілді. Қосылыстар ODS-H80 (150×20мм×5 мкм) өлшемде бөлініп, ақпаратты шығаратын интегратор -HP 3396 В көмегімен 4мм мин⁻¹ жылдамдығында (диаграмма) берілді. Дайындалған фракцияның үлгісін инжектор арқылы хроматографиялық бағананың жоғарғы жағынан енгізеді. Сораптың көмегімен талданып отырған қоспа элюент арқылы бағаналы хроматографияда жуылып, зерттеліп отырған қоспа жеке заттарға бөлінді. Арнайы компоненттері бар элюат бағанадан шығып, УК-айқындағышында детекторланып, тіркелді.

2.2.3 Масс - спектрометрия (EI/MS, ESI/MS және FAB/MS)

Электронды ионизациялы масс-спектрометрі (EI/MS) 70 эВ кезінде электронды иондау режимінде жұмыс істеді. Бастапқы температурасы 240°C және гелий (тазалығы $\geq 99,999\%$) 1 мл/мин жылдамдықта тасымалдаушы газ ретінде пайдаланылып, инъекция көлемі 2 мкл болады. Ион көзінің температурасы 250°C және электронды көбейткіш 2100 В (1×10^7 күшейту үшін автоматты реттеу) жұмыс істейді.

Электроспрей ионизациясының массалық спектрлері (ESI/MS) ион ұстағышы бар AmazonX масс-спектрометрінде (Bruker Daltonik GmbH, Германия) алынды. Өлшеу оң (және/немесе теріс) иондарды тіркеу режимінде m/z диапазонында 70-тен 3000-ға дейін жүргізіледі. Атомизатор капиллярындағы кернеу 3500 В. Температурасы 250°C және шығыны 10 л·мин⁻¹ болатын кептіру газы ретінде азот пайдаланылады. Элюент ретінде ағыс жылдамдығы 0,2 мл/мин метанол/су (70:30) ерітіндісі (Agilent 1260 хроматографы, АҚШ) пайдаланылады. Талданатын үлгі метанолда 10^{-6} г/л концентрацияға дейін ерітіледі. Үлгі Rheodyne 7725 инжекторы (Rheodyne, АҚШ) арқылы ағынға енгізіледі. Инъекциялық үлгінің көлемі 20 мкл. Деректер TrapControl 7.0 бағдарламалық құралының көмегімен жиналады (Bruker Daltonik GmbH, Германия). Деректер Data Analysis 4.0 SP4 бағдарламасының көмегімен өңделеді (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Жылдам атомды бомбалаудың масс-спектрометриясы (FAB/MS) компоненттерінің кең ауқымын анықтауға мүмкіндік беріп, жоғары энергиялы (2-12 кВ) бастапқы атом сәулесімен бетті бомбалауды қамтиды. Бұл әдіс статикалық екіншілік масс-спектрометрияның (SSIMS) өзгертілген түрі болып табылады. FAB әдісі оқшаулағыш үлгілерде зарядтың жиналуын болдырмайды, бұл түйіршік, кристал немесе ұнтақ түріндегі қатты қосылыстарды тікелей талдауға мүмкіндік береді. Екінші реттік эмиссиялық масс-спектрометрияның маңызды ерекшеліктерінің бірі m/z ($M + 1$) протондалған иондарды және m/z ($M - 1$) протондалған иондарды (M = молекулалық масса) бақылау болып табылады.

2.2.4 Газды хроматография - масс - спектрометрия

Қазіргі уақытта эфир майларын зерттеудің негізгі әдістері болып гибриді газ - сұйықты хроматография және масс - спектрометрия табылады. Бұл әдіс жеке заттарды алдын ала бөліп алуды және басқа спектрлі әдістер мәліметтерімен салыстыруды талап етпейді.

Хромато - масс - спектрометрия әдісімен компоненттерді идентификациялауда бағанадан шығатын заттар сутектің жанып тұрған жалынына емес, стандартты энергиясы болатын электрондардың ағынына түседі. Газ қоспасы масс - детекторге түсер алдында газ - тасымалдағыштың көп бөлігі алынып тасталады, себебі масс - спектрометр төмен қысымда жұмыс жасайды. Оны жою үшін газ - тасымалдаушы және сынама қоспасы өзара байланысқан екі сатыдан тұратын молекулалық сепараторға түседі. Әр саты вакуумды камерада және екі шүмектен тұрады. Сепараторда жеңілдірек газ - тасымалдағыш молекуласы сорылады және зерттеуге алынған үлгінің ауыр молекулалары сепараторда қалады. Масс - спектрометрге түскен зерттеуге алынған үлгі молекуласы электрондармен атқылау нәтижесінде, бір электронын жоғалтады. Иондану энергиясы атқылаушы электронның энергиясынан үлкен болғанда түзілетін ионның энергиясы да үлкен болып, молекулалық ионның ыдырауын тудырады.

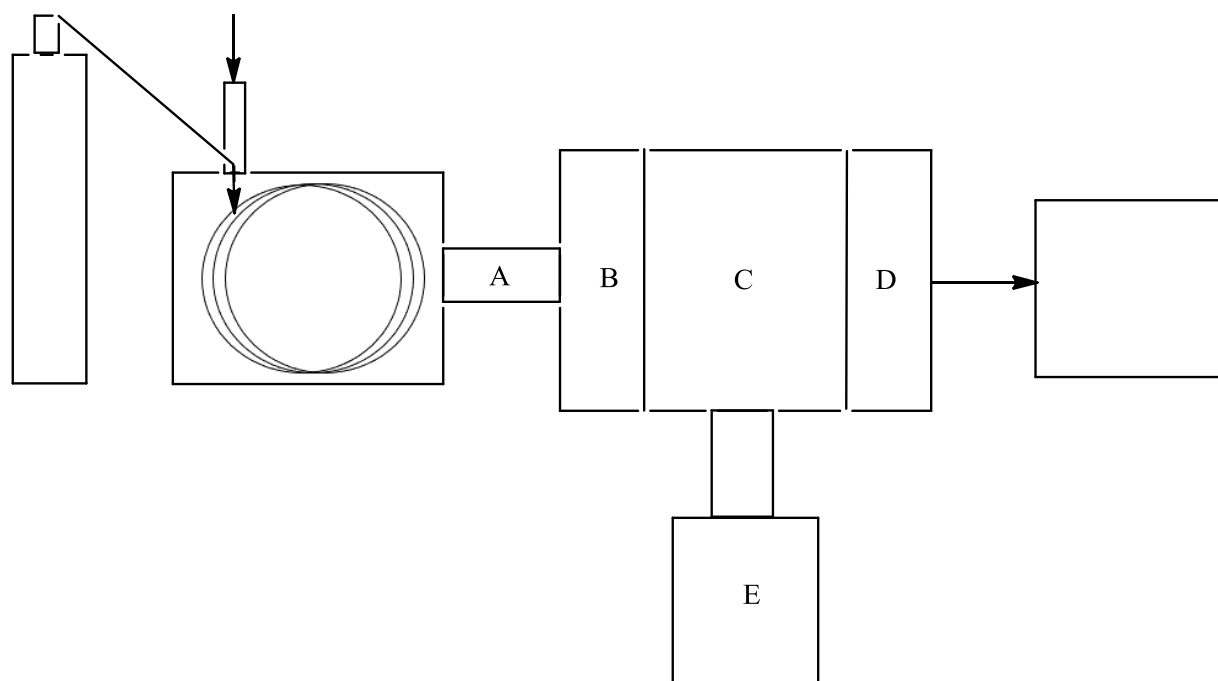
Терпеноидтар электронды соққылар әсерінен бөлшектенуге ұшырайды, ол өз кезегінде салыстырмалы қарқындылық шыңмен сипатталатын (I салыстырмалы) массалық сандары бірдей иондарға (m/z) әкеледі. Мұндай монотерпендердің масс - спектрдегі орналасуы иондардың молекулалық шыңында (M^+) зарядтардың локалдану орнының болмауынан туындайды, бұл циклдегі энергетикалық тұрғыдан қос байланыстың ығысуын болжайды, оның орташаланған құрылымына әкеледі, ол өз кезегінде бөлшектенуге ұлғасады. Басқа деректерге сүйенсек, изомерлік монотерпендердің негізгі өзгерген иондарының қарқындылық айырмашылығы молекуланың бастапқы көмірсутек қаңқасының қайта құрылуына байланысты, оған белгілі бір энергиялық шығын жұмсалуды және M^+ «өмір сүру уақытына» қарағанда стереоизомерлер үшін ұзақ уақыт жұмсалуды мүмкін [128].

Электрондық иондану масс - спектрлері бар NIST мәліметтер базасын қолдана отырып сарапталатын компоненттерді жоғары дәлдікпен сәйкестендіріп анықтауға болады. Алынған масс - спектрінің сапасы масс ұзақтығын сканерлеу уақытының ұзақтылығына байланысты. Хромато - массалық талдау үшін қосылыстардың сенімді масс - спектрлерін ала алатын, жылдам сканерлейтін мүмкіндігі бар ең қолайлы аспаптар қажет.

Өсімдіктер эфир майлары үлгілерін дайындау үшін сыйымдылығы 25 мл өлшеуіш ыдыста 15 мл гексанмен зерттелетін эфир майын ерітіп, жақсылап араластырып мойнындағы белгіге дейін толтырылды.

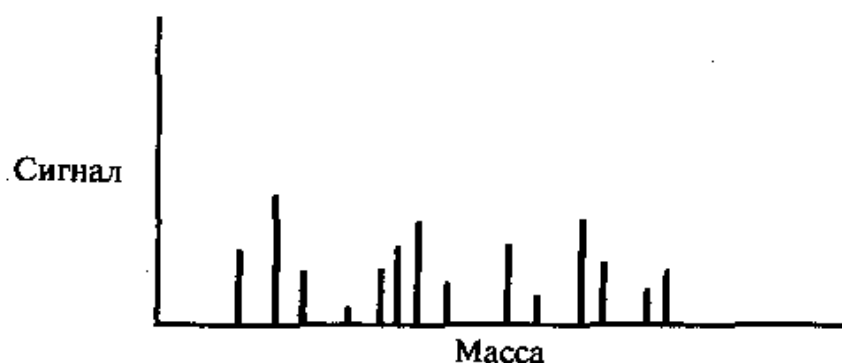
Хроматография жағдайы: RestekRxi®-1 ms 0,25 мм x 30м x 0,25 мкм, сынама көлемі: 1.0 мкл, газ - тасымалдағыш – гелий, газ - тасымалдағыштың жылдамдығы 1 мл/мин, ағын бөлігі 1:25, бағана температурасы 45°C (2 мин), көтерілу 1,5 C / мин 200°C дейін, одан әрі 15 C / мин 280°C дейін, 10 мин бойы

280°C-да изотермиялық режим болады, буландырғыш температурасы 280°C, масс - спектрометриялық детектор: $t = 240^\circ\text{C}$, $\text{EI}^+ = 70\text{ eV}$, сканерлеу уақыты 4 - 120 мин, иондардың сканерлену режимі 39 - 500 m/z . Компоненттердің пайыздық құрамы иондардың жалпы хроматограммаларының шың аймағына қарай автоматты түрде анықталды. Компоненттер масс - спектр мен ұсталу уақыты арқылы NIST қолдана отырып сәйкестендірілді. Компоненттердің ұсталу уақыты $\text{C}_8 - \text{C}_{32}$ қаныққан көмірсутектермен салыстырмалы есептелді [129, 130] (23-сурет).

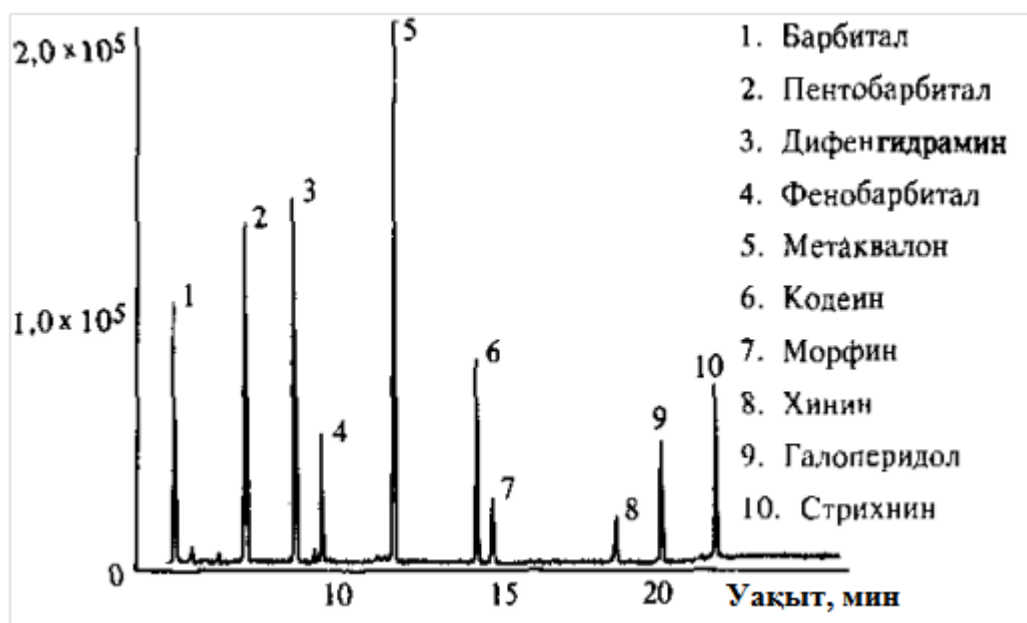


Сурет 23 – Газ хроматографиясымен комбинацияланған масс - спектрометрінің сызбанұсқасы.

Зерттелетін эфир майының компоненттік құрамы масс - спектрометрлі детектрлі Clarus-SQ 8 (PerkinElmer) газхроматографта анықталды (24, 25 - сурет).



Сурет 24 – Барлық иондар бойынша хроматограмманың үлгісі.



Сурет 25 – Кейбір заттардың ұсталу уақытымен көрсетілген спектрлері



Сурет 26 – Газ-хроматография- масс- спектроскопиясы (GC-MS).

2.2.5 Құрылымдық талдау

Өсімдік шикізатынан алынған биологиялық белсенді заттардың (ББЗ) құрылысы стандартты үлгілермен, химиялық (қышқылдық гидролиз, сілтілік гидролиз, ферментті гидролиз) және заманауи спектрлік әдістермен: (УК-, ИҚ)-спектроскопия, бір өлшемді (^1H және ^{13}C ЯМР), екі өлшемді COSY, NOESY, HSQC, HMBC, DEPT және масс-спектрометрия (EI-MS, ESI-MS, FAB-MS) дәлелденді. Зерттеу жұмысы С. Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан университетінің химия кафедрасы және Ұжымдық қолданыстағы ұлттық ғылыми зертханасында жасалды.

^1H ЯМР және ^{13}C ЯМР - спектрлері «Bruker Avance AV» 300, 400, 500, 600, 800 МГц құрылғысында анықталды. Химиялық δ ығысулары миллиондық үлеспен (м.ү.) және константалары (J) герцпен (Гц) берілген.

EI-MS, ESI-MS және FAB-MS масс - спектрлері «JEOL JMS 600H Finnigan MAT 312» спектрометрлерінде анықталды.

ИҚ (инфрақызыл) спектрлері «Vektor – 22» (KBr таблеткалары) спектрофотометрде өлшенді.

УК (ультракүлгін) спектрі «HitachiU – 3200» (Жапония) мен СФ – 26 «ЛОМО» спектрометрлерінде тіркелді.

Балқу температурасы «Buchi M – 560» құрылғысында, оптикалық айналу бұрышы «JASCO DIP – 360» поляриметрінде өлшенді.

2.2.6 Параллель тәжірибелердің нәтижелерін статистикалық өңдеу

Эксперимент барысында алынған мәліметтердің дәлдігін арттыру үшін оларды (3), (4), (5), формулаларға сәйкес статистикалық өңдеу жүргізілді.

1. Өлшенетін шаманың орташа мәні:

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i \quad (3)$$

Мұндағы, n – өлшеу саны;

y_i – i -ші өлшем нәтижесі;

i – өлшеудің реттік нөмірі.

2. Әрбір өлшем үшін орташа мәннен ауытқу:

$$y = \bar{y} \pm t(\alpha, n) * \bar{\delta} \quad (4)$$

3. Орташа квадраттық қатені есептеу:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n(n-1)}} \quad (5)$$

$\alpha = 0,95$ сенімділігі үшін үш қайталанудың Стьюденттің коэффициенті 4.303 құрайды. Тәжірибені орындауда қатар жүретін қателіктерді талдау ең кіші квадраттар әдісін қолдана отырып жүргізілді. Нәтижелер «орташа және $\pm$ стандартты орташа қателік» түрінде көрсетілген [131].

2.3 Биологиялық белсенді заттарға сандық талдау жасау

ҚР Мемлекеттік Фармакопеясының I басылымында берілген әдістемесі бойынша өсімдік шикізаттарының шынайылық көрсеткіштері (ылғалдылық, күлділік, экстрактивті заттардың мөлшері) және шикізат құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшері анықталды [132 - 134].

Шикізаттың ылғалдылығын анықтау

1г ұнтақталған шикізат алдын ала өлшенген бюкске салынып, тұрақты массаға дейін 100-105°C температурада кептіргіш шкафта кептірілді. Шикізаттың ылғалдылығы төмендегі формула бойынша есептелді [135]:

$$X = \frac{(M - M_1)}{M} \times 100 \quad (6)$$

мұндағы: M - шикізаттың салмағы, г;

M_1 - кептірілген шикізаттың салмағы, г.

Шикізаттағы күлділікті анықтау

5 г шикізатты (нақты өлшемін) тұрақты массаға келтірілген, дәл өлшенген фарфор тигеліне салады. Тигелді ақырындап шикізат жанғанша, төмен температурада қыздырады. Төмен температурада барлық бөлшектер жанып болғаннан кейін жоғары температурада (500°C шамасында) тұрақты массаға дейін күйдіреді. Күйдіріп болғаннан соң тигелді 40 минутқа эксикаторда суытып, өлшейді. Күлдің шығымын есептеу формуласы төменде көрсетілген:

$$X = \frac{M_k \times 100 \times 100}{M_1 \times (100 - W)} \quad (7)$$

мұндағы: M_k – күлдің массасы, г;

M_1 - үлгінің массасы, г;

W - кептіру кезіндегі шикізаттың жоғалған массасы, %.

Шикізат күлінің құрамындағы макро- және микроэлементтерді анықтау

Өсімдік шикізаты күлінің құрамындағы макро- және микроэлементтердің сандық көрсеткіштерін анықтау үшін, алдымен күл алынады, күлдің қалдықтары 1:2 қатынастағы концентрлі HNO_3 мен концентрлі HCl (патша сұйығында) өңделеді, одан кейін ерітіндіні су моншасында құрғағанша буландырады, қалдық 0,1 н HNO_3 - мен өңделіп 10 мл өлшеуіш колбаға құйылады. Егер ерітіндіде ауыр металдар болса, ақ тұнба түзіледі. Өсімдікте микроэлементтердің аз мөлшерде болуы әртүрлі аурулардан сақтайды және ферменттердің белсенділігін арттырады [136-138].

2.3.1 Шикізаттағы экстрактивті заттарды анықтау

Арнайы шарлы ұнтақтағышта ұнтақталған 0,2 г өсімдік шикізаты сыйымдылығы 50 мл –лік колбаға салынып, оның үстіне 30 мл 70% - ды этил спиртінің ерітіндісін құйып, колбаның аузын тығынмен жауып, өлшеп 1 сағатқа қалдырылды. Ары қарай колбаны кері тоңазытқышқа жалғап 2 сағатқа су моншасында қыздырылды. Салқындаған колбаны бастапқыда қолданған тығынмен жауып, таразыда өлшеп, ерітіндімен толтырылды. Колбаны жақсылап араластырып, ішіндегі зат 50 мл - лік колбаға сүзгі қағаздың көмегімен сүзіп алынды. 15 мл фильтратты алдын ала құрғатылған фарфор табақшаға түтікпен құйып, су моншасында буландырды. Фарфор табақшадағы қалдықты 100-105°C температурада (тұрақты массаға дейін) кептірді. Алынған экстрактивті заттардың пайыздық мөлшерін төменде көрсетілген формуламен есептелді:

$$X = \frac{M \times 200 \times 100}{M_1 \times (100 - W)} \quad (8)$$

мұндағы, M_k - күлдің массасы, г;

M_1 - үлгінің массасы, г;

W - кептіру кезіндегі шикізаттың жоғалу массасы, %

2.3.2 Флаваноидтардың сандық мөлшерін анықтау

Сыйымдылығы 150 мл - лік тығыз жабылатын колбаға 1 г өсімдік шикізатын салып, үстіне 1% - ды HCl тұз қышқылы және 90% - дық 30мл этанол құйып зерттелетін ерітінді дайындалды. Зерттелетін үлгісі бар колбаны кері тоңазытқышқа қосып, су моншасында 30 мин қыздырады. Бөлме температурасына дейін суытылған колбадағы ерітіндіні сыйымдылығы 100 мл – лік колбаға сүзгі қағазы көмегімен сүзеді. Экстракциялау жоғарыда аталған әдіспен қайталанады. Алынған затты жоғарыда қолданылған сүзгі қағазы арқылы колбаға сүзіп, 90%-дық этанолмен жуады, сүзіп алған ерітіндінің көлемін 90% - дық этанолмен колба мойнындағы белгіге дейін толтырып, осылайша А ерітіндісі даярланды (ерітінді А).

Дайындалған А ертіндісінің 2мл мен 1мл 1% - дық алюминий хлориді ерітіндісін сыйымдылығы 25мл –лік колбаға құйып, ерітіндінің көлемі колба мойнындағы белгіге дейін 95% - дық этанолмен толтырылды. Дайындалған ерітінді бөлме температурасында 20 минутқа қалдырылып, уақыт өткеннен кейін оны қалыңдығы 10 мм – лік кюветаға құйып, оптикалық тығыздығы 430 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде өлшенді. Сыйымдылығы 25 мл – лік колбаға 2 мл А ертіндісін құйып, ерітіндінің көлемін 95% -дық этанолмен колбаның мойнындағы белгіге дейін жеткізіп, салыстырмалы ерітінді ретінде қолданады. Флаваноидтардың мөлшері абсолютті құрғақ шикізаттағы кверцетинге шаққандағы пайыздық мөлшері бойынша келесі формуламен анықталды:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100 \times 100}{764.6 \times m \times 2 \times (100 - W)} \quad (9)$$

мұндағы, D -зерттелетін ертіндінің оптикалық тығыздығы;

764,6 - 430нм-дегі кверцетиннің $AlCl_3$ - мен кешенінің меншікті жұтылу көрсеткіші;

m - шикізаттың массасы, г;

W - шикізаттың ылғалдылығы, %.

2.3.3 Фенилпропаноидтардың сандық мөлшерін анықтау

Препарат құрамындағы цикорий қышқылы бойынша фенилпропаноидтардың мөлшері 0,2% - дан кем болмауы керек.

1,0 мл препаратты сыйымдылығы 50 мл – лік өлшеуіш колбаға құйып, 20 мл 40% спиртте ерітіп, ерітіндінің көлемін сол еріткішпен белгіге дейін келтіріп, жақсылап араластырылды.

10,0 мл алынған ерітіндіні сыйымдылығы 50 мл өлшеуіш колбаға құйып, ерітіндінің көлемін мойнындағы белгіге дейін 40% - дық этанолмен жеткізілді және араластырылды (зерттелетін ерітіндісі).

Ерітіндінің оптикалық тығыздығы спектрофотометрде 328 нм толқын ұзындығында қалыңдығы 10 мм болатын кюветада өлшенді. Салыстырмалы ерітінді ретінде 40% - ды этил спирті пайдаланылды.

Фенилпропаноидтардың мөлшері цикорий қышқылына есептегендегі пайыздық құрамын төменде көрсетілген формуламен анықталды:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 50}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot V \cdot 10} = \frac{A \cdot 250}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot V}, \quad (10)$$

мұндағы, A – зерттелетін ерітіндінің оптикалық тығыздығы;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – 328 нм толқын ұзындығындағы цикорий қышқылы ерітіндісінің меншікті сіңіру көрсеткіші, 782-ге тең;

V – талдауға алынған препараттың көлемі, мл.

2.3.4 Өсімдік шикізаты құрамындағы май қышқылдарын талдау

Verbascum текті үш өсімдік түрлерінің жер үсті бөліктері жиналып, кептіріліп, ұнтақталған 1 г шикізаты 5 мин ішінде хлороформ-метанол қоспасымен (2:1) экстракцияланды, сығындылар қағаз фильтрі арқылы сүзіліп, соңынан еріткіш буландырылды.

Алынған сығындыларға 10 мл метанол және 2-3 тамшы ацетилхлорид қосылды, одан кейін 60-70°C температурада 30 минут ішінде арнайы жүйеде ацетилдеу жүргізілді. Метанол роторлы буландырғыш көмегімен жойылып, ал үлгілер 5 мл гексанмен экстракцияланды және 1 сағат ішінде Carlo-Erba-420 газ хроматографында (Италия) талданды [139].

Хроматографияны жүргізу шарттары:

1. Инжектор температурасы – 188°C;
2. Детектор температурасы – 230° C;
3. Пештің температурасы – 188° C;
4. Талдау жасау уақыты – 1 сағат.

Компоненттердің мөлшерін анықтау үшін ішкі нормалау әдісі пайдаланылды, оған сәйкес компоненттердің концентрациясын есептеу формуласы:

$$C_i = \frac{S_i}{\sum_{i=1}^n S_i} \times 100\% \quad (11)$$

мұндағы, S_i - компонент шыңының ауданы.

2.3.5 Өсімдік шикізаты құрамындағы амин қышқылдарын талдау

1 г шикізат 5 мл 6Н HCl 105°C температурада аргонда дәнекерленген ампулада 24 сағат гидролизденді. Гидролизат 40°C температурада вакуумды роторда буландырылды. Алынған тұнба 5 мл 5% сульфосалицил қышқылы ерітіндісінде ерітілді. 15 минуттан кейін тұнба бетіндегі сұйықтық бір секунд ішінде 1 тамшы жылдамдықта Дауск 50 4-8, 200-4000 торлы ионалмасу бағаналы хроматография арқылы өткізілді. Біріншіден, шайыр 1-2 мл деионизацияланған сумен және 2 мл 0,5Н сірке қышқылының ерітіндісімен, содан кейін тағы да бейтарап рН дейін деионизацияланған сумен жуылды. Аминқышқылдарды элюирлеу үшін 3 мл 6Н NH₄OH ерітіндісі баған арқылы секундына 2 тамшы жылдамдықпен өткізілді. Элюат бағананы бейтарап орта рН=7 дейін жуып алу үшін пайдаланылған деионизацияланған сумен бірге колбаға жиналды. Колбадағы сұйықтық 50-60°C температурада 1 атм қысыммен роторлы буландырғышта құрғағанға дейін буландырылды. Содан кейін колбаға жаңадан дайындалған 1 тамшы SnCl₂, 2,2-диметоксипропанның 1 тамшысын және 1-2 мл қаныққан HCl, пропанол қосып, 110°C 20 минут қыздырылып, вакуумды роторда буландырылды.

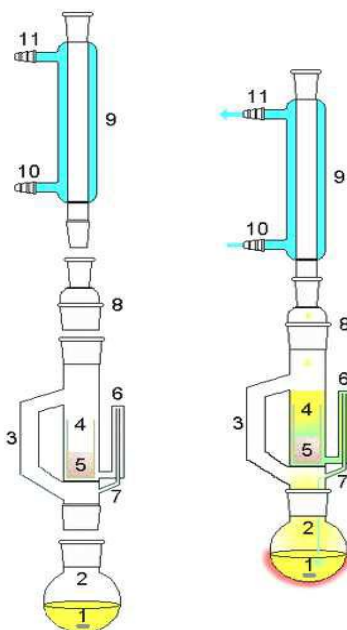
Колбаға 1 мл жаңа дайындалған ацилирлеу реагентін (1 көлем сірке ангидридi, 2 көлем триэтиламин, 5 көлем ацетон) қосып, 60°C температурада 1,5-2 минут ішінде қыздырылды және үлгіні құрғағанша буландырып, 2 мл этилацетатты және 1 мл қаныққан NaCl ерітіндісін қосылды. Колбадағы сұйықтық мұқият араластырылды және пайда болған екі қабаттың жоғарғы (этилацетат) қабаты газ хроматографиялық талдау үшін алынып, бөлу Carlo-Erba-420 газ хроматографында (Италия) жүргізілді.

Бағананың температурасы 250°C-ге жеткенде, температура барлық аминқышқылдар толық алынғанша тұрақты болды [140].

2.4 Өсімдік шикізатын экстракциялау және биологиялық белсенді заттар алу

Биологиялық белсенді заттарды циркуляциялық экстракциялау үшін Сокслет экстракторы (Soxhlet құрылғысы) қолданылады. Бұл еріткіштің көмегімен қатты заттар құрамынан еритін компоненттерді бөлу үшін зертханалық тәжірибеде көп қолданылатын құралдардың бірі. Сокслет құралы органикалық еріткіштермен қатты заттарды, шайырларды, майларды және өсімдік шикізаттарының өнімдерін алуға арналған. Құрылғының жұмыс жасау принципі: алынған заттың үлгісін сүзгі қағазына салып, саптамаға айдап, еріткіш сифон түтігінен колбаға тамшылай бастағанша құйылады. Еріткіш толығымен құйылғаннан кейін оны қайтадан қосады, содан кейін сумен салқындатылатын рефлюкс конденсаторын қосады, колбаны су моншасына батырып, қыздырады. Жылыту ұзақтығы эмпирикалық түрде белгіленеді. Егер экстракцияланатын зат түсті болса, онда экстракцияның соңы саптамадағы сұйықтық түссіз болу сәтімен анықталады. Құрылғылар конустық секциялар арқылы бір - бірімен байланысқан тоңазытқыштан, экстрактордан және жалпақ табанды колбадан тұрады.

Зертханаларда құрғақ өнімдерден жеке затты немесе белгілі бір қоспаны (экстракт) бөлу үшін Сокслет құрылғысындағы циркуляциялық экстракциялау әдісі кеңінен қолданылады. Құрылғы сызбанұсқасы 27 - суретте көрсетілген.



Сурет 27 – Сокслет құрылғысы: 1 - магнитті араластырғыш якорь немесе қайнату қазаны; 2 - экстрагентті қайнатуға арналған колба; 3 - еріткіш буларына арналған түтік; 4 - кеуекті материалдан жасалған картридж; 5 - құрғақ қоспа; 6 - сифон; 7 - сифонның шүмегі; 8 – тегістеу адаптері; 9 - кері тоңазытқыш; 10, 11 - суық суға арналған құбырлар; 12 – бөлгіш сүзгіш; 13- шартты экстракттар.

Ұнтақталған *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. өсімдіктерінің жер үсті бөлігі шикізаты шикізат: экстрагенттің 1:9 қатынасында (1кг) бөлме температурасында 80% этил спиртімен 3 рет (3 күннен) және сулы спиртпен өңделіп сулы - спиртті сығынды алынды. Сығынды гексан, хлороформ, этилацетат және бутанол еріткіштерімен экстракцияланды. *Verbascum* өсімдік түрінің гександы, хлороформды, этилацетатты және бутанолды экстрактісіне ҚХ және ЖҚХ - да сапалық талдау жасалады, сонымен бірге силикагель адсорбентіне сіңіріп, бағаналы хроматография, препаратты жұқа қабатты хроматография және препаративті ЖЭСХ (NP-HPLC және RP-HPLC) әдістерімен биологиялық белсенді заттар бөлінді.

Verbascum текті өсімдіктерден биологиялық белсенді заттар кешенін алу үшін өсімдік шикізатынан Сокслет құрылғысындағы циркуляциялық экстракциялау әдісі қолданылды. Алынған экстракт 40 – 45°С температурада концентрленіп, гексан, хлороформ, этилацетат және н - бутанолмен «сұйықтық - сұйықтық» экстракцияланып, 4 жұмысшы сығынды алынды. Айқындағыш церий сульфатының көмегімен жұқа қабатты хроматографияда сығындылардан

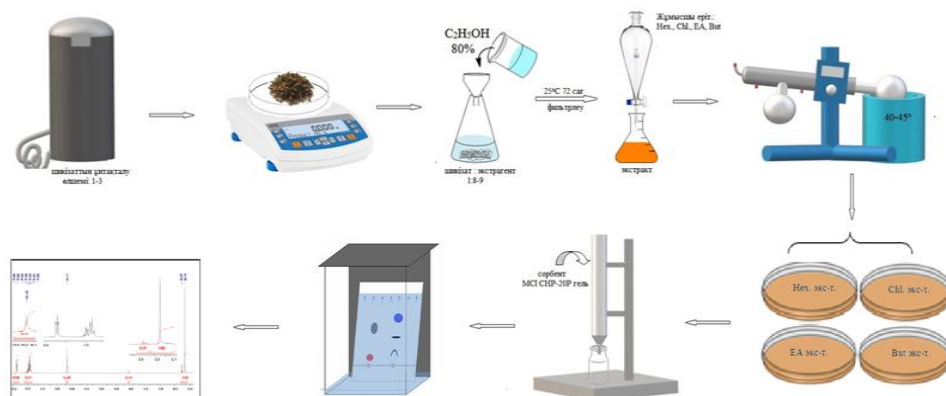
әр топтың өкілдері анықталды. Бағаналы хроматографияда жеке заттарды бөлу үшін сорбенттер ретінде силикагель, сефадекс LH – 20, MCI CHP20P гель, RP – 18 және препаративті ЖЭСХ (recycling preparative HPLC (NP-HPLC (нормалды-фазалы) мен RP-HPLC (кері-айналмалы-фазалы) қолданылды (28-сурет).



Сурет 28 – *Verbascum* өсімдігінен бағаналы хроматография арқылы сығынды алу және зат бөлу

2.4.1 *Verbascum orientale* L. шикізатынан мацерациялық экстракциялау нәтижесінде алынған фитопрепараттардан жеке заттар бөлу

Өсімдік шикізаты жер үсті бөлігінің (1 кг) 80% - дық сулы спиртпен, гидромодулы 1:9, бөлме температурасында 72 сағат қарапайым мацерация әдісімен экстракцияланды. Бөлініп алынған сығынды $t=40-45^{\circ}\text{C}$ роторлы буландырғышта (Eyela N-21, Токио, Жапония) қоюландырылып 80% - ды сулы - спиртті сығынды (312,2 г) бөлінді. Бөлінген сығынды полярлылық қасиеттерінің өсу ретіне байланысты гексан, хлороформ, этилацетат және н-бутанол еріткіштерімен өңделіп, сәйкесінше төрт жұмысшы сығынды: гександы – 24.67 г, хлороформды – 14,5 г, этилацетатты – 31.89 г, н - бутанолды – 65.93 г алынды. *Verbascum* өсімдігін қарапайым мацерация әдісімен экстракциялау сызбанұсқасы 29 - суретте көрсетілген.



Сурет 29 – *Verbascum* өсімдігінен классикалық мацерация әдісімен биологиялық белсенді заттарды бөлудің оңтайландырған сызбанұсқасы

Әдеби деректерге талдау жасалып, полярлы заттар көп шоғырланатын сығындылармен тереңірек зерттеу жұмысы жалғасты. Нәтижесінде алынған төрт жұмысшы сығындылар жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) әдісімен, бөлінген топтық (кластардың) құрамы арнайы айқындағыштар (УК-жарығы, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) көмегімен анықталды. Бөлінген гексан сығындысы газ – хроматографиялы – масс - спектрометрия әдісімен зерттеліп, гексан сығындысы құрамынан липофилді заттар анықталды. Зерттеу жұмысы Perkin Elmer Clarus 600 ГХ / МС қондырғысында жүргізіліп, ұсталу уақыты 4 мин пен 120 мин аралығында 43 зат жұтылып, 41-і NIST мәліметтер базасымен салыстырып сәйкестендірілді. Зерттеу нәтижесі, бөлінген заттардың басым бөлігін органикалық қышқылдар тобының өкілдері құрайтынын көрсетті (13- кестеде берілген).

Этилацетатты және бутанолды сығындылар имунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы), бактерияға және тотығуға қарсы белсенділік көрсетті. Сондықтан, жұмыс осы сығындымен ары қарай жалғасып қағаз хроматографиясы мен жұқа қабатты хроматографияда ультракүлгін жарығын, церий сульфатын, $(\text{Ce}(\text{SO}_4)_2)$, аммиак буын (NH_3), diazотталған п – нитроанилин (ДзПНА), темір аммоний ашудасын (ЖАК) пайдалана отырып, құрамында полифенолдардың бар екендігі анықталды. Биіктігі 88 см, диаметрі 8 см-лік бағаналы хроматографияда силикагель сорбенті экстракт құрамынан биологиялық белсенді заттарды бөлу үшін қолданылды. Этилацетатты экстрактіні бағанаға отырғызып, полярлылығының өсу ретіне қарай хлороформнан бастап, біртіндеп метанолдың (соңына қарай таза метанол алынды) мөлшерін арттыра отырып жуылды. Осылайша жиыны 354 фракция жиналып, жұқа қабатты хроматографияда (ЖҚХ) анықталып, R_f мәндері бірдей фракциялар біріктірілді. Нәтижесінде үш фракция: VO-1 (383 мг), VO-2 (298 мг), VO-3 (1.3 г) алынды.

Бағаналы хроматографияда (биіктігі 65 см, диаметрі 4 см) сорбент ретінде-силикагель алынып, VO-1 фракциясы қатынасы 9:1 болатын хлороформ:метанол еріткіштер жүйесімен жуылып, жиыны 103 фракция алынды. Алынған 68 - 74 фракциялар біріктіріліп, препаративті жоғарыэффективті сұйықтық хроматографиясы (ЖЭСХ) кері-айналмалы фазалы (RP-HPLC) ODS – H80 сорбентті бағанасында 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесімен жуылып, VZ-1 (68 мг) заты (1 – зат) алынды.

VO - 2 фракциясынан Sephadex LH–20 сорбентімен хроматографияланып және элюент таза 100 % метанолды қолданып ZH-3 (46 мг) зат (2 - зат) бөлінді.

VO - 3 фракциясын Sephadex LH–20 сорбентімен, элюент ретінде хлороформ мен этилацетат 8:2 қатынасында бағананы жуу барысында 87 фракция бөлініп, R_f мәндері ұқсас фракцияларды біріктіріліп, нәтижесінде 23-40 фракция құрамдары қайта хроматографияланды. Фракцияны Sephadex LH–20 сорбентті бағанада сынап, 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесімен тазалап, ZH - 20 заты 21мг (3 - зат) алынды.

Өсімдік шикізатының бутанол сығындысы (65,93 г) силикагельді сорбентті бағаналы (биіктігі 88 см, диаметрі 6см) хроматографияда хлороформ:метанол еріткіштер жүйесінде, полярлы еріткіштер мөлшерін арттыра отырып жуылды.

Заттарды бөлу нәтижесінде барлығы 357 фракция алынды. Ұқсас фракциялар біріктіріліп, нәтижесінде VO - 4 (1.2 г) және VO - 5 (987 мг) фракциялар біріктіріліп талданды.

VO - 4 фракциясын Silica gel сорбенті толтырылған бағанада метанолмен элюирлеп, осы бағанадан алынған 108 фракцияларды біріктіріп, 29 - 44 фракцияларын біріктіріп препаративті ЖЭСХ көмегімен силикагельді сорбентті (Sil-D-60-10 (250 × 20 нм × 5 мкм) бағанада 9.5:1 қатынастағы хлораформ:метанол еріткіштер жүйесімен жуып (28 мг) OM – 4 (4 - зат) және 69 - 81 фракциялардан 5 (37 мг) OM - 5 (5 - зат) заттары алынды.

Полимерлі негізді MCI гель CNP20P сорбентті бағанада VO - 5 фракциясы 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1 (хлороформ:этилацетат) қатынастағы еріткіштер жүйесімен жуылып 13 фракция жиналды. ЖҚХ – да ұқсас Rf мәндері бір фракцияға біріктіріліп, 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесінде жуылып Zhav - 2a зат 34 мг (6 - зат) жеке күйде бөлінді.

2.4.2 *Verbascum densiflorum* L. шикізатынан Сокслет аппаратында циркуляциялық экстракциялау нәтижесінде алынған фитопрепараттардан жеке заттар бөлу.

Зерттеліп отырған биологиялық белсенді заттардың шығымын салыстыру мақсатында Өсімдік шикізаты жер үсті бөлігінің 1 кг таза метанолмен, шикізат:экстрагент (1:9), температура (90±5°C), 10 сағат бойы Сокслет аппаратында циркуляциялық экстракцияланды (екі рет). Алынған сығынды (205.5 г) сүзгі қағазбен сүзіліп, вакуумды роторда буландырылып, фильтратты бөлгіш сүзгіге құйып, хлорофилдер мен шайыр қоспаларынан тазарту үшін гексанмен жуылды. Сығындылар құрғағанша қоюландырып, айқындағыштар пайдаланып, қағаз хроматографиясы (ҚХ) және жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) көмегімен полифенолды қосылыстардың (биологиялық белсенді заттардың) бар екендігі тексерілді. Полярлылығы төмен еріткіштермен өңдеу нәтижесінде (22,41г) гександы сығынды алынды және оның құрамы Perkin Elmer Clarus 600 ГХ / МС қондырғысында жүргізіліп, ұсталу уақыты 4 мин пен 120 мин аралығында 48 зат жұтылып, 46-і NIST мәліметтер базасымен салыстыру арқылы идентификацияланды. Зерттеу нәтижесінде пулегонның мөлшері басым екендігі анықталды. Жалпы идентификацияланған заттар құрамында спирттердің, альдегидтердің, кетондардың және алифатты қосылыстарының көп екендігі байқалды. Әдеби мәліметтер бойынша пулегон микробқа қарсы белсенділікке жауап беретіні анықталды.

Полярлы еріткішпен экстракциялау барысында этилацетатты (26.5 г) және бутанолды (77.33 г) сығындылар алынды.

Этилацетатты экстракт адсорбциялы хроматографияда сорбент силикагель пайдалана отырып хроматографияланды. Дихлорметан:метанол ерітінділерінің полярлылығын жоғарлата отырып элюирлеп, дихлорметан:метанол ерітінділер жүйесінің полярлылығын жоғарлата отырып 87 фракция бөлінді. Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) әдісімен Rf мәні ұқсас фракциялар біріктіріліп, VD - 1 (587 мг) флавоноидтар кешені алынды. (Sephadex LH–20) сорбенті толтырылған

бағанада VD - 1 фракциясын метанолмен элюирлеп, бөлінген EA - 1 фракциясын Sephadex LH-20 сорбентті бағанда су:метанол ерітінділер жүйесімен жуып 20 мг (7 - зат) және 19 мг (8 - зат) заттары бөлінді.

Бутанолды сығындыны силикагельді бағанада хлороформ:метанол жүйесінде 567 фракцияға бөліп, ұқсас фракцияларды біріктіру арқылы VB - G, VB - J және VB - R фракцияларын жеке - жеке қайта силикагельді бағанаға салынып, хроматографияланды.

VB - G фракциясы Silica gel сорбентті бағаналы хроматографияда хлороформ:метанол еріткішімен жуылды. Зерттеуге алынған фракциялардан препаративті ЖЭСХ көмегімен нормал фазалы NP-HPLC силикагельді сорбентті (Sil-D-60-10 (250 × 20 нм × 5 мкм) бағанда 9.5:1 қатынастағы хлороформ:метанол еріткіштер жүйесімен жуылып жеке күйде 23 мг Sh - 1 (9 - зат) және 47-58 фракциялар біріктіріліп препаративті ЖЭСХ көмегімен кері-айналмалы фазалы (RP-HPLC) ODS-H80 (150 × 20 нм × 5 мкм) бағанында 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесімен жуылып 28 мг H-1 (10 - зат) заттары алынды.

VB - J фракциясы бағаналы хроматографияда су-метанол (9:2, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1) еріткіштер қоспасымен жуылып, 121-129 фракциялар жиналды. ЖҚХ-да R_f мәндері ұқсастары біріктіріліп, фракция Sephadex LH-20 гель-хроматографиясында элюент ретінде 100% метанол қолдана отырып хроматографияланды. Фракциялар препаративті жоғары эффективті сұйықтық хроматография кері-айналмалы фазалы (RP-HPLC) ODS-H80 (150 × 20 нм × 5 мкм) бағанында 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесімен жуылып, жеке күйде 28 мг (11 - зат) зат бөлінді.

VB - K біріктірілген фракциялары препаративті жоғары эффективті сұйықтық хроматография кері-айналмалы фазалы, ODS-H80 сорбентті, (150 × 20 нм × 5 мкм) бағанында 1:1 қатынастағы метанол:су еріткіштер жүйесімен жуылып, таза күйде 13 мг U-1 (12 - зат) және 23 мг V-1 (13 - зат) заттары бөлінді.

2.5 Шикізат экстрактілеріне биологиялық скрининг жасау

Verbascum (аюқұлақ) текті өсімдіктердің жер үсті бөлігі шикізатының биологиялық белсенділігін талдау үшін 12 шартты фитопрепараттар мен 1 жеке қосылыс әзірленіп, зерттелді.

2.5.1 Иммунофлуоресценция (кабынуға қарсы) белсенділікті талдау

Иммунофлуоресценция белсенділікті талдау үшін люминол-хемилюминесценция әдісі қолданылды. Сұйылтылған (магний хлориді, кальций хлориді бар Ханкс тұзды ерітіндісі) қанның (HBSS⁺⁺) концентрациялары 1, 10 және 100 мкг/мл болатын 25 мкл үш паралель сынамасы даярланып инкубирленеді. Зерттеу жүргізілетін қуысты ұяшықтар тек HBSS⁺⁺ сұйытылған қаны мен таза жасушаларды қабылдайды. Зерттеуді 96-қуысы бар ұяшықта (Costar, NY, USA) 37°C температурада 15 минут (LabSystems, Helsinki, Finland) термостаттың люминометр бөлігінде

инкубирлейді. Люминометрде тіркелген жарықтың салыстырмалы бірлігі бойынша белсенділік деңгейі анықталады. Салыстырмалы бақылау стандарты ибупрофен $IC_{50} = 11.2 \pm 1.9$ алынады.

2.5.2 Бактерияға қарсы белсенділікті талдау

Зерттеуге алынған ағзалар: СА (*Candida albican*): альбиканс зен саңырауқұлақтары ATCC10231, ЕС (*Escherichia coli*): ішек таяқшалары ATCC11229SA (*Staphylococcus aureus*): стафилакок ATCC6538

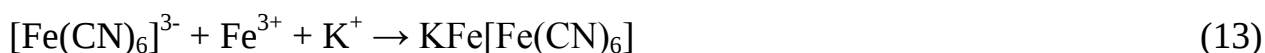
Ампицилиннің натрий тұзы – стандартты антибиотик.

Амфотерициннің 10 мл аликвотасы түтікпен өлшеп алынады, оның үстіне зерттеуге алынған сынаманы салып $37^{\circ}C$ температурада 24 сағатқа инкубирлеуге қалдырылады. Үстіне агар ерітіндісін қосып араластырып Петри табақшасына салады. 100 мкг зерттеуге алынған сынаманы Петри табақшасына салып үстіне микробқа қарсы агенттер қосылады. Ұяшықтағы сынаманы 2 сағатқа бөлме температурасында қалдырады.

2.5.3 Тотығуға қарсы белсенділікті талдау

Үлгілерде антиоксиданттың темір ионы Fe^{3+} формасынан Fe^{2+} формасына дейін тотықсыздандыруына байланысты анықталатын әдісті «темірді тотықсыздандырушы белсенділік» деп, ал ағылшынша қысқаша «FRAP» деп атайды. Бұл процесті жүзеге асыру үшін құрамында темір ионы бар бірнеше қосылыстар ұсынылды. Fe^{3+} ионының тотықсыздануы трипиридилтриазин Fe (III) (TPTZ)₂ кешенінде жиі жүзеге асады, Fe (II) (TPTZ)₂ кешенді ерітінді көк түске боялады. Процестің тіркелуі оптикалық тығыздықтың 593 нм толқын ұзындығында артуына байланысты келтіріледі [141]. Кең тараған әдістердің бірі ол калий ферроцианидін тотықсыздандыру реакциясы болып табылады. Калий гексаферроцианиді $K_3[Fe^{3+}(CN)_6]$ оксидантқа қарсы белсенділігі бар затпен $K_4[Fe^{2+}(CN)_6]$ дейін тотықсызданады және 700 нм максимумдеде сіңірілетін көк түсті қосылыс түзіледі [142]. Темір ионының тотығу реакциясында біршама гидроксил радикалы генерацияланады, ол өз кезегінде ағза жасушасының тотығуын тудыратын оттегі формасының белсенді түрінің бірі. Темір ионы мөлшерін және тотығу процесінің қарқындылығын бақылау ағзаның оксидантқа қарсы әсерін қолдауға және қамтамасыз етуге қолданылатын шаралары болып табылады.

FRAP әдісінің негізіне $Fe^{3+} / [Fe(CN)_6]^{4-}$ индикатор жүйесін қолдану қабылданған. Бұл әдістің химиялық процесін төмендегідей көрсетуге болады :



«Берлин лазуримен» боялған кешенді қосылыстың түзілуі сапалық және сандық түрде заттың тотықсыздадырғыш белсенділігін көрсетеді. Бұл әдістегі реакциялық қоспаның сары түстен жасыл түске және көк түске дейінгі

карқынды өзгеруі зерттелетін заттың концентрациясына тәуелді. Оптикалық тығыздықты өлшеу $\lambda = 700$ нм-де жүзеге асырылады. Салыстыру препараты ретінде бутилгидроксианизол, галл қышқылы немесе кверцетин заттарының біреуі алынады. Оптикалық тығыздық мәнінің артуы нәтижесінде зерттелетін заттың тотықсыздану потенциалы артады.

Осы әдістегі жалпы оксидантқа қарсы белсенділік, ол тотықсыздану мүмкіндігі немесе белсенділігі. Дегенмен, антиоксиданттардың бос радикалдарды байланыстыру қабілеті темір ионын Fe^{3+} формасынан Fe^{2+} формасына дейін тотықсыздандыру мүмкіндігімен сәйкес келе бермейді. Мысалы, осы әдіспен күкіртсутек бар қосылыстардың оксидантқа қарсы белсенділігін анықтау мүмкін емес. Сонымен қатар, кейбір антиоксиданттар, мысалы, аскорбин қышқылы темір ионын Fe^{3+} формасынан Fe^{2+} формасына дейін тотықсыздандырып қана қоймай Fe^{2+} - пен өзара әрекеттесіп қосымша бос радикалдарды генерациялап, қосылыстардың оксидантқа қарсы белсенділігін анықтауды қиындатады.

Белсенділікті FRAP - әдісімен (Ferric Reducing Antioxidant Power assay) анықтау. FRAP-әдісімен зерттеу үшін *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. өсімдіктерінің эфир майлары алынды.

Концентрация диапазондары 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 мг/мл болатын 0,1 мл зерттелетін заттарға 0,25 мл 0,2 М фосфатты буфер ерітіндісі (рН 6,6) және 0,25 мл 1% калий (III) гексацианоферратының ерітіндісін қосады. Реакциялық қоспаны 50°C температурада 20 мин инкубациялайды, одан әрі 0,25 мл 10%-дық үшхлорлорсірке қышқылы ерітіндісін қосу арқылы реакцияны тоқтатады. 10 минут 3000 айн./мин. қоспаны центрифугалайды. Жоғары бетіннен 0,5 мл ерітінді алып, оны 0,5 мл дистилденген су және 0,1 мл 0,1% FeCl_3 ерітіндісімен араластырады. Зерттелетін заттардың оптикалық тығыздығын 700 нм ұзындықта өлшейді [142, б. 72, 143].

2.5.4 Цитотоксикалық белсенділікті талдау

Цитотоксикалық белсенділік – алынған қосылыстың ісік жасушаларының некрозын тудыра алу көрсеткіші.

Artemia salina (Артемия салина) теңіз шаяндарының кез келген ортада өмір сүру белсенділігі жоғары. Осы себепті ісік жасушаларының баламасы ретінде қолдану қарастырылған. Сондықтан, анықталатын заттардың цитотоксикалық белсенділігін зерттеуде *Artemia salina* теңіз шаяндары пайдаланылады. Теңіз шаяндарын өсіру мақсатында теңіз суы зертханада жасанды түрде дайындалды.

Жасанды теңіз суын дайындауға бірқатар тұздар қажет, олар натрий хлориді (негізгі компонент), магний сульфаты, магний хлориді, кальций хлориді, натрий бромиді және т.б. Бір тәуліктен артық тұрған жасанды теңіз суын ғана зерттеуге қолдануға болады.

Зерттелетін өсімдіктер эфир майларының цитотоксикалық белсенділіктерін анықтау келесі әдістемемен жүргізілді.

Бұл әдістеме улы заттар жоқ таза судағы (бақылау үлгісі) және талдауға алынған үлгідегі (тәжірибелік үлгі) өлген Артемия дернәсілдері саны

айырмашылығын анықтауға негізделген. Ерітіндінің өлім тудыратын шарты болып бақылау ерітіндісімен салыстырғанда дернәсілдердің 50% немесе 50%-дан жоғары өлімі саналады.

Биотестілеуді өткізетін орын инсектицидтермен өңделмеген, химиялық улы заттармен жұмыс жасамайтын, химиялық заттарды сақтамайтын, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ температурада, табиғи жарық жерде өткізіледі. Бақылауға алынған табиғи немесе жасанды су тұзды және $\text{pH} = 8,0 - 8,5$ тең болуы керек. Биотестілеу кезінде *Artemia* дернәсілдері 1 тәуліктік болуы шарт. $40-50 \text{ см}^3$ су үлгісіне 20 - дан кем емес, 40 - тан артық емес дернәсілдерді орналастырады. Зерттеу жұмыстары 3 немесе 5 параллельде жүргізіледі.

Artemia salina дернәсілдерін эксперимент кезінде қоректендірмейді. Қозғалыссыз қалған дернәсілдерді «өлген» деп, судың ортасында еркін жүзіп жүрген немесе аяқтарымен қарқынды қозғалып түбіне жақын жүрген особьтарды «тірі» деп санайды, ал жүзе алмай бір орнында тұрып, аяқтарын қозғалтатын особьтарды «сал» болып қалғандар қатарына жатқызады, сал болып қалған дернәсілдерді анықтап көру үшін, оларды микроскоппен қарап зерттейді [144].

Бөлгіш сүзгішті 55 мл жасанды теңіз суымен толтырып 200 мг *Artemia salina* жұмыртқасын қосады. Шаяндар жұмыртқасын жарып шыққанша 3 күн бойы жеңіл ауа үрлей отырып ұстайды. Түтіктің бір жақ шетін алюминий фольгасымен қаптап, 5 минуттан соң бөлгіш сүзгіш жарық жеріне жиналған дернәсілдерді Пастер түтігімен жинайды.

990 мл теңіз суына 20-40 дернәсілдер салынды. Өлген дернәсілдерді микроскоппен санайды. 10 мг/мл үлгіге 10 мл диметилсульфоксид ерітіндісін қосады.

Бақылау препараты ретінде актиномицин Д немесе стауроспорин алынады. Концентрациялары 10, 5 және 1 мг/мл үлгілердің цитотоксикалық белсенділігін тексереді. Микроплошкалардағы дернәсілдерді 24 сағат инкубациялап, уақыт өткен соң (қимылсыздықты қамтамасыз ету үшін) өлі дернәсілдерді санайды.

Жүргізілген тәжірибе негізінде дернәсілдердің өлуін (P) төмендегі формуламен есептейді:

$$P = \left(\frac{A - N - B}{Z} \right) * 100 \quad (14)$$

мұндағы, A – 24 сағаттан кейінгі өлген дернәсілдердің саны;

N – тәжірибені өткізуалдындағы өлген дернәсілдер саны;

B – бақылау үлгісіндегі өлген дернәсілдердің орташасаны;

Z – барлық дернәсілдер саны.

Егер P шамасы 50% және одан артық науплий санын көрсетсе онда, зерттелетін ерітінді өткір өлім көрсететін «улы» деп есептеледі.

Сонымен, биотестілеудің нәтижелері егер биотестілеу кезінде ауаның және судың температурасы $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ болса және бақылау үлгідегі науплийлердің өлімі 10%-дан артық болмаса дұрыс деп есептелінеді.

2.5.5 Фитотоксикалық белсенділікті талдау

Ауыл шаруашылығы мен агрономияда арамшөптермен күресу және өнімдердің шығымын арттыру басты мәселе. Қазіргі таңда синтетикалық пестицидтердің құны қымбат және улы болғандықтан, өсімдік құрамындағы биологиялық белсенді заттардың фитотоксикалық белсенділігі зерттелді.

Сынауға *Araceae* тұқымдасына жататын *Lemna minor* арам шөбі қолданылды. 100 мл тазартылған суға ерітіндінің рН 5.5 – 6.0 ортада КОН түйіршіктерін біртіндеп қосып ерітінді даярлайды. 121°C температурада 15 минутқа автоклавқа салады. Зерттеуге алынған экстракттарды этанола (20 мг/л) ерітіп, бастапқы ерітінді алынады. Бастапқы ерітіндіден концентрациялы 1000, 100, 10 мкл үш үлгі алып таза колбаға түтік арқылы құяды. Стерилді жағдайда түні бойы еріткішті буландырады. Әр колбаға (20 мл) бейорганикалық ерітінді құйып және арамшөп өсімдігін салады. Тағы бір колбаға бейорганикалық ерітінді мен өсу ингибиторын (паракват) құйып, бақылау сынама ретінде қолданады. Зерттеуге алынған колбадағы сынамалар 7 күн 28°C температурада тұру қажет. Талдау нәтижелері өсу реттілігі пайызбен (%) және арамшөптің өсінің тежелуі есептеледі.

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 *Verbascum* текті өсімдіктердің шынайылығын анықтау және биологиялық белсенді топтардың сандық мөлшері мен сапалық құрамын талдау

Зерттеу нысандары: Шығыс Қазақстанда өсетін Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасына жататын шығыс аюқұлақ (*Verbascum orientale* L.), ұзын аюқұлақ (*Verbascum densiflorum* L.), күлгін аюқұлақ (*Verbascum phoeniceum* L.) өсімдік түрлерінің жер үсті бөліктері шикізаттары. Өсімдіктер Шығыс Қазақстан аймағынан 2018-2019 жылдары үш вегетациялық кезеңде (бүршіктенуі – маусым, гүлденуі – шілде және жеміс беруі – тамыз-қыркүйек айларында) жиналған. Зерттеу барысында өсімдік шикізаттарындағы биологиялық белсенді заттардың жинақталу мөлшері жеміс беру кезеңінде көп болғандықтан, ғылыми-зерттеу жұмыстары аюқұлақ өсімдіктерінің жеміс беру кезеңімен жалғасты. Зерттеу нәтижесі 5 - кестеде көрсетілген.

Өсімдік шикізатына сапалық талдау бір және екі жүйелі қағазды хроматография әдісімен әртүрлі еріткіштер жүйесінде арнайы айқындағыштармен жүргізіліп, нәтижесінде флавоноидтар, иридоидтар, сапониндер, алкалоидтар, кумариндер, фенол қышқылдары, амин қышқылдары, көмірсулары бары анықталды.

Шикізатының шынайылық көрсеткіштерін анықтау үшін ҚР I Мемлекеттік Фармакопиясының әдістемесі бойынша өсімдік шикізаттарының ылғалдылығы, күлділігі және құрамындағы экстрактивті заттары анықталды [134, б. 441]. Сондай - ақ өсімдік шикізаты құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшері зерттелді.

Кесте 5 – *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L., *Verbascum phoeniceum* L. текті өсімдіктердің вегетативті кезеңдегі ББЗ жинақталу мөлшері

Шикізат	Вегетациялық кезеңі (фенофаза)	Флавоноидтар мөлшері, %	Фенилпропаноидтардың мөлшері, %
<i>Verbascum orientale</i> L.	Бүршік ату	0.97±0,03	0.72±0,03
	Гүлдену	0.88±0,05	0.85±0,03
	Жеміс беру	1.11±0,04	0.98±0,03
<i>Verbascum densiflorum</i> L.	Бүршік ату	0.89±0,02	0.74±0,04
	Гүлдену	0.93±0,03	0.80±0,03
	Жеміс беру	1.07±0,03	0.87±0,03
<i>Verbascum phoeniceum</i> L.	Бүршік ату	0.57±0,03	0.65±0,04
	Гүлдену	0.71±0,04	0.68±0,03
	Жеміс беру	0.80±0,03	0.73±0,04

Шикізаттың ылғалдылығы - гигроскопиялық ылғал мен ұшқыш заттардың әсерінен массаның жоғалуы барысында шикізаттың тұрақты массаға кептірілуі.

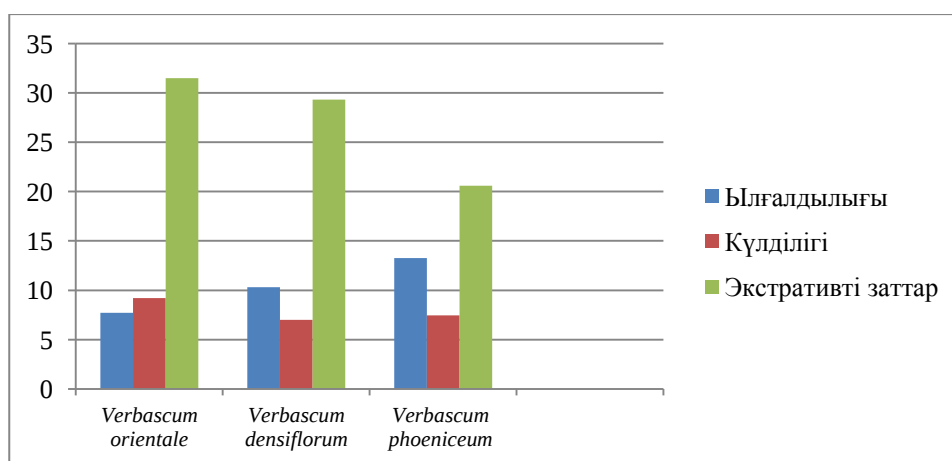
Өсімдік шикізатының күлділігі дегеніміз шикізатты муфель пешінде жағып, қалдықты тұрақты массаға келтіргенде қалған бейорганикалық заттардың қалдығы. Өсімдік шикізатындағы күлдің мөлшері өсімдіктің өзіндік ерекшелігіне, жинау әдісі мен уақытына және кептіру жағдайларына байланысты өзгеріп отырады.

Экстракциялауға дайындау барысында өсімдік шикізатын оның дренаждық қасиеттерін нашарлатпай шар диірменінде 1-2 мм дейін ұнтақталды.

6 - кесте көрсеткіштері бойынша зерттеліп отырған үш өсімдік түрлерінің шынайылық нәтижелері өсімдіктер бір аймақтан жиналғандықтан ұқсас екендігі анықталды.

Кесте 6 – *Verbascum* текті өсімдіктердің жер үсті бөлігі негізгі ББЗ топтарының шынайылық көрсеткіштері.

Өсімдік шикізаттары	Шикізат шынайылық көрсеткіштері %		
	Ылғалдылығы	Күлділігі	Экстративті заттар
<i>Verbascum orientale</i> L.	7.71±0,05	9.21±0,03	31.5±0,08
<i>Verbascum densiflorum</i> L.	10.30±0,05	7.01±0,03	29.30±0,08
<i>Verbascum phoeniceum</i> L.	10.25±0,05	7.47±0,03	20.60±0,07



Сурет 30 – Зерттелетін өсімдіктің шынайылығын анықтау нәтижелері

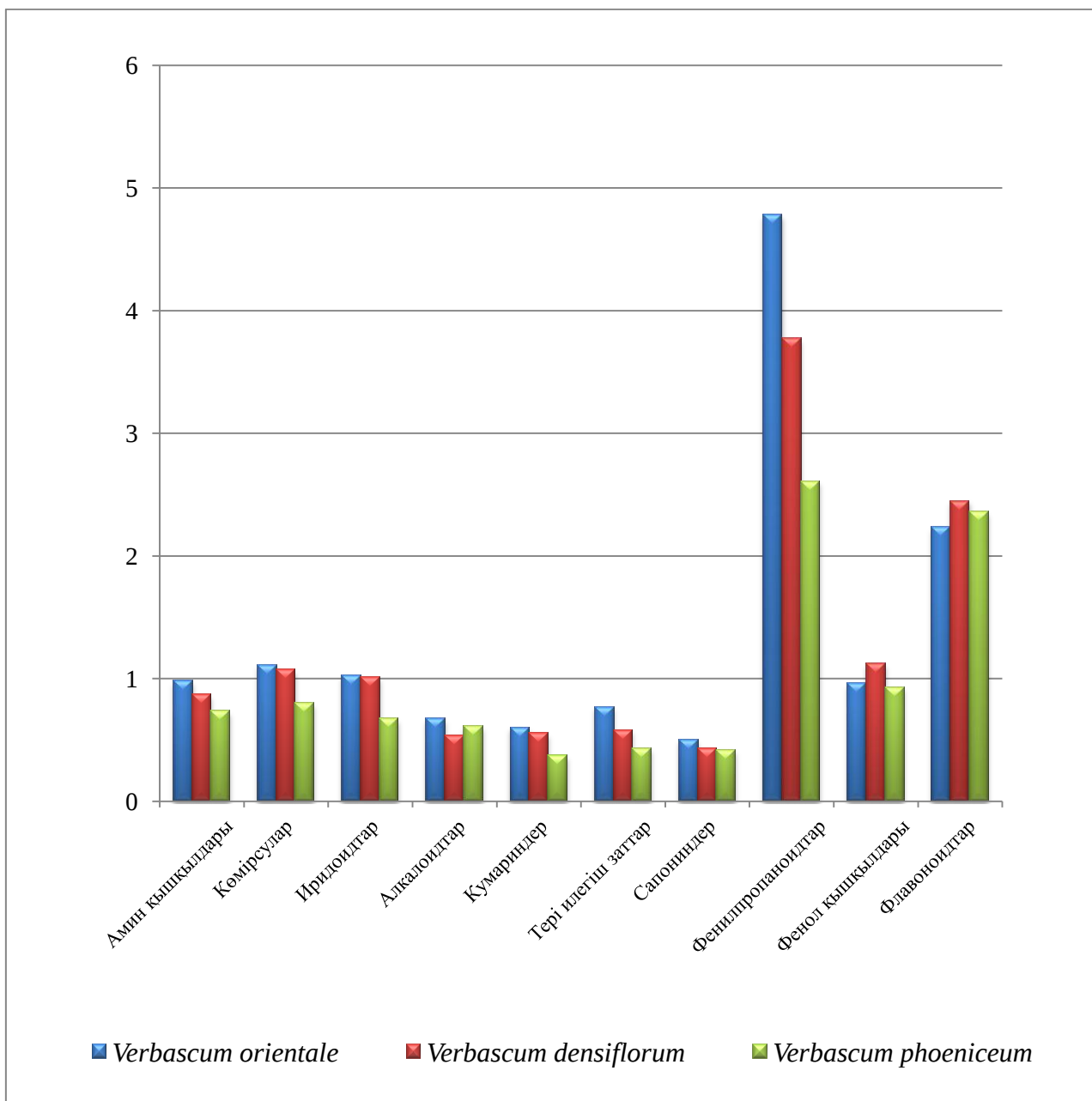
6 - кесте нәтижелері бойынша *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L., *Verbascum phoeniceum* L. өсімдіктерінің ылғалдылық шамалары 7,71-13,25%, күлділігі 7,01-9,21%, 80%-ды сулы спирттегі экстрактивті заттар мөлшері 20.60-31,05% аралығында екендігі анықталды [145]. Биологиялық белсенді заттардың пайыздық мөлшері зерттеліп отырған шикізаттарда

айтарлықтай көп емес. Сандық мөлшері жағынан *V. phoeniceum* өсімдігіне қарағанда басқа екі өсімдікте амин қышқылдары мен фенол қышқылдарының мөлшерінің көп екендігі анықталды. Сонымен қатар, шикізат құрамына сапалық реакциялар (арнайы реактивтермен) мен хроматографиялық (ҚХ, ЖҚХ) әдістер негізінде *Verbascum* текті өсімдіктерде полифенолды қосылыстар мен иридоидтардың мөлшері басым болғаны зерттелді [146].

Кесте 7 – *Verbascum* текті өсімдіктердің құрамының сандық және сапалық талдау нәтижелері

ББЗ топтары	Сапалық реакция нәтижесі	Сандық құрамы (%)		
		<i>Verbascum orientale</i>	<i>Verbascum densiflorum</i>	<i>Verbascum phoeniceum</i>
Фенилпропаноид-тар	1% желатин ерітіндісінің тамшысы, бұлыңғыр тұнба	0.98±0,03	0.87±0,03	0.73±0,04
Флавоноидтар	AlCl ₃ , сары түс	1.11±0,03	1.07±0,02	0.80±0,02
Иридоидтар	Трим-Хилл реактиві, қанық көгілдір түс	1.02±0,02	1.01±0,02	0.67±0,04
Алкалоидтар	Драгендорф реактиві, сарғыш-қызыл тұнба	0.67±0,02	0.53±0,02	0.61±0,02
Кумариндер	Лактон сынамасы, ақ тұнба	0.60±0,02	0.55±0,02	0.37±0,02
Тері илегіш заттар	10% (CH ₃ COO) ₂ Pb, ірімшік тәрізді тұнба	0.77±0,07	0.58±0,02	0,43±0,02
Сапониндер	Көбіктену	0.50±0,02	0.43±0,03	0.42±0,02
Амин қышқылдары	Нингидринді реакция, күлгін түс	4.78±0,04	3.77±0,02	2.61±0,03
Фенол қышқылдары	ДзПНА, қызғылт-күлгін түс	1.12±0,02	0.96±0,03	0.93±0,03
Көмірсулар	Бір атомды спирт, ақ тұнба	2.45±0,02	2.23±0,03	2.16±0,02

7 - кестедегі мәліметтерді салыстырсақ, *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L., *Verbascum phoeniceum* L. өсімдіктерінің құрамындағы биологиялық белсенді заттардың пайыздық мөлшерінде айырмашылықтарды көруге болады. *Verbascum* текті өсімдіктің екі түріндегі ББЗ, оның ішінде флавоноидтар, фенилпропаноидтар, көмірсулер және иридоидтардың мөлшері *Verbascum orientale* L., текті өсімдік шикізатының құрамында басым екендігі белгілі болды.



Сурет 31 – *Verbascum* текті өсімдіктердің құрамының сандық және сапалық талдау нәтижелері

3.2 Өсімдіктер құрамындағы макро- және микроэлементтік талдау нәтижелері

Медициналық дәлелдерге сүйенсек, өсімдік құрамындағы биологиялық белсенді заттармен (флавоноидтар, алкалоидтар, иридоидтар, фенилпропаноидтар, сапаниндер, тері илегіш заттар және т.с.с.) қатар макро- және микроэлементтердің маңызды аса зор.

Тірі ағза үшін химиялық элементтер улы және жетіспеушілік диапазонында болады. Өсімдік құрамындағы негізгі және микроэлементтер өсетін топырақтың геохимиялық ерекшеліктеріне байланысты шоғырланады. Сонымен қатар, минералдық заттардың мөлшері қоршаған ортаның ауасы мен суына да байланысты болады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы шикізат құрамында ауыр металдардың, оның ішінде кадмий (0.3 мг/кг^{-1}), мышьяк (1 мг/кг^{-1}) және қорғасын (10 мг/кг^{-1}) шектік деңгей концентрациясын бекіткен.

Өсімдік негізіндегі биологиялық белсенді кешендер үшін шектік концентрация мөлшері «Дәрілік өсімдік шикізаттары мен препараттардағы ауыр металдар мен мышьяқты анықтау» Жалпы фармакопоялық және ересек адамға тәуліктік физиологиялық қажеттілігі 8-кестеде келтірілген.

Кесте 8 – Элементтердің ересек адамға физиологиялық қажеттілігі

Элементтер	МРС мг/мг	Тәуліктік қажеттілік, мг	Уыттылық шегі мг/тәул.	Сіңірілуі, %
Na	-	-	-	-
K	-	2500	-	100
Mg	-	400	-	30
Cu	5	2.0-2.5	200	50
Ni	3	0.6-0.8	-	-
Fe	5	15-20	200	10
Mn	-	5-6	40	10
Zn	10	10-12	600	50
Ca	-	800-1200	-	30
Cd	1	-	-	-
Pb	6	-	-	-

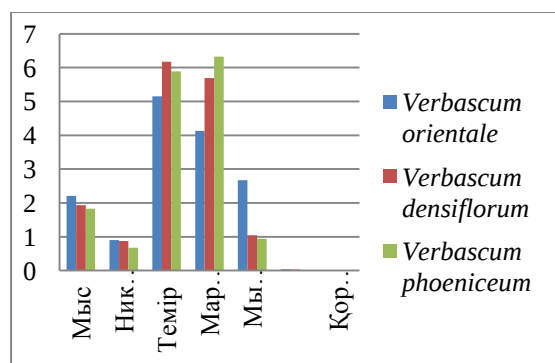
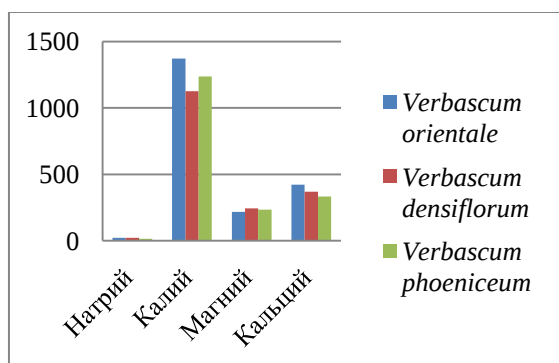
Verbascum текті өсімдіктердің шынайылық көрсеткіштерін (күлділігін) талдау барысында алынған өсімдік шикізатының күлі өсімдіктің минералды құрамын және мөлшерін анықтау үшін пайдаланылды. Атомды – эмиссионды спектроскопия әдісімен өсімдік шикізаттары күлінің құрамынан макро - және микроэлементтердің сандық мөлшері анықталды.

Тірі ағза мен өсімдіктер үшін макро - және микроэлементтердің пайдасы аса зор. Олар тірі ағзаның беріктігі мен дамуын қамтамасыз ететін аса қажет биогенді элементтер. ИПС – 28 («МОПС», Ресей) спектрографінде атомды – эмиссионды әдісімен *Verbascum* текті өсімдік түрлері шикізатының құрамынан 4 макро - және 7 микроэлементтер анықталды. *Verbascum* текті өсімдік түрлері

шикізатының күліндегі макроэлементтердің пайыздық мөлшері бойынша кальций, магний және калийдің, ал микроэлементтерден темір мен марганецтің көп мөлшерде екендігі байқалды. Сондай - ақ зерттеу нәтижесі бойынша зерттеуге алынған үш өсімдік түрлері шикізаты құрамында никель, мырыш және мыстың пайыздық мөлшерлері шамалас екендігі анықталды [147].

Кесте 9 – *Verbascum* текті өсімдік түрлерінің минералдық құрамы

Атауы	<i>Verbascum orientale</i> L.	<i>Verbascum densiflorum</i> L.	<i>Verbascum phoeniceum</i> L.
Макроэлементтер (мкг/г)			
Натрий	23.01±0,03	22.65±0,04	20,23±0,03
Калий	1370.45±0,04	1226.30±0,02	1235.8±0,44
Магний	217.75±0,10	234.01±0,05	200.11±0,05
Кальций	423.46±0,06	398.23±0,08	448.33±0,08
Микроэлементтер (мкг/г)			
Мыс	2.209±0,005	1.932±0,008	1.832±0,008
Никель	0.902±0,004	0.870±0,03	0.582±0,01
Темір	5.147±0,004	5.374±0,004	3.032±0,01
Марганец	4.130±0,06	4.693±0,008	2,64±0,10
Мырыш	2.669±0,006	2.045±0,01	3,01±0,008
Кадмий	0.043±0,007	0.027±0,005	0.048±0,01
Қорғасын	-	-	-



Сурет 32 – Өсімдіктер құрамындағы макро- және микроэлементтері

Ауыр металдардың болмауы және концентрацияларының төмен болуы өсімдік шикізатының тазалығы мен экологиялық қауіпсіз екендігін көрсетеді.

9 - кестеде берілген мәліметтерден өсімдік шикізаттарының құрамында адам ағзасына қажетті Fe, Mn, Ca, K элементтері көп мөлшерде болды. Өсімдіктерді салыстырмалы зерттеу барысында, *Verbascum orientale* L. өсімдік түрінде макро - және микроэлементтерінің мөлшері басым екендігі анықталды. Кестеде көрсетілгендей, *Verbascum densiflorum* L. өсімдігі өзге екеуімен

салыстырғанда Fe, Mn микроэлементтері және Mg макроэлементіне бай екендігі анықталды. *Verbascum phoeniceum* L. өсімдігінің құрамында басқа екі өсімдікпен салыстырғанда Ca мен Zn элементтерінің мөлшері басым болды. Инсулиннің құрамына кіретін мырыш тірі ағзадағы өкпе ұлпалары мен жыныс мүшелерінің қабынуына қарсы қолданылады. Ферментті жүйелердің құрамына кіретін марганец, тотығу – тотықсыздану процесіне белсенді қатысады.

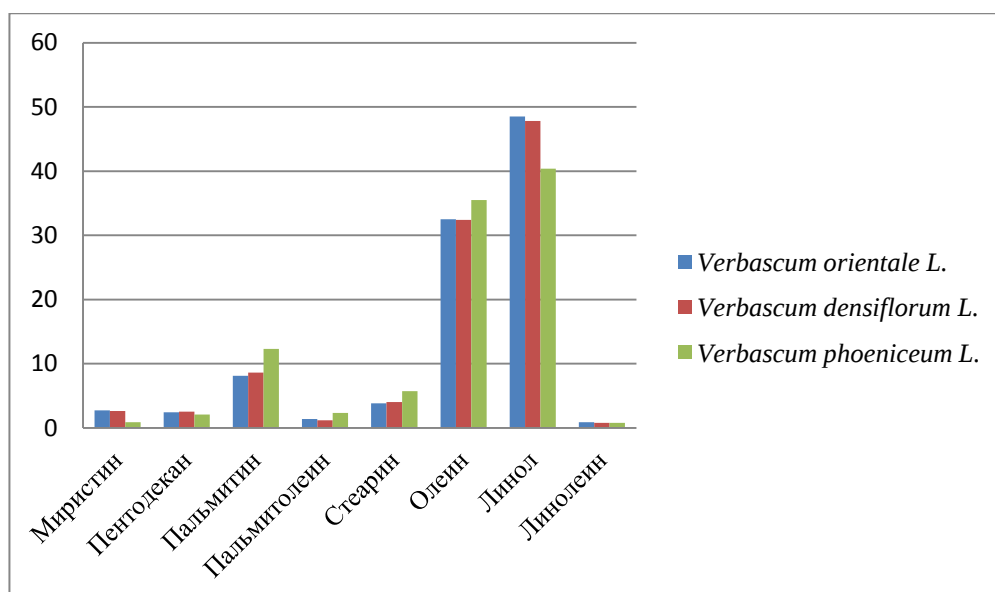
Адам ағзасы үшін ерекше бағалы әрі алуан түрлі қызмет атқаратын биоэлемент – темір. Ол ақуыздар (гемоглабин мен миоглабин), ферменттер (каталаза, пероксидаза) және цитохромдардың аса маңызды алмастырылмайтын бір бөлігі болып табылады. Калий мен натрий бірлесе отырып ағзаның қан қысымын, жүрек қызметін және жүйке импульстерін реттеуде маңызы зор. Натрий тұзы ағзаның ішкі ортасының тұрақтылығын реттейді және су алмасу процесіне қатысады. Бұл нәтижелер *Verbascum phoeniceum* L. өсімдігінен алғаш рет анықталып отыр.

3.3 Өсімдік шикізаттарынан амин және май қышқылдарының мөлшерін анықтау

Аюқұлақ (Verbascum) текті өсімдік түрлерінің амин – май қышқылдық құрамы мен мөлшерін анықтау үшін 1 г өсімдік шикізаты алынды. Өсімдік шикізатының қышқылдарын анықтау әдісі, оның құрамынан майды оқшаулауға негізделген. Газ – сұйық хроматография әдісімен өсімдік шикізаты майының құрамынан 8 май қышқылы анықталды. Шындық аймақтардың концентрацияға ауысуы ішкі нормалау әдісімен анықталып, құрамындағы қаныққан және қанықпаған май қышқылдарының сандық мөлшері белгілі болды. Энергия көзі ретінде ерекше қызмет атқаратын май қышқылдары – өсімдік жасушаларының құрамдас бөлігі. Олар өсімдіктердің жасушаларында әртүрлі мөлшерде кездеседі, май қышқылының ең көп мөлшері өсімдік тұқымдарында (88%) болады [148].

Кесте 10 – *Verbascum* текті өсімдік түрлері шикізаты майының құрамындағы май қышқылдарының сандық мөлшері

Май қышқылының атауы	Қышқыл индексі	Мөлшері, %		
		<i>Verbascum orientale</i> L.	<i>Verbascum densiflorum</i> L.	<i>Verbascum phoeniceum</i> L.
Миристин	C _{14:0}	2,7±0,5	2,6±0,3	0,9±0,05
Пентодекан	C _{15:0}	2,2±0,7	2,5±0,8	2,1±0,5
Пальмитин	C _{16:0}	8,1±0,6	8,6±0,6	12,3±0,5
Пальмитолеин	C _{16:1}	1,4±0,05	1,2±0,07	2,3±0,07
Стеарин	C _{18:0}	3,8±0,3	4,0±0,3	5,7±0,9
Олеин	C _{18:1}	32,4±0,7	32,5±0,5	35,5±0,6
Линол	C _{18:2}	48,5±0,7	47,8±0,6	40,4±0,8
Линолеин	C _{18:3}	0,9±0,03	0,8±0,05	0,8±0,06



Сурет 33 – *Verbascum* текті өсімдіктер өсімдік түрлері шикізаты майының құрамындағы май қышқылдарының сандық мөлшері

Verbascum текті өсімдіктер шикізаты майының құрамынан 8 май қышқылдарының анықталғаны 10 – кестеде көрсетілген. *Verbascum* (аюқұлақ) текті өсімдіктердің шикізаты майының құрамынан анықталған май қышқылдарының сапалық құрамдары бірдей, айырмашылық жеке май қышқылдарының сандық мөлшерінде анықталды. Газ - сұйықтық хроматографиялық талдау нәтижесінде өсімдіктердің майының құрамында қаныққан жоғары май қышқылдары (миристи́н, пальмитин, стеарин, пентодекан) мен қанықпаған жоғары май қышқылдары (пальмитолеин, олеин, линол, линолен) бар екендігі белгілі болды.

Зерттеу нәтижесінде өсімдік түрлерінің құрамынан олеин (C_{18:1}) және линол (C_{18:2}) қышқылдарының сандық мөлшері басым екені белгілі болды [149].

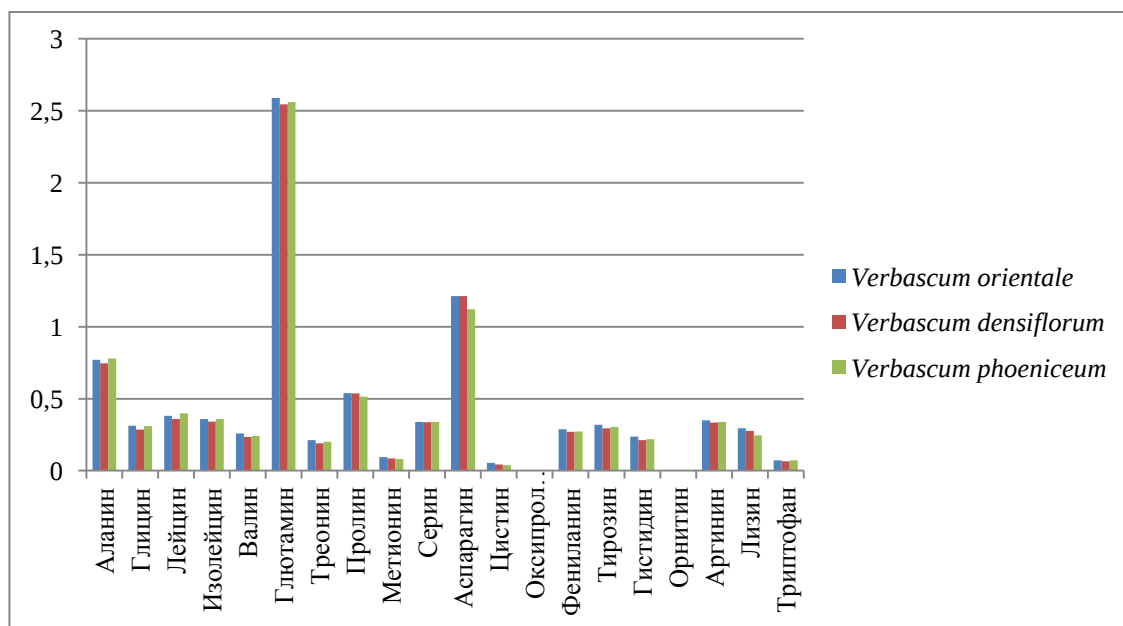
Сонымен қатар, *Verbascum* текті өсімдік түрлерінің амин қышқылдық құрамына сандық талдау жасалды. Талдау нәтижесі бойынша зерттеуге алынған өсімдіктер шикізаты құрамынан 20 амин қышқылы идентификацияланып сандық (мг/100г, % пайыздық) мөлшері анықталды.

Кесте 11 – *Verbascum* текті өсімдіктер құрамындағы амин қышқылдарының сандық мөлшері

Амин қышқылдарының атауы	Мөлшері %		
	<i>Verbascum orientale</i>	<i>Verbascum densiflorum</i>	<i>Verbascum phoeniceum</i>
Аланин	0,77±0,04	0,745±0,004	0,80±0,04
Глицин	0,312±0,007	0,286±0,006	0,309±0,007
Лейцин	0,382±0,005	0,36±0,05	0,40±0,05
Изолейцин	0,36±0,07	0,342±0,006	0,36±0,07

11 - кестенің жалғасы

Валин	0,258±0,01	0,235±0,08	0,24±0,01
Глютамин	2,59±0,08	2,546±0,01	2,56±0,05
Треонин	0,212±0,007	0,19±0,08	0,202±0,005
Пролин	0,538±0,004	0,536±0,007	0,615±0,005
Метионин	0,094±0,01	0,085±0,008	0,082±0,007
Серин	0,34±0,03	0,336±0,005	0,34±0,04
Аспарагин	1,212±0,01	1,212±0,005	1,122±0,01
Цистин	0,054±0,004	0,044±0,007	0,039±0,005
Оксипролин	0,002±0,003	0,001±0,0009	0,002±0,002
Фениланин	0,288±0,007	0,27±0,05	0,272±0,009
Тирозин	0,32±0,03	0,294±0,005	0,303±0,01
Гистидин	0,237±0,008	0,212±0,004	0,218±0,005
Орнитин	0,002±0,002	0,001±0,005	0,002±0,003
Аргинин	0,349±0,007	0,334±0,009	0,338±0,007
Лизин	0,294±0,005	0,276±0,005	0,245±0,005
Триптофан	0,072±0,005	0,065±0,007	0,072±0,01



Сурет 34– *Verbascum* текті өсімдіктер құрамындағы амин қышқылдарының сандық мөлшері

11 - кестеде көрсетілгендей газды сұйықтық хроматография әдісімен талдау нәтижесінде өсімдіктердің құрамында глютамин, аспарагин және аланин қышқылдарының көп екені анықталды. Ал, оксипролин мен орнитин ең аз мөлшерде екені белгілі болды. Нәтижелерді салыстыра келе *Verbascum orientale* өсімдігінің құрамынан анықталған амин қышқылдарының мөлшері

көп екені белгілі болды. Зерттеу нәтижелерін қорытындылай келе өсімдіктердің аминқышқылдар құрамында айтарлықтай айырмашылық болмады. Табиғатта көп таралған амин қышқылдары: глютамин және аспарагин қышқылдарының мөлшері шамалас болып ең көп пайыздық мөлшерді көрсетті. Алмасатын және алмаспайтын амин қышқылдарының мөлшері шамалас болды.

Орталық жүйке жүйесінің (ми жарақаты) ауруларына қарсы глютамин қышқылы пайдаланылады. Оны ағзадағы қышқылдық - негіздік тепе- теңдікті орнату және шылым шегу әуестігін тежеу үшін тұтынады. Жүрек - қан тамырлары, жүйке ауруларына қарсы – аспарагин қышқылының тұздары, бауыр циррозы мен сусамыр ауруларының алдын алу және емдеу үшін метионин қолданылады. Орталық жүйке жүйелері үшін энергия көзі болып табылатын аланиннің маңызы зор және оның антитела өндіруі иммундық жүйені нығайтады. Бұл нәтижелер *Verbascum* өсімдік түрлері үшін алғаш рет ұсынылуда.

3.4 *Verbascum* текті өсімдіктердің липофилді құрамын анықтау

Шығыс Қазақстан өңірінде өсетін *Verbascum* (аюқұлақ) текті өсімдік түрлері шикізатының гександы сығындысы құрамыныан липофилді заттар газ хроматографиялы–масс-спектрометрия әдісімен Perkin Elmer Clarus 600 қондырғысының NIST мәліметтер базасымен салыстырылып идентификацияланды.

Ұнтақталған шикізаттың жер үсті бөлігі (1 кг) бөлме температурасында 80% этил спиртімен 3 рет (72 сағат) және сулы спиртпен өңделіп сулы - спиртті сығынды алынды. Сығынды гексан, хлороформ, этилацетат және бутанол еріткіштерімен экстракцияланды.

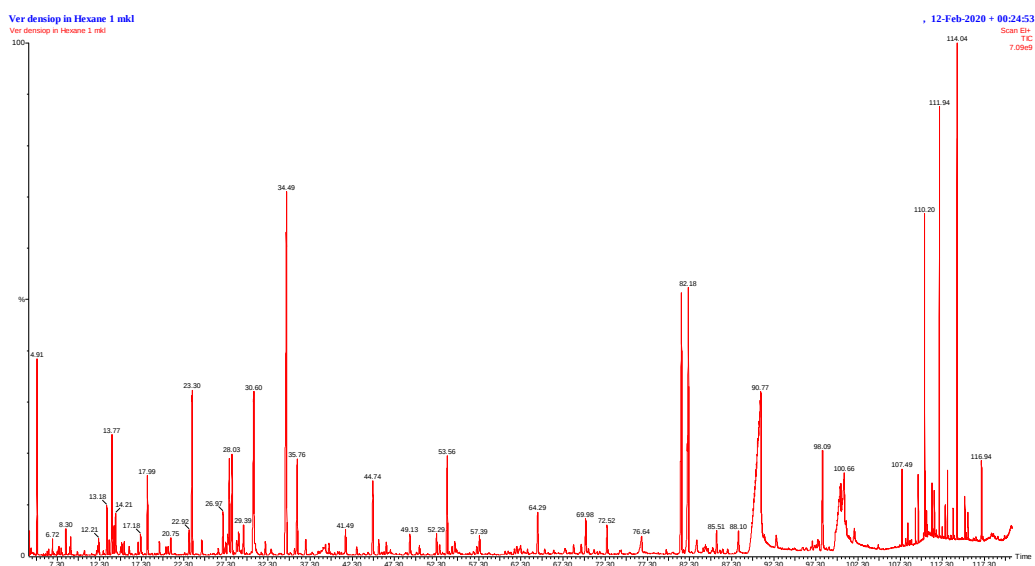
Verbascum текті өсімдіктердің жер үсті бөлігі шикізатының гександы сығындының құрамы газ - хроматография - масс –спектроскопия (GC-MS) әдісімен талданды. *Verbascum densiflorum* өсімдігінен 48 зат бөлініп 46 заты, *Verbascum orientale* өсімдігінен 43 заттан 41 зат идентификацияланды. Хроматографиялық нормалау әдісімен олардың сандық құрамы анықталды. Пулегон, линол қышқылы, транс - 13-октодецен қышқылы, β-изофорон, пальмитин қышқылы және ацетонның гескагидрофарнецилі гександы сығынды құрамында көп мөлшерде болатыны анықталды.

Verbascum текті өсімдіктер шикізатының гександы сығындысының құрамында: спирттер, альдегидтер, кетондар, терпендер және алифатты қосылыстар басым екендігі 12, 13 – кестелерде көрсетілген.

Әдеби деректерге сүйенсек, сығынды құрамынан сәйкестендірілген пулегон және оның туындылары медицинада әртүрлі мақсаттарда қолданылған, мысалы, олар антиоксидантты, анти - инфламматорлы, микробқа қарсы белсенділік (ішек құрттарға) көрсететін препарат ретінде қолданылады.

Газ хроматографиялы–масс-спектрометрия әдісі қазіргі таңда кең дамыған және жоғары дәлдікпен талдауға болатын әдістердің бірі. Зерттеу жұмысы Perkin Elmer Clarus 600 ГХ/МС қондырғысында жүргізілді.

Салыстырмалы зерттеу бойынша алынған *Verbascum orientale* L. және *Verbascum densiflorum* L. екі өсімдік құрамындағы липофилді заттардың құрамы мен олардың жинақталу мөлшері өсімдіктердің түріне, вегетативті даму кезеңдеріне, өсу аймағына, географиялық орнына тәуелді болады.



35-сурет – *Verbascum densiflorum* L. өсімдік түрінің құрамындағы липофилді заттардың пайыздық үлесі (%)

Кесте 12 – *Verbascum densiflorum* L. өсімдігінің құрамындағы липофилді заттардың мөлшері, %

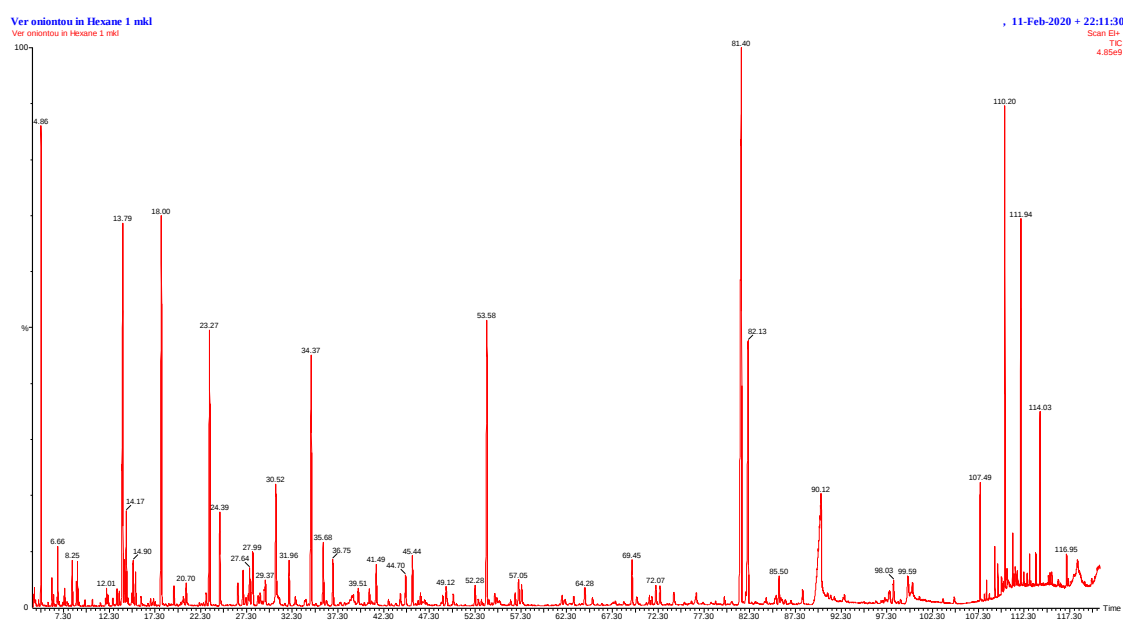
RT	R әдеб.	R сан.	Зат атауы	Мөлшері	Пайыздық %
1	2	3	4	5	6
4.906	800±2	799	n-гексаналь	951	1.2
8.296	865±7	886	p-ксилен	926	0.3
13.175	973±1	967	3,5-диметил-Циклогексанол	742	0.5
13.766	980±2	976	1-октен-3-ол	905	1.3
14.023	986±2	980	6-метил-5-гектен-2-он	803	0.3
14.213	993±2	983	2-амилфуран	873	0.5
17.992	1044±0	1034	β-изофорон	900	1.0
22.919	1099±2	1099	Линалол	916	0.4
23.301	1104±2	1103	n-нонаналь	935	2.3
26.966	1156±N/A	1143	α,α,4-триметил-1-циклогексен-1-метанол	909	0.6
27.696	1164±N/A	1151	α-пинокарвон	909	1.3

12-кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6
28.03	1164±6	1154	цис-р-метан-3-он	952	1.5
28.807	1173±2	1163	Изокамфопинон	908	0.3
29.387		1169	<i>Белгісіз</i>		0.5
30.598	1178±16	1182	<i>р</i> -метан-1-ол	944	3.4
34.494	1237±3	1228	<i>Пулегон</i>	924	7.2
35.756	1253±6	1243	Пиперитон қышқылы	873	1.5
41.49	1317±3	1313	<i>транс</i> -2, <i>транс</i> -4-децадиеналь	903	0.4
44.74		1351	<i>Белгісіз 2</i>		1.2
49.132	1419±3	1403	β-кариофиллен	891	0.4
52.294	1435±3	1439	<i>цис</i> -геранилацетон	923	0.3
53.56	1449±1	1453	2,6,10-триметилтридекан	905	1.5
57.39	1517iu	1497	8а-метилгексагидро-1,8(2Н,5Н)-нафталенедион	744	0.3
64.287	1589±10	1597	Изошибунон	850	0.7
69.977	1684±3	1680	α-бисаболол	905	0.6
72.523	1715±3	1717	<i>n</i> -пентадеканаль	899	0.5
76.643	1768±5	1778	Миристин қышқылы	915	0.7
81.339	1844±4	1846	<i>Ацетонның гексагидрофарнезилі</i>	927	4.8
82.176	1870±4	1859	<i>Изобутил фталаты</i>	928	4.4
83.166	1867±6	1873	Пентадецил қышқылы	858	0.4
85.514	1919±5	1908	Фарнезил ацетоны	889	0.4
88.104	1965±6	1945	Дибутил фталаты	912	0.6
90.768	1968±7	1984	<i>Пальмитин қышқылы</i>	934	16.8
92.598	2034±N/A	2013	Гераниллиналлол	797	0.3
98.087	2114±5	2105	Фитол	942	1.9
100.226	2133±12	2141	<i>Линол қышқылы</i>	922	4.5
100.659	2164±N/A	2149	<i>транс</i> -13-октадецен қышқылы	887	3.7
100.879	2151±N/A	2152	17-октадекан қышқылының метил эфирі	852	0.9
101.179	2161±N/	2157	2-гидрокси-1-	762	0.4
107.486	2363±2	2338	2-метилтрикозан-(гидроксиметил)-этил (9E,12E,15E)-9,12,15-октадекатриенаты	833	0.6

12-кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6
101.348	2162±6	2160	Этиллинолеат	758	0.5
109.441	2467±N/A	2427	(13Z)-13-докозен-1-ол	847	0.3
110.197	2500	2505	Пентакозан	927	1.3
111.94	2700	2688	Гептакозан	927	1.9
112.901	2800	2791	Октокозан	921	0.4
114.97	3000	2959	Триакоктан	868	0.3
116.936	3100	3080	Гентриакоктан	914	0.7
Барлығы					77.3



36-сурет – *Verbascum orientale* L. өсімдігінің құрамындағы липофилді заттардың пайыздық үлесі (%)

Кесте 13 – *Verbascum orientale* L. өсімдігінің құрамындағы липофилді заттардың мөлшері, %

RT	R әдеб.	Rсан.	Зат атауы	Мөлшері	Пайыздық %
1	2	3	4	5	6
4.858	800±2	797	Гексаналь	950	3.2
6.663	854±3	844	2-гексеналь	934	0.4
8.248	865±7	885	р-ксилен	885	0.4
8.831	901±2	900	Гептаналь	912	0.3

13 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6
13.788	980±2	976	1-октен-3-ол	931	5.2
13.986	986±2	979	6-метил-5-гептен-2-он	776	0.4
14.169	993±2	982	2-пентилфуран	907	0.9
14.903	994±3	993	Этиламинкарбинол	916	0.5
15.178	1003±2	997	Каприлалдегид	955	0.3
18.003	1044±0	1035	<i>β</i> -изофорон	916	5.6
20.703	1071±3	1070	1-октанол	801	0.3
23.268	1104±2		Белгісіз 1		3.9
24.391	1124±6	1115	Изофорон	929	1.2
26.361	1144±N/A	1136	(R,S)-5-этил-6-метил-3Е-гептен-2-он	796	0.3
26.915	1156±N/A	1142	α,α,4-триметал-1-циклогексен-1-метанол,	866	0.5
27.645	1164±N/A	1150	Пинокарвон	966	0.5
27.986	1164±6	1154	цис-р-ментан-3-он	952	0.9
29.373	1176±4	1169	(Е)-2-нонен-1-ол	734	0.6
30.525	1178±16	1180	р-ментан-1-ол	938	2.3
31.963	1206±2	1197	Капральдегид	901	0.6
34.373	1237±3	1226	Пулегон	933	3.9
35.679	1253±6	1242	Пиперитон қышқылы	879	1.0
36.754	1252±2	1255	2-(Z)-деценаль	938	0.6
39.513	1317±3	1289	(Е,Е)-2,4-декадиеналь	749	0.3
41.491	1317±9	1313	Дека-2,4-диеналь	892	0.6
44.701		1351	Белгісіз 2		0.5
45.442	1367±7	1360	2-ундеценаль	930	0.7
49.122	1419±3	1403	Кариофиллен	876	0.4
53.583	1463±1	1454	4,11-диметилтетрадекан	851	4.6
57.046	1510±0	1493	2-тридеканол	883	0.4
57.38	1510±0	1497	Метилундецилкарбинол	884	0.3
64.281	1678±N/A	1641	Ароматендреноксид -(2)	791	0.3
69.446	1708±0	1672	Тетрадецилоксиран	767	0.7
72.066	1710±4	1711	2-пентадеканол	902	0.4
72.513	1715±3	1717	1-пентадеканаль	906	0.3
81.399	1844±4	1847	2-гексагидрофарнезил ацетоны	934	12.0
82.133	1870±4	1847	Диизобутил фталаты	921	4.7
85.501	1919±5	1907	Фарнезил ацетоны	894	0.4
90.123	1968±7	1975	Гексадекан қышқылы	934	6.8

13 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6
90.817	1992±5	1985	Маноил қышқылы	774	0.3
98.029	2114±5	2104	Фитол	907	0.4
99.589	2133±12	2131	Линол қышқылы	844	0.9
100.10	2141±11	2139	Олеин қышқылы	887	1.2
Барлығы					75.4

Кестелерде көрсетілгендей ГХ/МС әдісі арқылы *Verbascum* өсімдігінің құрамында ең көп кездесетін липофилді заттар пулегон және карбон қышқылдары. Әдеби мәліметтерге сүйене келе, зерттеу барысында аюқұлақ текті өсімдіктер құрамынан басым мөлшерде анықталған пулегонның микробқа, депрессияға және бауыр фиброзына қарсы белсенділік көрсететіні және медицинада кең қолданыс тапқаны анықталды.

3.5 *Verbascum* текті өсімдік түрлері құрамынан биологиялық белсенді кешен алу жолын оңтайландыру және жеке заттар бөлу

Өсімдік шикізаты құрамындағы биологиялық белсенді заттардың мөлшерімен ерекшеленеді. ББЗ сандық және сапалық мөлшері әртүрлі факторларға: өскен орны, климаты, топырағы, өсімдіктің тұқымдары, түрі, вегетациялық кезеңдері, сонымен қатар, шикізатты дайындау шарттары, еріткіш түрі, қатынасы, температура, уақытқа байланысты болады.

Биологиялық белсенді заттарды бөлу негізінде шикізаттың жеміс беру кезеңінде жиналған *Verbascum* текті өсімдіктерден экстракт алу жұмыстары жүргізілді және тиімді технологиялық параметрлері таңдалды.

Шығымы жоғары экстрактивті заттар алу үшін экстрагент (еріткіш) концентрациясы, шикізаттың ұсақталу өлшемі, шикізат:экстракт қатынасы (гидромодуль), экстракциялау температурасы, экстракциялау уақытының тиімді шарттары қарастырылды.

1. Экстрагентті таңдау. Биологиялық белсенді заттар кешенін толық және жоғары жылдамдықпен бөлу үшін экстрагент селективті ерігіштік, химиялық және фармацевтикалық улылығы төмен, бағасы қолжетімді болу керек. Экстракциялау үшін полярлы (су, метанол, этанол) еріткіштер мен полярсыз (гексан, дихлорэтан, хлороформ, этил спирті және т.б.) еріткіштер қолданылады. Этанол:су және метанол экстрагент ретінде алынды.

2. Экстрактивті заттардың мөлшері экстракциялау уақытына тәуелді. 1 тәулікте оңай бөлінетін, 2 тәулікте топтасып орналасқан заттардың экстракциялануы, 3 тәулікте заттардың шығымы бір қалыпты ұлғаяды. Экстрактивті заттарды этанолмен экстракциялау уақытының тиімді шарты ретінде 72 (3 тәулік) сағат және 10 сағат ұсынылды.

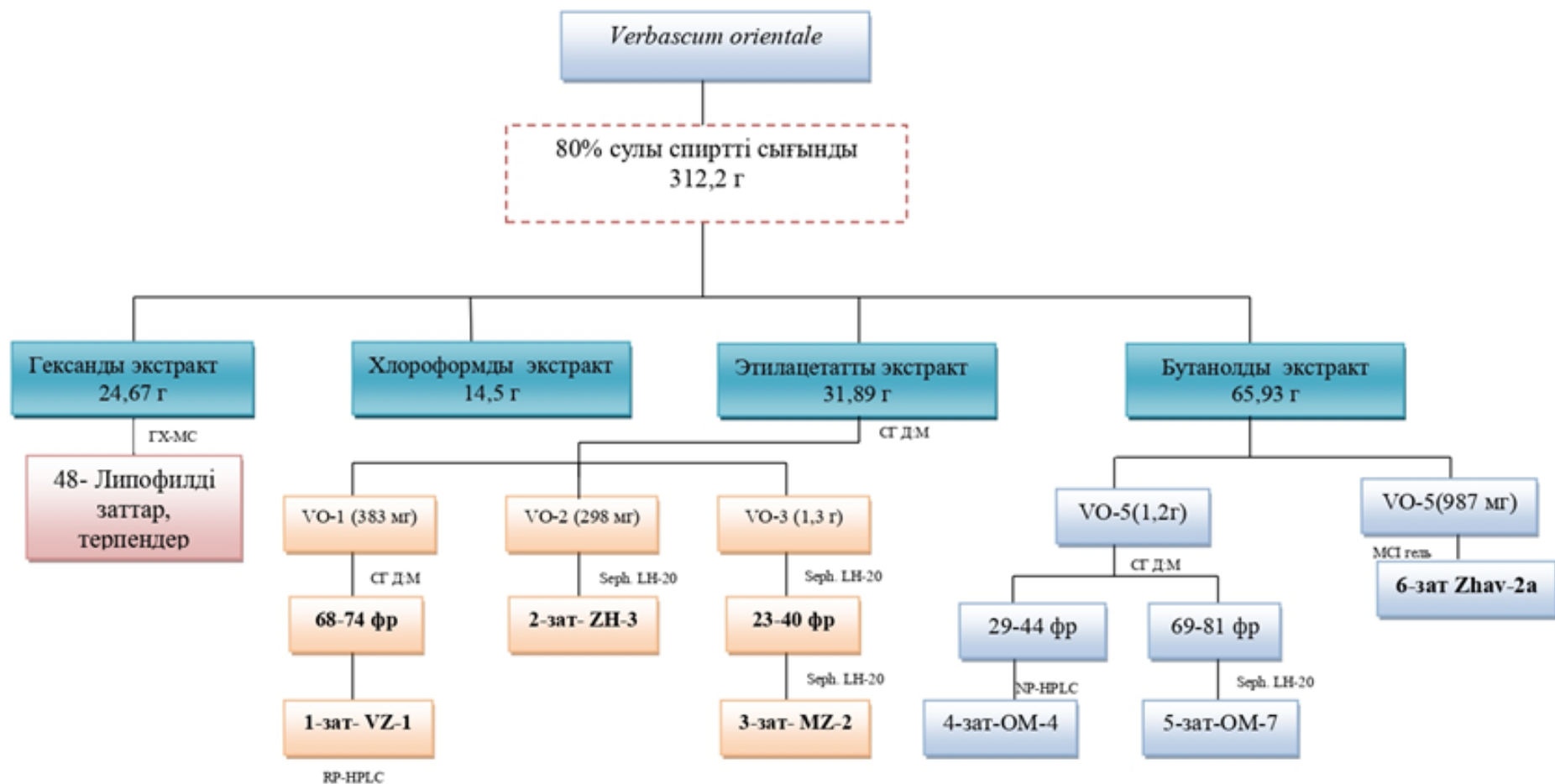
3. Экстрактивті заттардың тиімді мөлшерін бөлуге әсер ететін негізгі факторлардың бірі – шикізат пен экстрагенттің қатынасы (гидромодуль). Шикізат пен экстрагент қатынасы (гидромодуль) неғұрлым төмен болса, экстракциялау экономикалық жағынан тиімді болады. Зерттеуге алынған өсімдік түрлері шикізаттарынан ББК-ны бөлуде шикізат: экстрагент қатынасы (гидромодуль), бөлінген зат шығымымен байланысты таңдалды. Шығымы

жоғары экстрактивті заттар мөлшерін бөлу үшін тиімді гидромодуль таңдалды, ол 1:8-9 және 1:9 (шикізат:еріткіш) болды.

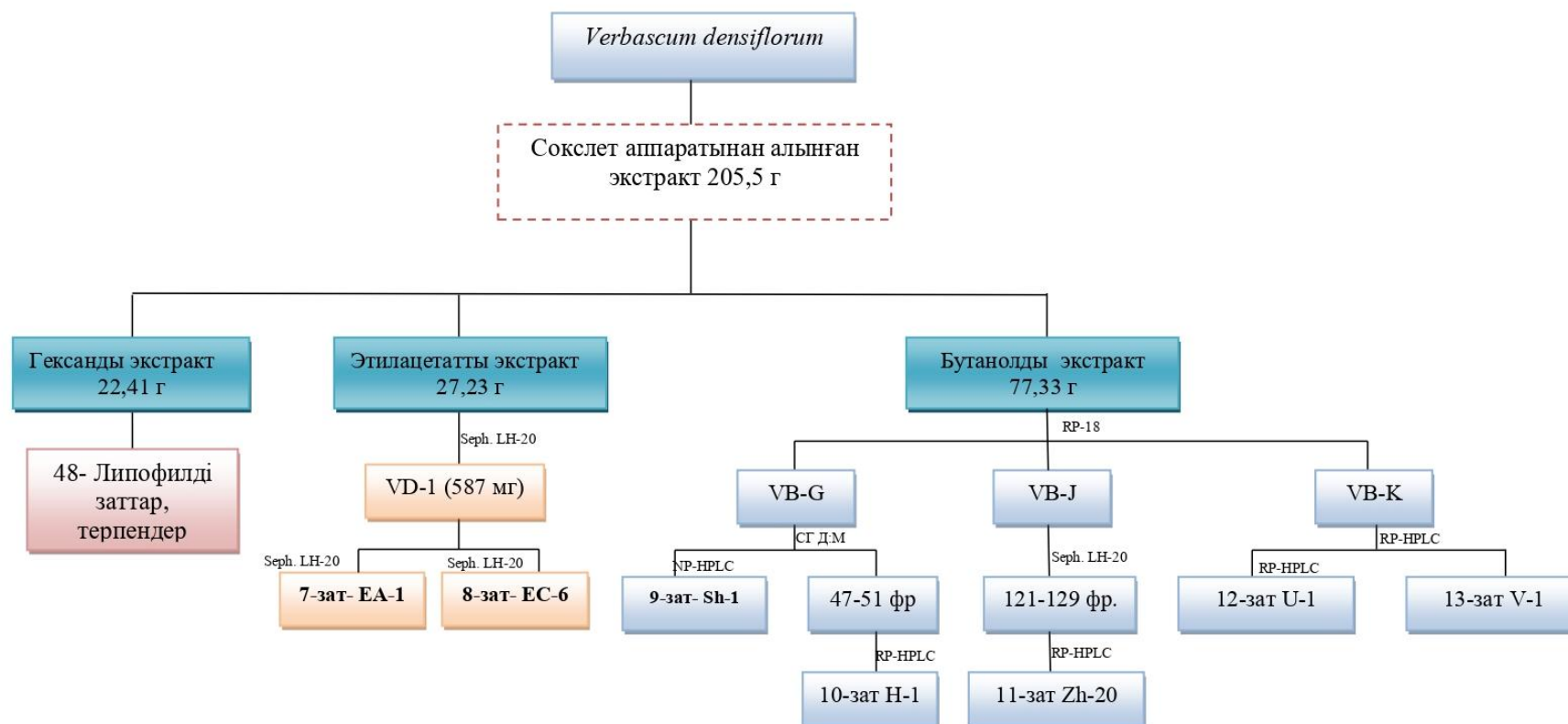
4. Экстракциялау температурасы экстрактивті заттардың шығымына әсер етеді. Ұсынылған нәтижелердің өзгерісі химиялық реакция жылдамдығымен байланысты болады. Оңтайлы параметр ретінде 20-25°C және 90±5°C температура ұсынылды.

Scrophulariaceae тұқымдасының *Verbascum* өсімдік түрінің жер үсті бөлігі шикізаты (1 кг) 80% су - этил спиртімен, гидромодулі 1:8-9, 20-25°C бөлме температурасында 72 сағат (3 тәулік) бойы қарапайым мацерация әдісімен экстракцияланды. Бөлінген сулы – спиртті сығынды тұндырылды, сүзілді, концентрленді және вакуум астында кептіріліп, құрғақ экстракт (сығынды) алынды. Бөлінген құрғақ экстракт гексан, хлороформ, этилацетат және н-бутанол еріткіштерімен өңделді, нәтижесінде төрт жұмысшы сығынды алынды. Этилацетатты және бутанолды сығындылардан 6 – жеке зат бөлінді. Олар: 3 – иридоидтар, 3 – флавоноид, 1 – фенилпропаноид болды. Жеке қосылыстар бағаналы хроматографияда жеке заттарды бөлу үшін сорбенттер ретінде силикагель, сефадекс LH – 20, RP – 18 және препаративті ЖЭСХ (NP-HPLC (нормалды-фазалы) мен RP-HPLC (кері-айналмалы-фазалы) қолдану арқылы жүзеге асырылды. *Verbascum* текті өсімдік құрамынан фенилпропаноидты қосылыстар кешенін бөлу барысында оңтайлы сорбент ретінде MCI гель CNP20P қолданылды. Нәтижелері 37 - суретте көрсетілді.

Зеттеліп отырған *Verbascum* өсімдік түрлері шикізаты таза метанолмен, шикізат:экстрагент (1:9), температура (90±5°C), 10 сағат бойы Сокслет аппаратында циркуляциялық экстракцияланды (екі рет). Алынған экстракт сүзіліп, концентрленіп, вакуумды роторда спирттен буландырып, фильтратты бөлгіш сүзгішке құйып, хлорофилдер мен шайыр қоспаларынан тазарту үшін гексанмен жуылды. Гександы сығынды ГХ-МС әдісімен құрамындағы липофилді заттарға зерттеліп, нәтижесінде пулегон көп мөлшерде анықталды. Сығынды өңделіп құрамында полифенолды қосылыстары бар этилацетатты және бутанолды сығындылар бөлінді. Бағаналы хроматографияда жеке заттарды бөлу үшін сорбенттер ретінде силикагель, сефадекс LH – 20, MCI CNP20P гель және препаративті ЖЭСХ NP-HPLC (нормалды-фазалы) мен RP-HPLC (кері-айналмалы-фазалы) қолданыла отырып этилацетатты және бутанолды сығындылардан 7 – зат бөлініп, идентификацияланды. Олардың 5 – флавоноид, 1 – иридоид және 1 – фенилпропаноид екендігі физика – химиялық әдістер мен ЖҚХ – да айқындалған дақ іздері бойынша және әдеби деректермен салыстыра отырып анықталды. Нәтижелері 38 - суретте көрсетілді.



Сурет 37– Қарапайым мацерация әдісімен *Verbascum orientale* L. өсімдік шикізатынан алынған ББК-дан жеке заттарды бөлудің сызбанұсқасы

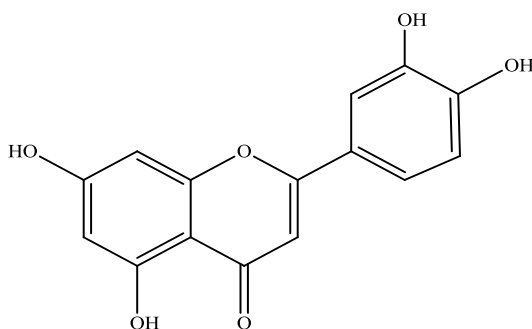


Сурет 38 – Циркуляциялық экстракциялау әдісімен *Verbascum densiflorum* L. өсімдік шикізатынан алынған ББК-дан жеке заттар бөрудің сызбанұсқасы

3.6 *Verbascum orientale* L. текті өсімдіктен бөлінген жеке заттарды идентификациялау

1 зат. Сары түсті кристалды қосылыс, $C_{15}H_{10}O_6$, ESI-MS m/z : 286, 257, 134 және 146 m/z 154 және 153 иондарының фрагментациялық шыңдарын салыстырғанда 153 ионының шыңы қарқынды болып, ол 5, 7 –гидроксифлаван екендігін анықтайды. Ол этанол мен этилацетатта жақсы, ал су мен хлороформда нашар ериді. $t_{\text{балқу}} = 310-335^{\circ}\text{C}$. ИК - спектрінде $3330-3020\text{ см}^{-1}$ ОН-топтың валентті тербелісі, 1680 см^{-1} қос байланыс $C = C$ топтарының валентті тербілісі, $1650, 1510\text{ см}^{-1}$ карбонил топтары $C=O$ топтары, 863 см^{-1} флавоандағы пиронды сақинаның $C - H$ жазықтық деформациялық тербелістері бейнеленген. Заттың УК жұтылу максимумдары: 238, 251 және 349 нм көрсетті; 270 нм жұтылу спектрінде сақинаның 3' және 4' көміртегімен байланысқан гидроксил тобы бар флаван екенін дәлелдеді.

Натрий ацетаты мен алюминий хлоридінің әсерінен батохромды ығысулар ОН – топтарының болуын дәлелдеді. Атап айтқанда, натрий ацетатының әсерінен I жолақтың максимумы 68 нм батохромды ығысып, 4' орынында байланысқан ОН – тобының, ал II жолақтың максимумында 17 нм батохромды ығысып 7- орынында ОН – тобының бар екендігін көрсетті. Алюминий хлоридінің әсерінен I жолақ максимумының 36 нм батохромды ығысуы 5 орында ОН – тобының бар екендігін анықтады. Бөлінген 1 – зат - лютеолин екендігі расталды [144, 152, 153] (39-сурет).



Сурет 39 – Лютеолин (1 - зат)

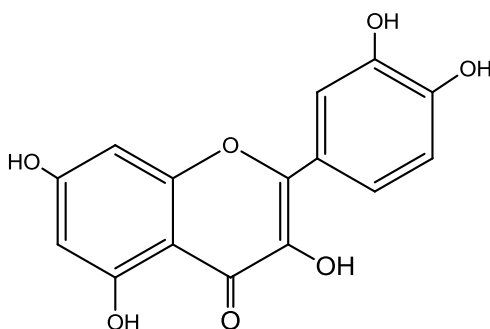
2 – зат. Сары түсті кристалды зат. $C_{15}H_{10}O_7$, ESI- MS, m/z : 303 $[M]^+$, $t_{\text{балқу}} = 310-315^{\circ}\text{C}$, этанолда жақсы ериді. Бұл зат FeCl_3 – нің спиртті ерітіндісімен – жасыл, алюминий хлориді ерітіндісімен – сары түс береді. Оның себебі, 3 және 5 көміртегімен байланысқан гидроксил тобының болуы және ол заттың флаван екендігін дәлелдейді. УК – спектрлері 260 нм, 270 нм қысқа толқынды және 376 нм ұзын толқынды 2 максималды жұтылу аймағын көрсетіп, бос гидроксил тобының бар екендігі анықталды.

Заттың натрий ацетатының әсерінен гипсохромды ығысуы, қосылыстың 3 орнында ОН тобының бос күйін және максимум жолақтың пайда болуы В сақинасында 3' және 4' – ортодигидоксид топтың бар екендігін көрсетеді.

Химиялық реакциялар (сілтілік деструкция) нәтижесінде сірке қышқылында ерітілген 1%- дық ванилин ерітіндісінің әсерінен – флороглюцин

және темір (III) хлориді ерітіндісі әсерінен прококатех қышқылы бөлінгені анықталды.

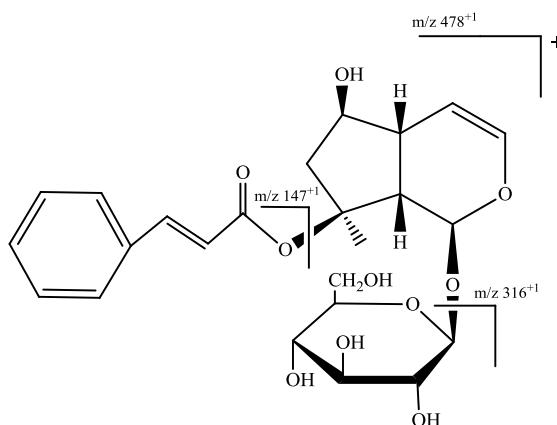
Әртүрлі реакциялар мен физика – химиялық мәліметтер талдана отырып, бөліп алынған 2 – зат – кверцетин екені дәлелденді [153] (40-сурет).



Сурет 40 – Кверцетин (2-зат)

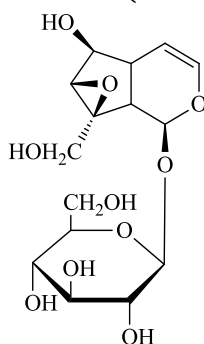
3 - зат. Ақшыл сары түсті ұнтақ, $C_{24}H_{30}O_{10}$, УК-спектрінің жұтылуы 251нм, инфрақызыл спектрлері $3040 - 3500\text{ см}^{-1}$ кең жолақты аймақта ОН – тобының, $2850 - 2890\text{ см}^{-1}$ жұтылу максимумдары (С-Н байланыстары), 1710 см^{-1} (C=O) карбонил тобының, 1660 см^{-1} жұтылу жолақтары қос байланыстың бар екендігін айқындайды. Н - 6 сутектегі резонансті күйі мен 4, 5 және 6 бөліктегі иридоид миопорозид – 8 – циннаматы мәліметтерімен салыстырғанда өзгеше болды. Монопорозид – 8 – циннаматына 6 – эпимер болатын берілген қосылысындағы Н – 6 жоғары аймаққа және Н – 6 сутегінің төменгі аймаққа ығысып С – 6 ОН тобының β - конфигурациялы екенін көрсетті. Бұл NOESY бойынша Н - 6 және Н - 5, Н-7, Н - 9 араларында анықталды. Қанттың D - глюкоза екендігі химиялық анализ (қышқылдық гидролиз) нәтижесінде анықталды.

ESI/MS спектрінің шыңдары қосылыстың молекулалық массасы m/z : 478 $[M]^{+1}$ және 316 $[M-162]^{+1}$ бір қантты қалдық, глюкозаның бар екендігін көрсетеді. m/z : 147 $[M]^{+1}$ фрагменті қосылыста қабық қышқылын білдіреді. Алынған мәліметтер бойынша *Verbascum* өсімдік түрінен алғаш рет бөлінген 3 - зат латерозид болып табылды (41-сурет).



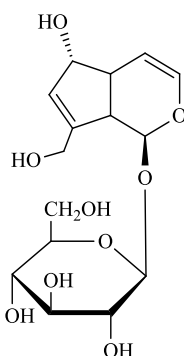
Сурет 41 – Латерозид (3 - зат)

4 - зат. Ақшыл аморфты ұнтақ зат, $C_{15}H_{22}O_{10}$, ESI-MS, m/z : 385 $[M+Na]^+$, 747 $[2M+Na]^+$. $t_g=565.1\pm50.0^0C$, $\rho=1.48\pm0.1$ г/см³. Ультракүлгін жолақтарында λ_{max} 215 нм, инфрақызыл спектрлері 3500см^{-1} жолақты аймақтары гидроксил (ОН) тобының, ал 3440см^{-1} және 1100^{-1} деформациялық жұтылу жолақтарында глюкоза бар екенін көрсетеді. 1.0 М (HCl) тұз қышқылымен қышқылдық гидролиз нәтижесінде қант ретінде глюкоза бөлінді. Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ), ИҚ, (бір өлшемді ЯМР): 1H ЯМР және ^{13}C ЯМР спектрлері мәліметтері мен әдеби деректерді салыстыра отырып, анықталып отырған 4 - зат каталпол болып табылды (42-сурет).



Сурет 42– Каталпол (4-зат)

5-зат. Түссіз ине тәрізді зат, $C_{15}H_{22}O_9$, балку температурасы $175-176^0C$ MeOH, $[\alpha]^{20}_{D}-92.8$, ESI-MS, m/z : 346 $[M]^+$, 184 $[M-162]^+$. Ультракүлгін спектрінің сипаттамалы жұтылуы 210 нм, инфрақызыл спектрінде $3500-3050$, 1655 , 1651 және 1602 см^{-1} көрінетін карбонил тобының ($C=O$) жұтылу жолақтары анықталды. Бір өлшемді (1H - ЯМР) спектрде Н-3 протоны (δ 6.30, дд, $J=6.26$, 2.0 Гц) және Н – 4 (δ 5.09, дд, $J=6.1$, 4.0 Гц) жұтылу жолақтарының Н-7 (δ 5.76, т, $J=1.5$ Гц) төменгі жолаққа дейін ығысуы екінші қос байланыстың бар екендігін айқындады. Н – 9 протон спектрлері (δ 2.89 м.ү.) аймағында ($J=7.5$ Гц) триплет беріп, С – 7 мен С- 8 арасындағы қос байланысты айқын анықтады. Н – 10 (δ 4.34 $J=15.2$ Гц) және 4,16 ($J=15.2$ Гц) АВ жүйесінде байқалатын 2 дублет С – 8 екіншілік спирттің байланысқанын дәлелдейді. Ал, β – D – глюкозадағы аномерлі протонның фрагментін Н-1' δ 4,67 (д, $J=7.9$ Гц) сигналы айқындады. Әдеби деректер мен физика – химиялық мәліметтермен салыстыра отырып 5-заттың аукубин екені анықталды. Берілген қосылыс *Verbascum orientale* L. өсімдік түрінен алғаш бөлініп отыр [154] (43-сурет).



Сурет 43 – Аукубин (5-зат)

Кесте 15 – Иридоидтардың ^1H ЯМР спектрлік мәліметтері

Н	Катапол (4 - зат)	Аукубин (5- зат)
Агликон		
1	5.03, д. (9.7)	4.95, д. (7.3)
2		
3	6.34, дд. (6.1-1.8)	6.3, дд. (6.2-2.0)
4	5.07, дд. (5.8-4.6)	5.09, дд. (6.1-4.0)
5	2.27 м.	2.65 м
6	3.90 т.	4.43 м
7	3.44, д. (0.9)	5.76, т. (1.5)
8		
9	2.53, дд. (9.7-7.6)	2.89, т. (7.5)
10	4.13, д. (13.1), 3.79, д. (13.1)	4.34 (7.5), 4.16, дд. (15.2-09)
β - глюкопираноза		
1'	4.76, д. 7.9	4.67, д. (7.9)
2'	3.24, дд. (9.4-7.9)	3.21, дд. (9.1-7.9)
3'	3.4, т. (9.1)	3.37, т. (9.0)
4'	3.27, дд. (9.5-7.0)	3.27 [†]
5'	3.31 м.	3.27 [†]
6'	3.9, дд. (12.1-1.8), 3.63, дд. (11.9-6.4)	3.85, дд. (11.9-1.8), 3.64, дд. (11.9-5.5)

Кесте 16 – Иридоидтардың ^{13}C ЯМР спектрлік мәліметтері

С	Каталпол (4-зат)	Аукубин (5-зат)
Аглюкон		
1	95.26	97.78
2		
3	141.78	141.63
4	103.99	105.76
5	39.08	46.34
6	79.57	82.90
7	62.52	130.30
8	66.18	148.07
9	43.55	47.99
10	61.58	61.46
β -глюкопираноза		
1'	99.68	99.98
2''	74.82	74.97
3'	77.67	77.95

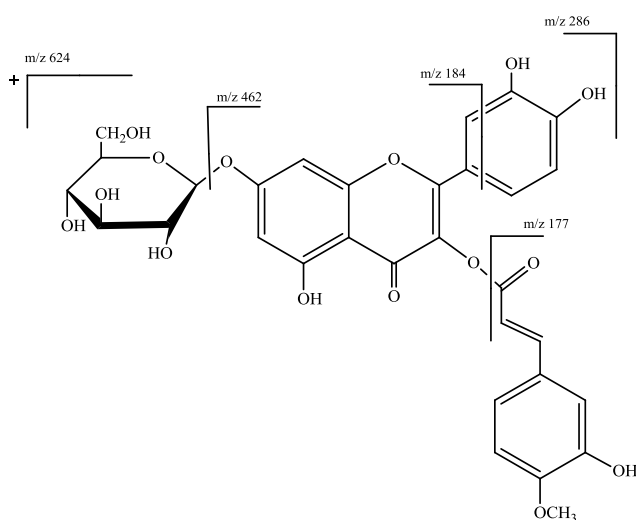
16 - кестенің жалғасы

1	2	3
4	71.74	71.62
5	78.59	78.33
6	62.89	62.71

6-зат. Сары түсті кристаллдық зат, $C_{31}H_{28}O_{14}$, $[\alpha]_D = 23.8$. УК жарығында флюоресцентті, жұтылу максимумдары $\lambda_{\max}$ (MeOH) 213, 250, 270 және 340. NaOMe әсерінен бірінші жұтылу жолағы 38 нм батахромды ығысып, 3 орында 3' – OH тобының, ал, NaOAc әсерінен екінші жұтылу жолағы 27 нм ығысып 5 орында 5 – OH тобының бар екендігін дәлелдеді. Агликон ультракүлгін спектрінде алюминий хлориді ($AlCl_3$) қатысында кешен түзіп, батахромды ығысты. Кешеннің тұз қышқылының әсерінен бұзылмауы, А сақинасындағы C – 5 орнында және С сақинасындағы C – 3 орнында екі бос гидроксил (OH- тобы) тобының орналасқанын көрсетеді. ИҚ аймақтарының 3418.5 (–OH), 2926.5 (CH_3- , $CH_2=$, $CH\equiv$), 1657.8 (–COOR), 1607.4 (–C=O), 1507.7 (ароматты сақина), 1190.0 (арил эфирлері) жұтылу жолақтары зерттеліп отырған қосылыс құрамындағы функциональдық топтарды анықтады.

EI/MS масс спектрлеріндегі m/z 462 $[M-162]^+$ фрагменті қосылыста бір қанттың, яғни глюкозаның барына дәлел. m/z 286 $[M-338]^+$ фрагменті агликон лютеолиннің шыңы, m/z 177 $[M-447]^+$ сәйкесінше 3-гидрокси-4-метоксициннаматтың шыңы.

Қосылыстың масс-спектрдегі FAB/MS (+) және FAB/MS (-) масс спектрлерінің шыңдары заттың молекулалық формуласына $C_{31}H_{28}O_{14}$ сәйкес, m/z 625 $[M+H]^+$ және 623 $[M-H]^-$. m/z 185 $[M+H-162-278]^+$ және 183 $[M-H-162-278]^-$ фрагменттері агликонның сақиналарының шыңын көрсетеді [156].



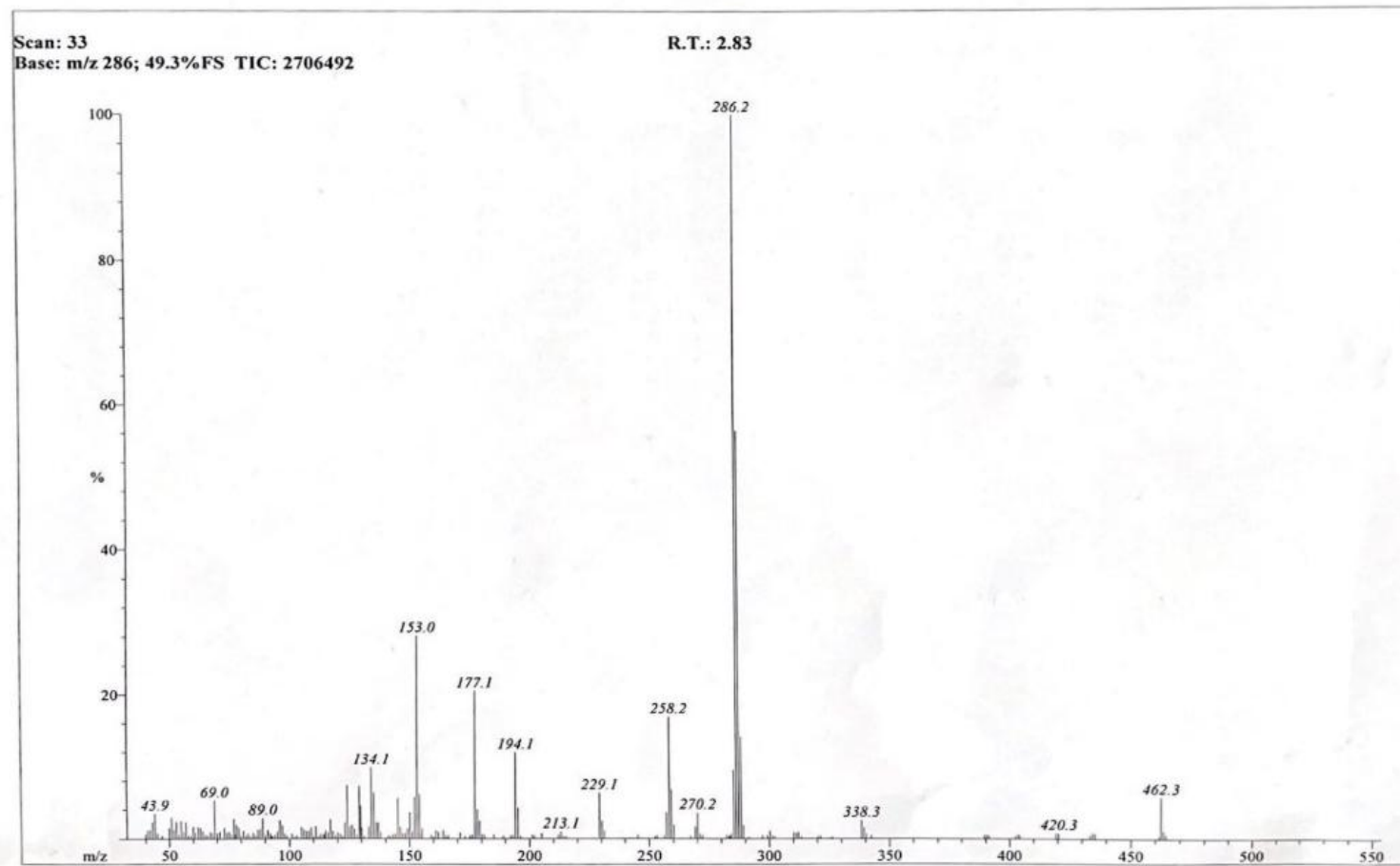
Сурет 44 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси-)циннаматы (6-зат) фрагментациясы

4/11/2019 4:07:15 PM

File: ZHAV-2A
Sample: MUKAZHANOVA ZH
Instrument: JEOL MS 600 H-1

Date Run: 04-11-2019 (Time Run: 15:56:45)

Ionization mode: EI+



Сурет 45 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси)-циннаматының EI/MS спектрі

File: ZHAV-2A
Sample: MUKAZHANOVA ZH / DR.
MANSHUK
Instrument: JEOL MS 600 H-2
Inlet: Direct Probe

Date Run: 05-16-2019 (Time Run: 10:14:26)

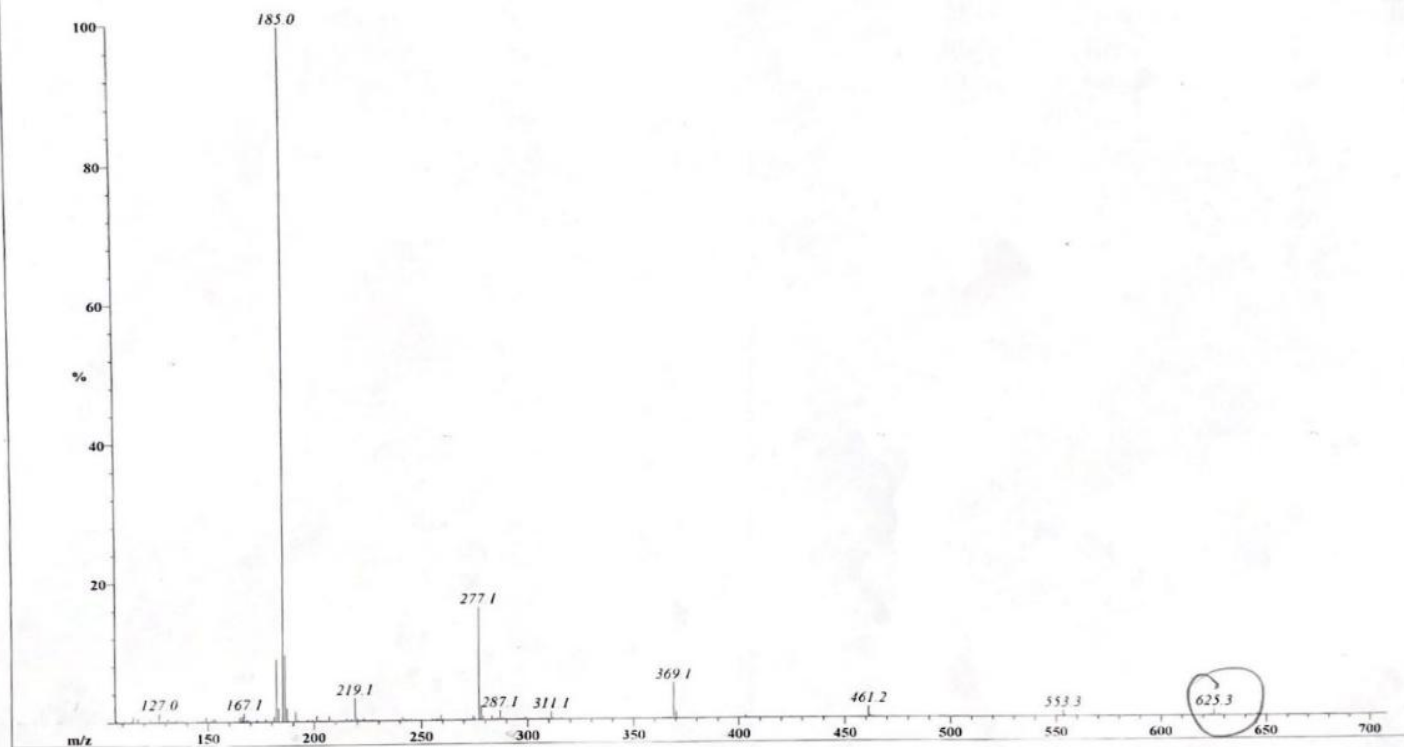
Ionization mode: FAB+

Scan: 1

R.T.: 0

Base: m/z 185; 100%FS TIC: 2603188

#Ions: 1046



Сурет 46 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси)-циннаматының FAB/MS (+) спектрі

File: ZHAV-2A

Sample: MUKAZHANOVA ZH / DR.

Date Run: 05-17-2019 (Time Run: 12:18:56)

MANSHUK

Instrument: JEOL MS 600 H-2

Inlet: Direct Probe

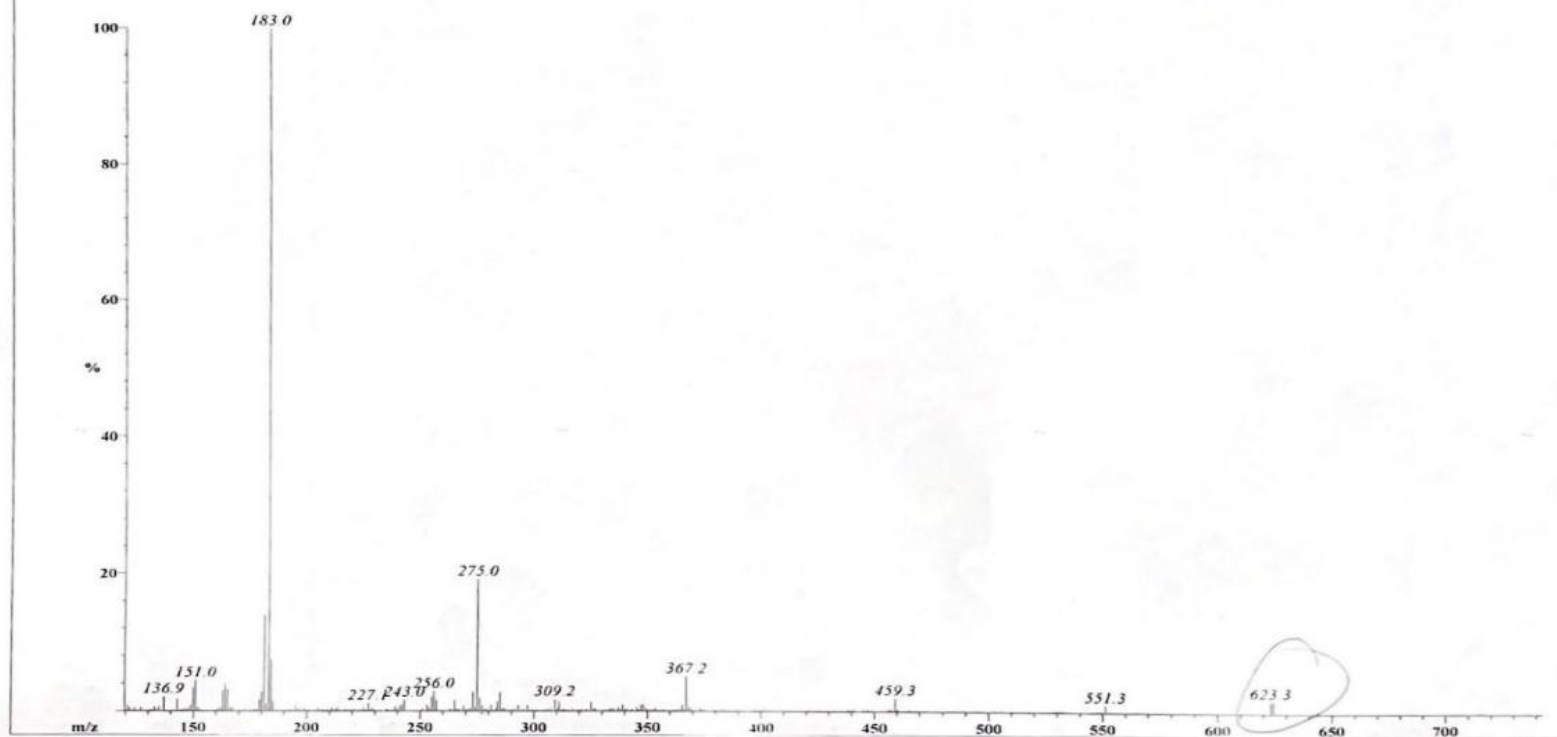
Ionization mode: FAB-

Scan: 10

R.T.: .8

Base: m/z 183; 82.3%FS TIC: 2727114

#Ions: 587



Сурет 47 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси)-циннаматының FAB/MS (-) спектрі

Кесте 17 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси-)циннаматының УК-спектріндегі жұтылу жолақтары

УК-спектроскопия	Жұтылу жолағы $\lambda_{\max}$ (теориялық)	Жұтылу ($\lambda_{\max}$) максимумдары (Зерттеу)
Ұзын толқынды аймақта (I жолақ)	320-380 нм	269-339 нм
Қысқа толқынды аймақта (II жолық)	200-270 нм	212-249 нм

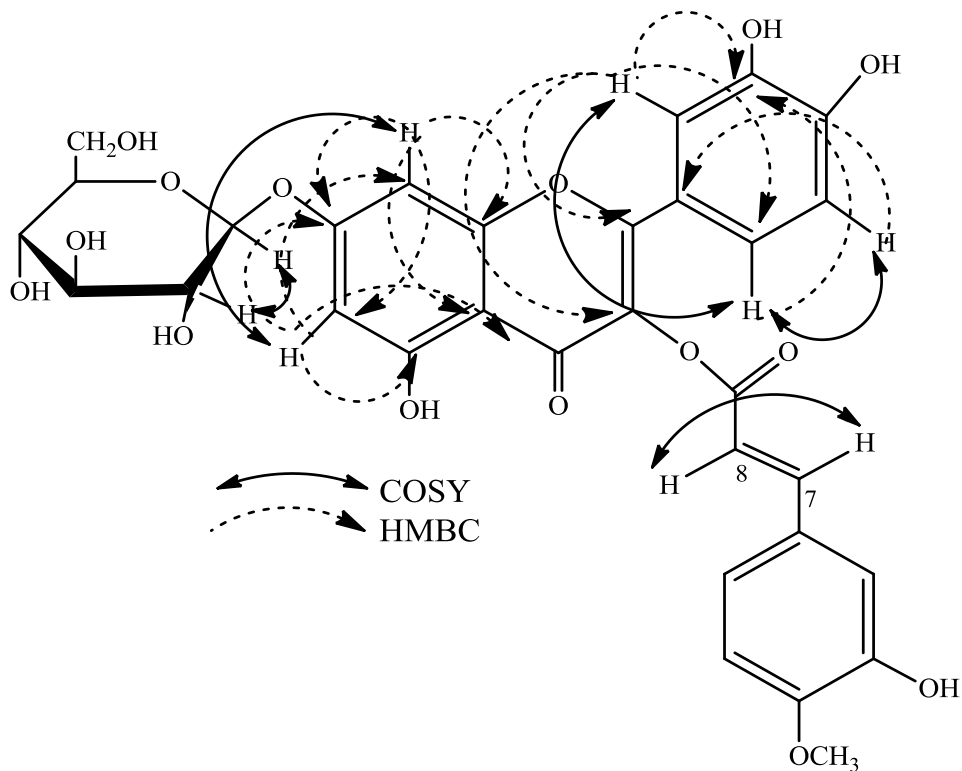
Кесте 18 – Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозил-3-О-(3-гидрокси-4-метокси-)циннаматының ИҚ-спектріндегі жұтылу жолақтары

Функциональдық топ	Жұтылу жолағы (см^{-1})
Босалифатты гидроксилді топтар (-ОН)	3418.5 см^{-1}
Агликонлағы фенолды гидроксил (-ОН)	2926.5 см^{-1}
-C=O карбонил тобы	1687.3 см^{-1}
-C=O топтардың валенттік тербелістері	1607.4 см^{-1}
-C=C- қос байланыс	1507.7 см^{-1}
-OCH ₃	3693.8 см^{-1}
Көмірсулардың D-конфигурациясы	822.0 см^{-1}

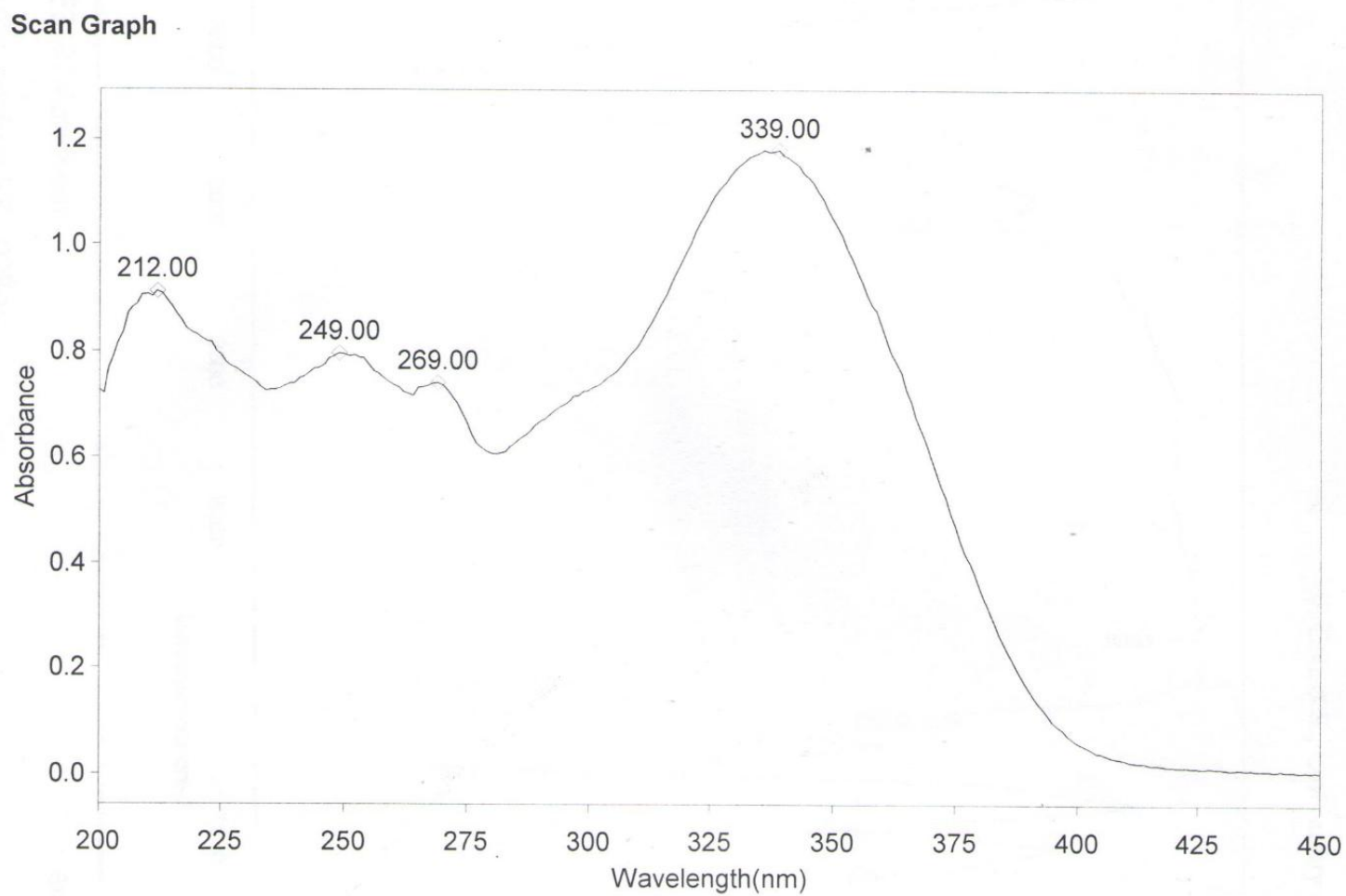
Бір өлшемді ^1H , ^{13}C –ЯМР спектрлері мен масс – спектрінде көміртек атомдарының 31 сигналы тіркелгені байқалды. Протонды ^1H – ЯМР спектрінде флавоноидтардың іздері байқалды. Спектрлер δ 3.85 м.ү. жолақта метокси тобы синглет беріп, ^1H қарқынды болды. Ароматты бензол сақинасындағы протон δ Н 7.50 (1H, дд., J=8.1, 2.5Гц, H - 6'), 7.31 (1H, д., J=2.3 Гц, P -2'), 6,95 (1H, д, J=8.5 Гц, H - 5') аймақтарында анықталды. ^{13}C - ЯМР спектрлері 183.9 м.ү. аймағында C - сақинада (C=O) карбонил тобының бар екендігі, ал, метокси - OCH₃ тобының δ 56.08 м.ү. аймағында орналасқаны байқалды. ^1H - ^1H димерлі COSY корреляциялық спектрлері А сақинасындағы δ 6.69 (H – 6) 6 сутекте және δ 6.51 (H – 8) 8 сутекте, ал В сақинасындағы δ 6.88 (H - 2') 2' - орында, δ 6.60 (H-5') 5' - орында, δ 6.73 (H - 6') 6' - орында, органикалық ферул қышқылындағы C - 7 α мен C - β протонды сутек арасындағы, сонымен қатар қанттағы 1 және 2 орындардағы сутектер: δ 5.08 (H-1'') және δ 3.53 (H - 2'') м.ү. екендігі анықталды. NOESY берген деректерден глюкозаның агликондағы 7 - ОН топпен байланысқанын глюкозаның δ 5.08 (H-1'') және А - сақинасы δ 6.69 (H – 7) арасындағы корреляциялар дәлелдейтінін көруге болады. НМВС гетероядролық спектрлерінің екі өлшемді корреляциясы сәйкесінше: H-3 [C–2,

C-10, C-6'], H-6 [C-7, C-5, C-10, C-8], H-8 [C-7, C-9, C-10, C-6] А сақинасындағы протондар мен көміртек атомдары арасындағы корреляцияны байқатты.

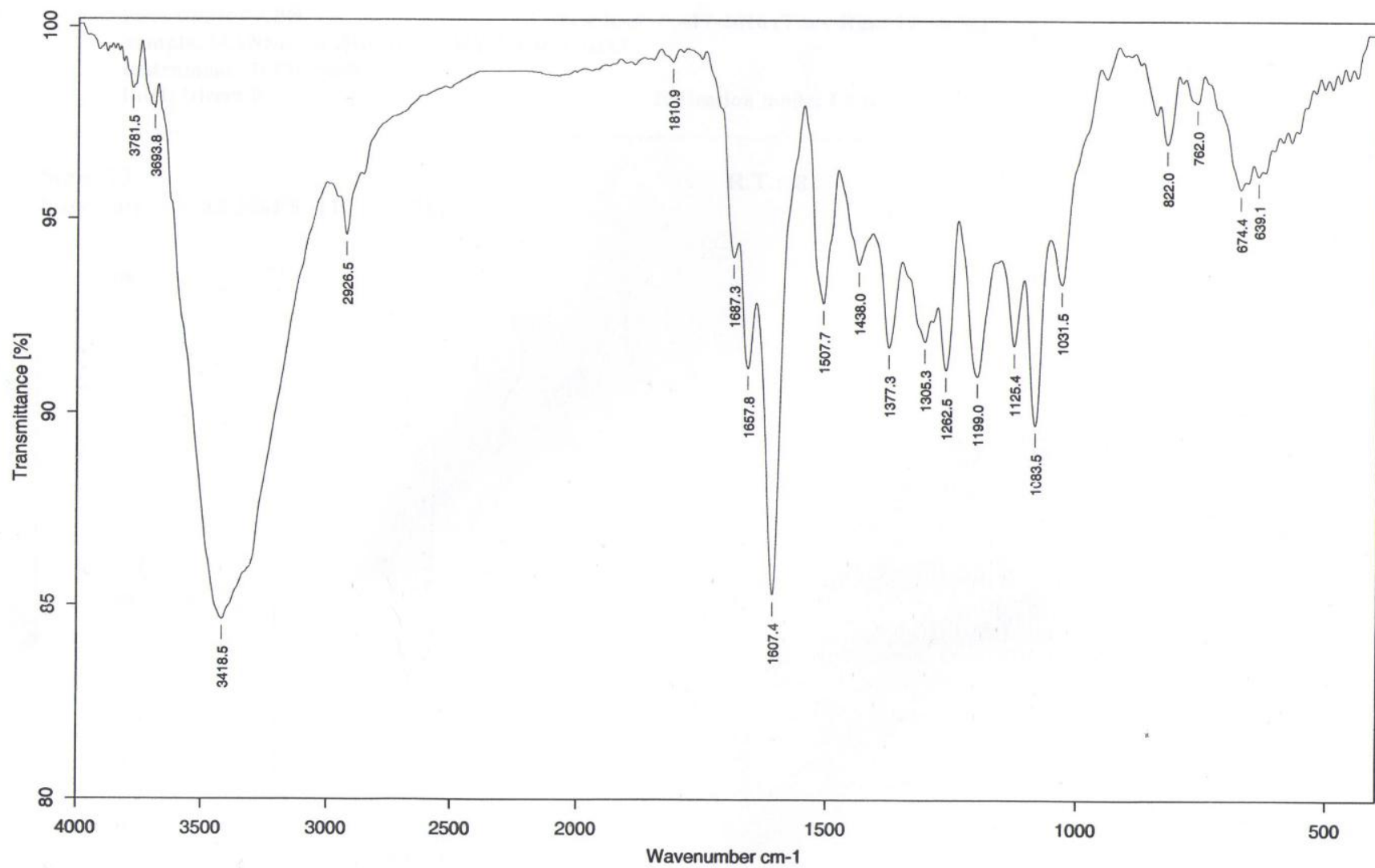
Зерттеудің физика – химиялық мәліметтері әдеби деректермен салыстыра келе бөлініп отырған 6 – зат лютеолиннің 7 – О – β –D –глюкопираназил – 3 – О- (3-гидрокси-4-метокси -) циннаматы екендігі дәлелденді. Бұл қосылыс бұрын әдебиеттерде жарияланбаған жаңа зат болып табылды (48-сурет).



Сурет 48 – 6-заттың COSY және HMBC корреляциялануы

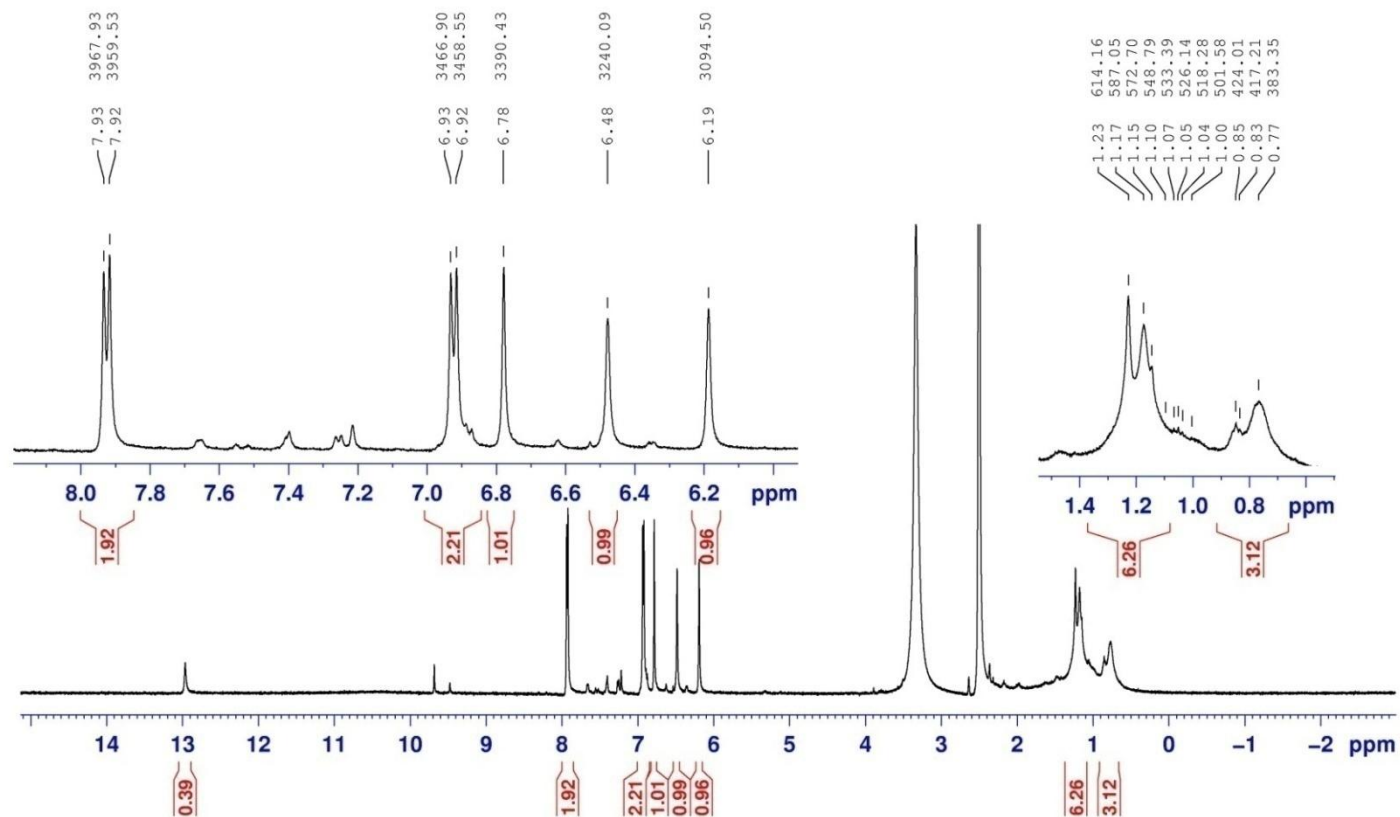


Сурет 49 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4-метокси -) циннаматының (6 - зат) УК-спектрі



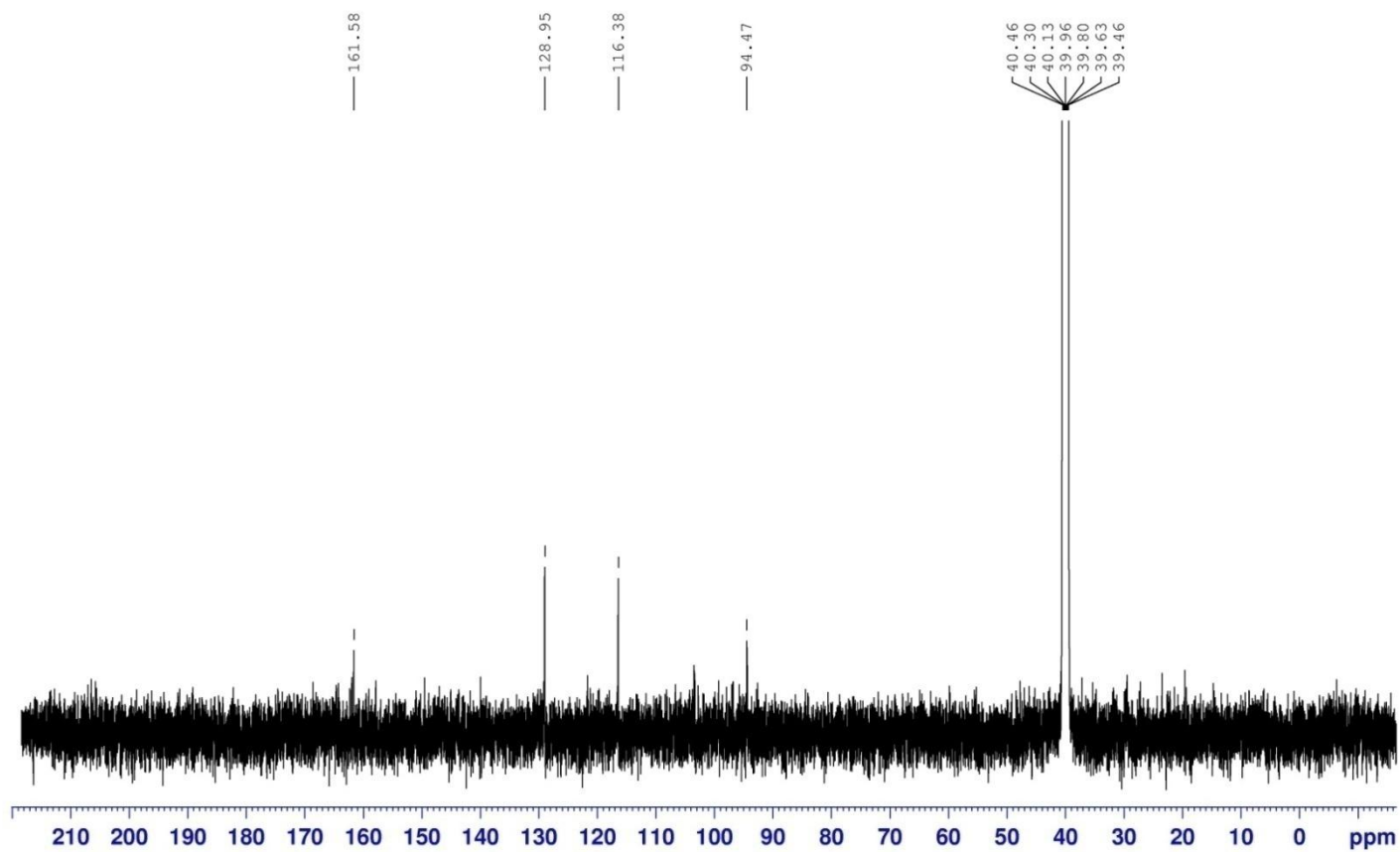
Сурет 50 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метоксид -) циннаматының (6 - зат) ИҚ - спектрі

Avance III 1H Zhav-2a in dmso 29.10.2020

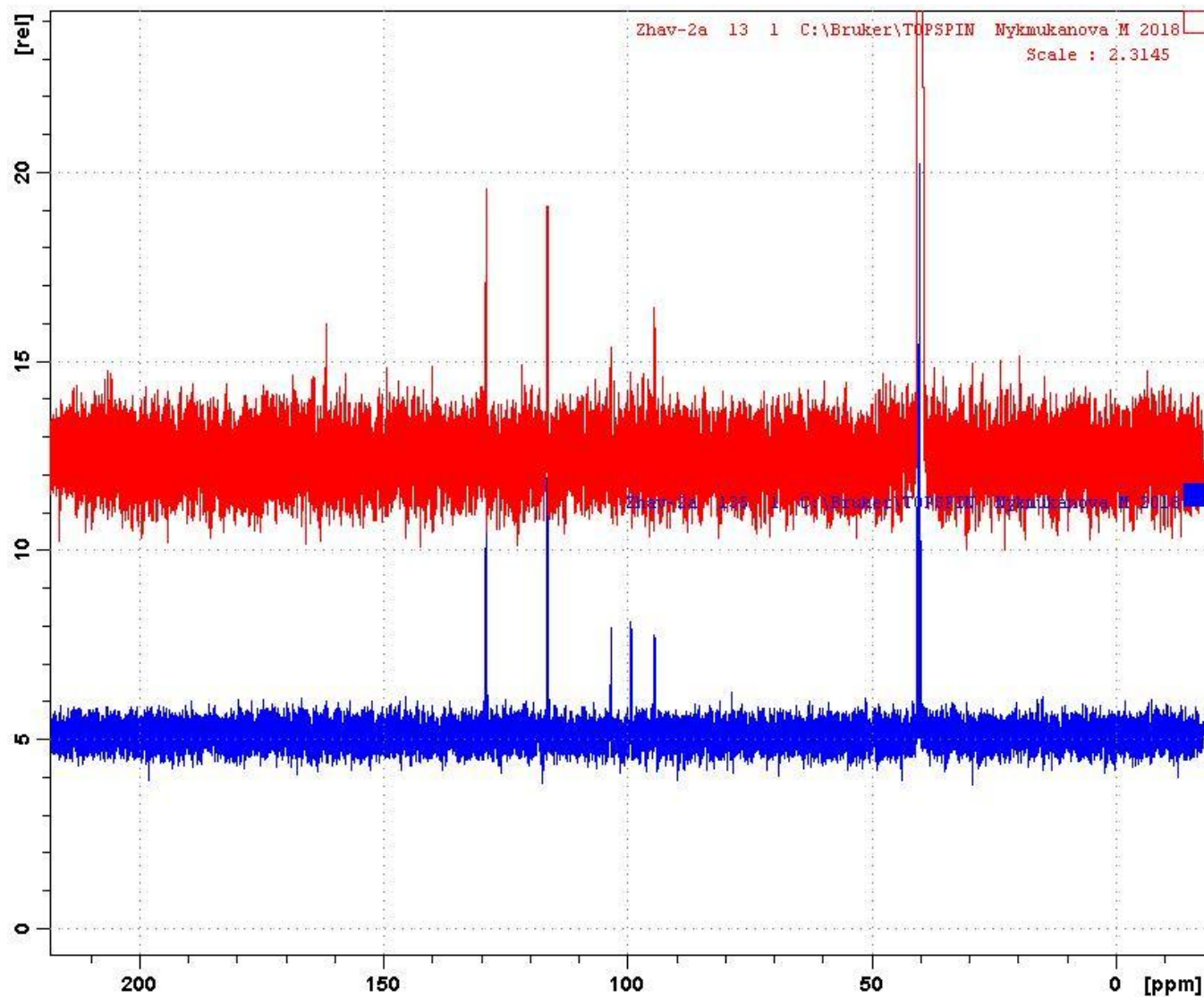


Сурет 51 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метокси -) циннаматының ^1H ЯМР - спектрі (6 - зат)

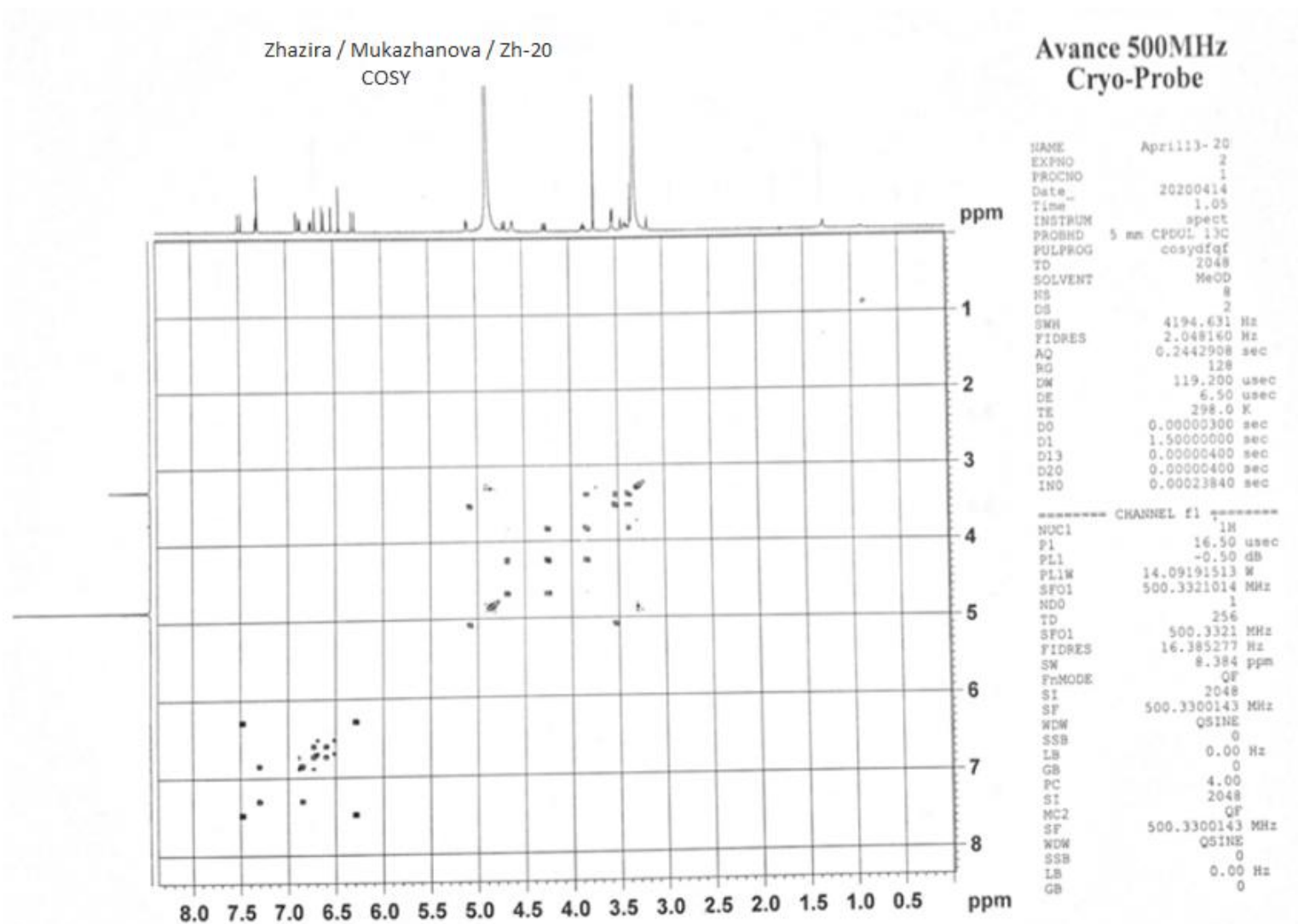
Avance III 13C Zhav-2a in dms0 04.12.2020



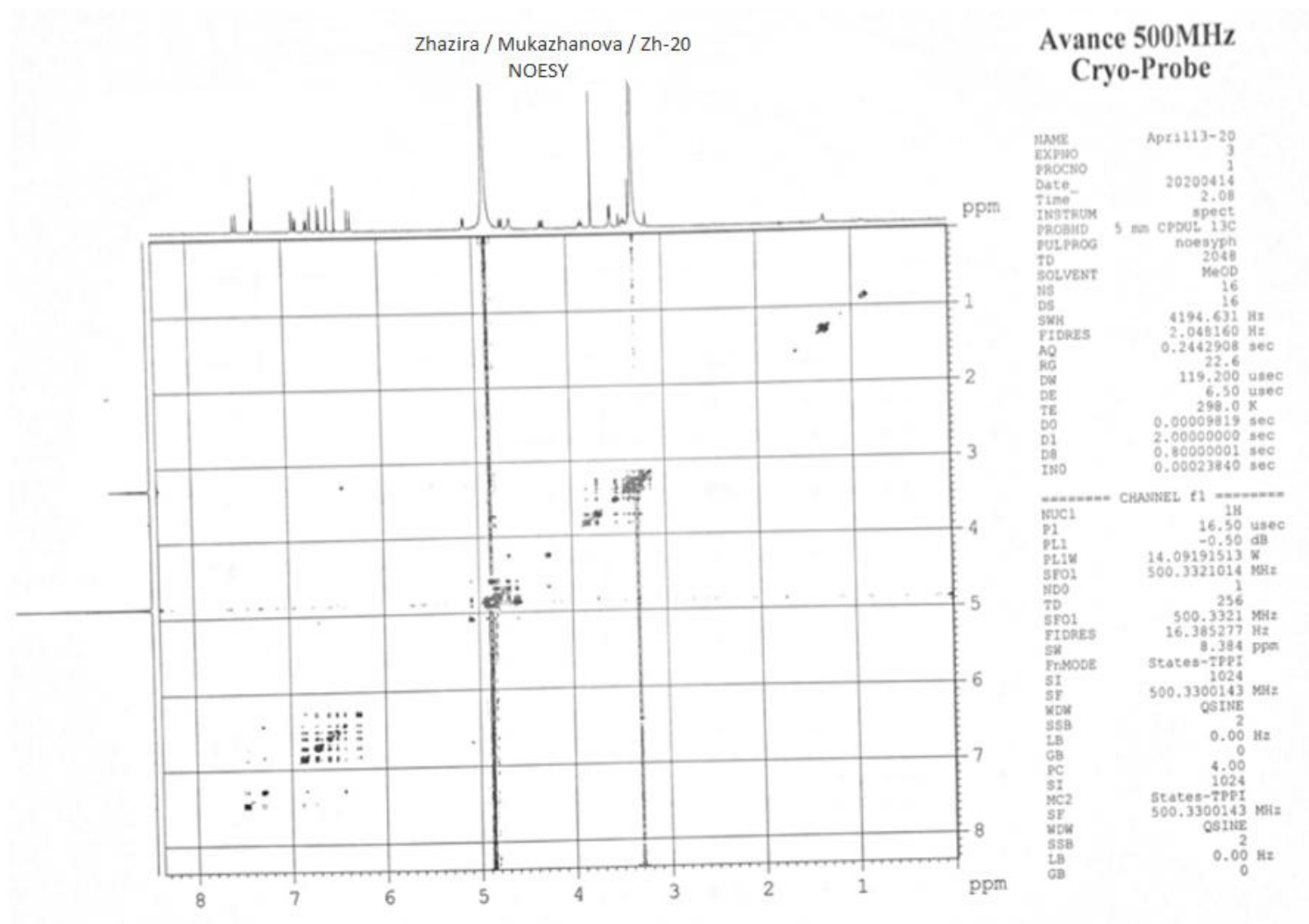
Сурет 52 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4-метоксид -) циннаматының ^{13}C ЯМР -спектрі (6 - зат)



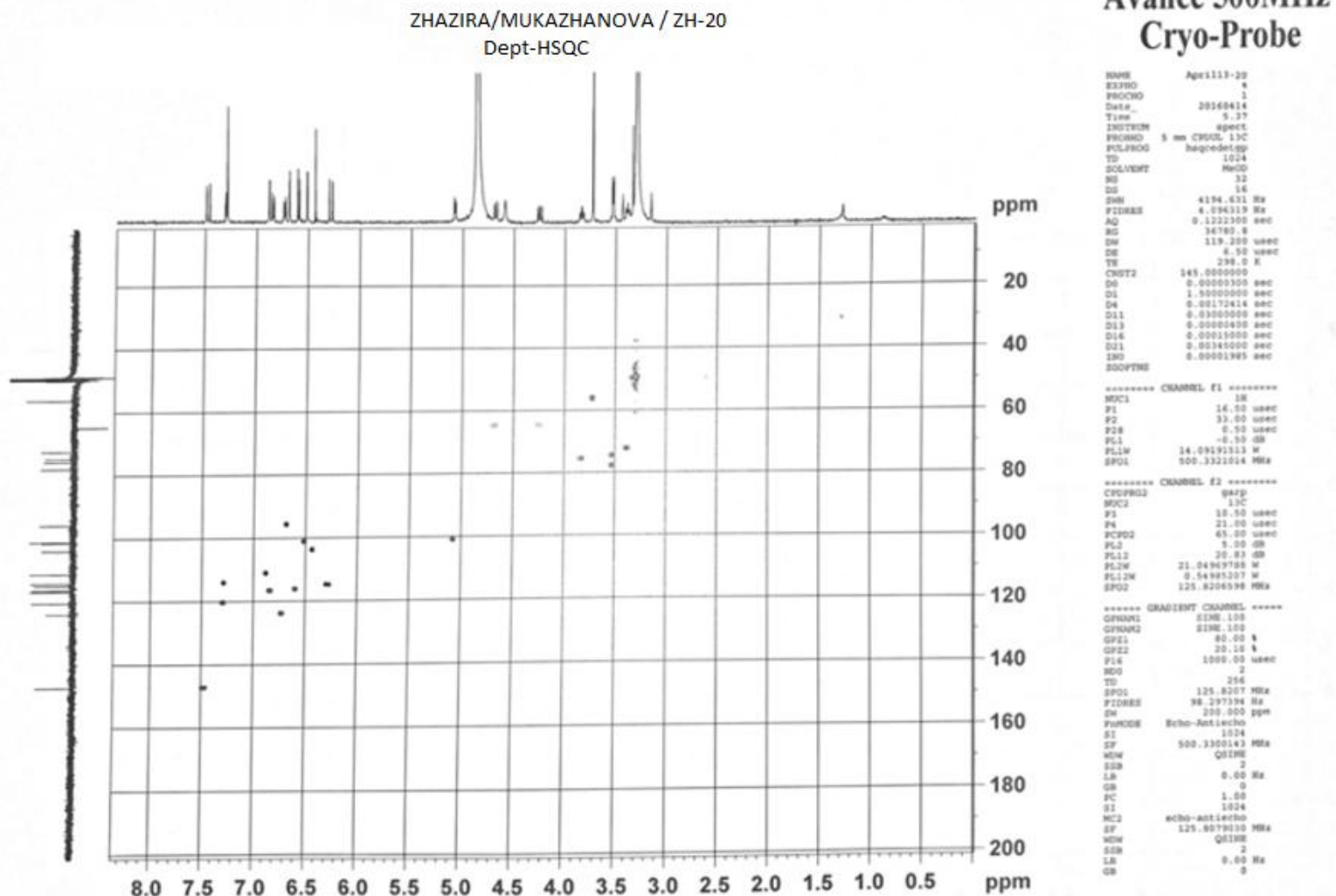
Сурет 53 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метокси -) циннаматының ^{13}C DEPT -спектрі (6 - зат)



Сурет 54 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метокси -) циннаматының COSY - спектрі (6 - зат)



Сурет 55 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метоксид -) циннаматының NOESY -спектрі (6 - зат)



Сурет 57 – Лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3 - гидроксид - 4 - метоксид -) циннаматының HSQC - спектрі (6 -зат)

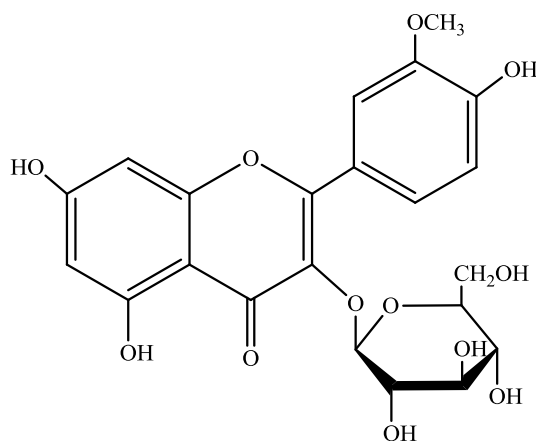
Кесте 19 – *Verbascum orientale* L. текті өсімдіктен бөлінген ББЗ физика - химиялық сипаттамасы

Бөлінген заттар	Физика-химиялық мағлұматтар
1	2
Кверцетин (1-зат)	¹ H ЯМР (400МГц, DMSO-d ₆): δ 6.17 (d, 1H, J=2.0 Гц, H-6), 6.41 (д, 1H J=2.0 Гц, H-8), 12.47 (с, 1H, H-5), 10.83 (с, 1H, H-7), 7.76 (д, 1H, J=2.2 Гц, H-2), 9.56 (с, 1H, H-3'), 9.28 (с, 1H, H-4'), 6.81 (д, 1H, J=8.5 Гц, H-5'), 7.55 (дд, 1H, J=8.5, 2.2 Гц, H-6) ¹³ C ЯМР (100 МГц, Пиридин): δ 156.19 (C-2), 135.68 (C-3), 175.92 (C-4), 160.73 (C-5), 98.18 (C-6), 163.89 (C-7), 93.43 (C-8), 157.11 (C-9), 103.05 (C-10), 121.99 (C-1'), 115.61 (C-2'), 147.59 (C-3'), 115.14 (C-4'), 115.08 (C-5'), 120.05 (C-6')
Лютеолин (2-зат)	¹ H ЯМР (400МГц, DMSO-d ₆): δ 12.97 (s, 1H, H-3), 6.67 (s, 1H, H=3), 6.19 (d, 1H, J=2.2 Hz, H-6), 6.45 (d, 1H, J=2.2 Hz, H-8), 7.42 (m, 2H, H-2', 6), 6.89 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-5'), ¹³ C ЯМР (100 МГц, DMSO-d ₆): δ 164.86 (C-2), 102.95 (C-3), 182.63 (C-4), 161.50 (C-5), 98.81 (C-6), 164.09 (C-7), 93.88 (C-8), 157.26 (C-9), 103.68 (C-10), 120.48 (C-1'), 112.35 (C-2'), 145.72 (C-3'), 149.67 (C-4'), 115.98 (C-5'), 118.95 (C-6')
Латерозид (3-зат)	¹ H ЯМР (500 МГц, Метанол): 6.59 (1H, с, H-1), 6.43 (1H, дд, J=6.1, 2.1 Гц, H-3), 4.83 (1H, д, J=6.3, H-4), 3.31 (1H, д, J=8.5 Гц, H-5), 4.37 (1H, м, H-6), 2.69 (1H, д, J=14.3 Гц, H-7a), 2.36 (1H, дд, J=14.3, 4.8, H-7b), 3.60 (1H, дд, J=8.1, H-9), 1.83 (1H, с, H-10), 5.5 (1H, д, J=9.5, 9.1 Гц, H-1'), 4.07 (1H, дд, J=8.6, 8.2 Гц, H-2'), 4.30 (1H, дд, J=9.0, 8.4 Гц, H-3'), 4.21 (1H, дд, J= .4, 9.0 Гц, H-4'), 4.02 (1H, м, H-5'), 4.59 (1H, дд, J= 12.3, 1.9, H-6'a), 4.32 (1H, дд, J=11.8, 5.3, H-6'б), 7.44 (2H, м, H-2'', 6''), 7.30 (3H, м, H-3'', 4'', 5''), 6.52 (1H, д, J=16.1 Гц, H-7''), 7.80 (1H, д, J=16.1 Гц, H-8'') ¹³ C ЯМР (100 МГц, Пиридин, δ, м.у.): 94.8 (C-1), 141.2 (C-3), 103.4 (C-4), 41.7 (C-5), 76.0 (C-6), 48.9 (C-7), 89.5 (C-8), 49.8 (C-9), 23.1 (C-10), 101.0 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.9 (C-4'), 78.7 (C-5'), 63.3 (C-6'), 135.0 (C-1''), 128.6 (C-2''), 129.3 (C-3''), 130.6 (C-4''), 129.3 (C-5''), 128.6 (C-6''), 120.4 (C-7''), 144.5 (C-8''), 167.1 (C-9'')
Лютеолиннің 7-О-β-D-глюкопиранозид-3-О-(3-гидрокси -4 метокси-) циннаматы (6-зат)	¹ H ЯМР (500 МГц, Метанол, δ, м.у.): 6.45 (1H, д, J=1.8 Гц, H-3), 6.70 (1H, д, J=1.9 Гц, H-6), 5.52 (1H, д, J=1.9 Гц, H-8), 7.32 (1H, д, J=1.9 Гц, H-5'), 6.85 (1H, д, J=1.9 Гц, H-6'), 6.89 (1H, д, J=8.9 Гц, H-2''), 6.61 (1H, д, J=8.6 Гц, H-5''), 6.73 (2H, дд, J=8,6 Гц, H-6''), 7.49 (1H, д, J=11.6 Гц, H-7α), 6.30 (1H, д, J=9.6 Гц, H-8β), 3.84 (3H, с, OCH ₃), 5.09 (1H, д, J=7.4 Гц, H-1'''), 3.60 (1H, д, J=9.4 Гц, H-2'''), 3.75 (1H, д, J=8.8 Гц, H-3'''), 4.52 (1H, д, J=9.2 Гц, H-4'''), 3.71 (1H, д, J=9.4 Гц, H-5'''), 4.39 (1H, дд, J=12.1, 5.2 Гц, H-6'''), 4.56 (1H, д, J=12,6 Гц, H-6''') ¹³ C ЯМР(100 МГц, Пиридин, δ, м.у.): 166.6 (C-2), 103.0 (C-3), 183.9 (C-4), 158.8 (C-5), 95.7 (C-6), 164.4 (C-7), 101.1 (C-8), 164.4 (C-9), 107.1 (C-10), 101.2 (C-1'), 111.1 (C-2'), 148.5 (C-3'), 123.9 (C-4'), 120.4 (C-5'), 116.7 (C-6'), 127.4 (C-1''), 111.1 (C-2''), 149.0 (C-3''), 150.5 (C-4''), 116.3 (C-5''), 123.9 (C-6''), 70.3 (C-4'''), 78.5 (C-5'''), 62.5 (C-6'''), 56.08 (OCH ₃)

3.7 *Verbascum densiflorum* L. текті өсімдіктен бөлінген жеке заттарды идентификациялау

7 - зат. Сары түсті кристалдық зат, $C_{16}H_{12}O_6$, балқу температурасы 256-258⁰ CESI - MS m/z : 299.4 [M-H]⁻. Ультракүлгін спектрде $AlCl_3$ кешен түзіліп, батохромды ығысып, HCl қосылып А сақинасында С - 5 орында, С сақинасында С - 3 орында бос гидроксотоп бар екені дәлелденді.

¹H ЯМР спектріндегі жұтылу жолақтары бойынша қосылыс флавоноид екендігі байқалып, δ 6,21 (1H, д, J=1,8 Гц, H-6) және 6,44 (1H, д, J=1,8 Гц, H-8). δ 3,94 жолақта OCH₃ топ синглет екендігі, 3H қарқындылығы байқалды. δ H 7.48 (1H, дд. J=8.5, 2.4 Гц, H-6'), 7,38 (1H, д, J=2,4Гц, H-2'), 7,07 (1H, д, J=8,4 Гц, H-5') аймақтарда ароматтық протон анықталды. УК - спектрдің мәліметтері бойынша В сақинасында С-3' орында метокси тобы жататыны дәлелденді. ¹³C-ЯМР спектрі 16 көміртек атомын көрсетті. Карбонил көміртек сигналы С-сақинадағы δ 184,0 ал, метокси δ 56,6 байқалды. Химиялық талдаулар мен спектрлік сәйкестендірулер бойынша, 7-зат изорамнетин екені анықталды (58-сурет).



Сурет 58 – Изорамнетин (7-зат)

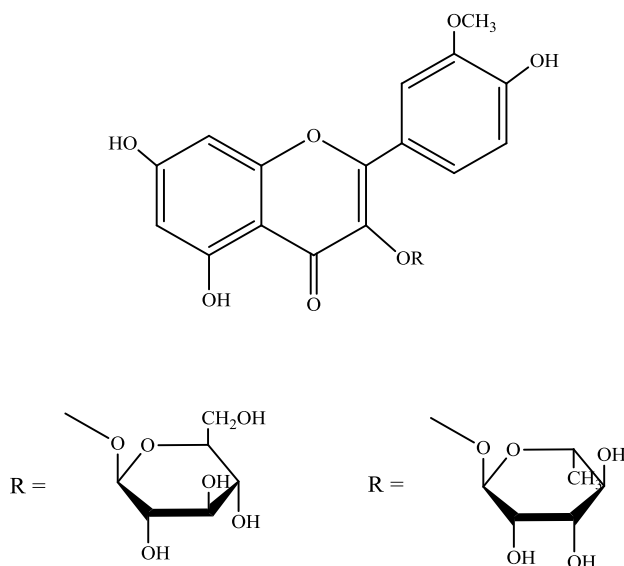
8 және 9 заттар. Сары түсті кристалл зат, $C_{23}H_{24}O_{12}$, балқу температурасы 160-164⁰C MeOH, m/z , (M^+) 491, ал 9-зат $C_{22}H_{22}O_{12}$, балқу температурасы 232-234⁰C сәйкесінше, MeOH δ m/z , (M^+) 477, Ультаркүлгін спектрі λ = 257, 344 нм байқалады. Зерттеу нәтижелері флавоноид туындысы екенін көрсетті. ¹H-ЯМР спектр бойынша δ 6,87 (1H, д, J=1,7 Гц, H-6), 7,07 (1H, д, J=1,7 Гц, H-8) аймақта бір протонды белгі байқалды. Екі дублет δ 7,04 (1H, д, J=8,9 Гц), 7,71 (1H, д, J=2,5 Гц) және қос дублет δ 7,67 (1H, дд, J=8,4; 2,5 Гц), H-5', H-2' және H-6' орындар бос екенін көрсетті. δ 3,91 (3H, s) аймағында метокси тобының В-сақинасында С' - 3 орында орналасқанын анықтайды. Қышқылдық гидролиз нәтижесінде 9-затпен глюкоза түзгенін көрсетті. Сондай-ақ, ¹H - ЯМР спектріден δ H 5,56 (1H, д, J=7,2 Гц) белгі аймағында глюкозаның аномерлі протоны β -глюкозид байланысады. 8 - заттың ¹³C - ЯМР және DEPT спектрлердің көрсеткіштері бойынша жалпы көміртек атомының 21 сигналын

көрсетті. С - 3 тегі –ОН тобы гидролизденгені әлсіз резонанс өрісіндегі С - 2 δ С 123,2 бар болуымен анықталды. Ал, 9-заттағы қанттың аномерлі протоны δ Н 4,55 δ С – 135,9 белгілерінің бар екендігі және метокси топ С' - 3 сақинасы С' - 4 НМВС корреляция бойынша анықталды [140, б. 72, 141, б. 27].

Физика-химиялық мәліметтер көмегімен, 8 - заттың құрылысын изорамнетиннің - 3 - О - β - D - глюкопиранозиді, ал 9 - заттың құрылысы изорамнетиннің-3 - О - α - L - рамнопиранозиді екені анықталды.

С - 3 ОН тобы гидролизденгені әлсіз резонанс өрісіндегі С - 2 δ С 123,2 бар болуымен анықталды. Ал 9 - заттағы қанттың аномерлі протоны δ Н 4,56 және көміртек δ С 136,9 белгілерінің бар екендігі және метокси топ С' - 3 сақинасы С' - 4 НМВС корреляция бойынша анықталды [140, б. 78, 141, б.30].

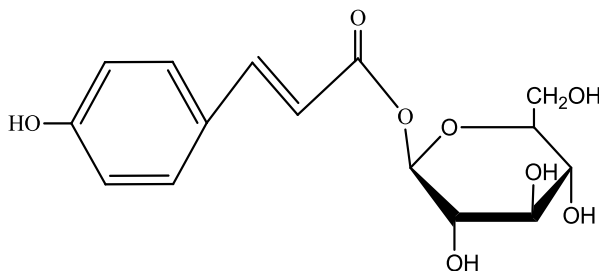
Физика - химиялық мәліметтер көмегімен, 8 - заттың құрылысын изорамнетиннің - 3 - О - β - D-глюкопиранозиді, ал 9 - заттың құрылысы изорамнетиннің - 3 - О - α - L - рамнопиранозиді екені анықталды (59 - сурет).



Сурет 59 – изорамнетиннің - 3 - О - β - глюкопиранозиді (8 - зат)
изорамнетиннің- 3 - О - α - рамнопиранозиді (9 - зат)

10-зат. Ақ түсті аморфты зат, $C_{15}H_{17}O_7$, $[\alpha]_D^{20} = 7.9$ (Метанол), Ультракүлгін λ_{max} (MeOH) 210, 226, 311 нм. ИҚ ν_{max} (KBr): 3445, 1728, 1615, 1082 cm^{-1} жұтылу жолақтары –ОН, –С = О топтарының жұтылу жолақтарына сай келеді. EI-MS: m/z 310 $[M-H]^+$. 1H ЯМР спектрінде δ 7,60 (2H, д, J=8,7 Гц, Н-2, Н-6) аймақтарында ароматты протондар байқалды. ^{13}C ЯМР спектрінде 15 көміртегі бары анықталды. НМВС спектрі бойынша аномерлі протон 4,81 (1H, д, J=1,4 Гц, Н-1') С-9 δ 167,1 көміртегімен корреляцияланған. δ 7, (1H, д, J=16,1 Гц, Н-7) және 6,35 (1H, д, J=1,3 Гц, Н-8) аймақтарында ацилтоп бары дәлелденді. Молекулалық массасы 310 агликон мен қанттың қатынасы 1:1. Қышқылдық гидролиз нәтижесінде бөлінген қант глюкоза және агликон 4-гидроксикабық қышқылы бөлінді.

Физика-химиялық талдау және гидролиз нәтижелері бойынша 10 - зат фенилпропаноидтар өкілі 4-гидроксо - қабық қышқылының 9-О- α -L-глюкопиранозиді екендігі анықталды (60-сурет).

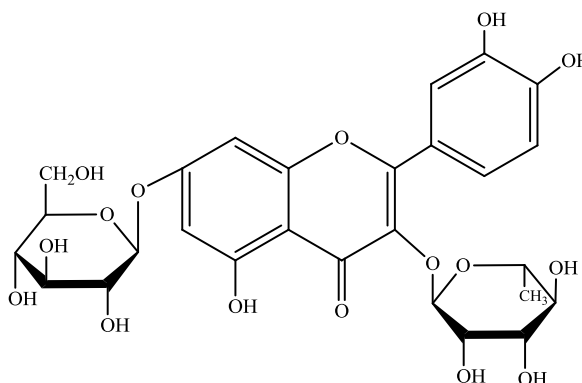


Сурет 60 – 4-гидроксо-қабық қышқылының 9-О- α -L-глюкопиранозиді (10-зат)

11 - зат. Сары түсті ұнтақ зат, молекулалық формуласы $C_{27}H_{30}O_{16}$, балқу температурасы $217-219^{\circ}C$, $[\alpha]^{20}=48,5$ (C 0,75; MeOH), $R_f=0,63$ (хлороформ-метанол 8:2), 0,52 (БСС), 0,54 (6% CH_3COOH), m/z , (M^+) 641, 316-глюкоза-рамноза.

1H - ЯМР спектрінің мәліметі бойынша δ 0,84 м.ү. аймағында 3H дублет және δ 3,15-4,89 м.ү. рамноза фрагментіне тән бес сигнал көрсетілді. 6,20-6,37 м.ү. аралықта мета-ыдырау константасы бар дублет сигнал C - сақинасына тән, ол C - 5, C - 7 орындар бос емес екенін дәлелдейді. δ 7,72 м.ү., 9,90 м.ү. және 6,90 м.ү. (H - 2', H - 5' және H - 6') аймағындағы сигналдар B сақинасында C - 3', C - 4' - гидроксил тобы анықталды. δ 3,15 - 4,96 м.ү. аймақтағы үш протонды дублет сигнал, сонымен қатар қанттардың аномерлі протондар: бір протонды δ 4,5 м.ү. аймақтағы синглет және δ 5,23 м.ү. аймақтағы бір протонды дублет-дублет рамноза және глюкоза молекуласының фрагменттерін дәлелдейді.

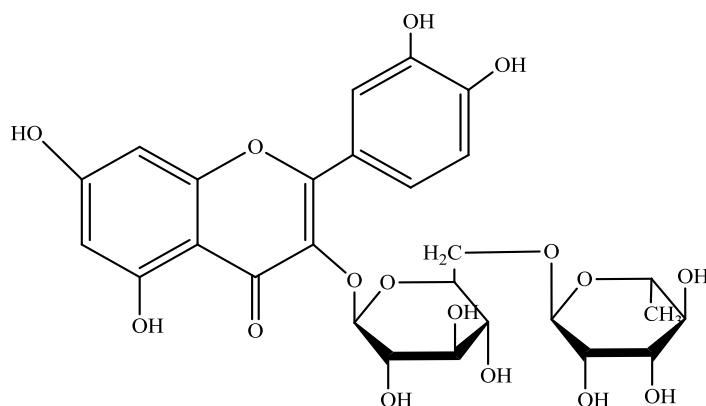
Физика - химиялық мәліметтерге сүйеніп 11 - зат кверцетиннің 3- O - α - L - рамнопиранозил-7-О- β -D-глюкопиранозиді деп анықталды [144, б. 199] (61-сурет).



Сурет 61 – Кверцетиннің 3- O - α - L - рамнопиранозил- 7 - O - β - D - глюкопиранозиді (11-зат).

12-зат. Сары түсті кристалды зат, балқу температурасы 189-191°C, молекулалық формуласы $C_{22}H_{30}O_{16}$, $[\alpha]_{D_{20}} = 31,5$ (0,33 диметилформамид). УК-спектр λ_{max} (метанол) 360, 268, 258 нм. Хроматографиялық көрсеткіш заттың биозид немесе диглокозид екендігін көрсетеді. Қышқылдық гидролиз нәтижесінде агликон (47,9%) және L - рамноза мен D - глюкозадан құралған биоза алынды. УК - спектрі хроматографиялық қағазда флюоресценция күңгірт түс көрсетті, қышқылдық гидролиз нәтижесінде көмірсу C - 3 орнында орналасқаны табылды. Агликонның балқу температурасы 310 - 312°C (ацетон). Барлық физика-химиялық көрсеткішке сүйене отырып, агликонның кверцетин екені анықталды.

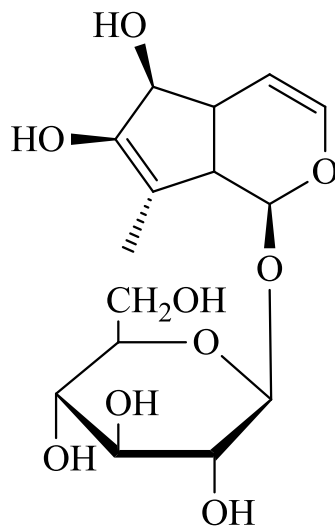
1H - ЯМР δ 3,20 - 4,96 м.ү. аймақтағы үш протонды дублет сигнал, сонымен қатар қанттың аномерлі протондары δ 4,5 м.ү. аймақтағы синглет және δ 5,23 м.ү. аймақтағы бір протонды дублет рамноза және глюкоза молекуласының фрагменттерін дәлелдейді. Ал қанттардың орналасқан орны мен өзара байланысуын анықтау үшін ^{13}C - ЯМР және НМВС - екі жүйелі спектрі түсірілді. Бұл талдау биозид екені және глюкоза агликонға C - 3 орнында байланысып, ал рамноза глюкозамен 6→1 байланыста болып, рутиноза түзетіні белгілі болды (62-сурет).



Сурет 62 – Кверцетиннің 3-О-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-α-L-рамнопиранозиді (12-зат)

13-зат. Ақшыл - сары түсті аморфты ұнтақ зат, $C_{15}H_{24}O_9$, $[\alpha]_{589}^{20} = 20,6$ (MeOH), ESI-MS, m/z : 348 $[M]^+$, 186 $[M-162]^+$. ^{13}C ЯМР спектрінде 15 көміртегі атомы байқалған, 6 көміртегі глюкопиранозид екендігі көрсетілген. Қалған 9 сигналдар биологиялық белсенді зат иридоидтың агликонының құрылысын дәлелдейді. δ C 78.1 және 81.1 аймағындағы екі сигнал иридоидтағы 2 гидроксигруппты анықтайды. C - 9 сигналы бар 8 - β сериясына қарағанда 8 - α миллиондық үлесі артық. Сонымен бірге, белгілі 6 - α - гидроксисульфидтің аналогтарына қарағанда 6 - β - гидроксистереохимиясы C - 3 және C - 4 көміртегітеріндегі химиялық ығысулардың арасындағы 34.7 нм айырмашылықты көрсетеді. J кіші мәндері протондардың транс - ориентациясында H - 8 және H - 9 арасында үлкен байланыс протондардың цис - күйде жатқандығын көрсетеді. Кеңістіктің изомерлерін логанин мен 8 -

эпилоганин арқылы салыстыруға болады, себебі логаниннің химиялық ығысуы δ 2.13, 8 - эпилоганиннің δ 2.70, яғни метил топтың α - орында жатқанын көрсетеді. Зерттеу нәтижелері бойынша, физика-химиялық мәліметтер мен стандарттарға сай, 13 - зат ангелозид екендігі дәлелденді [154, б. 581] (63-сурет).



Сурет 63 – Ангелозид (13-зат)

Кесте 20 – *Verbascum densiflorum* L. текті өсімдіктен бөлінген ББЗ физика - химиялық сипаттамасы

Бөлінген заттар	Физика-химиялық мағлұматтар
1	2
3,5,7,4'- тетрагидрокси-3'-метокси-флавон – изорамнетин (7 - зат)	ESI-MS m/z : 299.4 [M-H] ⁻ ¹ H – ЯМР (600 МГц, MeOH) δH: 7.49 (1H, дд, $J=8.4$, 2,4Hz, H-6'), 7.38 (1H, д, $J=2.4$ Гц, H-2'), 7.07 (1H, д, $J=8.4$ Гц, H-5'), 6.57 (1H, с, H-3), 6.44 (1H, д, $J=1.8$ Гц, H-8), 6.21 (1H, д, $J=1.8$ Гц, H-6), 3.64 (3H, с, OCH ₃). ¹³ C- ЯМР (100 МГц, MeOH) δс: 166.1 (C-2), 104 (C-3), 184.0 (C-4), 159.6 (C-5), 100.3 (C-6), 163.4 (C-7), 95.2 (C-8), 166.2 (C-9), 105.5 (C-10). 125.2 (C-1'), 114.0 (C-2'), 148.4 (C-3'), 152.8 (C-4'), 112.8 (C-5'), 120.2 (C-6'), 56.6 (OCH ₃).
3,5,7,4' - тетрагидрокси-3'-метоксифлавонынң - 3 - О - β - глюкозпирозиді (8 - зат)	ESI-MS m/z : 477 [M-H] ⁻ , 315 [M-H-162] ⁻ ¹ H ЯМР (500 МГц, Пиридин, δ, м.ү., J/Гц): 6.87 (1H, д, $J=1.7$ Гц, H-6), 7.09 (1H, д, $J=1.7$ Гц, H-8), 7.72 (1H, д, $J=2.5$ Гц, H-2'), 7.05 (1H, д, $J=9.0$ Гц, H-5'), 7.68 (1H, дд, $J=8.9$, 2.5 Гц, H-6'), 3.91 (3H, с, OCH ₃), 5.57 (1H, д, $J=7.3$ Гц, H-1"), 4.38 (1H, д, $J=8.9$ Гц, H-2"), 4.45 (1H, д, $J=8.9$ Гц, H-3"), 4.38 (1H, д, $J=8.8$ Гц, H-4"), 4.27 (1H, д, $J=8.9$ Гц, H-5"), 4.41 (1H, дд, $J=12.5$, 5.3 Гц, H-6"), 4.48 (1H, д, $J=12.5$ Гц, H-6") ¹³ C ЯМР (100 МГц, Пиридин, δ, м.ү.): 165.2 (C-2), 123.2 (C-3), 183.3 (C-4), 163.6 (C-5), 101.1 (C-6), 164.5 (C-7), 95.8 (C-8), 158.3 (C-9), 107.0 (C-10). 124.7 (C-1'), 114.9 (C-2'), 148.5 (C-3'), 152.5 (C-4'), 112.5 (C-5'), 119.3 (C-6'), 56.3 (OCH ₃). 102.2 (C-1"), 75.2 (C-2"), 78.9 (C-3"), 71.5 (C-4"), 79.7 (C-5"), 62.7 (C-6")
3,5,7,4'-тетрагидрокси-3'-метоксифлавонынң-3-О-α-L-рамнопиринозиді (9-зат)	ESI-MS m/z 477 [M+], УК спектрі (EtOH, λ _{max} , нм): 355, 294, 255, ИК спектрі (KBr, ν, см ⁻¹): 3400 (ОН), 1640, 1620 (C=O), 1570, 1515 (C=C), 1090, 1060, 1020 (қанттың пиранозды формасы), 840 (α-форма); ¹ H-ЯМР (400 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): 1.21 (3H, д, $J=7.5$, CH ₃ -рамноза), 3.91 (3H, с, OMe), 6.21 (1H, д, $J=2.5$, H-6), 6.40 (1H, д, $J=2.5$, H-8), 4.56 (1H, д, H-1'), 7.93 (1H, д, $J=2.5$, H-2'), 3.40 (д, $J=10.6$, 1H, H-5'), 7.62 (1H, дд, $J=10.6$, ¹³ C- ЯМР (100 МГц, CD ₃ OD, δ, м.ү., J/Гц): 158.1 (C-2), 135.9 (C-3), 179.3 (C-4), 163.1 (C-5), 99.6 (C-6), 164.9 (C-7), 94.6 (C-8), 157.9 (C-9), 105.8 (C-10). 121.9 (C-1'), 109.5 (C-2'), 146.3 (C-3'), 137.0 (C-4'), 146.3 (C-5'), 109.6 (C-6'), 102.8 (C-1"), 71.5 (C-2"), 71.4 (C-3"), 73.2 (C-4"), 72.2 (C-5"), 17.8 (C-6").
4-гидрокси-қабық қышқылының 9-О-α-L-рамнопиринозиді (10-зат)	ESI-MS m/z : 310 [M-H] ⁻ , УК спектрі (MeOH, λ _{max} , нм): 210, 226, 331, ИК спектрі (KBr, ν, см ⁻¹): 3445, 1728, 1615, 1082 ¹ H-ЯМР (600 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): δ 7.60 (2H, д, $J=8.7$ Гц, H-2, H-6), 6.91 (2H, д, $J=8.6$ Гц, H-3, H-5), 7.67 (1H, д, $J=16.1$ Гц, H-7), 6.35 (1H, д, $J=15.8$ Гц, H-8), 4.81 (1H, д, $J=1.4$ Гц, H-1'), 3.65

20 - кестенің жалғасы

1	2
	(1H, <i>m</i> , H-2'), 3.26 (1H, <i>m</i> , H-3'), 3.30 (1H, <i>m</i> , H-4'), 3.74 (1H, <i>m</i> , H-5'), 1.21 (1H, <i>d</i> , J=6.0 Гц, H-6'). ¹³ C- ЯМР (100 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): δ 126.1 (C-1), 130.8 (C-2), 116.2 (C-3), 160.8 (C-4), 116.2 (C-5), 130.8 (C-6), 145.8 (C-7), 114.5 (C-8), 167.1 (C-9), 91.0 (C-1'), 72.8 (C-2'), 71.9 (C-3'), 74.3 (C-4'), 70.1 (C-5'), 18.8 (C-6').
Кверцетиннің 3-О-α-L-рамнопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозиді (11-зат)	УК-спектр (MeOH, λ _{max} , нм): 370, ИК спектрі (KBr, ν, см ⁻¹): 3450, 1828, 1616, 1088 ¹ H ЯМР (100 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): 0.85 (1H, <i>d</i> , J= 5.6 Гц), 6.21 (1H, <i>c</i> , H-6), 6.41 (1H, <i>c</i> , H-8), 6.90 (1H, H-2'), 6.90 (1H, <i>c</i> , H-6'), 3.10-4.91 (<i>m</i> , H-2'', 3'', 4'', 5''), глюкоза: 5.23 (1H, <i>d</i> , J=7.3 Гц, H-1'''), 4.25 - 4.44 (1H, <i>d</i> , J=8.9 Гц, H-2''', 3''', 4''', 5'''), 4.44 (1H, <i>dd</i> , J=11.8, 5.3 Гц, H-6'''), 4.60 (1H, <i>d</i> , J=12.5 Гц, H-6'''), ¹³ C ЯМР (100 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): 157.8 (C-2), 135.7 (C-3), 178.8 (C-4), 165.7 (C-5), 100.1 (C-6), 163.2 (C-7), 94.8 (C-8), 161.5 (C-9), 106.2 (C-10), 121.7 (C-1'), 132.3 (C-2'), 116.7 (C-3'), 157.1 (C-4'), 117.2 (C-5'), 132.6 (C-6'), 101.6 (C-1''), 73.5 (C-2''), 73.5 (C-3''), 72.5 (C-4''), 70.2 (C-5''), 18.8 (C-6''), 103.8 (C-1''), 77.5 (C-2''), 79.9 (C-3''), 71.8 (C-4''), 80.7 (C-5''), 63.7 (C-6'').
Кверцетиннің 3-О-β-D-глюкопиранозил-(6→1)-α-L-рамнопиранозиді (12-зат)	ESI-MS <i>m/z</i> : 285.3 [M-H] ⁻ ¹ H –ЯМР (600 МГц, Py-д 5, δ, м.ү.): 6.74 (2H, <i>c</i> , H-6), H-8), 6.95 (1H, <i>c</i> , H-3), 7.92 (1H, <i>d</i> , J=2.4 Гц, H-2'), 7.3 (1H, <i>d</i> , J=8.4 Гц, H-5'), 7.56 (1H, <i>dd</i> , J=8.4 Гц, H-6'). ¹³ C- ЯМР (100 МГц, Py-д 5, δ, м.ү.): 165.3 (C-2), 104.5 (C-3), 183.2 (C-4), 159.0 (C-5), 104.5 (C-6), 166.3 (C-7), 95.2 (C-8), 163.6 (C-9), 105.5 (C-10), 123.4 (C-1'), 115.1 (C-2'), 148.3 (C-3'), 152.2 (C-4'), 117.3 (C-5'), 120.0 (C-6').
Ангелозид (13-зат)	ESI-MS <i>m/z</i> : 348 [M] ⁺ ¹ H ЯМР (400 МГц, MeOH, δ, м.ү., J/Гц): 5.41 (1H, <i>d</i> , J=2.2 Гц, H-1), 6.20 (1H, <i>dd</i> , J=6.5, 2.1, H-3), 4.79 (1H, <i>dd</i> , J=6.5, 2.8 Гц, H-4), 2.65 (1H, <i>dd</i> , J= 8.7, 2.5 Гц, H-5), 3.77 (1H, <i>dd</i> , J=3.8, 1.8 Гц, H-6), 3.70 (1H, <i>m</i> , H-7), 3.20 (1H, <i>dd</i> , J=11.3, 7.8 Гц, H-8), 2.71 (1H, <i>m</i> , H-9), 1.14 (1H, <i>d</i> , J=7.3 Гц, H-10), 4.63 (1H, <i>d</i> , J=7.9 Гц, H-1'), 3.18 (1H, <i>dd</i> , J=9.5, 7.5 Гц, H-2'), 3.41 (1H, <i>dd</i> , J=8.8, 8.3 Гц, H-3'), 3.32 (1H, <i>dd</i> , J=9.0, 8.8 Гц, H-4'), 3.33 (1H, <i>m</i> , H-5'), 3.87 (1H, <i>dd</i> , J=12.9, 1.8 Гц, H-6'a), 3.68 (1H, <i>dd</i> , J=12.0, 5.3 Гц, H-6'b) ¹³ C ЯМР (400 МГц, MeOH, δ, м.д.): 94.7 (C-1), 141.3 (C-3), 105.6 (C-4), 38.1 (C-5), 78.1 (C-6), 80.9 (C-7), 37.8 (C-8), 39.9 (C-9), 14.3 (C-10), 99.3 (C-1'), 74.9 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.8 (C-6').

3.8 Аюқұлақ текті өсімдіктердің биологиялық белсенділіктері

Зерттеліп отырған Шығыс Қазақстанда өсетін *Verbascum* текті өсімдік шикізатынан алынған 12 шартты фитопрепараттар мен жеке қосылыс әзірленіп, зерттеуге алынған үлгілердің биологиялық (*in vitro*) белсенділігі мамандандырылған арнайы зертханаларда анықталды.

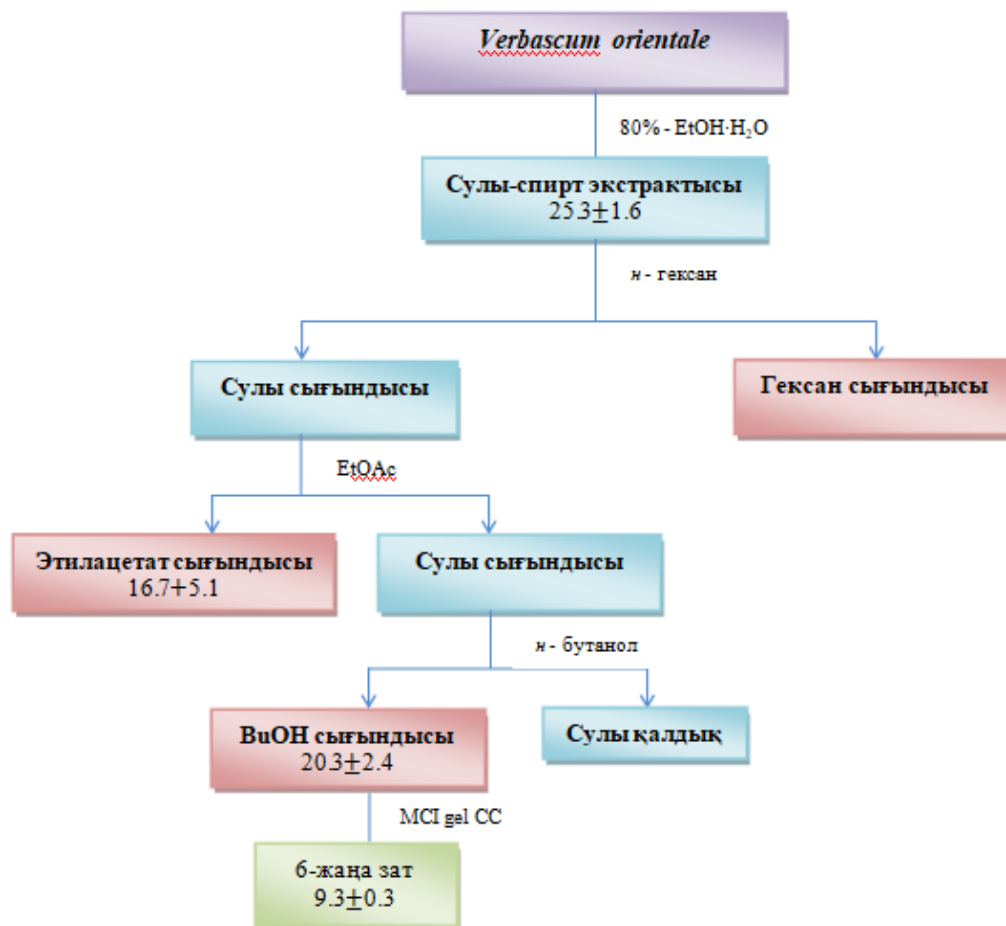
Иммунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы), бактерияға, тотығуға қарсы және цитотоксикалық белсенділіктері Түркияның Стамбул қаласындағы Медицина университетінің зертханасында зерттелді.

3.8.1 Иммунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы) белсенділік

Бөлінген фитопрепараттар мен жеке заттың иммунтүрлендіргіш белсенділігі хемилюминесценция әдісімен анықталды. Биоскринг жасау үшін концентрациясы 25 мкг/мл болатын ибупрофен бақылаушы үлгі ретінде алынды. Зерттеу нәтижесінде ибупрофен $IC_{50}=11.2\pm 1.9$ мәнді көрсеткіш берді. *Verbascum* текті өсімдік шикізатынан бөлінген әртүрлі фитопрепараттармен бутанолды экстрактіден бөлінген жаңа зат зерттеліп, олардың мәндері 21 - кестеде берілді. Осы мәліметтерге сүйенетін болсақ бутанолды, этилацетатты және сулы - спиртті экстрактері қабынуға қарсы орташа белсенділік ($IC_{50}=16.7\pm 5.1-25.3\pm 1.6$ аралығында) көрсетті. Бутанолды экстрактісінен бөлінген жеке зат, фенилпропаноид (6 - зат) иммунтүрлендіргіш белсенділік (9.3 ± 0.3) көрсетіп, алғаш рет *Verbascum orientale L.* өсімдігінен бөлініп отырған жаңа зат қабынуға қарсы жоғары белсенділік танытты [155].

Кесте 21 – *Verbascum* текті өсімдіктің иммунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы) көрсеткіштері

Сынама	Сынама концентрациясы, мг/мл	$IC_{50}(\text{мг/мл}) \pm SD$
Бутанолды экстракт	250	20.3±2.9
	50	
	10	
Этилацетатты экстракт	250	16.7±5.1
	50	
	10	
Сулы-спиртті экстракт	250	25.3±1.6
	50	
	10	
ZhV-2a (6-зат)	100	9.3±0.3
	10	
	1	
Бақылау үлгісі: <i>Ибупрофен</i>	25	11.2±1.9



Сурет 64– *Verbascum* текті өсімдіктің имунтүрлендіргіш (қабынуға қарсы) белсенділігі

3.8.2 Бактерияға қарсы белсенділік

Тірі ағзалар мен өсімдіктердің әртүрлі ауруларын патогенді микробтар (балдырлар, саңырауқұлақты бактериялар) тудырады.

Әртүрлі бактериялардан туындаған инфекциялар күрделі ағзалардың өліміне әкеліп соғатын бірден – бір қауіпті себеп.

Әлемдегі кең қолданыс тапқан антибиотик Флеминг ұсынған пеницилиннің маңызы зор. Қазіргі таңда түрлі жаңа табиғи антибиотиктер өсімдік шикізаттарынан өндіріліп, клиникалық тәжірибеден өтіп, нарықта кең қолданыс табуда. Десек те, бүгінгі таңда патогенді бактерия, микробтармен күрес жалғасып, бактерияға қарсы жаңа фитопрепараттар алу өзекті мәселе болып отыр. Бактерияға қарсы белсенділікті зерттеу үшін оң және теріс үш бактерия алынды. 22 - кестедегі зерттеу нәтижелерінің мәліметтері *Verbascum densiflorum* L. өсімдік шикізатынан алынған бес биологиялық белсенді кешеннің үшеуі бактерияға қарсы белсенділік танытты. Бөлінген этилацетатты экстракт жоғары белсенділік көрсетті. Фитопрепараттың флавоноидты қосылыстары бактерияға қарсы әсер етуші заттары болып табылды [154, 5 б.].

Кесте 22 – Шикізат экстрактілерінің бактерияға қарсы белсенділік көрсеткіштері

	Сынама концентрациясы, мг/мл	Сынама көлемі, мл	Бақылау сынама, тежелу аймағы диаметр, мм		
			CA	EC	SA
Ампицилиннің натрий тұзы	10	5		14	
Ампицилиннің натрий тұзы	1	5			19
Амфотерицин В	5	20	15		
VDH	100	20	-	-	7,5
VDCh	100	20	-	-	7,5
VDEA	100	20	-	8,5	9,5
VDB	100	20	-	-	-
VDE	100	20	-	-	-
Бақылау үлгілері	CA(<i>Candida albicans</i>) : альбиканс зең саңырауқұлақтары ATCC10231 EC (<i>Escherichia coli</i>):ішек таяқшалары (ATCC - 11229) SA <i>Staphylococcus aureus</i> : стафилакок (ATCC – 6538)				

Зерттеуге Шығыс Қазақстанда өсетін *Scrophulariaceae* (Сабынкөкгүлділер) тұқымдасына жататын *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. текті өсімдік түрлерінен гександы, хлороформды, этилацетатты, бутанолды 8 фитопрепараттар әзірленіп бактерияға қарсы белсенділіктері зерттелді [157].

Кесте 23 – Өртүрлі штаммдарға қарсы *Verbascum* текті өсімдік түрлері экстрактілерінің минималды тежеу концентрациясы

Бактерия	Көрсеткіштері мг/mL							
	Vd1	Vd2	Vd3	Vd4	Vp1	Vp2	Vp3	Vp4
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	312.5	R	R	625	312.5	R	R	625
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>S.aureus</i> TS 77	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>E.coli</i> ATCC 25922	R	R	1250	1250	R	R	1250	1250
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	312.5	R	625	R	312.5	R	625	R
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	R	625	625	625	R	625	625	625
<i>Carbapenem resistant K. pneumoniae</i> (CRKP)	R	625	R	R	R	625	R	R
<i>Vankomycin resistant enterococci</i> (VRE)	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5

Қысқартылған атауы; R; 5000 мкг/мл жоғары өсімдік экстрактсінің концентрациясына төзімді штамм.

Кесте 24 – Әртүрлі штаммдарға қарсы *Verbascum* текті өсімдік түрлері экстрактілерінің минималды бактерицидтік концентрациясы

Бактерия	Көрсеткіштер мг/мл			
	Vd3	Vd4	Vp3	Vp4
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	NT	5000	NT	5000
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2500	2500	2500	2500
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	625	NT	625	NT
<i>B. subtilis</i> ATCC 6635	625	2500	625	2500
<i>Vancomycin resistant enterococci</i> (VRT)	1250	>5000	1250	>5000

23-24 кестедегі зерттеу нәтижелері бойынша барлық өсімдік экстрактілерінің үлгілері бактерияға қарсы әсер көрсетті, бірақ барлық сығындылар үлгісі штаммдарға әртүрлі әсер танытты. *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *B. subtilis* (ATCC 6633) және (*VRE*) штаммдары үшін Vd3 және Vp3 фракциялардың концентрациялары (1250 мкг/мл, 625 мкг/мл, 625 мкг/мл 5 мкг/мл) болатыны анықталды. Осы сығындылардың үлгілері (2500 мкг/мл, 625 мкг/мл, 625 мкг/мл және 1250 мкг/мл) концентрацияларында штаммдарды жою (тежеу) қабілетін көрсетті. Ал, *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *VRE* штаммдары үшін Vd4 және Vp4 үлгілері концентрациялары 625 мкг/мл, 1250 мкг/мл, 625 мкг/мл және 312,5 мкг/мл болды. Аталған штаммдар үшін минимальді бактериялық концентрация Vd3 және Vp3 үлгілері үшін сәйкесінше концентрациялары 5000 мкг/мл, 2500 мкг/мл, 2500 мкг/мл және > 5000 мкг/мл тең. Vd3 және Vp3 (625 мкг/мл) сығындылары үлгілері *P. aeruginosa* strain және *S. aureus* штамдарын жоюда жоғары (5000 мкг/мл) әсер көрсетті. Vd3, Vp3 және Vd4 мен Vp4 сығындыларының үлгілері *Clostridium difficile* және *E. coli* инфекциялары мен *Bacillus Anthracis* және *Clostridium spp.* спора түзетін бактерияларға қарсы жоғары әсер көрсетті. Vd3 және Vp3 үлгілерін антибактериальді қол жуу өнімдерінде қолданылу мүмкіндігі туралы болжам жасалды. Vd3 және Vp3 және Vd4 және Vp4 үлгілері зерттеу нәтижелері бойынша *P. aeruginosa* және *S. aureus* инфекцияларын емдеуге үміткер заттар болып табылады.

3.8.3 Тотығу үрдісіне қарсы белсенділік

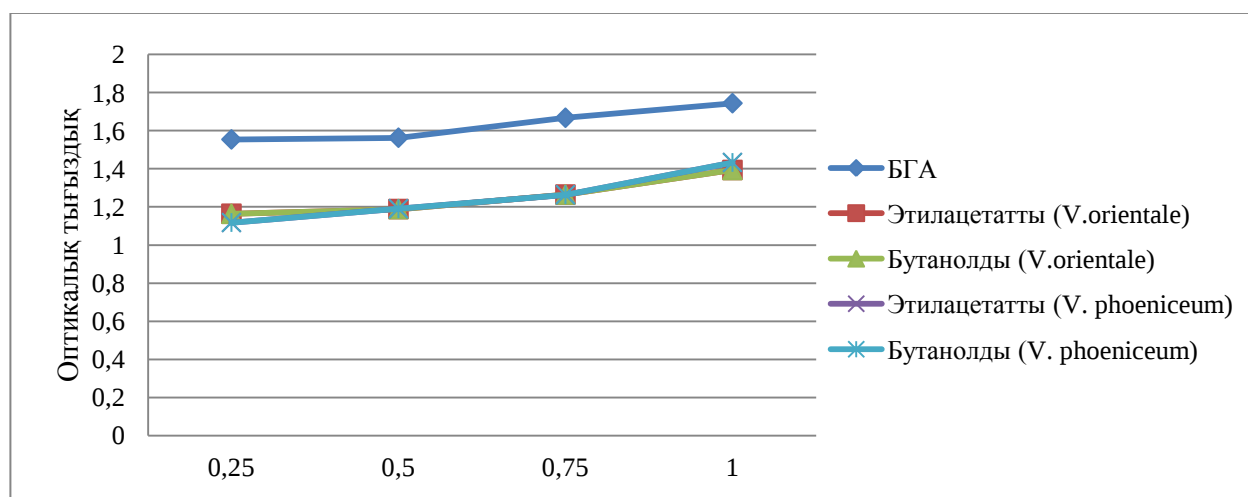
Тотығу үрдісіне қарсы белсенділік FRAP- әдісімен (Ferric Reducing Antioxidant Power assay) анықталды [158, 159]. FRAP - әдісімен зерттеу үшін *Verbascum orientale* L, *Verbascum densiflorum* L. өсімдіктерінің эфир майлары алынды.

Зерттелетін заттардың оптикалық тығыздықтары UV - Vis Cary 60 спектрофотометр құралында өлшенді. Анықталатын эфир майларының

оксидантқа қарсы белсенділігі бутилгидроксианизолдың (БГА) оксидантқа қарсы белсенділігімен салыстырылды.

Кесте 25 – Ерітіндінің оптикалық тығыздығының жұмысшы ерітіндісі концентрациясына байланысты өзгеруі

Үлгілер	Оптикалық тығыздық көрсеткіштері (мг/мл)			
	0,25	0,5	0,75	1,0
Бутилгидроксианизол (БГА)	1,5538	1,5628	1,6675	1,7438
Этилацетатты экстракт (<i>Verbascum orientale</i> L.)	1,1635	1,1881	1,2644	1,3933
Бутанолды экстракт (<i>Verbascum orientale</i> L.)	1,1635	1,1881	1,2644	1,3933
Этилацетатты экстракт (<i>Verbascum phoeniceum</i> L.)	1,1174	1,1900	1,2635	1,4328
Бутанолды экстракт (<i>Verbascum phoeniceum</i> L.)	1,1174	1,1900	1,2635	1,4328



Сурет 65 – Тотығуға қарсы белсенділіктің өзгеруіне заттар концентрациясының әсері

25 - кестедегі эксперименттер нәтижелеріне сүйеніп 65 суреттегі диаграмманы пайдаланып, зерттелген *Verbascum orientale* L., *Verbascum phoeniceum* L. өсімдіктерінің эфир майлары барлық концентрацияларда бутилгидроксианизолмен салыстырғанда тотығуға қарсы жоғары белсенділік көрсетті.

3.8.4 Цитотоксикалық белсенділік

Verbascum densiflorum L., *Verbascum orientale* L. өсімдіктерінің гександы экстрактыларының *Artemia salina* теңіз шаяндарына қатысты цитотоксикалық белсенділігі зерттелді [160]. Зерттеу нәтижелері бойынша цитототоксикалық көрсеткіштері 26 - 31 кестелерде келтірілген.

Кесте 26 – *Verbascum densiflorum* L. гександы экстрактысының (10 мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсілдер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылау- дан тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Ней- роуыт-ты әсері, %
	тірі	Өлі	Тірі	өлі	сал болған- дар саны				
1	20	0	0	24	0	96	0	96	0
2	27	1	0	23	0				
3	27	0	0	25	0				
Орта ша	25	1	0	24	0				

Кесте 27 – *Verbascum densiflorum* L. гександы экстрактысының (5мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсілдер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылау- дан тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Ней- роуытты әсері, %
	тірі	Өлі	Тірі	өлі	+/-				
1	20	0	0	25	0	96	0	96	0
2	27	1	0	20	0				
3	27	0	0	20	0				
Орташа	25	1	0	22	0				

Кесте 28 - *Verbascum densiflorum* L. гександы экстрактысының (1 мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсілдер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылауд ан тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Ней- роуыт-ты әсері, %
	тірі	Өлі	Тірі	Өлі	сал болған- дар саны				
1	20	0	0	21	0	96	0	96	0
2	27	1	0	25	0				
3	27	0	0	24	0				
Орташа	25	1	0	23	0				

Жүргізілген эксперименттер нәтижесінде, зерттеуге алған концентрациялары 10, 5 және 1 мг/мл болатын *Verbascum densiflorum* L. гександы экстрактылары күшті цитотоксикалық белсенділік көрсетті, яғни

гександы экстрактағы *Artemia salina* теңіз шаяндарының дернәсілдерінің барлығы дерлік өліп қалды.

Кесте 29 – *Verbascum orientale* L. гександы экстрактысының (10 мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсілдер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылау дан тірі қалған дернәсіл -дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Ней- роуы- тты әсері, %
	тірі	өлі	тірі	өлі	сал болған- дар саны				
1	20	0	0	27	0	96	0	96	0
2	27	1	0	25	0				
3	27	0	0	30	0				
Орта ша	25	1	0	27	0				

Кесте 30 – *Verbascum orientale* L. гександы экстрактысының (5мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсілдер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылау дан тірі қалған дернәсіл - дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Ней- роуы- тты әсері
	тірі	өлі	тірі	өлі	сал болған- дар саны				
									, %
1	20	0	0	21	0	96	0	96	0
2	27	1	0	22	0				
3	27	0	0	28	0				
Орташа	25	1	0	24	0				

Кесте 31 – *Verbascum orientale* L. гександы экстрактысының (1мг/мл) цитотоксикалық белсенділігі

Парал- лель	Бақылау кезінде дернәсіл- дер саны		Үлгідегі дернәсілдер саны			Бақылау дан тірі қалған дернәсіл - дер саны, %	Үлгіде тірі қалған дернәсіл- дер саны, %	Өлім қауіпті- лігі, А,%	Нейр- оуыт- ты әсері, %
	тірі	өлі	тірі	өлі	сал болған- дар саны				
1	20	0	0	25	0	96	0	96	0
2	27	1	0	22	0				
3	27	0	0	29	0				
Орташа	25	1	0	25	0				

Жүргізілген эксперименттер нәтижесінде, зерттеуге алынған концентрациялары 10, 5 және 1 мг/мл болатын *Verbascum orientale* L. гексан экстрактысы жоғары цитотоксикалық белсенділік көрсетті, өлім көрсеткіші 96 %-ды құрады, яғни барлық дернәсілдер өлді.

3.8.5 Фитотоксикалық белсенділік

Зерттеуге өсімдік шикізатының экстрактісі арам шөптерге қарсы пестицид ретінде пайдалану үшін фитотоксикалық белсенділіктері зерттелді. Зерттеуге концентрациялары 10, 100 және 1000 мг/мл болатын аюқұлақ өсімдігінің дихлорметанды экстрактісі үлгілері және арам шөп ретінде *Lemna minor* өсімдігі алынды. Әдеби мәліметтерге сүйенсек, фитотоксикалық қасиетке әсер етуші биологиялық белсенді заттар кумариндер болып табылады.

Кесте 32 – *Verbascum orientale* L. өсімдігінің фитотоксикалық белсенділігі

Салыстырмалы үлгі	Үлгі	Концентрациясы, мг/мл	Өсу қарқындылығы %	Бақылаушы үлгі, мг/мл
<i>Lemna minor</i>	VD	10	14	0,015
		100	21	
		1000	100	

Зерттеу нәтижелері бойынша Сабынкөкгүлділер тұқымдасына жататын *Verbascum orientale* L. өсімдігінің дихлорметанды сығындысы жоғары фитотоксикалық белсенділік көрсетті. Концентрациясы 1000 мг/мл болатын өсімдіктің дихлорметанды сығындысы *Lemna minor* арамшөбінің өсуін 100% тежеді. Алынған зерттеу нәтижелерін ауыл шаруашылығында және агроөндірісте қолдануға болады [161].

ҚОРЫТЫНДЫ

1. Іргелі ғылыми-зерттеу бағдарламасы аясында Шығыс Қазақстанда өсетін *Verbascum orientale* L., *Verbascum densiflorum* L. және *Verbascum phoeniceum* L. өсімдік түрлерінің химиялық құрамы зерттелді. Зерттелетін өсімдік үлгілеріне салыстырмалы фитохимиялық талдау жасалды.

2. Алғаш рет биологиялық белсенді заттарды (полифенолды қосылыстарды) бөлу және алудың оңтайлы блок - сызбанұсқасы ұсынылды. Өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды алу және бөлу технологиясын оңтайландыру үшін классикалық мацерация және Сокслет аппаратындағы циркуляциялық экстракциялау әдістері қолданылды.

3. *Verbascum* текті өсімдіктерден иммунтүрлендіргіш белсенділігі бар фенилпропаноидты кешенді алуда тиімді сорбент ретінде МСІ СНР-20Р гелі ұсынылды және жеке қосылыстар препаративті жоғарыэффективті сұйық хроматографиясы (НР және РР-НРЛС) көмегімен алынды.

4. Зерттеу үлгілері *Verbascum* текті өсімдіктерден 13 биологиялық белсенді қосылыстар бөлінді, оның біреуі: лютеолиннің 7 - О - β - D - глюкопиранозил - 3 - О - (3-гидроксид - 4 - метоксид -) циннаматы бұрын әдебиетте келтірілмеген жаңа зат. Сонымен қатар, өсімдіктердің гексан экстрактысынан 87 липофилді заттар идентификацияланды.

5. Қосылыстардың құрылысы химиялық (қышқылдық, сілтілік гидролиз) және спектрлік: ЯМР (^1H , ^{13}C), 2D ЯМР (HMBC, HSQC, COSY, NOESY), УК, ИҚ - спектроскопия және масс - спектрометрия (EI-MS, ESI-MS, FAB-MS) әдістерімен расталды.

6. Шығыс Қазақстанда өсетін *Verbascum* тұқымдас өсімдіктерден 12 шартты фитопрепараттар және 1 жеке қосылыстың үлгілері әзірленіп, биологиялық белсенділігі зерттелді. Алынған шартты фитопрепараттардан цитотоксикалық, фитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш, тотығуға және бактерияға қарсы белсенділіктер анықталды.

Қойылған міндеттердің толық шешілу бағасы. Диссертациялық зерттеу жұмысына қойылған міндеттер толық орындалды. Қойылған міндеттерге сәйкес, зерттеліп отырған Сабынкөкгүлділер (*Scrophulariaceae*) тұқымдасына жататын шығыс аюқұлақ (*Verbascum orientale*), ұзын аюқұлақ (*Verbascum densiflorum*) және күлгін аюқұлақ (*Verbascum phoeniceum*) текті өсімдік түрлерінің жер үсті бөлігі шикізаттарының химиялық құрамы зерттеліп, биологиялық белсенді кешендер алудың тиімді блок – сызбанұсқасы ұсынылды және жеке күйде заттар бөлінді. Алғаш рет Шығыс аюқұлақ өсімдік шикізаты құрамынан фенилпропаноидтар класына жататын, бұрын әдебиеттерде келтірілмеген жаңа зат, лютеолиннің 7- О - β – D- глюкопиранозил -3- О - (3-гидроксид 4-метоксид) – циннаматының құрылысы зерттеліп, оның қабынуға қарсы белсенділігі анықталды.

Нәтижелердің нақты қолданылуы жөнінде ұсыныстар мен бастапқы мәліметтер. Зерттеуге алынған өсімдік шикізаттарынан бөлінген биологиялық белсенді кешендердің цитотоксикалық, фитотоксикалық, иммунтүрлендіргіш,

бактерияға және тотығуға қарсы белсенділіктері анықталды. Осы қасиеттерге сүйене отырып, зерттеу нәтижелерін отандық фармацевтикалық нарықта, биорганикалық химияда, ауылшаруашылығында пайдалануға болады. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері «Табиғи қосылыстар химиясы», «Табиғи қосылыстардың химиясы және технологиясы» пәндерінің дәрістерінде қолданылады. Зерттеу жұмыстарының нәтижесінде «Қабынуға қарсы әсері бар кешен алу әдісі» (№6334, бюлл. №33 20.08.2021) ҚР ӘМ пайдалы модельге №2231 патентімен қорғалды. 6B01504 – Химия және 6B01507 - Химия - Биология және 7M05302 – Химия білім беру бағдарламасына «Табиғи қосылыстар химиясы», «Табиғи қосылыстардың химиясы және технологиясы» пәндері бойынша оқу үрдісіне енгізу актісі (№1 26.10.2021) құрастырылды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Kosachev P. A. Check-list of Scrophulariaceae Juss. S. l. of North Asia // Acta Biologica Sibirica. - 2017. - №3(4). - P. 31 - 76.
- 2 Hiern W. P. Scrophulariaceae // In W.T. Thiselton-Dyer, Flora capensis 4,2. - London : Reeve, 1904. - P. 121 - 420.
- 3 Павлов Н. В. Флора Казахстана. – Алматы : АН Казахской ССР, 1960. - Т.8. - С. 26 - 33.
- 4 Scrophulariaceae Flora of China 18: 1 - 212. - 1998. - 335 p.
- 5 Klimek B., Olszewska M. A., Tokar M. Simultaneous determination of flavonoids and phenylethanoids in the flowers of *Verbascum densiflorum* and *V. phlomoides* by high-performance liquid chromatography // Phytochemical Analysis. - 2010. - Vol.21. - P. 150 - 156.
- 6 Флора, растительность и растительные ресурсы Казахстана. 1998 – 2002 : библиографический указатель / сост. В. К. Кузембаева. - Алматы, 2003. - С. 28 - 34.
- 7 Heywood V. H. Flowering plants in the world // NY. - 1981. - P. 562 - 566.
- 8 Alipieva K. I. Treasure from garden: chemical profiling, pharmacology and biotechnology of mulleins // Phytochem. Rev. - 2014. - Vol.13. - P. 417 - 444.
- 9 Valverde P. L. Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium* // J Evol. biol. - 2001. - Vol. 14. - P. 424 - 432.
- 10 Байтенов М. С. Флора Казахстана. - Алматы : Ғылым, 1999. - Т. 1. - 158 с.
- 11 *Verbascum phoeniceum* // Ұлы Совет Энциклопедиясы. - 3-ші бас. - Алма-Ата : Қазақстан, 1979. - Т. 3. - 210 бет.
- 12 Öztürk G. Biological activities and luteolin derivatives of *Verbascum eskisehirensis* Karavel // Ocak & Ekici. J Res Pharm. - 2019. - 23(3). - P. 532 - 542.
- 13 Gvazava L. N. Orobanchoside and flavonoids from *Verbascum phlomoides* and *V. Densiflorum* // Chemistry of Natural Compounds. - 2012. - Vol. 47. - P. 991 - 992.
- 14 Diuretic activity and toxicity of some *Verbascum nigrum* extracts and fractions /S. A. Kalinina, O.V. Boris, Y. Syropyatov, A.V. Dolzhenko // Pharmaceutical Biology. - 2014. - Vol. 52. - P. 191-198.
- 15 Akdemira Z. S. Two New Iridoid Glucosides from *Verbascum salviifolium* Boiss // Phytochemia Rev. - 2005. - P. 113 - 117.
- 16 Tsutomu Warashina L. Iridoid Glycosides from *Verbascum thapsus* // Chem. Pharm. - 1991. - Bull. 39 (12). - P. 3261 - 3264.
- 17 Gokmen A. Bioactivities of *Verbascum bugulifolium* and isolation of secondary metabolites // Planta Med Int Open. - 2017. - №4. - P. 1 - 202.
- 18 Two New Acylated Iridoid Glycosides from *Verbascum undulatum* /P. Magiatis, E. Melliou, E. Tsitsa, C. Charvala, S. Mitaku, Z. Naturforsch // Verlag der Zeitschrift für Naturforschung. - 2000. - March 7/April 4. - P. 220 - 240.

- 19 Tatli I. 6-O- α -L-Rhamnopyranosylcatalpol Derivative Iridoids from *Verbascum cilicicum* I / I. Tatli, Z. S. Akdem // *IRTurk J Chem.* - 2003. - №27. - P. 765 - 772.
- 20 Zhao Y. Isolation of Chemical Constituents from the Aerial Parts of *Verbascum thapsus* and their Antiangiogenic and Antiproliferative activities // *Arch Pharm Res.* - 2011. - Vol. 34, №5. - P. 703 - 707.
- 21 Бурашева Г. Ш. Табиғи қосылыстар химиясының негіздері. - Алматы : Қазақ университеті, 2012. - 252 бет.
- 22 Авдеева Е. В. Изучение некоторых фенольных и терпеноидных соединений, используемых в стандартизации лекарственных растений : автореф. дисс. канд фарм. наук. - М., 1997. - 23 с.
- 23 Тулеуов Б. И. Скрининг видов рода *populus* L. на содержание флавоноидов // *Вестник КарГУ. Серия химическая.* - 2009. - № 3(55). - С. 63 - 74.
- 24 Кабиев О. К. Природные фенолы - перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений. - М. : Медицина, 1975 - 189 с.
- 25 Ye. O. Tashenov, K. Van Hecke, Ye. M. Suleimen, K. Akatan Crystal structure and biological activity of tetra-tosyl derivative of quercetin // *Вестник ЕНУ.* - 2018. - №2 (123). - P. 22 - 32.
- 26 Костюк В. А. Растительные полифенольные соединения как компоненты функционального питания // *Труды БГУ.* - 2016. - Т11, Ч. 1. – С. 32 - 40.
- 27 Hahlbrock K. Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism // *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* - 1989. - Vol. 40 - P. 347 - 369.
- 28 Robards K. Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids // *Analyst.* - 1997. - Vol. 122. - P. 11 - 34.
- 29 Получение и характеристика фенилпропаноидных соединений из расторопши пятнистой и льна масличного // *Труды БГУ.* - 2019. - Т. 5, Ч. 2. - С. 139 - 145.
- 30 Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes / M. Jang [et al.] // *Science.* - 1997 - Vol. 275. - P. 218 - 220.
- 31 Запесочная Г. Г. Фенилпропаноиды - перспективные биологически активные вещества лекарственных растений // *Химико - Фармацевтический Журнал.* - 1955. - Т.29, №4. - С. 47 - 50.
- 32 Karrer W. *Konstitution und Vorkommen der organischen.* - Basel-Bodton-Stuttgart : Birkhauser Verlag, 1985. - 232 p.
- 33 Wagner H. *Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe.* - Gustav Fischer Verlag-Stuttgart. - New York, 1993. - 522 p.
- 34 Бойко В. П. Изучение нейротропной активности некоторых фенилпропаноидов // *Состояние и перспективы создания новых готовых лекарственных средств и фитохимических препаратов : тез. докл. науч.-техн. конф.* - Харьков. - 1990. - С. 209 - 210.

- 35 Wagner H. The structure of silychitin a ^{13}C -NMR study // *tetrahedron Letters*. - 1978. - №4. - P. 381 - 384.
- 36 Ташенов Е. О. Сабинол негізінде жаңа триазол мен несепнәр туындылары және олардың биологиялық белсенділігі // *Вестник ЕНУ*. - 2018. - №2(123). - С. 34 - 42.
- 37 Тулеуов Б. И. Флора Казахстана как перспективный источник новых натуральных антиоксидантов. - СПб. : Академия, 2006. - 230 с.
- 38 Махатова Б. Г. Разработка методики количественного определения актеозида в сырье коровяка джунгарского методом ВЭЖХ // *Сб. матер. III Всеросс. науч. - практ. конф. с международным участием*. - 2015. - С. 308 - 312.
- 39 Sedlák Ě. A lignánok elválasztása, azonosítása és mennyiségi meghatározása natív növényi mintákban és a lignántermelés fokozása Forsythia in vitro sejttenyészetben: дисс.... док. биол. наук. - Budapest, 2011. - 65 p.
- 40 Порада А. А. Коллекция рода *echinacea* moench – источник хозяйственно-ценных признаков для селекции // *Труды Томского государственного университета*. - 2012. - Т. 274. - С. 294 - 297.
- 41 Perry N. B. Factors Affecting Echinacea Quality: Agronomy and Processing // *Echinacea : the genus Echinacea Medicinal and aromatic plants – industrial profiles*. – 2004. - №39. - P. 118 - 133.
- 42 «Narrow-leaved coneflower root», «Pale coneflower root», «Purple coneflower herb», «Purple coneflower root». [Электронный ресурс]: *European Pharmacopoeia 5.0*. - 2005 // www.rsl.ru, May 2004.
- 43 Куркин В. А. Фенилпропаноиды как важнейшая группа биологически активных соединений лекарственных растений // *International journal of applied and fundamental research*. - 2015. - №12. - P. 338 - 1342.
- 44 Kurkin V. A. Phenylpropanoids from Medicinal Plants: Distribution, Classification, Structural Analysis, and Biological Activity // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2003. - Vol. 39. - P. 123 - 153.
- 45 Zapesochaya G. G. Glycosides of cinnamyl alcohol from the rhizomes of *Rhodiola rosea* // *Chemistry of Natural Compounds*. - 1982. - Vol. 18, №6. - P. 685 - 688.
- 46 Куркин В. А. Фенилпропаноиды лекарственных растений : прогноз антиоксидантной и иммуномодулирующей активности // *Труды Томского государственного университета*. - 2015. - Т.2. - С. 29 - 39.
- 47 Cometa L. Phenylpropanoid glycosides. Distribution and pharmacological activity // *Fitoterapia*. - 1993. - Vol. 64. - P. 195 - 217.
- 48 Deng Y. Biosynthesis and Regulation of Phenylpropanoids in Plants // *Critical Reviews in Plant Sciences*. - 2017. – Vol. 36, Is.4. - P. 655 - 680.
- 49 Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids / J.-L. Ferrer, C. Stewart, J. P. Noel // *Plant Physiology and Biochemistry*. - 2008. - Vol.46, Is.3, March. - P. 356 - 370.
- 50 Vogt T. Phenylpropanoid Biosynthesis // *Molecular Plant*. - 2010. - Vol.3 №1. – P. 2 - 20.

- 51 Boudet A. M. Evolution and current status of phenolic compounds // *Phytochemistry*. - 2010. - №68. - P. 2722 - 2735.
- 52 Boudet A. M. Lignin and lignocellulosics : a better control of synthesis for few and improved uses // *Trends Pl.* - 2003. - Sci.8. - P. 576 - 581.
- 53 Phenylpropanoid glycosides from the seeds of *Michelia hedrysperma* / A. Xian-You Wang, Min Xu, Chong-Ren Yang, Ying-Jun Zhang // *Food Chemistry*. - 2011. - Vol.126, Is.3. - P. 1039 - 1043.
- 54 Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia* : In vitro anti-inflammatory activity / A. M. Di'aza, M. J. Abadb, L. Ferna'ndeza, A. M. Silva'nb, J. De Santos, P. Bermejo // *Life Sciences*. - 2004. - Vol. 74. - P. 2515 - 2526.
- 55 Phenylpropanoids from *Croton velutinus* with cytotoxic, trypanocidal and anti-inflammatory activities / L. S. Abreua, Y. Manguera, D. Nascimentoa, R. Fernandes do Espirito-Santob, C. Santana Meirab // *Ivanilson Pimenta Santosb Fitoterapia*. - 2020. - Vol. 145. - P. 104 - 632.
- 56 Phenylpropanoid and phenylisoprenoid metabolites from Asteraceae species as inhibitors of protein carbonylation / M. Marin, R. M. Giner, M. Carmen Recio, S. Manez // *Phytochemistry*. - 2011. - Vol. 72, Is.14 - 15. - P. 1821 - 1825.
- 57 Chemical constituents from *Schefflera leucantha* / R.Vig (Araliaceae), Y. Wang, D. Liang, F. - A. Khan, C. - L. Zhang, Y. - F. Liu, R. - Y. Chena, M. Iqbal Choudhary, De-Q. Yu // *Biochemical Systematics and Ecology*. - 2020. - Vol. 91. - P. 104 - 176.
- 58 Phenylpropanoids and polysaccharides from *Plantago depressa* and *P. media* growing in Buryata / D. N. Olennikov, L. M. Tankasheva, A. V. Stolbikova // *Chemistry of Natural Compounds*. - 2011. - Vol. 47, Article number : 165.
- 59 Two New Phenylpropanoid Glycosides from *Wikstroemia sikokiana* // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin Advance Publication by J-STAGE*. - 2022. - P. 204 - 858.
- 60 Zielinska S. Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus *Agastache* (Lamiaceae) // *Phytochemistry Reviews*. - 2014. - Vol. 13. - P. 391 - 414.
- 61 Lignan and Phenylpropanoid Glycosides from *Phillyrea latifolia* and their In vitro Anti-Inflammatory Activity / A. M. Diaz Lanza, M. J. Abad Martinez, L. F. Matellano, C. R. Carretero, L. V. Castillo, A. M. Silvan Sen // *Planta Med.* - 2001. - Vol. 61(3). - P. 219 - 233.
- 62 Фитохимический анализ растительного сырья содержащего флавоноиды ГОУВ ПО : методическое пособие по фармакогнозии // Иркутский Государственный Медицинский университет. - Иркутск, 2009. - С. 5 - 15.
- 63 Максютин Н. П., Литвиненко В. И. Методы выделения и исследования флавоноидных соединений. - М. : Химия, 1968. - 182 с.
- 64 Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии : учебное пособие / под ред. И. А. Самылиной, А. А. Сорокиной. - М. : Медицинское информационное агентство, 2007. - 672 с.

- 65 Яшин А. Я. Влияние структуры молекул полифенолов – антиоксидантов на чувствительность амперометрического детектирования в ВЭЖХ и инъекционно-проточных системах // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2014. - Т.14. Вып. 5. - С. 869 - 878.
- 66 Rice-Evans C. A. Structure - antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids // Free Rad. Biol. Med. - 1996. - Vol.20. - P. 933 - 956.
- 67 Heim K. E. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships // Nutr. Biochem. - 2002. - Vol. 13. - P. 572 - 584.
- 68 Lien E. J. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants // Free Rad. Biol. Med. - 1999. - Vol. 26. - P. 285 - 297.
- 69 Yang B. Estimation of the Antioxidant Activities of Flavonoids from their Oxidation Potentials // Analytical Sciences. - 2001. - Vol. 17. - P. 599 - 604.
- 70 Seyoum A. Structure - radical scavenging activity relationships of flavonoids // Phytochemistry. - 2006. - Vol. 67. - P. 2058 - 2070.
- 71 Photocatalytic Activity of Copper (II) Oxide Nanoparticles Synthesized Using Serratula coronata L. Extract / A. A. Mashentseva, N. A. Aimanova, B. S. Temirgaziev, B. I. Tuleuov, A. T. Zhumazhanova // Petroleum Chemistry. - 2020. - Vol. 60, №10. - P. 1141 - 1147.
- 72 Tashenov Y. O., Dzhalmakhanbetova R. I., Smagulova F. M., Dudkin R. V., Gorovoi P. G., Suleiman E. M., Ross S. A. Cirsilineol and cubreva lactone from *Aremisia umbrosa* and their biological activity // Chemistry of Natural Compounds. - 2013. - Vol. 49. - P. 97 - 98.
- 73 Синтез ЯМР - спектроскопическое исследование α -, β - и γ -циклодекстриновых комплексов выключения 2-дезоксиэкдизона и их противовоспалительная активность // Макрогетероциклы. - 2020. - Т.13, Вып. 3. - С. 123 - 135.
- 74 Яшин А. Я. ВЭЖХ фенольных кислот – антиоксидантов с амперометрическим детектированием // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2014. - Т.14., Вып. 3. - С. 232 - 240.
- 75 Бурашева Г. Ш. Табиғи қосылыстар химиясының негіздері. - Алматы : Қазақ университеті, 2012. - 252 бет.
- 76 Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress // Current Opinion in Plant Biology. - 2002. - Vol. 5, Is. 3. - P. 218 - 223.
- 77 Falcone Ferreyra M. Flavonoids : biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications // Front. Plant Sci. - 2012. - Vol. 3. - P. 222 - 245.
- 78 Winkel B. S. J. The Biosynthesis of Flavonoids / B. S. J. Winkel. - Department of Biological Sciences and Fralin Center for Biotechnology. - Virginia Tech : Blacksburg, 2020. - P. 2406 -2450.
- 79 Flavonoids of Leguminous Plants : Structure, Biological Activity, and Biosynthesis / A. Toshio, A. Tomoyoshi, A. Shin-ichi // Journal of Plant Research . - 2000. - Tokyo. - Vol. 113. - P. 475 - 488.
- 80 Weston L. A. Flavonoids : Their Structure, Biosynthesis and Role in the Rhizosphere, Including Allelopathy // Ulrike Mathesius Journal of Chemical Ecology. - 2013. - Vol. 39. - P. 283 - 297.

- 81 Бельтюкова С. В. Биологически активные полифенолы и методы их определения // Харчова наука і технологія. - 2013. - №3(24). - С. 18 - 25.
- 82 Shi S.T. Effects of green tea and black tea on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone bioactivation, DNA methylation, and lung tumorigenesis in A/J mice // Cancer Res. - 1994. - Vol.54. - P. 4641 - 4647.
- 83 Validated solid-liquid extraction method for the HPLC determination of polyphenols in apple tissues: comparison with pressurized liquid extraction / R. M. Alonco - Salces, A. Barranco, E. Corta, A. Berrueta, B. Gallo // Talanta. - 2005. - Vol. 65. - P. 654 - 662.
- 84 Complex effects of different green tea catechins on human platelets / G. Lill, S. Voit, K. Schror, A. A. Weber // FEBS Letters. - 2003. - Vol. 546, №2. - P. 265 - 270.
- 85 Костюковский Я. Л. Методы определения химических консервантов и антиоксидантов в пищевых продуктах // Журнал аналитической химии. - 1989. - Т. 44, №1. - С. 4 - 44.
- 86 Извлечение и идентификация флавона (кверцетина) из коры растения Buteafrondosa / Н. К. Дутта, К. Мазумдар, У. С. Мишра, С. Г. Дастидар, Дж.-Х. Парк // Химико-фармацевтический журнал. - 2007. - Т. 41, №5. - С. 88 - 95.
- 87 Тонкослойная хроматография флавоноидов на силикагеле в модифицированных мицеллярных подвижных фазах на основе додецилсульфата натрия / Е. Г. Сумина и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2014. - Т. 14, Вып.1. - С. 52 - 64.
- 88 Бубенчикова В. Н. Изучение состава фенольных соединений донника лекарственного методом ВЭЖХ // Химико - фармацевтический журнал. - 2004. - Т. 38, №4. - С. 24 - 25.
- 89 Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии / М. С. Кочетова и др. // Успехи химии. - 2007. - Т. 76, №1. - С. 88 - 100.
- 90 Roginsky V. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food // Food Chemistry. - 2005. - Vol. 92. - P. 235 - 254.
- 91 Yang T. T. C. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation // Atherosclerosis. - 2000. - Vol. 148, №1. - P. 67 - 83.
- 92 Противовоспалительная и анальгетическая активность 3 α ,14 α ,22R,25-тетрагидрокси-5 β (H)-холест-7-ен-6-она, фитоэкдистероида из колючелистника Acanthophyllumgypsophiloides / И. В. Заварзин и др. // Известия Российской Академии Наук. Сер. химическая. - 2018. - №4. - С. 663 - 666.
- 93 Шеремета А. В. Быстрый ЯМР-скрининг содержания флавоноидов в растительном сырье : 90 лет – от растения до лекарственного препарата : Достижения и перспективы, Москва, 10-11 июня 2021 года // Химия и жизнь. - 2021. - №12. - С. 29 - 36.
- 94 Lallemand J. Y. ¹³C n.m.r. spectra of quercetin and rutin // Organic Magnetic Resonance. - 2012. - Vol. 9, Is.3. - P. 179 - 180.

- 95 Two novel flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and their antimicrobial // Activity Donatus Ebere Okwu* Fred Uchenna Nnamdi J. Chem. Pharm. Res. - 2011. - Vol. 3 (2). - P. 11 - 20.
- 96 Flavonoids from *Centaurea clementei* / I. Gozalez Collado, F. A. Macias, G. M. Massanet, F. Rodriguez Luis // Nat. Prod. - 1985. - Vol.5. - P. 819 - 822.
- 97 Sulfonic Acid-Containing Flavonoids from the Roots of *Phyllanthus acidus* / T. H. Duong, M. A. Beniddir, V. K. Nguyen, T. Aree, J. F. Gallard, D. H. Mac, Huu Hung Nguyen, Xuan Hao Bui, Joël Boustie, Kim Phi Phung Nguyen, W. Chavasiri, P. Le Pogam // Journal of Natural Products. - 2018. - Vol. 81 (9). - P. 2026 - 2031.
- 98 One new flavonoid from *Oroxylum indicum* / Qing Fei Fan, Zu Yan Hu, Zhi Na, Hua Shu Tang, Guo Ying Zuo, Qi Shi Song // Natural Product Research. - 2015. - Vol. 29(19). - P. 1828 - 1832.
- 99 Xinqian H. Proceedings of Chemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics and Synthesis of Biflavonoids // Molecules. - 2021. - Vol. 26(19). - P. 60 - 88.
- 100 Jones Orock B. Extraction, purification and nuclear magnetic resonance (NMR) assignment of garcinoic acid from *Garcinia kola* (bitter kola) fruit // African Journal of Pure and Applied Chemistry. - 2018. - Vol.12 (5). - P. 34 - 37.
- 101 Tochukwu J. N. Bioactive Phenylpropanoids, Phenolic Acid and Phytosterol from *Landolphia owariensis* P. Beauv Stringy Seed Pulp // Phytotherapy Research. - 2016. - Vol. 30 (1). P. 78 - 83.
- 102 Structure - antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids / C. A. Rice, E. N. J. Miller, G. Paganga // Free Radical Biology and Medicine. - 1996. - Vol. 20, Is.7. - P. 933 - 956.
- 103 Miller N. J. Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids // Free Rad. Biol. Med. - 2012. - Vol. 2. - P. 653 - 666.
- 104 Tim Cushnie T. P. Antimicrobial activity of flavonoids // International Journal of Antimicrobial Agents. - 2006. - Vol. 27, Is. 2. - P. 181 - 190.
- 105 Hassan A. Antibacterial and Antifungal Activities of the Medicinal Plant *Veronica biloba* // Journal of Chemistry. - 2019. - Vol. 19. - P. 52 - 64.
- 106 Воробьева С. И. Разработка функциональных чаев с успокаивающим действием на основе лекарственных растений Урала // Чай в историческом, культурном, медицинском аспекте : матер. I науч.-теорет. онлайн-конф. с междунар. участием. - Курск, 2020. - С. 318 - 322.
- 107 Действие катехина на активность ангиотензина, превращающего фермента и образование активных форм кислорода в аорте крыс / В. А. Никина, Ю. А. Ким, А. Ф. Корыстова, М. Х. Левитман, В. В. Шапошникова, Ю. Н. Корыстов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2019. - Т. 168, №11. - С. 565 - 568.
- 108 Сравнительное изучение инотропной и антиаритмической активности флавоноидов - кверцетина, рутина и (+) -катехина / III. С. Хушматов, Р. Р. Махмудов, С. М. Мавлянов // Российский кардиологический журнал. - 2015. - №11(127). - С. 35 - 41.

- 109 Olchowika E. Antioxidant capacities of polyphenols from Sumac (*Rhus typhina* L.) leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage // *Biomedicine & Preventive Nutrition*. - 2012. - Vol. 2(2). - P. 99 - 105.
- 110 Isolation and antibacterial activity of phenylpropanoid derivatives from *Ballota nigra* // N. Didry, V. Seidel, L. Dubreuil, F. Tillequin, F. Bailleul // *Journal of Ethnopharmacology*. - 1999. - Vol. 67, Is.2. - P. 197 - 202.
- 111 Gao J. J. Radical Scavenging Activity of Phenylpropanoid Glycosides in *Caryopteris in cana* // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. - 1999. - Vol.63, Is.6. - P. 983 - 988.
- 112 Caceres A. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala // *Journal of Ethnopharmacology*. - 1987. - Vol.19, Is.3. - P. 233 - 245.
- 113 Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species / D. Benjumea, S. Abdala, F. Hernandez - Luis, P. Perez-Paz, D. Martin - Herrera // *Journal of Ethnopharmacology*. - 2005. - Vol.100, Is.1-2. - P. 205 - 209.
- 114 Phyto growth - inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum* / F. Senatore, D. Rigano, C. Formisano, A. Grassia, A. Basile, S. Sorbo // *Fitoterapia*. - 2007. - Vol. 78. - P. 244 - 247.
- 115 Antimicrobial Activity of Three Endemic *Verbascum* Species / B. Dülger, S. Kirmizi, H. Arslan, G. Güleriyüz // Published online . - 2008. - Vol. 29. - P. 587 - 589.
- 116 Irem I. Traditional Uses and Biological Activities of *Verbascum* Species Tatli // *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. - Ankara. - 2006. - Vol. 31. - P. 85 - 96.
- 117 Dinani M. S. In vitro cytotoxic activity of *Verbascum alceoides* against cervix carcinoma cells // *The Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. - 2020. - Vol. 9, Is.1. - P. 19 - 24.
- 118 Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients / S. Y. Yin, W. S. Wei, F. Y. Jian, N. S. Yang // *Evid Based Complement Alternat Med*. - 2013. - Vol.13. - P. 30 - 42.
- 119 Myricetin bioactive effects : moving from preclinical evidence to potential clinical applications / Y. Taheri1, H. Ansari, R. Suleria, N. Martins, O. Sytar, A. Beyatli, B. Yeskaliyeva, G. Seitimova // *BMC Complementary Medicine and Therapies*. - 2020. - Vol. 20. - P. 241 - 250.
- 120 *Glycyrrhiza* Genus : Enlightening Phytochemical Components for Pharmacological and Health-Promoting / A. J. Sharifi-Rad, C. Quispe, J. Herrera-Bravo, L. Herrera Belen, R. Kaur, D. Kregiel, Y. Uprety, A. Beyatli, B. Yeskaliyeva, H. Oxidative // *Medicine and Cellular Longevity*. - 2021. - Vol. 21, Article ID7871132. - P. 18 - 20.
- 121 *Salvia officinalis* L. and *Verbascum phlomoides* L. chemical, antimicrobial, antioxidant and antitumor investigations / E. Marian, L. G. Vicas, T. Jurca, M. Muresan, A. Pallag, R. L. Stan // *Rev Chim*. - 2018. - Vol. 69. - P. 365 -370.

- 122 Tatli I. I. Antimicrobial and antimalarial activities of secondary metabolites from some Turkish *Verbascum* species // *Fabad J Pharm Sci.* - 2005. - Vol. 3(89). - P. 30 - 84.
- 123 Shakeri A. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Verbascum sublobatum* // *Murb. leaves. Res J Pharmacogn.* - 2015. - Vol. 2. - P. 43 - 47.
- 124 Tatli I. I. Cytotoxic activity on some *Verbascum* species growing in Turkey // *Hacett Univ J Fac Pharm.* - 2006. - Vol. 26. - P. 77 - 85.
- 125 Determination of cytotoxic and anticandidal activities of three *Verbascum* / S. Küçük, F. Özdemir, G. Işcan, Z. L. Incesu // *Species from Turkey Pharm Sci.* - 2016. - Vol. 13. - P. 18 - 22.
- 126 Paszkiewicz - Gadek A. Effect of the aqueous extract and saponin fraction from the flowers of *Verbascum thapsiforme* on protein biosynthesis in a rat liver ribosomal system // *Phytother Res.* - 1990. - Vol. 4. - P. 177 - 181.
- 127 Klimek B. Effect of some constituents of mullein (*Verbascum* sp.) on proliferation of rat splenocytes in vitro // *Eur J Pharmaceut Sci.* - 1994. - Vol. 2. - P. 123 - 133.
- 128 Карасек Ф. Введение в хромато-масс-спектрометрию : пер. с англ. - М. : Мир, 1993. - 237 с.
- 129 Zhunusova M. A, Suleimen E. M., Iskakova Zh. B., Ishmuratova M. Yu., Abdullabekova R. M. Constituent composition and biological activity of CO₂-extracts of *Scabiosaisetensis* and *S. ochroleuca*. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 53, No. 4, July, 2017. - P. 775 - 777.
- 130 Баффингтон Р. Детекторы для газовой хроматографии : пер. с нем. - М. : Мир, 1993. - 80 с.
- 131 Гармаш, А.В., Сорокина Н.М. Метрологические основы аналитической химии . - М. : 2012.
- 132 Государственная фармакопея СССР. - 11-е изд. - М. : Медицина, 1965. - Т. 1. Вып. 4. - 596 с.
- 133 Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа : лекарственное растительное сырье. - 11-е изд. - М. : Медицина, 1999. - 400 с.
- 134 Государственная фармакопея РК. - Алматы : Жибек жолы, 2008. - Т. 1. - 591 с.
- 135 Паншина Л. Т. Методические указания к практикуму по качественному и количественному анализу природных полифенолов и углеводов. - Алматы : Рауан, 1979. - 110 с.
- 136 Джубаниязова М. Минеральные вещества - питание людей с избыточным весом // *Здоровье.* - 2001. - №11. - С. 30 - 33.
- 137 Строганов Б. П. Метаболизм растения в условиях засоления. - М. : Наука, 1973. - 73 с.
- 138 Кабанов Ф. И. Микроэлементы и растения. - М. : Химия, 1977. - 226 с.
- 139 Кейтс М. Техника липидологии. - М. : 1975. - 536 с.
- 140 Горяева М.И., Евдикова Н.А. Справочник по газожидкостной хроматографии. - Алма-Ата. : 1977. - 550 с.

141 Benzie I. F. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power» : the FRAP assay // Analytical Biochemistry. -1996. - Vol. 239, №1. - P. 70 - 76.

142 Получение тозильного производного кверцетина и его биологическая активность / Е. О. Ташенов, Е. М. Сүлеймен, Ж. Б. Искакова, Қ. Ақатан // Естественные и математические науки в современном мире : труды XXXII Междунар. науч.-практ. конф. - Новосибирск. - 2015. - С. 72 - 86.

143 Ташенов Е. О., Искакова Ж. Б. Получение тозильного производного кверцетина и его антиоксидантная активность // Развитие науки в XXI веке : труды III Международной заочной конференции. - Харьков, 2015. - С. 25 - 33.

144 Kivack B., Mert T., Tansel H. Antimicrobial and Cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. extracts. // Turk. J. Biol. - 2001. - № 26. - P. 197 - 200.

145 Мукажанова Ж. Б. Химическое исследование флавоноидов *verbascum orientale* (коровяк восточный) // Гумилев атындағы ЕҰУ хабаршысы. Химия. География. Экология. Сериясы журналы. - 2019. - №3(128). - С. 58 - 63.

146 Шығыс Қазақстан өңірінде өсетін *Verbascum* өсімдіктерінің құрамындағы биологиялық белсенді заттарды сандық және сапалық талдау / А. Е. Кабиева, Ж. Б. Мукажанова, Ш. К. Саньязова, К. Қабдысалым, М. М. Ибраева // Ғылым мен білімді дамытудың өзекті мәселелері: атты «Уәлиев оқулары - 2020» халықаралық ғылыми-тәжірибелік онлайн-конференциясының материалдары: Өскемен. - 2020. - 1198 - 1201 бет.

147 Мукажанова Ж. Б. *Verbascum orientale* және *veronica spicata* текті өсімдіктердің фитохимиялық құрамы мен биологиялық белсенділігін зерттеу // Европа и тюркский мир : наука, техника и технологии: атты VII Халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференция материалдары. - Мерсин. - 2022. - 92 - 97 бет.

148 *Verbascum thapsus* және *Verbascum orientale* өсімдік түрлерінің қышқылдық құрамына салыстырмалы талдау / Ж. Б. Мукажанова, М. М. Ныкмуканова, К. Кабдысалым, Б. К. Шаихова // Ұлттық инженерия Академиясының хабаршысы. Химия және мұнай сериясы журналы. - 2019. - №1(71). - 58 - 63 бет.

149 Сравнительный кислотный анализ некоторых видов растений семейства Scrophulariaceae, произрастающих на территории Восточного Казахстана / Б. К. Ескалиева, М. М. Ныкмуканова, Ж. Б. Мукажанова, Ш. К. Саньязова // Materials of the V International Scientific - Practical Conference «Integration of the Scientific Community To the Global Challenges of Our Time». - Tokyo. - 2020. - Vol. III. - С. 65 - 69

150 *Verbascum orientale* L. өсімдігінің химиялық құрамын гибриді хроматография әдісімен талдау / Ж. Б. Мукажанова, К. Кабдысалым, М. М. Ныкмуканова, Б. К. Ескалиева, А. Бейатли // Гумилев атындағы ЕҰУ хабаршысы. Химия. География. Экология. Сериясы» журналы. - 2019. - №4(129). - 52 - 58 бет.

151 *Verbascum densiflorum* өсімдік түріне хроматографиялық талдау / А. Е. Кабиева, Ж. Б. Мукажанова, Ш. К. Саньязова, М. М. Ибраева // Materials of the

VI International Scientific-Practical Conference «Integration of the Scientific Community To the Global Challenges of Our Time». - Yokohama, Japan, 2021. – Vol. III. - P. 30 - 35

152 Мукажанова Ж. Б. *Verbascum orientale* (шығыс аюқұлағы) текті өсімдік түрінен флавоноидтарды бөлу // Қазіргі замандағы ғылым және білімнің дамуындағы тенденциялар : атты Уәлиев оқулары-2018, халықаралық ғылыми - тәжірибелік конференция материалдары. – Өскемен : Берел, 2018. - 76 - 80 бет.

153 Flavonoids from *Verbascum marschallianum* and *V. orientale* / M. M. Nykmukanova, Zh. B. Mukazhanova, K. Kabdysalym, B. K. Eskalieva, Ahmet Beyatli // Chemistry of Natural Compounds. - 2019. - Vol.55. - P. 937 - 938

154 Nykmukanova M. M., Eskalieva B. K., Burasheva G. Sh., Choudhary M. I., Adhikari A., Amadou D. Iridoids from *Verbascum marschallianum* // Chemistry of Natural Compounds. - 2017. - Vol. 53, №3. - P. 580 - 581.

155 Қабынуға қарсы әсер көрсететін кешенді алу тәсілі : способ получения комплекса, обладающего иммуномодулирующим действием / Ж.Б. Мукажанова, М. М. Ибраева, К. Қабдысалым, Б. К. Ескалиева, А. Бейатли // Пайдалы модельге патент № 6334, Өтінім № 2021/0358.2, бюлл. № 33. от 20.08.2021.

156 Habtemariam S. In vitro antileishmanial effects of antibacterial diterpenes from two Ethiopian *Premna* species // Bio Med Central Pharmacology. - 2003. - №3. - P. 1 - 6.

157 Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents Approved Guideline // CLSI document M26-A, Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne PA. - 1999. - V. 19, №18. - P. 244 - 285.

158 Benzie I. F., Strain J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay // Analytical Biochemistry. - 1996. - Vol. 239, №1. - P. 70 - 76.

159 Rozanova S. L., Rozanova E. D., Nardid O. A., Karpenko V. G. Antioxidant activity of placenta extracts after low temperature and hypothermic storage // Problems of cryobiology. - 2011. - Vol. 21, № 3. - P. 291 – 300.

160 Сүлеймен Е. М. Компоненты *Peucedanum morisonii* Bess. и их антимикробная и цитотоксическая активность // Химия природных соединений. - 2009. – Т. 45, №5. - С. 710 - 711.

161 Крыкпаева Г., Мукажанова Ж.Б. Исследование фитотоксической активности экстрактов растения *Verbascum orientale* // Results of research activities 2018 : inventions, methods, innovations : XLII халықаралық ғылыми - тәжірибелік конференция материалдары. - М. : Олимп, 2018. - С. 26 - 28.

ҚОСЫМША А

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ **6334**

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2021/0358.2

(22) 10.04.2021

(45) 20.08.2021

(54) Қабынуга қарсы әсер көрсететін кешенді алу тәсілі
Способ получения комплекса, обладающего иммуномодулирующим действием
Method for producing a complex having an immunomodulatory effect

(73) Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің «Сәрсен Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан мемлекеттік университеті» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны (KZ)
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Восточно-Казахстанский государственный университет имени Сарсена Аманжолова» Министерства образования и науки Республики Казахстан (KZ)
«Sarsen Amanzholov East Kazakhstan State University» Republican State Enterprise on the Right of Economic Management of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (KZ)

(72) Мукажанова Жазира Бигалиевна (KZ)	Mukazhanova Zhazira Bigalievna (KZ)
Ібраева Маншук Муратовна (KZ)	Ibraeva Manshuk Muratovna (KZ)
Қабдысалым Қулайғұл (KZ)	Qabdysalym Kulaigul (KZ)
Ескалиева Балакыз Кымызғалиевна (KZ)	Yeskaliyeva Balakyz Kymyzgaliyevna (KZ)
Ахмет Бейатлі (TR)	Akhmet Beiatli (TR)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Н. Әбілқайыров
Н. Абулқайров
N. Abulkairov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директорының м.а.
И.о. директора РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Executive director of RSE «National institute of intellectual property»



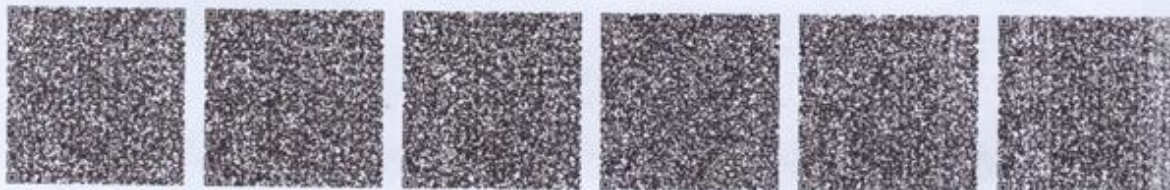
ВЫПИСКА ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОГО РЕЕСТРА ПОЛЕЗНЫХ МОДЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

РГП "НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ"
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Статус: Действует

(11) № охранного документа	6334
(12)	Патент на Полезную Модель
(21) Номер заявки	2021/0358.2
(22) Дата подачи заявки	10.04.2021
(51) МПК	A61K 36/80
(54) Название	Способ получения комплекса, обладающего иммуномодулирующим действием
(73) Патентообладатель	Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Восточно-Казахстанский государственный университет имени Сарсена Аманжолова» Министерства образования и науки Республики Казахстан (KZ)
(72) Автор(-ы)	Мухажанова Жазира Бигалиевна Мухажанова Жазира Бигалиевна Mukazhanova Zhazira Bigaliyeva(KZ); Кабдысалим Купайгул Кабдысалим Купайгул Qabdysalym Kulaigul(KZ); Ибраева Маншук Муратовна Ибраева Маншук Муратовна Ibraeva Manshuk Muratovna(KZ); Ахмет Бейатли Ахмет Бейатли Akhmet Beiatli(TR); Ескалиева Балакыз Кымызгалиевна Ескалиева Балакыз Кымызгалиевна Yeskaliyeva Balakyz Kymyzgaliyeva(KZ)
(45) Номер и дата бюллетеня	№ 33 - 20.08.2021
Срок действия	20.04.2022

Дата формирования выписки: 11.05.2022



ҚОСЫМША Ә

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан ВШТИЕН  С.С. Адиканова
« 14 » 10 2021г.
М.П.

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по академическим
вопросам НАО «ВКУ имени
Сарсена Аманжолова»
Д. Ерболатұлы
2021г.
М.П.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ (ИСПОЛЬЗОВАНИЯ)
результатов научно-исследовательской работы (НИР),
выполненной в рамках диссертационного исследования
НАО «Восточно-Казахстанский университет имени Сарсена Аманжолова»

1. Исполнитель

НАО «Восточно-Казахстанский университет имени Сарсена Аманжолова»,
Высшая школа IT и естественных наук, кафедра химии, докторант (PhD) по
специальности 6D060600 «Химия» Мукажанова Жазира Бигалиевна.

2. Место внедрения

НАО «Восточно-Казахстанский университет имени Сарсена Аманжолова»,
кафедра химии, г. Усть-Каменогорск, Восточно-Казахстанская область,
Казахстан.

3. Объектом исследования является: Виды растений семейства
Норичниковых (*Scrophulariaceae*)

4. Предметом внедрения являются: иммуномодулирующая активность
биологического активного вещества полученного из надземной части коровяка
восточного (*Verbascum Orientale*) семейства Норичниковых (*Scrophulariaceae*)
произрастающий в Восточном Казахстане.

5. Актуальность исследований

В настоящее время среди населения Республики Казахстан широко
распространено потребления биологически активных веществ, извлекаемые из
лекарственных растений. Поэтому исследования растительной флоры
Казахстана, поиск новых источников биологически активных веществ и
получения натуральных медицинских препаратов из местных лечебных растений
является актуальным.

Для решения поставленной задачи необходимо использовать собственные
местные сырьевые ресурсы, производственные мощности и научно-технический
потенциал.

Известно, что практика использования лекарственных растений в
последние годы расширяется в связи с их дешевизной, комплексным лечебным
действием на организм, малой токсичностью и возможностью длительного
применения без побочных эффектов.

По данным, Всемирной организации здравоохранения, в ближайшие 10 лет
доля фитопрепаратов в объеме лекарственных средств составит около 60%.
Одним из наиболее продуктивных путей получения новых биологически
активных веществ, является извлечение соединений из растений.

Восточный Казахстана располагает таким разнообразием зональных и в особенности интразональных ландшафтов, что это не могло не отразиться на численности и видовом разнообразии растительного и животного мира. Из 3000 видов растений, произрастающих в Казахстане, в Восточном Казахстане - 1954 вида высших сосудистых растений, относящихся к 112 семействам и 617 родам.

6. Основные результаты работы.

Исследования относятся к химии и фармакологии, новых иммуномодулирующих средств.

Задачей исследований является разработка способа получения комплекса обладающим иммуномодулирующим действием из растительного сырья *Восточного коровяка* (*Verbascum Orientale*).

Растительное сырье экстрагируют 80%-ным этиловым спиртом при соотношении к экстрагенту при комнатной температуре. Экстракцию повторяют дважды. Объединенный экстракт концентрируют и последовательно экстрагируют гексаном, хлороформом, этилацетатом и н-бутанолом; бутанольный экстракт концентрируют досуха на ротаторном испарителе при температуре 40-45°C, где позволяют выделить комплекс веществ (фенилпропаноиды, флавоноиды), что повышает иммуномодулирующую активность экстракта.

В результате, были разработаны способы получения биологического активного вещества из надземной части растения восточного коровяка (*verbascum orientale*). Так же разработан способ определения иммуномодулирующей активности бутанольного экстракта по зоне задержки роста тест-культуры в миллиметрах.

7. Указанные результаты использованы

Результаты научно-исследовательской работы *докторанта (PhD) Ж.Б. Мукажановой* внедрены (использованы) в учебном процессе на кафедре химии в 2021-2022 учебном году:

1. «Химия природных соединений» для ОП 6В01504 –Химия и 6В01507-Химия-Биология, лекции (3 часа): тема «Технология переработки растительного сырья и изучение состава растений, произрастающих в Восточном Казахстане (Коровяк восточный)». Лабораторные работы (8 часов): тема «Определение качественного и количественного состава основных действующих биологический активных веществ разработанным биологически активным комплексе. Влияние на выход биологического активного комплекса соотношений: сырье-растворитель, кратность экстракций, времени, температуры, подбор растворителя, определение количественного содержания биологически активных веществ в исследуемом фитопрепарате»

2. «Химия и технология природных соединений» для ОП 7М05302 – Химия, внедрена (использована) в раздел лекций: «Химия фенилпропаноидов (флавоноидов), технология выделения биологического активного комплекса и их иммуномодулирующим действием (4 часа)».

Результаты исследования *докторанта (PhD) Ж.Б. Мукажановой, PhD доктора Ибраевой М.М., доцента Б.К. Ескалиевой* изложены следующих охранных документах:

1. Мукажанова Ж.Б., Ибраева М.М., Кабдысалым К., Ескалиева Б.К., Ахмет Б. Способ получения комплекса, обладающего иммуномодулирующим действием» Патент (на полезную модель) №63342021/0358.2

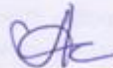
2. Zh.B.Mukazhanova, M.M. Nykmukanova, K. Kabdysalym, B. K. Eskalieva, Ahmet Beyatli FLAVONOIDS FROM Verbascum marschallianum AND V. orientale // Chemistry of Natural Compounds, - 2019.-Vol. 55,-Iss.-P.937-938(Q4 IF=0,567)

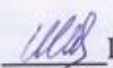
Химические исследования биологически активных комплексов, полученных из растительных объектов Восточного Казахстана (из некоторых видов растений рода Коровяк) выполнены в 2018-2021 годах в рамках диссертационной работы докторанта на тему «*Исследование химического состава и биологической активности некоторых видов растений семейства Норичниковых (Scrophulariaceae)*».

8. Эффект от внедрения (использования) результатов:

В настоящее время одним из наиболее актуальных вопросов в области медицины является возможность замены синтетических препаратов к малотоксичным, безопасным и эффективным природным препаратам. Научно – технические результаты исследования имеют, важное значение при изучении способов получения биологически активных комплексов из растительного сырья. Внедрения (использования) результатов исследования в учебный процесс позволяет значительно улучшить качество подготовки студентов и магистрантов. Результаты исследования могут быть использованы в виде методических указаний в учебном процессе и для научно-исследовательских работ студентов и магистрантов.

Представители НАО «Восточно-
Казахстанский университет имени Сарсена
Аманжолова»:

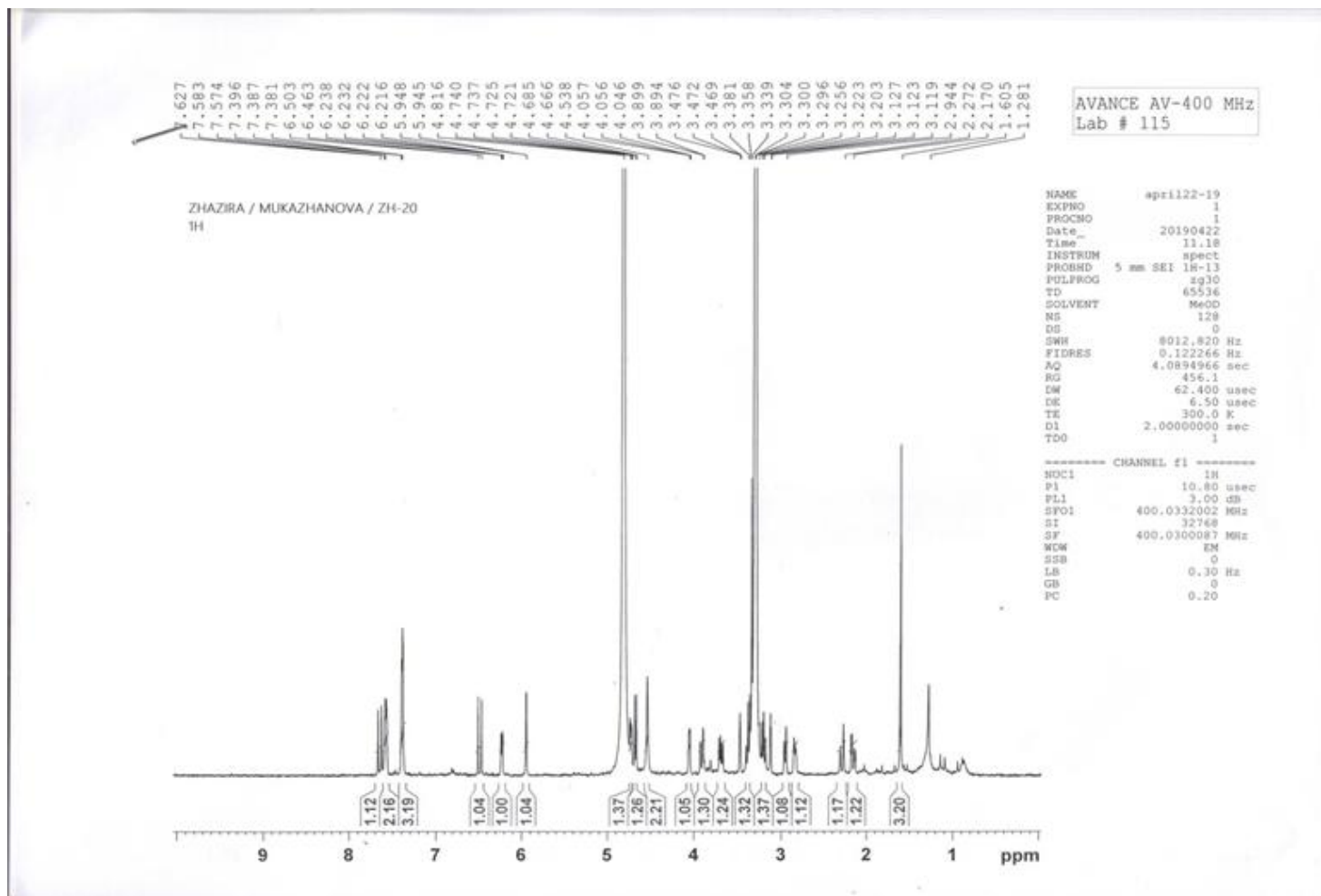
Декан ВШТЕН  Адиканова С.С.
подпись

Заведующий кафедрой
химии  Шаихова Б.К.
подпись

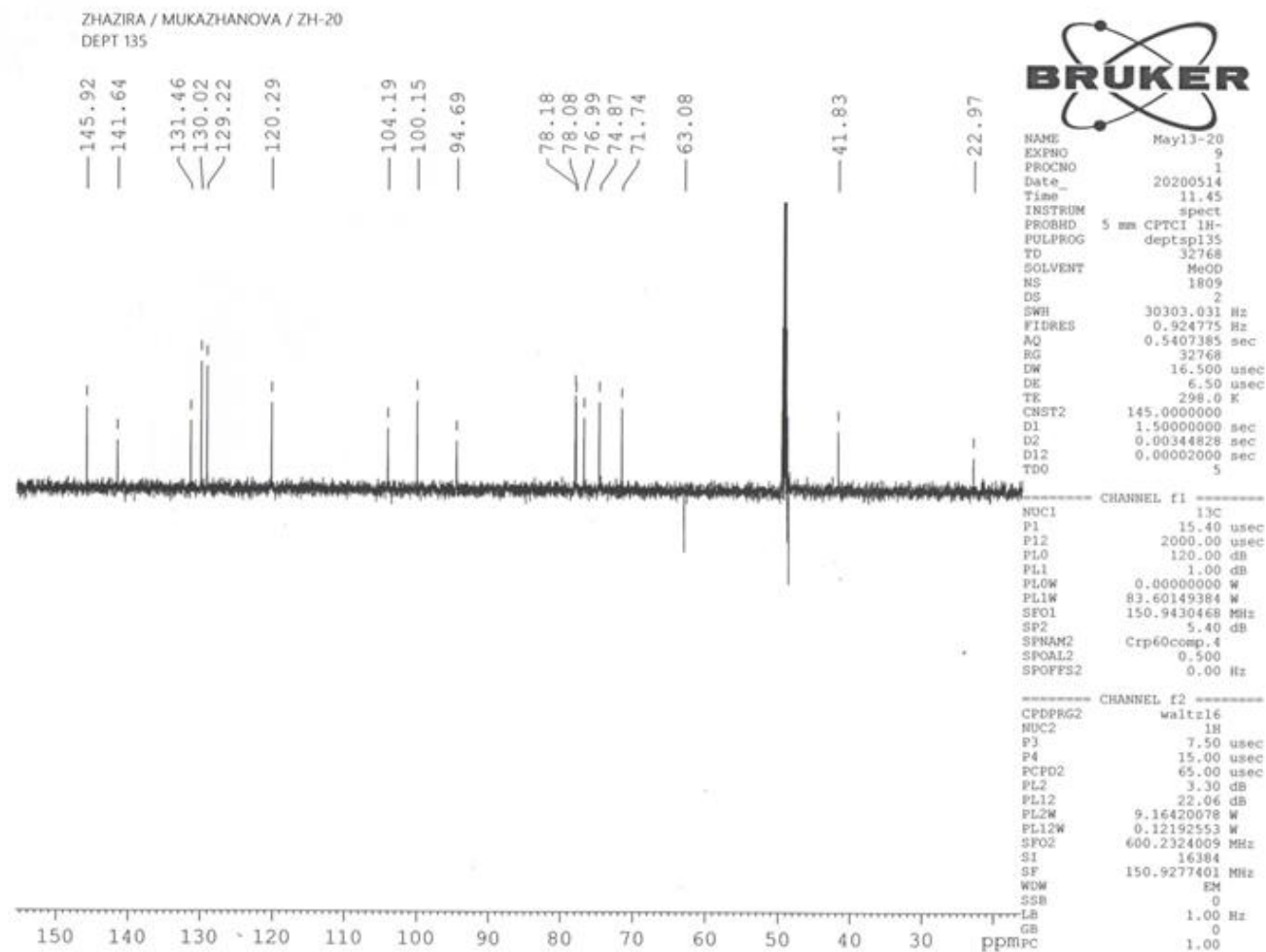
Научный руководитель
диссертационной работы  Ибраева М.М.
подпись

Автор работы (НИР)  Мукажанова Ж.Б.
подпись

ҚОСЫМША Б

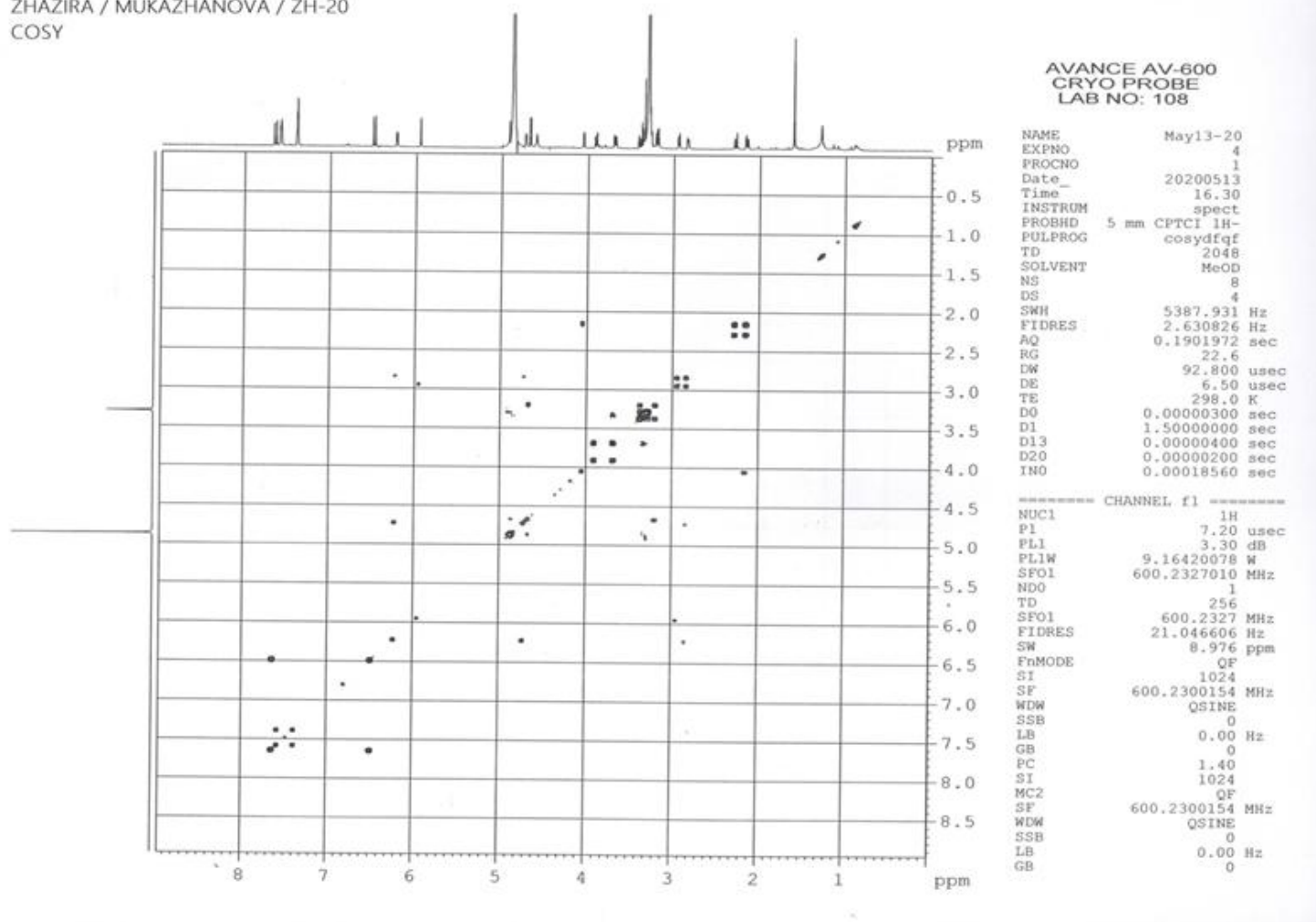


Б.1 - сурет – Латерозидтің ^1H ЯМР - спектрі (3 - зат)



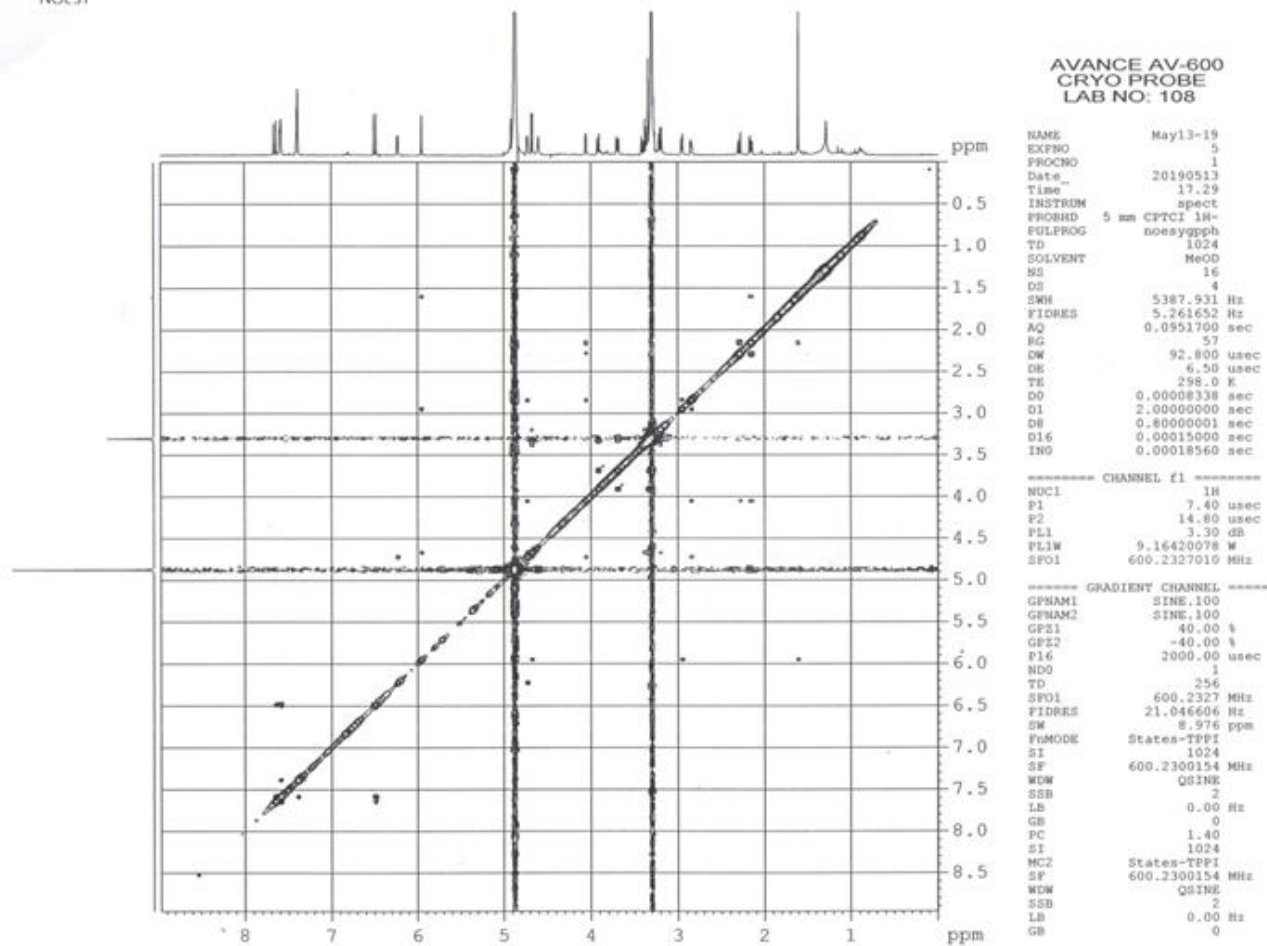
Б.2 - сурет – Латерозидтің DEPT 135спектрі (3 - зат)

ZHAZIRA / MUKAZHANOVA / ZH-20
COSY

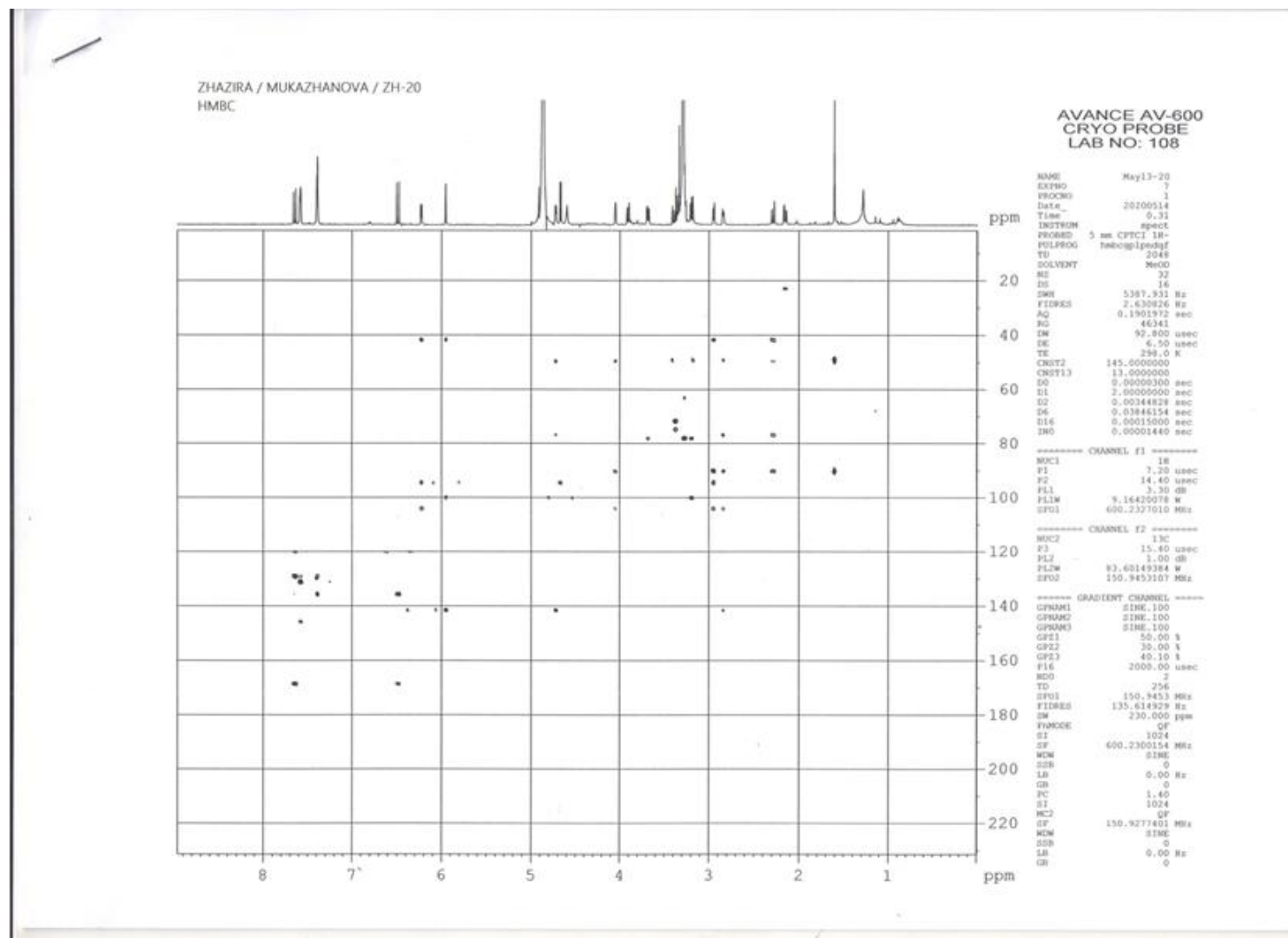


Б.3 - сурет – Латерозидтің COSY - спектрі (3 - зат)

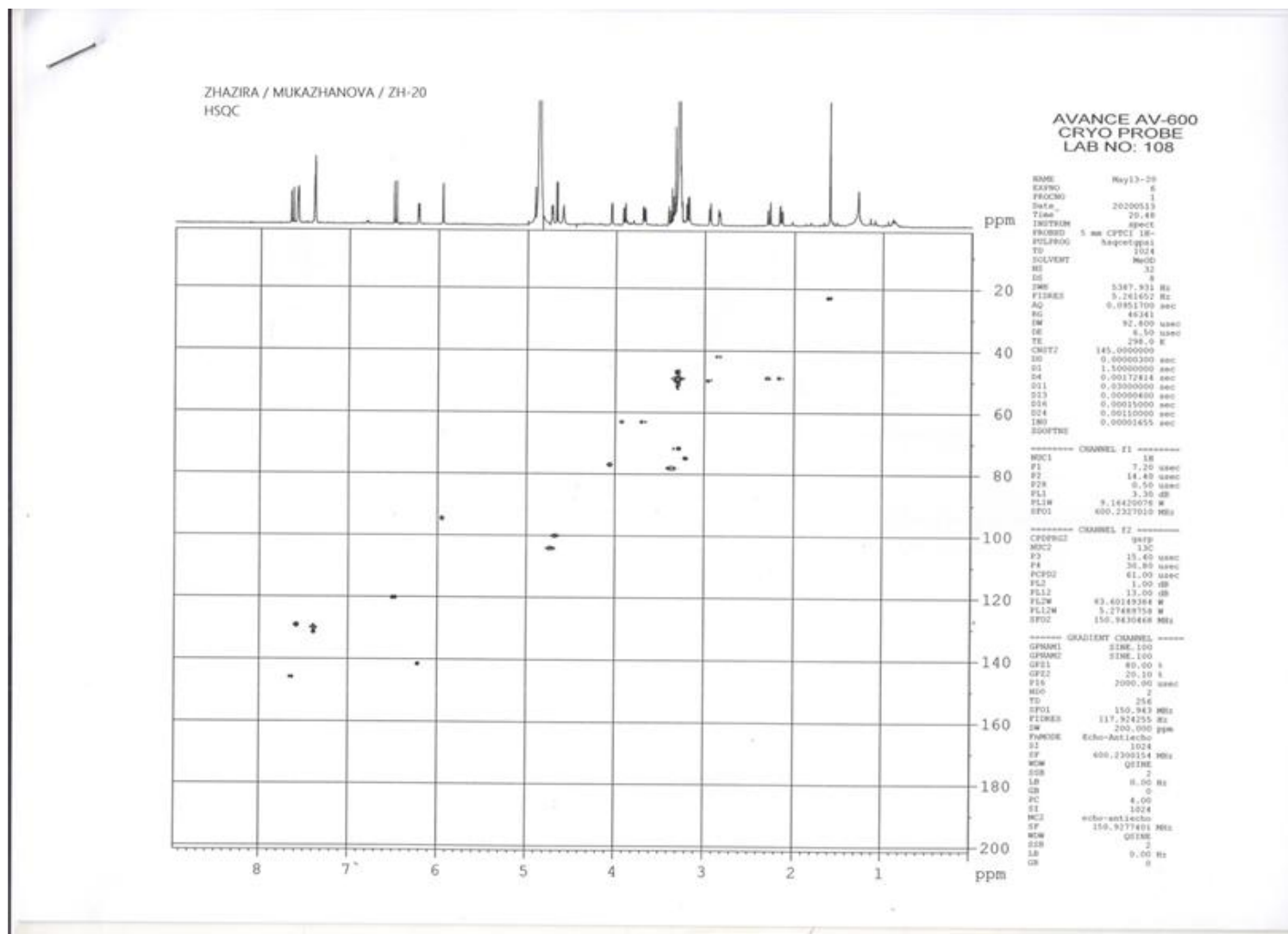
ZHAZIRA / MUKAZHANOVA / ZH-20
NOESY



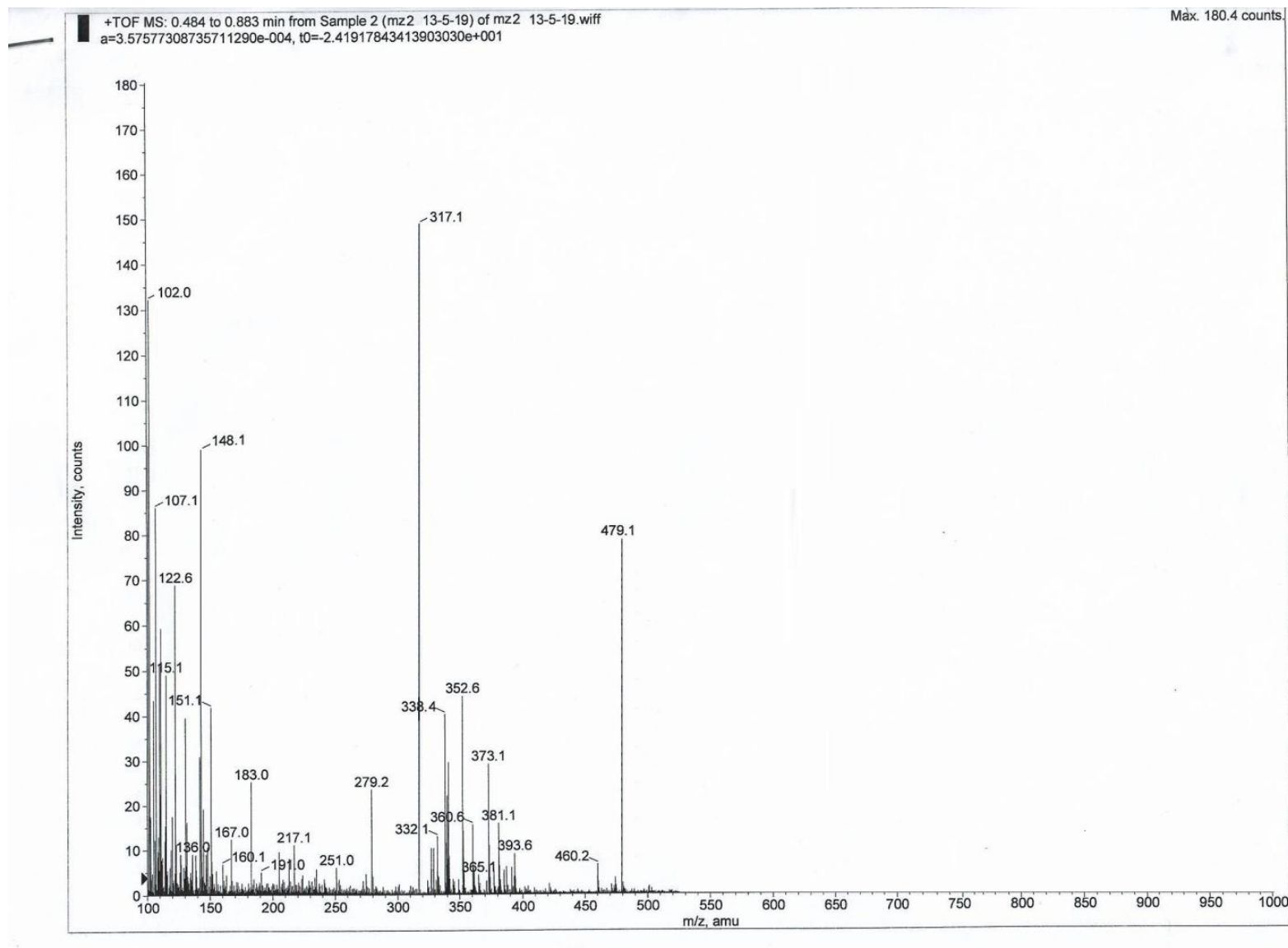
Б.4 - сурет – Латерозидтің NOESY - спектрі (3 - зат)



Б.5 - сурет – Латерозидтің НМВС - спектрі (3 - зат)

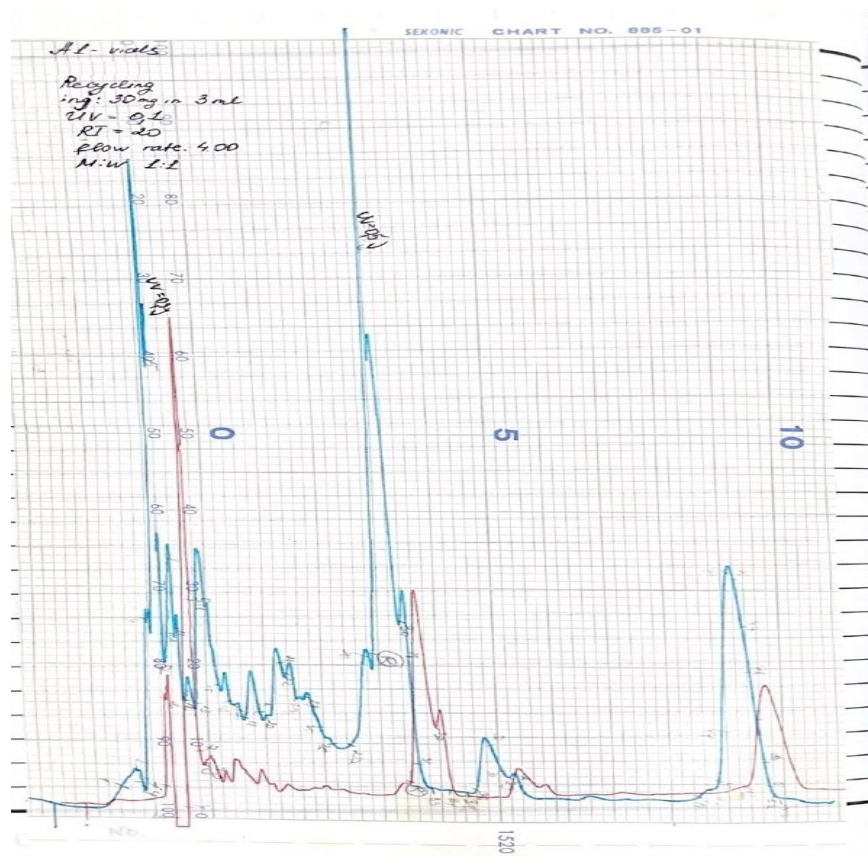


Б.6 - сурет – Латерозидтің HSQC - спектрі (3 - зат)

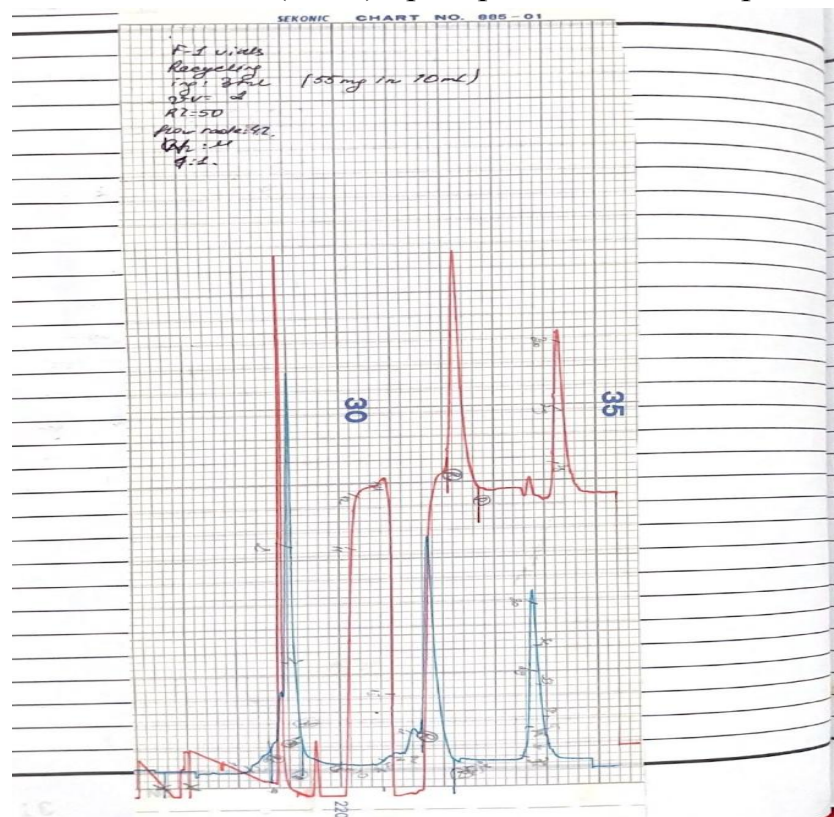


Б.7 - сурет – Латерозидтің ESI/MS спектрі (3 - зат)

ҚОСЫМША В



В.1 - сурет – Лютеолиннің (1-зат) препаративті ЖЭСХ хроматограммасы



В.2 - сурет – Кверцетиннің 3-O- α -L-рамнопиранозил-7-O- β -D-глюкопиранозидінің (11-зат) препаративті ЖЭСХ хроматограммасы

ҚОСЫМША І



T.C.
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

ANTIBACTERIAL ACTIVITY

MATERIAL AND METHODS

Plant extracts

The plant extracts used in this study were coded as: Vd1, Vd2, Vd3, Vd4, Vp1, Vp2, Vp3, Vp4

Bacterial strains

The following eight strains were used in this study which included four Gram positive coccus strains, three of them were reference strains; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (used in determination of disinfectant activity test), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (used in determination of antibiotic susceptibility test), *Staphylococcus aureus* TS 77 (harbour QacA/B disinfectant resistant gene), and one was vancomycin resistant enterococcus (VRE) isolated from rectal swab of hospitalized patient. Also, three Gram negative bacilli which included two reference strains; *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (both used in determination of antibiotic susceptibility test), and one carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) strain isolated from rectal swab of hospitalized patient.

Determination of Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration of the plants extracts

The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest plant extract concentration to completely inhibit the visible growth of a microorganism after overnight incubation whereas Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was defined as the lowest concentration of plant extract that kill the microorganism. The MIC was determined by broth dilution method as described by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) with some modification (1). As briefly, all strains were cultured on tryptic soy agar (OXOID, Turkey) and aerobically incubated at 35 ° C for 24 hours. Then the bacterial cultures were suspended into sterile saline (0.85% NaCl) and adjusted to 0.5 McFarland turbidity (10^8 cfu/mL). We used 96-well, round-bottom microtiter included negative controls (medium with plant extract only) and positive controls (medium with bacteria only) and 10 serial twofold dilutions of each six plant extracts ranging from 9.765-5000 µg/mL with a final concentration of the bacterial cell suspension equal to 1×10^5 colony forming units per milliliter (CFU/mL). All inoculated plates were incubated as mentioned above. MICs were evaluated after 24 hours. MBCs were performed by subculturing of 10 µl from all wells which exhibited no visible growth (concentration equal or higher than of MICs) on Mueller Hinton agar-free plant extract (OXOID, Turkey) and incubated as mentioned above. MBCs were evaluated after 24 hours (2). Tests were repeated twice or more and mean values were reported.

Results and Discussion

In this preliminary study, all suppressed any antibacterial effect against the tested strains. all extracts had different effects on the strains. It was found that the MICs of Vd3 and Vp3 for *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633 and VRE are 1250 mcg/mL, 625 mcg/mL, 625 mcg/mL and 312.5 mcg/mL, respectively. MBCs of the same extract have shown their ability to kill all the aforementioned strains at concentrations of 2500 mcg/mL, 625 mcg/mL, 625 mcg/mL and 1250 mcg/mL, respectively. On the other hand, the Vd4 and Vp4 microflora for *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 and VRE were 625 micrograms/mL, 1250 micrograms/mL, 625 micrograms/mL and 312.5 micrograms/mL, respectively. MBC Vd3 and Vp3 for the previously mentioned strains were 5000 mcg/mL, 2500 mcg/mL, 2500 mcg/mL and >5000 mcg/mL, respectively. Comparison between MBCs of these extracts showed the superiority of Vd3 and Vp3 (625 mcg/mL) in

the fight against *P.aeruginosa* strain and Vd4 and Vp4 (5000 mcg/ml) in the destruction of *S.aureus* strains. All Vd3 and Vp3 and Vd4 and Vp4 can be used to kill spore-forming bacteria such as *Bacillus Anthracis* and *Clostridium* spp., such as *Clostridium difficile* and *E.coli* infections. Vd3 and Vp3 can also be used in handwashing products to eliminate VRES that are transmitted through the hands of medical professionals and cause outbreaks. Vd3 and Vp3 and Vd4 and Vp4 are candidate substances for the treatment of *P.aeruginosa* and *S.aureus* infections, respectively. Additional tests are needed, especially with clinical strains (see Table 1 and Table 2)

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of various plant extracts against different strains

Bacteria	MIC µg/mL							
	Vd1	Vd2	Vd3	Vd4	Vp1	Vp2	Vp3	Vp4
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	312.5	R	R	625	312.5	R	R	625
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>S.aureus</i> TS 77	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>E.coli</i> ATCC 25922	R	R	1250	1250	R	R	1250	1250
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	312.5	R	625	R	312.5	R	625	R
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	R	625	625	625	R	625	625	625
Carbapenem resistant <i>K.pneumoniae</i> (CRKP)	R	625	R	R	R	625	R	R
Vankomycin resistant enterococci (VRE)	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5	312.5

Abbreviation; R; strain resistant to high tested plant extract concentration 5000 µg/mL.

Table 2. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of various plant extracts against different strains.

Bacteria	MBC µg/mL			
	Vd3	Vd4	Vp3	Vp4
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	NT	5000	NT	5000
<i>E.coli</i> ATCC 25922	2500	2500	2500	2500
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	625	NT	625	NT
<i>B.subtilis</i> ATCC 6635	625	2500	625	2500
Vancomycin resistant enterococci (VRE)	1250	>5000	1250	>5000

Abbreviation: NT; not tested because MIC value was not available being resistant to high tested plant extract concentration 5000 µg/mL.

A. Beyatli

Ph.D. Ahmet BEYATLI

Head of Department of Medicinal and Aromatic Plants University
of Health Sciences

