Казахский национальный университет им. аль-Фараби

УДК 547: 577: 576 На правах рукописи

ИХСАНОВ ЕРБОЛ САГИНОВИЧ

Исследование физико-химических свойств и биологической активности веществ, полученных из культуры клеток

6D060600- Химия

Диссертация на соискание ученой степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:
Абилов Ж.А. , доктор химических наук, профессор КазНУ имени аль-Фараби

Чоудхари М.И.,
доктор химических наук,
профессор Университета Карачи

Подпись соискателя_____

Республика Казахстан
Алматы, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

	НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
	ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
	ОПРЕДЕЛЕНИЯ	6
	ВВЕДЕНИЕ	7
1	**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**	13
1.1	Общая характеристика лекарственного растительного сырья	13
1.2	Биотрансформация биологически активных веществ	14
1.2.1	Выбор микроорганизмов, способных производить модификацию.	15
1.2.2	Типы реакции биотрансформации	17
1.2.3	Сульфоксидирование	26
1.2.4	Эпоксидирование	28
1.2.5	Окисление Байера-Виллигера	29
1.2.6	Дерацемизация	29
1.2.7	Стерео- и энантиоселективное восстановление кетонов	30
1.2.8	Смешанные реакции	35
2	**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**	36
2.1	Разработка оптимальной технологической схемы выделения условного фитопрепарата из надземной части *Tamarix hispida*	36
2.2	Исследование субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом ВЭЖХ	37
2.3	Исследование липофильных компонентов субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом хромато-масс-спектрометрии	37
2.4	Исследование гидрофильных компонентов субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом масс-спектрометрии	37
2.5	Метод определения биологической активности с использованием 96 местного планшета	37
2.6	Определение противогрибковой активности фитопрепаратов методом растворения в агаровой трубке	38
2.7	Определения цитотоксичности	39
2.8	Определение показателя ЛД 50 на ракообразных рода *Artemia salina*	40
2.9	Определение рострегулирующей способности	41
2.10	Определение противоспалительной активности	41
2.11	Подготовка ферментационной среды для биотрансформации	42
3	**РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ АНАЛИЗ**	45
3.1	Определение доброкачественности надземной части *Tamarix hispida семейства Tamaricaceae*	45
3.2	Минеральный состав сырья и полученной субстанции	47
3.3	Химический состав надземной части *Tamarix hispida* и полученной субстанции	49
3.3.1	Количественный химический состав надземной части *Tamarix hispida*	49
3.3.2	Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix*	51

hispida, полученный в растворах этанола
3.3.3 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix hispida*, полученный в растворе гексана 58
3.3.4 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix hispida*, полученный в растворе хлороформа 60
3.3.5 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix hispida* полученный в растворе дихлорметана 64
3.3.6 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix hispida*, полученный в растворе бутанола 65
3.3.7 Анализ химического состава водной фракции экстракта надземной части *Tamarix hispida* 67
3.4 Биологическая активность экстракта *Tamarix hispida* 68
3.4.1 Цитотоксичская активность экстракта *Tamarix hispida* 68
3.4.2 Противогрибковая активность экстракта *Tamarix hispida* 70
3.4.3 Инсектицидная активность экстракта *Tamarix hispida* 72
3.4.4 Противобактериальная активность экстракта *Tamarix hispida* 74
3.4.5 Рострегулирущая активность экстракта *Tamarix hispida* 75
3.4.6 Миеломодулирующая активность экстракта *Tamarix hispida* 77
3.4.7 Противовоспалительная активность экстракта *Tamarix hispida* 78
3.5 Процесс получения биотрансформированного фитопрепарата на основе субстанции полученной из надземной части растения *Tamarix hispida* 79
3.6 Биологическая трансформация субстанции, полученной из надземной части растения *Tamarix hispida* 82
3.6.1 Условия биотрансформации и список организмов, использованных при трансформации субстанции, полученной из надземной части растения *Tamarix hispida* 82
3.6.2 Определение химического состава продуктов реакции биотрансформации в бутанольной фракции 83
3.6.3 Определение химического состава продуктов реакции биотрансформации в водной фракции 85
3.7 Определение биологической активности продуктов реакции биотрансформации в бутанольной фракции 88
3.7.1 Определение противораковой активности продуктов реакции биотрансформации 88
3.7.2 Определение противовоспалительной активности продуктов реакции биотрансформации 89
3.7.3 Определение противобактериальной активности продуктов реакции биотрансформации 91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 99
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 102
ПРИЛОЖЕНИЯ 125

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Государственная фармакопея Республики Казахстан. I том изд. – Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008. – 592.с.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. II том изд. – Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2009. – 803с.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. III том изд. – Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2014. – 872с.

ГОСТ 2.105-95 Единая система конструкторской документации

ОФС 42-0055-07 Общая зола

ОФС 42-0056-07 Сульфатная зола

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие сокращения и обозначения:

БАВ	– биологически активные вещества
БХ	– бумажная хроматография
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ВЭЖХ-МС	– высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектором
IC_{50}	– 50% ингибирующая концентрация
ГХ	– газовая хроматография
ГХ-МС	– газовая хроматография с масс-селективным детектором
ЖЖХ	– жидкостно-жидкостная хроматография
in vitro *in vivo*	– технология выполнения эксперимента, когда опыты проводятся внутри и вне живой ткани
ЛС	– лекарственное средство
НА	– нейтрализующий агент
НД	– нормативная документация
СДЯВ	– сильнодействующие ядовитые вещества
СО	– стандартный образец
ТСХ	– тонкослойная хроматография
ТЭА	– триэтаноламин
УФ-свет	– ультрафиолетовый свет
УФ-спектр	– ультрафиолетовый спектр
ЦНС -	– центральная нервная система

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Действующие вещества – группа (группы) биологически активных веществ, ответственная (ответственные) за фармакологическую активность субстанции и всех лекарственных форм, получаемых на их основе.

Доброкачественность лекарственного растительного сырья – соответствие качества сырья техническим требованиям. К ним относятся: количественные показатели: содержание действующих веществ, влажность, зольность, экстрактивные вещества, а также внешний вид, количество и качество примесей.

Лекарственное растительное сырье – лекарственные средства, лекарственное растительное сырье, вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению с целью производства лекарственных препаратов или другой фармацевтической продукции или полуфабрикатов. Фактически к сырью относят все исходные материалы, поступающие в производство для переработки, с целью получения готового продукта или полуфабриката за исключением упаковочных материалов.

Фитопрепараты – это лекарственные средства, получаемые исключительно из растений или их экстрактов.

Экстрагент – растворитель, используемый для экстракции БАВ из растений.

Экстракция БАВ – процесс извлечения комплекса БАВ из растительного сырья при действии на него различными растворителями, отличающимися по полярности.

Биокатализ - ускорение химических реакций с помощью ферментов.

Питательная среда - среда, состоящая из питательных веществ и солей, благоприятная для выращивания клеточных культур

Мутагенез - внесение изменений в нуклеотидную последовательность ДНК (мутаций). Различают естественный (спонтанный) и искусственный (индуцированный) мутагенез. Также различают индуцированный случайный (воздействие неизбирательными мутагенными факторами, такими как гамма или ренгеновское излучение и направленный, где используются вещества способные вносить новые последовательности посредством рестрикции).

Биотрансформация – комплексное химическое превращение веществ посредством биологических объектов.

Клеточная культура — популяция клеток определенного вида микроорганизмов, растений или животных, выращенная in vitro в питательной среде.

Спора - зачаток растительного организма, служащий для размножения, а также зародыш у некоторых простейших животных.

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы

Данная работа посвящена изучению процесса биотрансформации субстанции, полученной из надземной части растения *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae,* с целью усиления биологической активности.

Оценка современного состояния решаемой задачи.

Биокатализ в настоящее время становится ключевым компонентом в химическом процессе для получения новых фармацевтических препаратов, промежуточных продуктов и аналитических реагентов. Большинство биокаталитических реакций можно проводить при определенных условиях безопасности для здоровья, окружающей среды и экономики. Способность биокатализа полностью раскрыть потенциал в фармацевтическом синтезе потребует снижения затратности методов и полной интеграции с химией. К тому же, методом скрининга был значительно расширен арсенал перспективных микроорганизмов и ферментов, и теперь они широко используются в промышленности. Скрининг ферментов в сочетании с современными биотехнологиями такими, как биохимия, клеточная инженерия и генная инженерия, проложит путь к широкомасштабному промышленному использованию микробных ферментов. В этом контексте синтез отдельных энантиомеров, лекарственных промежуточных продуктов и человеческих метаболитов приобретает все большее значение в фармацевтической промышленности. Биокатализ открывает обширные перспективы для высокоселективного синтеза сложных биологически активных веществ, используемых в фармации, при этом отвечая полностью принципам зелёной химии. Преимуществом биокатализа является то, что катализируемые ферментом реакции являются стереоселективными и региоселективными и могут проводиться при температуре окружающей среды и атмосферном давлении. Различные классы ферментов могут катализировать многие типы химических реакций и широкий спектр хиральных соединений. В течение последних десятилетий прогресс в биохимии, белковой химии, молекулярного клонирования, случайном и направленном мутагенезе, направленной эволюции биокатализаторов и технологии ферментации открыли неограниченный доступ к разнообразным ферментам и микробным культурам, которые могут быть использованы как инструменты в органическом синтезе. Следовательно, интеграция биокатализа и органического синтеза будет способствовать созданию новых синтетических стратегий и откроет новые технологические границы, как в фундаментальном, так и практическом плане [1,2].

Выбор в диисертационной работе *Tamarix hispida* семейства тамариксовые (*Tamaricaceae*) вызван тем, что вытяжки из данного растения обладают мочегонным, потогонным, вяжущим, обезболивающим и кровоостанавливающим эффектами. Настой цветков полезен при

заболеваниях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), отвар ветвей эффективен при болезнях суставов, настой из листьев и коры назначают для лечения диареи, кровотечения и заболевания селезенки. Веточки тамарикса заваривают и употребляют в качестве общеукрепляющего и тонизирующего средства [3-9].

Актуальность исследования

Создание собственной фармацевтической промышленности и скорейшее повышение доли отечественных лекарственных препаратов до 40-50 % обозначены в Постановлении Правительства Республики Казахстан за № 302 от 14.04.2010 года как первоочередные приоритеты экономического развития страны.

Для решения настоящей проблемы была создана Государственная программа о лекарственной политике страны, которая предусматривает внедрение высокоэффективных и доступных лекарственных средств, получаемых на основе отечественных сырьевых ресурсов. Несмотря на то, что в клинической практике используется целый ряд лекарственных препаратов в качестве иммуностимулирующих и противоспалительных средств, поиск и разработка новых эффективных лекарственных средств не прекращаются.

Особое внимание в этой Программе обращено на препараты, имеющие природное происхождение, например: полученных на основе лекарственных растений. Как правило, в отличие от синтетических, они более дешевые, не обладают кумулятивными свойствами.

При этом методы биокатализа позволяют модифицировать препараты, повышая их активность и биодоступность. Необходимо отметить, что модификация с использованием клеточных культур значительно дешевле чисто химических методов ферментативного катализа, так как не требует получения нативных ферментов, а использует ферменты, выделяемые клеточной культурой.

Степень разработанности проблемы

На кафедре химии и технологии органических веществ, природных соединений и полимеров Казахского национального университета имени аль-Фараби под руководством профессора Абилова Ж.А. были проведены научные исследования по определению химического состава полифенольных веществ и исследованию химического состава произрастающих в Казахстане растений рода *Tamarix – T. Ramosissima* (гребеньщик многоцветный) и *T. Hispida* (гребенщик щетинистоволосый).

Султановой Н.А. определено количественное содержание биологически активных веществ, разработана схема их выделения и разделения. Выделено 26 соединений. Идентифицировано 4 фенолокислоты. Выявлены вещества с антимикробной, фунгицидной, антиоксидантной, противоопухолевой активностью. Разработаны оптимальные условия выделения из солеустойчивых растений биологически активных метаболитов и

технологические блок-схемы их разделения. Выделены и идентифицированы аминокислоты, насыщенные и ненасыщенные карбоновые кислоты, углеводы. Хемотаксономическими маркерами растений являются пентациклические тритерпеноиды амиринового ряда, стероиды, флавоноиды и фенолокислоты. Комплексы биологически активных веществ и индивидуальные соединения из исследованных видов обладают антибактериальной, противогрибковой, антиоксидантной, антидиабетической, иммуномодулирующей, цитотоксической, фитотоксической, инсектицидной, росторегулирующей активностью. Индивидуальные тритерпеноиды олеанового ряда обладают антибактериальным действием. Рамназин проявляет высокую антиоксидантную активность. Тамариксин и изотамариксен обладают высоким ингибирующим эффектом на фермент альфа а-глюкозидазу. Феноксихроманы и кверцетин проявляют выраженную иммуномодулирующую активность [10,11].

Умбетовой А.К. проведено химическое изучение эугалофитов семейств *Chenopodiaceae* рода *Comphorosma* (C. *monsepeliacum*) и *Tamaricaceae* рода Tamarix (*T. laxa* и *T. elongata*). Установлено, что C. monsepeliacum содержит хромоны, тритерпеноиды олеанового ряда, гидролизуемые дубильные вещества, сульфаты флавоноидов. Идентифицированы жирные и аминокислоты. Определён минеральный состав зольных остатков. Разработана схема выделения и разделения биологически активных веществ. Выявлена антибактериальная, фунгицидная, антиоксидантная, антиамнезийная, антидиабетическая, рострегулирующая активность [12]

Вопросы биотрансформации рассмотрены в работах ученых Пакистана, США, Казахстана и др. При этом лидирующее положение в этом научном направлении занимает Центром химических и биологических наук Университета Карачи [13-24].

Так, проф. Чоудхари М.И. проведены обширные исследования по биотрансформации глюкопиранозидов, гормонов, терпенов и стероидов штаммами грибков *Rhizopus stolonifer, Fuscasium lini, Microphomina phaseoline, Glomerella fusarioides, Curvularia lunata, Cephalosporium aphidicola,* изучен химизм протекания биокаталитических процессов и установлена биологическая активность полученных продуктов [25-28]. Установлено усиление антибактериальной, ингибирующей активности.

Научная новизна

Научная новизна работы заключается в изучении процессов биотрансформации комплекса БАВ спиртового экстракта, полученного из надземной части растений вида *Tamarix hispida* под действием *Cunninghamella blakesleeana* ATCC8688A, *Microphomina phaseoline* KUCC 730, *Fuscasium lini* NRRL 2204, *Glomerella fusarioides* ATCC 9552, *Curvularia lunata* ATCC 12017, *Cephalosporium aphidicola* ATCC 28300, *Rhizopus stolonifer* TSY 047, *Guoclodium viride* ATCC 10097, а также в установлении и

сравнении его биологической активности с активностью исходного растительного экстракта.

Новизна исследования состоит и в изучении качественного и количественного химического состава, биологической активности продуктов биотрансформации.

Объекты исследования

Объектами исследования являлась исходная субстанция из надземной части растения *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* и продукты реакции биотрансформации, проведённые посредством следующих культур: *Cunninghamella blakesleeana* ATCC8688A, *Microphomina phaseoline* KUCC 730, *Fuscasium lini* NRRL 2204, *Glomerella fusarioides* ATCC 9552, *Curvularia lunata* ATCC 12017, *Cephalosporium aphidicola* ATCC 28300, *Rhizopus stolonifer* TSY 047, *Guoclodium viride* ATCC 10097.

Целью исследования является изучение процессов биотрансформации экстракта, получаемого из надземной части растений вида *Tamarix hispida*, и комплексное исследование продуктов реакции биотрансформации.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

1. Исследование качественного и количественного компонентного состава растительного сырья, а также полученной биокатализом субстанции, изучение биологической активности фракций, выделенных из субстанции, сопоставление исходного и конечного продукта реакций по химическому составу и биологической активности

2. Разработка и оптимизация технологической схемы выделения комплекса БАВ экстракта из растений вида *Tamarix hispida* и составление блок-схемы его получения.

2. Отработка технологии получения модифицированного методом биокатализа комплекса БАВ этанольного экстракта и разработка блок-схемы его биотрансформации.

Сведения о метрологическом обеспечении и методологическая база

Хромато-масс спектры летучих фракции веществ снимались на приборе Agilent Technologies 7000 GS/MS (США)

Хромато-масс спектры нелетучих фракций на приборе Agilent Technologies 6400 Series Triple Quadrupole LC / MS

Приборы, задействованные в работе, связанных с референсными базами спектров NIST и Wiley на базе центра химических и биологических наук Университета Карачи (Карачи, Пакистан)

Биологическая активность определялась на базе Центра молекулярных медицинских исследований лекарств имени доктора Паджаби (Dr. Panjwani Center for Molecular Medicine and Drug Research) - Карачи, Пакистан.

УФ спектры для определения количественного состава групп БАВ снимались на приборе Agilent Cary 60.

Положения, выносимые на защиту

-Определение химического состава и биологической активности исходной субстанции из растений вида *Tamarix hispida* и составление блок-схемы его получения

-Биокаталитическая трансформация позволяет получить множество соединений, нетипичных для исходного растительного объекта

-Представленная технология получения биомодифицрованного комплекса БАВ из исходной субстанции позволяет повысить ее биологическую активность.

Апробация работы

По результатам проведённых исследований опубликованы 3 статьи в журналах, рекомендуемых Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, 3 статьи в журналах, индексируемых в базах Scopus и Thomson Reuters (Clarivate Analytics), Полученные результаты представлены в виде докладов на четырёх международных конференциях.

Результаты работы были представлены на Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Аль-Фараби алемы» (2017); Международной конференции «Научный форум: медицина, биология и химия» (Москва 2018); Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Аль-Фараби алемы» 2017; на III Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Химические проблемы современности” (Донецк, 14-17 мая 2018г.).

Статьи в журналах, рекомендуемых Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан:

1 D. Samatkyzy, Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Analysis of some primary and secondary metabolites of the aerial part of tamarix hispida // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- С. 177-185

2 D. Samatkyzy, Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Analysis of cytotoxic activity and quantity of biologically active metals of the aerial mass of tamarix hispida // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- С. 194-199

3 Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Chemical composition and growth regulating activity of tamarix hispida substance // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- P. 40-46

Статьи в журналах, индексируемых в базах Scopus и Thomson Reuters (Clarivate Analytics):

1 Y.S. Ikhsanov Chemical compositional analysis of the tamarix hispida aerial part extract obtained in ethanol solutions of different concentration” // Journal of Applied Engineering Science. - 2018.-№ 16.- P. 233-241

2 Е.С. Ихсанов, Ж.А. Абилов, Н.А. Султанова, М.И. Чоудхари Исследование компонентов гексанового экстракта из растения гребенщик

методом газовой хроматографии // Изв. вузов. Химия и хим. Технология. - 2018.-№ 6.- С. 83-87

3 Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Study of the chemical composition of dichloromethane extract Tamarix hispida // Вестник Карагандинского университета. Серия «Химия». - 2018.-№ 89.- С. 8-13Тезисы докладов:

1.“Жер үсті бөлігіндегі *tamarix hispida* фитопрепарат негізіндегі трансдермальды дәрілік формалар” /Тезисы международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных аль-Фараби Алемы 2017;

2. “Новые полимерные материалы на основе карбопола для использования в фармацевтике” /Тезисы международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных аль-Фараби Алемы 2017;

4 Ихсанов Е.С., Чоудхари М.И., Абилов Ж.А., Султанова Н.А., Биотрансформация растительного экстракта с помощью glomerella fusarioides// Научный форум медицина биология химия. – 2018. №10.- С. 94-103

3 Ихсанов Е.С., Абилов Ж.А. Повышение биологической активности растительного фитокомплекса посредством биотрансформации // Тезисы докл. III Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых “Химические проблемы современности”. - Донецк, 2018.- 172 с

Теоретическая значимость исследования заключается в изучении закономерностей влияния различных биокаталитических процессов на химический состав и биологическую активность суммарных этанольных экстрактов растительного происхождения. Разработана блок-схема биомодификации комплекса БАВ растительного экстракта в суспензионных средах микроорганизмов с применением селективных питательных сред.

Практическая значимость

Этанольный экстракт, полученный из надземной части *Tamarix hispida*, содержит основные группы биологически активных веществ и отличается высокой биологической активностью. Однако при биологической модификации указанного экстракта удалось добиться повышения его противоспалительной и иммуностимулирующей активностей относительно доступными, малозатратными и экологичными методами, что в дальнейшем целесообразно использовать для получения новых эффективных лекарственных средств растительного происхождения на базе растительного сырья Казахстана.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика лекарственного растительного сырья

В данной работе в качестве лекарственного растительного средства были выбраны растения *Tamarix hispida Willd,* широко распространённые на территории Республики Казахстан и представляющие собой кустарники или небольшие деревца 1.5-4 (-6) м высотой. Молодые ветви красноватые или буровато-серые, густо покрыты чешуей. Листья растущих ветвей серовато-желтые, яйцевидно-ланцетные или узколанцетные, выпяченные, основания широкие и тупые, ушковые, полуампликсикальные, заостренные на верхушке. Вегетативные ветви от широко сердцевидно-яйцевидного до широко яйцевидно-ланцетного, густо опушенные, абаксиально поднятые, базовые аурикулированные, полуампликсикальные, заострённые, мукрановые, выгнутые. Диапозон размеров - 0,8-2,2 × 0,5-0,7 мм. Кисти от 2 до 7см., толщина 3-5 мм, терминалы на ветвях текущего года летом и осенью, сгруппированные в концевые, крупные плотные метелки. Прицветники узко треугольно-ланцетные или узколанцетные, 1-1,5 мм, с равными или иногда слегка превышающими чашечками, абаксиально поднятые у основания, край цельный, заострённый на вершине. Цветоножки 0,5-0,7 мм, короче или почти равны чашечке. Цветы 5-мерные, чашелистики округлые, по краю перепончатые, почти прозрачные, зубчатые, вершина слегка тупая или остроконечная. Тычинки 5, напротив чашелистиков, выпячены, вставлены на вершине дисковых лепестков; нити, утолщенные в основании; пыльники сердцевидные, вершины туповатые, часто апикулярные [29].



Рисунок 1 – Внешний вид надземной части *Tamarix hispida*

По данным публикаций в цветках *Tamarix hispida* содержатся флаваноиды, в коре стеблей – кумарины, циклитолы, а также фенольные кислоты установленной структуры, обнаружены алкалоиды. Листья *Tamarix hispida* используют при болезнях иммунной, пищеварительной системы, а также болезнях крови [30-33]. Известна антибактериальная активность растения. В народной медицине отвары из надземной части применяются при ревматизме, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, лечения воспалений ротовой полости. В обзоре Шармы имеются сведения о применении представителей семейства *Tamarix* в качестве антиоксидантного средства в косметических целях [34].

Представители семейства *Tamaricaceae* известны как источники алкалоидов, флавоноидов, сапонинов и гликозидов и других биологически активных веществ, поэтому многие виды используются в официальной и народной медицине в качестве стимулирующих, болеутоляющих, противовоспалительных и других средств.

Растения вида *Tamarix hispida* являются типичными представителями галофитов и содержат в составе все основные группы БАВ, описанные в литературе [35-104].

1.2 Биотрансформация биологически активных веществ

В течение последних десятилетий микробная трансформация была использована при внедрении различных функциональных групп в известные и хорошо зарекомендовавшие биологически активные вещества с целью повышения их терапевтической эффективности. Использование целых микроорганизмов и / или их ферментативных систем только для осуществления стереоспецифических и стереоселективных реакций приобретает все большее значение.

Грибы традиционно были одной из наиболее изученных систем для выделения микробных метаболитов, а также для реакций биотрансформации. Выделение грибов из окружающей среды вызвало интерес исследователей, было выявлено, что только очень немногие существующие виды грибов изучены в полной мере [105].

Воздействие грибов на объект происходит естественным заражением и дальнейшим развитием колоний микроорганизмов в окружающей среде, обеспечивающей благоприятные условия (наличие питательной среды, температурный режим и влажность).

Под воздействием веществ, выделяемых колониями микроорганизмов, возможно протекание множества химических процессов, наибольший интерес из которых представляют реакции гидроксилирования, окисления, восстановления, сульфоксидирования, эпоксидирования, Окисление линейных и циклических кетонов Байера-Виллигера, микробное стереоселективное биовосстановление или энантиоселективный гидролиз и многие другие [106].

Биокатализ стал все более ценным инструментом для синтетической химии. Разработка новых биокаталитических методов - постоянно растущая

область химии, микробиологии и генной инженерии, а также новые микроорганизмы и их ферменты являются предметом интенсивного скрининга. Часто реакции биотрансформации являются химио-, регио- и стереоселективными, производя широкий спектр тонких химических веществ, то есть посредников , лекарственных средств, пищевых добавок и агрохимических промежуточных продуктов [107].

Конкретное соединение модифицируется путем трансформации функциональной группы с деградацией углеродного скелета или без него. Эти модификации приводят к образованию новых и полезных продуктов, которые трудно или невозможно получить с помощью обычных химических методик [108].

Биотрансформация – альтернативный инструмент с большим потенциалом, особенно для разработки устойчивых технологий для производства биологически активных соединениий, то есть процессы биотрансформации отвечают всем критериям «зеленой химии». Однако количество и разнообразие методик по-прежнему скромны, учитывая большую доступность полезных микроорганизмов и широкий спектр реакций, которые они могут вызвать. Некоторые ограничения, такие как доступность ферментов, объем субстрата, и операционная стабильность могут быть преодолены недавним научным прогрессом в геномике, направленной эволюции ферментов и использовании биоразнообразия различных экосистем [109].

Кроме того, исследование биоразнообразия планеты с помощью биоинформатики и высокопроизводительного скрининга облегчает обнаружение, оптимизацию и доступность ферментов и активных клеток и подгоняется под требуемые условия процесса [110].

Реакции, проходящие по механизмам биокатализа, являются ключевыми в живых организмах, также они играют большую роль в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Реакции биокатализа также оказались полезными в асимметричном синтезе молекул с важными биологическими активностями [111].

Технология биотрансформации считается экономически и экологически конкурентоспособной при поиске новых соединений для их применения в фармацевтике и химической промышленности.

1.2.1 Выбор микроорганизмов, способных производить модификацию

Активные биокатализаторы обычно получают путем скрининга широкого спектра микроорганизмов. Предпочтение отдаётся наиболее широко распространённым видам микроорганизмов, как наиболее технологичным и доступным [112].

В природе существует множество мест, которые являются источником новых, перспективных видов микроорганизмов, способных вырабатывать ферменты для биокатализа [113].

В качестве источников перспективных микрорганизмов, способных осуществлять биотрансформацию, также расмматриваются биомы с

экстремальными условиями окружающей среды, а именно: геотермальные экосистемы и гидротермальные жерла, гиперсалиновые зоны переохлажденного морского льда. Они могут также привести к открытию новых ферментов, способных катализировать различные типы реакций [114].

Грибы традиционно были одной из наиболее изученных целых клеточных систем для выделения микробных метаболитов, а также для реакций биотрансформации. Выделение грибов из окружающей среды вызвало интерес исследователей, однако только очень немногие существующие виды грибов изучены в полной мере [115].

Воздействие грибов на растения происходит естественным заражением в окружающей среде, благоприятствующей росту, а именно высокой влажности и изолированности в купе с наличием достаточного количества питательных веществ [116].

Данный процесс может рассматриваться как первый шаг в понимании процессов биотрансформации вторичных метаболитов в растениях и активации специфических ферментов в грибах [117].

Патогенные и эндофитные грибы заслуживают отдельного внимания, присутствуя в растениях, они могут быть перспективными источниками биокатализаторов с многочисленными применениями [118].

Грибы имеют множество определений в литературе, термин эндофитный, в частности, применим для описания тех грибов, которые могут быть обнаружены в пределах здоровой растительной ткани-хозяина. Они могут обитать в тканях живых растений на протяжении всего или части их жизненного цикла [96].

Колонизация может быть внешне- или внутриклеточной, локализованной или системной это зависит ответда гриба, состояния акружающей среды или типа организма-хозяина [119].

Эндофиты вторгаются в ткань живых растений, вызывая инфекционные процессы. Патогенные грибы могут вызывать заболевания путем колонизации частей животных и растений внутри или снаружи. Патогенные грибы также могут проявлять длительные латентные периоды, бессимптомное для организма- хозяина [120].

Различия между патогенными и эндофитными грибами не очень ясны, и существуют штаммы, которые являются патогенными для одного вида растений, но без последствий обитают на представителях другого вида [121].

Патогенность и эндофитное поведение могут определяться единственным геномом [122].

Эндофитные грибы являются неисследованными или, по крайней мере, недостаточно изученными.

Как источник для микробных биотрансформаций эндофиты были упомянуты достаточно давно. Дебари впервые указал на разницу между эндофитами и фитопатогенами. Однако, только в конце прошлого века, в конце 1970-х годов, изучение эндофитов актуализировалось. Было установлено, что они могут защищать растения от нападения насекомых, болезней и травоядных животных млекопитающих. Кроме того, они могут

производить различные метаболиты, которые аналогичны веществам, варабатываемым растением-хозяином, и может также использоваться в процессах биотрансформации [123].

Важным примером является грибок *Taxomyces andreanea*, найденный внутри растения *Taxus Brevifolia*, который продуцирует таксол, комплекс противоопухолевого дитерпеноида, представляющий большой интерес для фармацевтической промышленности [124].

1.2.2Типы реакции биотрансформации

Процесс гидроксилирования включает прямое окисление C-H с образованием спирта [125]. Эти реакции могут иметь место в реакционных центрах, взаимодействие с которыми, применяя методы классического органического синтеза, является малоэффективным. Реакции микробиологического гидроксилирования очень хорошо изучены в терпеноидах [126-129].

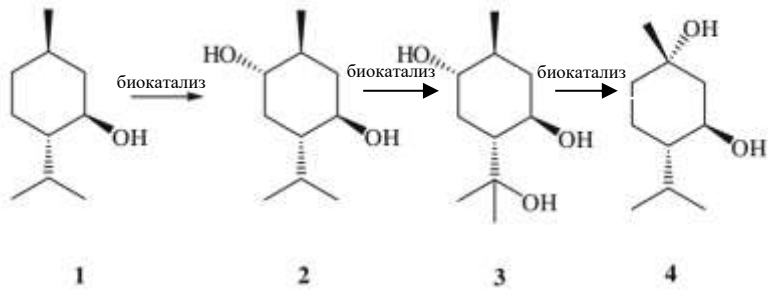
Терпены представляют собой большой и широко распространенный класс биологически активных вторичных метаболитов, используемых в пищевой и косметической промышленности. Они также полезны в качестве хиральных синтонов для химического синтеза [130].

Терпены, как правило, характеризуются высокой структурной сложностью, а это означает, что химический синтез или структурные изменения требуют реакций со стерео- и энантиоселективностью [131].

Микробные превращения оказались эффективной альтернативой классическим, методам синтеза в регио- и стереоселективной функционализации терпенов, часто приводя к более биологически активным продуктам [132].

L-ментол 1, используемый в косметической промышленности, субстрат для биотрансформации, проводится штаммами *Rhizoctonia solani*. Три штамма способны продуцировать продукты 2 (65,2%), 3 (32,4%) и 4 (18,4%), реакция 1 [133].

Реакция 1 – Биотрансформация L-ментола штаммами *Rhizoctonia solani*

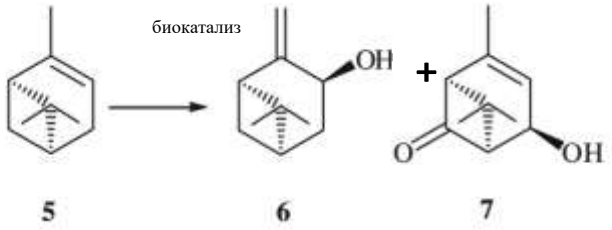


Другие монотерпены были биотрансформированы с использованием грибов *Rhizoctonia solani*.

Монотерпен (-)-α-пинен 5 (реакция 2) является основным компонентом многих ароматических растений и является важным компонентом многих

эфирных масел. Биотрансформация 5 с использованием *Botrytis cinerea* дала два соединения, 6 (10%) и 7 (16%) [134].

Реакция 2 – Биотрансформация (-) - α-пинена 5 *Botrytis cinerea.*

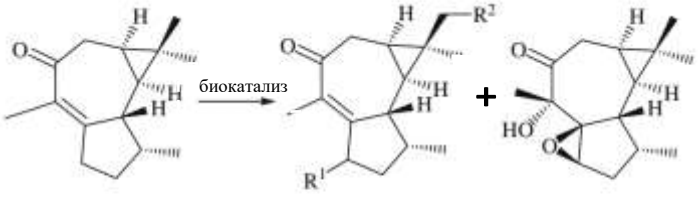


5 **6** **7**

Сесквитерпены широко используются в качестве субстратов биотрансформации. Продукты этих биотрансформаций, как правило, представляют собой гидроксилированные соединения [135, 136].

Сквамулозон 8 (реакция 4), сесквитерпен, выделенный в больших количествах из растений *Hyptis verticillata Jacq*., инкубировали с *Curvularia lunata* с получением стереоселективно гидроксилированных аналогов 9-12 [137]. Кроме того, соединение 12 стереоселективно гидроксилировалось и эпоксидировалось. Было найдено, что соединения 8-11 обладают инсектицидной активностью, но, к сожалению, 12 не была выделена в количествах, достаточных для биологического анализа [138].

Реакция 3 – Биотрансформация 8-меркамозы 8 *Curvularia lunata*

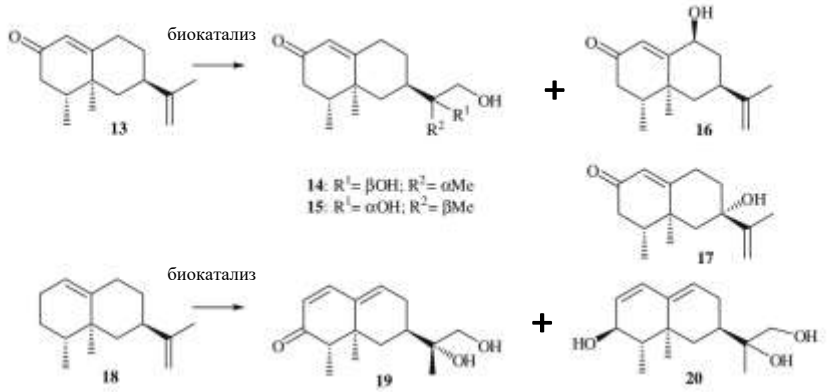


8 **12**

9: $R^1 = \alpha OH; R^2 = H$
10: $R^1 = \beta OH; R^2 = H$
11: $R^1 = \beta OH; R^2 = OH$

Биотрансформация 5,6-диметил-8-изопропенилбицикло[4.4.0]дец-1-ен-3-она, аромата грейпфрута, используемого в косметическом и текстильном производстве, (3R, 4aS, 5R) -4a, 5-Диметил-3-изопропенил-1,2,3,4,4a, 5,6,7-октагидронафталин, полученного из апельсинов, биотрансформация (3R, 4aS, 5R) -4a, 5-Диметил-3-изопропенил-1,2,3,4,4a, 5,6,7-октагидронафталина, была проведена используя *Aspergillus niger, Fusarium culmorum* и *Botryosphaeria dothidea*. Соединение 13 биотрансформировали *A. niger* в стереомеры 14 и 15 (выход 51,5%), в то время как *F. Culmorum* биотрансформировал 13 к продуктам 15 (47,2%) и 16 (14,9%) (реакция 4). Гриб *B. dothidea* показал наилучшие результаты для стереоселективного гидроксилирования вещества 13, выходом продуктов 14, 15 (54,2%) и 17 (20,9%). Биотрансформация 18 под воздействием *Aspergillus niger* привела к получению соединений 19 (1,5%) и 20 (2,0%) (реакция 4). Эти соединения используются в качестве эффективных ароматизаторов [139-142].

Реакция 4 – Биотрансформация нооткатона 13 и валенцена 18 *Aspergillus niger* и биотрансформация нооткатона 13 *Fusarium culmorum и Botryosphaeria dotidea*

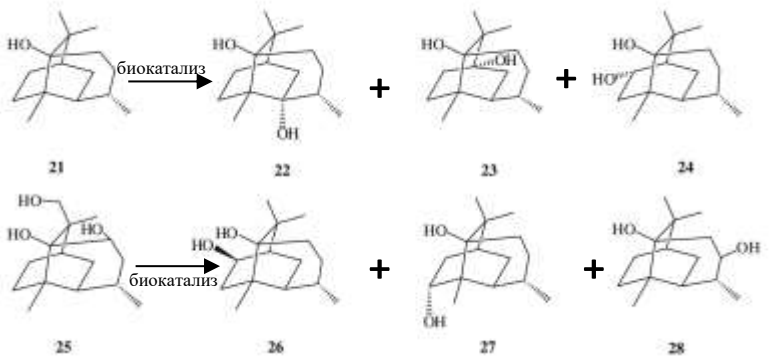


Сесквитерпеноиды природного происхождения октагидро-4,8a, 9 1,6-метанафталин-1 (2H) -ол, 1,4-этано-3aH-инден-3a-ол и Кедрол 34 проявляют противогрибковую активность против фитопатогенного гриба *B. cinerea.* Этот гриб способен биотрансформировать соединение 21, 22-28 и 29 в 30-33 в соотвествии с реакциями 5 и 6 .Соединение 34 также превращали *B.cinerea* в соединения 35-39,34 (реакция 7). Инкубация 34 с *C. lunata* в питательную систему из декстрозы картофеля, что привело к получению трех соединений 35, 36 и 43, а инкубация в среде пептон, дрожжевой экстракт, мясной бульон и глюкоза в воде к еще пяти продуктам 37-42. Ни один из продуктов биотрансформации не показал какой-либо значительной противогрибковой активности. Эти результаты могут способствовать дальнейшей разработке селективных противогрибковых соединений для контроля *B. cinerea*.

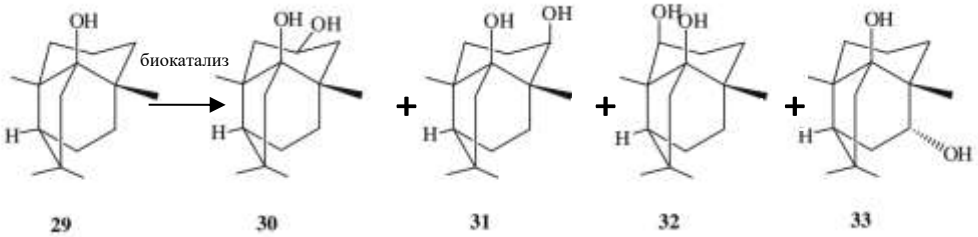
Биотрансформация четырех таксоновых дитерпеноидов по *Absidia Coerula* вызывает сильное регио- и стереоселективное гидроксилирование при 1b в 9a. Соединение 44 превращали в 1b гидроксилированный метаболит 45 (58%) и 9a-гидроксилированное производное 46 (8%). Соединения 47, 49 и 51 были гидроксилированы, давая метаболиты 48, 50 и 52 соответственно, но с низким выходом (реакция 8). Гидроксилирование таксоидов не было описано ранее, и эти результаты показывают, что оксидазы *A. Coerula* имеют высокую стереоселективность [143-152].

Коэрулодин – это дитерпеноидный паклитаксел, препарат, используемый для лечения рака. Было показано, что Триптолид 53, триэпоксид дитерпена, выделенный из триптергии вилфолин, эффективен при лечении аутоиммунных заболеваний и обладает мощным антилейкемическим и противоопухолевым видами активности. Он также был подвергнут биотрансформации [153-162].

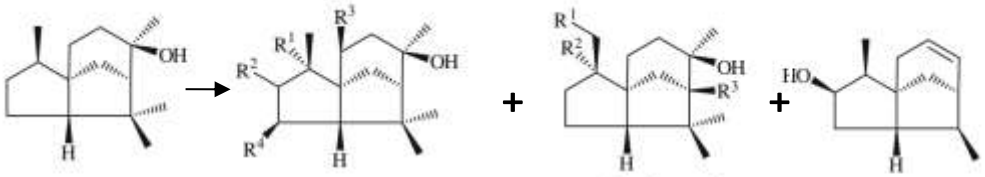
Реакция 5 – Биотрансформация 21 *Botrytis cinerea*.



Реакция 6 – Биотрансформация гинсенола 29 *Botrytis cinerea*



Реакция 7 – Биотрансформация цидролal 34 by *Botrytis cinerea* and *Curvularia lunata*



Cunninghamella blakesleana, давая 5α-гидрокситриптолид 54, 1 β гидрокситриптолид 55, триптодиолид 56, 19α-гидрокситриптолид 57, и 19 β - гидрокситриптолид 58.

Все новые биотрансформированные соединения проявляют сильную цитотоксичность *in vitro* в отношении линий опухолевых клеток человека KB, BGC823, MCF-7, Hela и HL-60.59. Стетерные дитерпеноиды производятся растениями из рода *Stemodia*. Эти дитерпеноиды привлекательны благодаря их структурному сходству с афидиколином, выделенным из некоторых грибковых культур и проявляющим противовирусные и противораковые свойства. Инкубация 13a, 17-дигидроксистеллодана 59 с *Mucor plumbeus* привело к выделению восьми гидроксилированных метаболитов 60-67, тогда как инкубация 13a, 14, дигидроксистеллодана 68 дала два гидроксилированных продукта в положениях 3b 69 и 2a 70. Позиция C-3, которая наиболее часто гидроксилируется этим микроорганизмом в дитерпеноидах, и она не зависит от абсолютной конфигурации субстрата. Стемодин 71, стемодион 75 и стемодион 77 были биотрансформированы *A. niger*. Инкубация из 71 с *A. niger* дали 2a, 3b, 13-тригидроксимоданон 72, 2a, 7b, 13-тригидроксимидодан

73 и 2a, 13,16b-тригидрокси-системан 74, а 75 биотрансформирован до 76 [163-182].

Биотрансформация 77 привела к появлению новых продуктов 7b, 18-Дигидроксисистемаран-19-овая кислота 78, 7a, 18,19-тригидрокси-системана 79 и 1 β -гидроксисистемаран-19-овая кислота. Продукты 61-80 в реакциях 8-12 представляют собой процессы биотрансформации энманоилоксидов, дитерпеноидов, что приводит к гидроксилированию участков молекулы, взаимодействие с которыми трудноосуществимы с применением традиционных методик органического синтеза. Субстрат этил-3b, 12a-дигидрокси-13-эпиманоилоксид 81 инкубировали с *Fusarium moniliforme*, получая продукт под номером 82 с выходом (35%). Химическое окисление 71 продуцирует вещество под номером 83, которое было биотрансформировано стереоселективно с применением *Gliocladium roseum* до продуктов 84 (19%) и 85 (7%).

Вследствие инкубации вещества 83 с *Rhizopus nigricans* были получены продукты реакции 85 (4%), 86 (13%) и 87 (14%) .

Продукт реакции 62 бетулиновая кислота 88 тритерпеноид, обнаруженный на многих растениях. Бетулоновая кислота 89 привлекла внимание, в ходе скрининга проявила потенциально высокую эффективность против аутоиммунных и онкологических заболеваний (реакции 8-10). Для получения биологически активных производных соединений 88 и 89 были биотрансформированы грибами *Colletotrichum sp. И Arthrobotrys sp*., Соответственно. *Colletotrichum Sp.* (Из кукурузных листьев), биотрансформированный 89-92 (1,72%) и (2,97%) и превращают 88-93 (2,34%). *Arthrobotrys sp*., Выделенные как эпифитный гриб из *Platanus orientalis*, Бетулиновую кислоту, трансформировали в 3-оксо-7 β гидроксилуп-20 (29) -ен-28-овую кислоту (90, 1,64%), 3-оксо-7 β -15адгидроксилуп-20 (29) -ен-28-овую кислоту (91, 0,62%) и 3-оксо-7 β, 30-дигидроксилуп-20 (29) -ен-28-овая кислота (92, 1,33%). (реакция 13).

Таким образом, биотрансформация метаболитов растительных микроорганизмов, выделенных из растений, могут увеличить вероятность получения новых производных продуктов. Биотрансформационные исследования получили больше внимания, поскольку развитие микробного гидроксилирования биоактивных стероидов или промежуточных продуктов для синтеза кортикостероидов 11 агидроксилирование прогестерона на одной микробной стадии с использованием *Rhizopus arrhizus* была описана в 1952 [183-188].

Эта реакция была очень важна для синтеза адренокортикальных гормонов (кортикостерон, кортизон и гидрокортизон) и предоставила интересные возможности для получения биоактивных производных (преднизон, преднизолон и триамцинолон) [189-193].

Гидроксилирование также имеет решающее значение для усиления биологической активности стероидов. Данная реакция была впервые зарегистрирована в 1953 году с использованием *Cunninghamella blakesleeana* и *C. lunata*. Кортексилон гидроксилировали в положении 11b, продуцируя

гидрокортизон с выходом 60-70% по *C. lunata*, более высокие выходы получаются при ацетилировании субстратов в положениях 17a и 21.81 [194-196].

Другие стероиды недавно были биотрансформированы грибами, при котором были образованы продукты реакций 82-91. Гидроксилирование 11b является ключевым структурным фактором для биоактивности стероидных препаратов. Эта реакция была достигнута в биотрансформации различных стероидных субстратов некоторыми грибами [197].

Кортексилон 94 превращали в гидрокортизон 95 с помощью четырех грибковых штаммов (два изолята *C. blakesleana, C. echinulata и C. lunata*) [198].

Кортексилон-21-ацетат 96 также биотрансформировали в ацетат гидрокортизона 97 (реакция 15) с использованием *C. blakesleana* ATCC 8688a83 и 16a, 17a-диметил-17- (1-оксопропил) андроста-1,4-диен-3-она 98 был биотрансформирован до римексолона (продукт реакции 99) с использованием *C. lunata* (реакция 17) [199] .

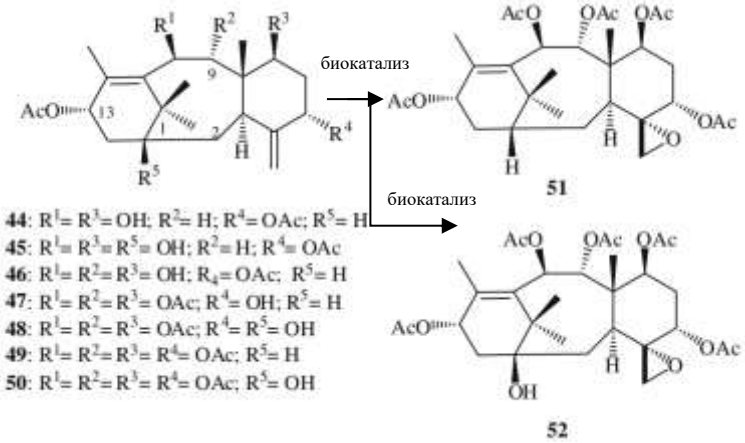
Продукт реакций номер 84 ресибуфогенин 100, цитотоксический стероид, показал сильную ингибирующую активность против клеток гепатомы человека Bel-7402, клеток рака желудка человека BGC-823 и карциномы шейки матки человека HeLa клеток с величинами IC50 0,13, 0,11 и 0,01 л моль / л, соответственно [200].

В постоянной работе по получению новых аналогов буфадиенолида с с большей цитотоксичностью, вещество 100 (реакция 18) было биотрансформировано *Mucor polymorphosporus*, получено 20 продуктов 101-120. Все эти продукты показали меньшую цитотоксичность по сравнению с исходным соединением, но эти результаты могли бы внести вклад в соотношение структура-активность в исследованиях по разработке новых фармацевтических препаратов [201].

Некоторые другие субстраты помимо терпенов стереоселективно биотрансформированы грибами. 92-105 (R) - (-) – метилокталон (вещество121) и (S) - (+) - метилокталон (вещество 122) подвергали биотрансформации *Chaetomium sp*. И *Didymosphaeria igniaria. Chaetomium sp.* Осуществили превращения вещества 121 в продукты 123-125 (30%, 50% и 6% соответственно). Кроме того, при использовании продукта 122 в качестве подложки, *Chaetomium sp*. Получаемые соединения 127-130 (60%, 20%, <5%, <5%, соответственно). *D. igniaria biotransformed* 121 к продуктам 123-126 (7%, 20%, 128% и 19% соответственно) и 122-128 (35%), 130 (14%) и 131 (11%) (реакция 15) продукта реакции 92. Виды *Botrytis* являются грибами, которые поражают многие виды растений, например, как морковь, виноград, салат, клубника и табак, производя различные заболевания пятнистости и мучнистой росы. Соединение (±) -1- (40-хлорфенил) пропан-1-ол проявил высокую противогрибковую активность против *B. cinerea*. (R) -энантиомер 132 инкубировали с *B. cinerea*, чтобы лучше понять возможный механизм детоксикации грибов. Гидроксилированные продукты 133 и 134 были получены. Противогрибковые анализы показали, что

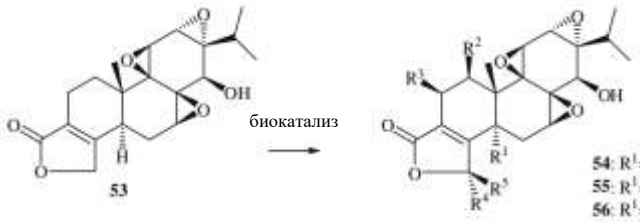
биотрансформированные продукты менее токсичны для роста гриба, чем 132. Поэтому у *B. cinerea* есть механизм для детоксикации соединения 132 путем гидроксилирования различных положений этой молекулы (реакции 19-20) [202-213].

Реакция 9. Биотрансформация 13a, 17-дигидрокси-stemodane 59 и 13a, 14, дигидрокси-стемодан 68 по *Mucor plumbeus*.



44: R^1= R^3= OH; R^2= H; R^4= OAc; R^5= H
45: R^1= R^3= R^5= OH; R^2= H; R^4= OAc
46: R^1= R^2= R^3= OH; R_4= OAc; R^5= H
47: R^1= R^2= R^3= OAc; R^4= OH; R^5= H
48: R^1= R^2= R^5= OAc; R^4= R^5= OH
49: R^1= R^2= R^3= R^4= OAc; R^5= H
50: R^1= R^2= R^3= R^4= OAc; R^5= OH

Реакция 10. Биотрансформация stemodin 71 по *Aspergillus Niger*.



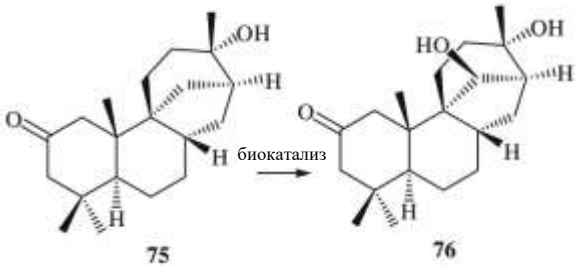
54: R^1= OH; R^2= R^3= R^4= R^5= H
55: R^1= R^3= R^4= R^5= H; R^2= OH
56: R^1= R^2= R^4= R^5= H; R^3= OH
57: R^1= R^2= R^3= R^5= H; R^4= OH
58: R^1= R^2= R^3= R^4= H; R^5= OH



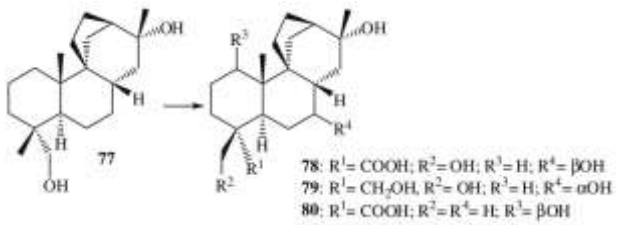
59: R^1= H; R^2= OH
68: R^1= OH; R^2= H

60: R^1= R^9= OH; R^2= R^3= R^4= R^5= R^6= R^7= R^8= H
61: R^1= R^3= R^4= R^5= R^6= R^7= R^8= H; R^2= R^9= OH
62: R^1= R^3= R^9= OH; R^2= R^4= R^5= R^6= R^7= R^8= H
63: R^1= R^2= R^9= OH; R^3= R^4= R^5= R^6= R^7= R^8= H
64: R^1= R^4= R^9= OH; R^2= R^3= R^5= R^6= R^7= R^8= H
65: R^1= R^2= R^3= R^4= R^6= R^7= R^8= H; R^5= R^9= OH
66: R^1= R^2= R^3= R^4= R^7= R^8= H; R^5= R^6= R^9= OH
67: R^1= R^7= R^9= OH; R^2= R^3= R^4= R^5= R^6= R^8= H
69: R^1= R^8= OH; R^2= R^3= R^4= R^5= R^6= R^7= R^9= H
70: R^1= R^2= R^3= R^4= R^6= R^7= R^9= H; R^5= R^8= OH

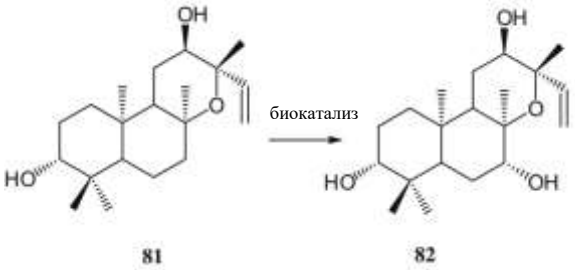
Реакция 11. Биотрансформация стволодинона 75 *Aspergillus niger*



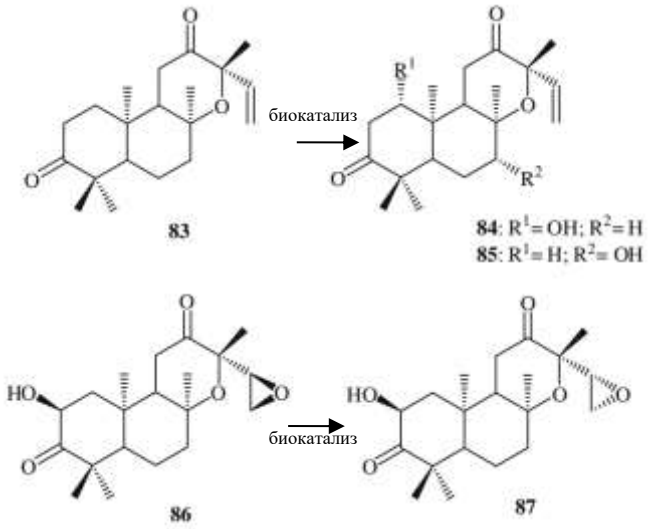
Реакция 12. Биотрансформация стволовых клеток 77 *Aspergillus niger*.



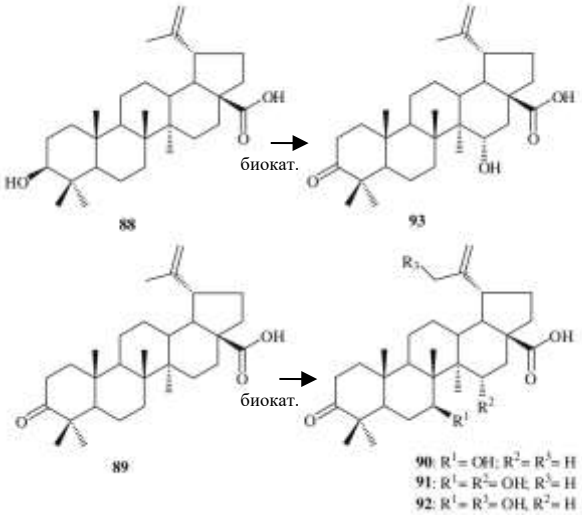
Реакция 13. Биотрансформация эн-3b, 12a-дигидрокси-13-эпиманоилоксида 81 по *Fuzirarium moniliforme*.



Реакция 14. Биотрансформация эн-3,12-диоксо-13-эпиманоильного оксида 83 по *Gliocladium roseum u Rhizopus nigricans*.

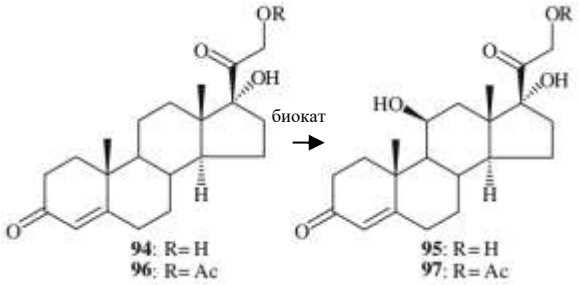


Реакция 15. Биотрансформация бетулоновой кислоты 89 *Arthrobotrys sp*.



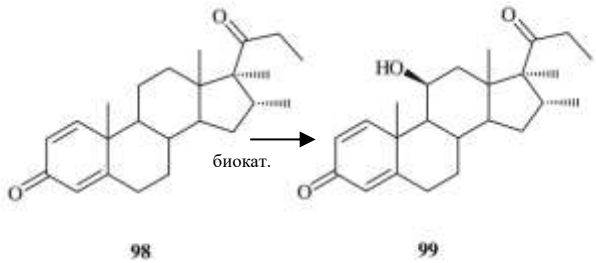
Биотрансформация бетулиновой кислоты 88 и бетулоновой кислоты 89 *Colletotrichum sp.*

Реакция 16. Биотрансформация кортиколона 94 в гидрокортизон 95 с использованием четырех

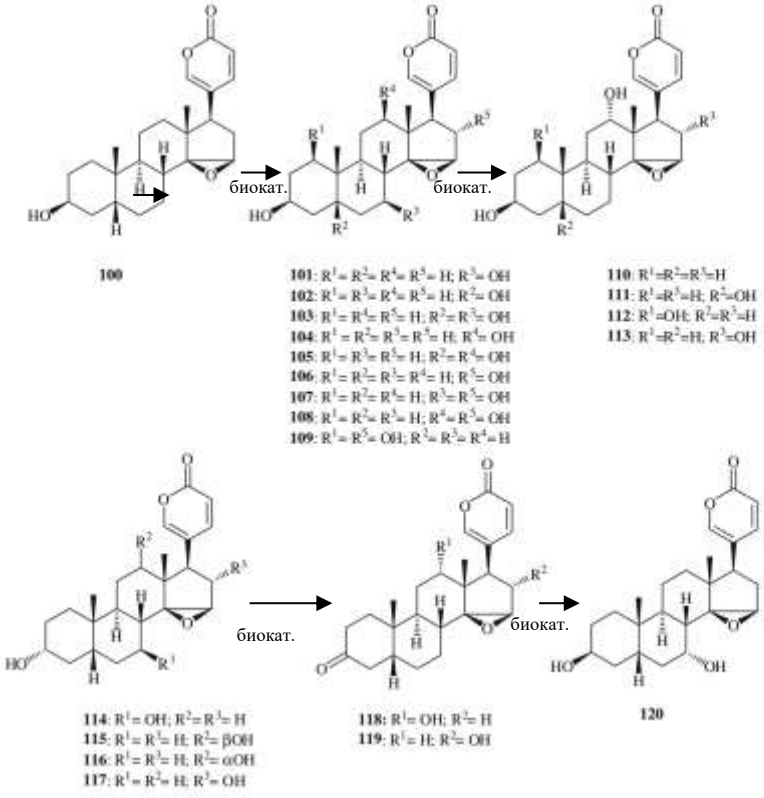


Грибы (два изолята *Cunninghamella blakesleana, C. echinulata и Curvularia lunata*) и кортизолона-21-ацетата 96 к ацетату гидрокортизона 97 с использованием *Cunninghamella blakesleana* [214-218].

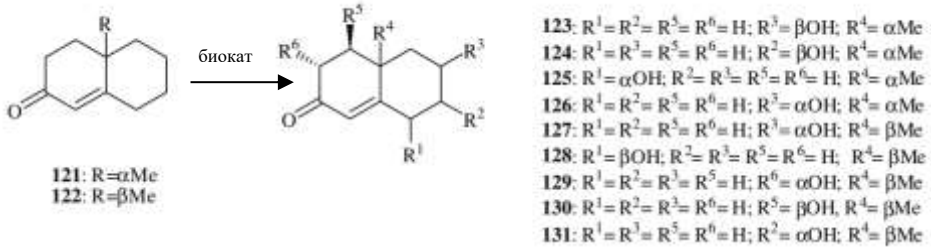
Реакция 17. Биотрансформация 16a, 17a-диметил-17- (1-оксопропил) андроста-1,4-Диен-3-она 98 *Curvularia lunata.*



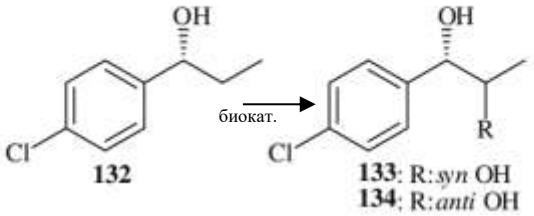
Реакция 18. Биотрансформация *resibufogenin* 100 полиморфоспором *Mucor*.



Реакция 19. Биотрансформация (R) - метилокталона 121 и (S) - (+) - метилокталона (122) *Chaetomium sp. И Didymosphaeria igniaria*.



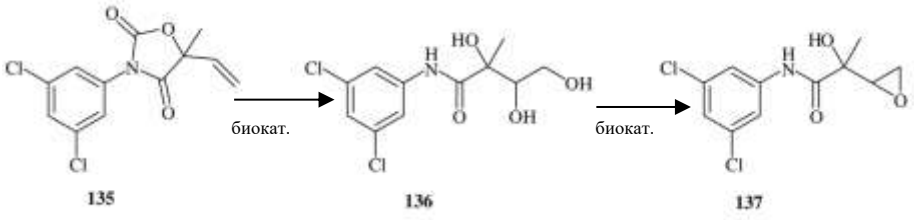
Реакция 20. Биотрансформация (R) - (+) - 1- (40-хлорфенил) пропан-1-ола 132 по *Botrytis cinerea*.



Винцозолин (вещество 135) является фунгицидом, используемым в Европе и США для борьбы с болезнями, вызываемыми грибами на нескольких растениях. Это соединение было биотрансформировано грибом *Cunninghamella elegans*, дающий (3R) - и (3S) -изомеры 30,50-дихлор-2,3,4-

Тригидрокси-2-метилбутиранилид (продукт 136) (33%), предположительно образованный по реакции эпоксидгидролазы, из эпоксидного производного 137. Это было первое исследование грибкового метаболизма 135 и идентификации его основных метаболитов (реакция 21) [219-224].

Реакция 21. Биотрансформация винклозолина 135 по *Cunninghamella elegans.*



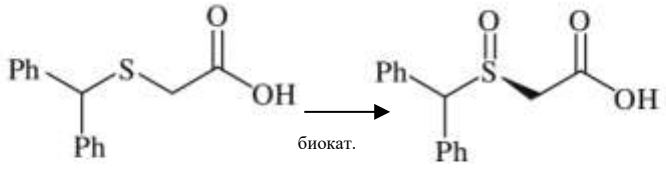
1.2.3 Сульфоксидирование

В последние несколько лет хиральные сульфоксиды стали важными структурными элементами для синтеза фармацевтических препаратов и биологически активных соединений, так как способные к модификации функциональные группы встречаются во многих соединниях, обладающих биологической активностью.

Существует множество способов синтеза этих сульфоксидов, однако все еще существует значительная потребность в энантиоселективных методах преобразования.

Микроорганизмы были использованы для получения хиральных сульфоксидов с высокой регио- и стереоселективностью. Биотрансформация бензгидрилсульфанилуксусной кислоты 138 было проверено с использованием восьми грибковых штаммов. Это соединение можно использовать для синтеза (±) –модафинила [225].

Beauveria bassiana (ATCC-7159) использовали трансформации бензгидрилсульфанил уксусной кислоты в (S) -сульфинилкарбоновую кислоту 139 с очень хорошим выходом (89%) и высокой энантиоселективностью (99%) (рис 23). Другие грибы проявляли недостаточную энантиоселективность, но *Microsporum gypseum* (ATCC-11395) обеспечивает хороший выход сульфинильного продукта (94%) (реакция 22) [226-230].



138 **139**

Реакция 22. Биотрансформация бензгидрилсульфанилуксусной кислоты 138 *by Beauveria Bassiana* (ATCC-7159).

Стереоселективная кинетическая биотрансформация тиоридазина, в фенотизин, исследовали с использованием 12 эндофитных грибов. Оба энантиомера тиоридазина были эффективно биотрансформированы четырьмя грибковыми штаммами (*Phomopsis, Glomerella cingulata, Diaporthe phaseolorum и Aspergillus fumigatus*). Были получены четыре диастереомера, которые были такими же, как и метаболизм млекопитающих, но с разной регио- и стереоселективностью. Эти результаты подтверждают, что микробные системы могут быть использованы как альтернатива для исследований предварительного метаболизма лекарственных средств [231-233].

В общей сложности два органических сульфида были стереоселективно биотрансформированы *B.cinerea*, *Eutypa lata и Trichoderma viride* с высокой энантиомерной чистотой. Наилучшие результаты для окисления тиоанизола были получены с грибком вида *T. Viridae*. Он обеспечивал (R) - метилфенилсульфоксид с 70% энантиомерным избытком на статическую культуру. Биотрансформация бензилфенилсульфида с помощью *B. cinerea* дает (S) –бензилфенил сульфоксид, но с низким выходом и энантиомерным избытком. (R) –бензил фенилсульфоксид был получен как с *T. viride, так и с E. lata, с T. viride,* обеспечивающий лучший энантиомерный избыток (> 95% ее) и хороший выход (60%) [234-238].

Серия фенилтио-2-пропанона и бензилтио-2-пропанона биотрансформировали с использованием грибов

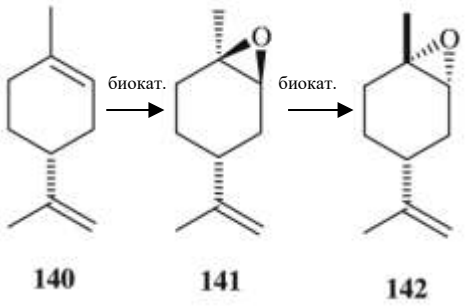
Helminthosporium sp (NRRL 4671) и *Mortierella isabellina* (ATCC 42613), получая б-гидроксисульфоксиды с хорошими выходами и энантиомерной чистотой (> 95%) [239,240].

Уже опубликован всесторонний обзор сульфоокисления с использованием микроорганизмов. Дополнительная информация предоставляется в литературе [241-243].

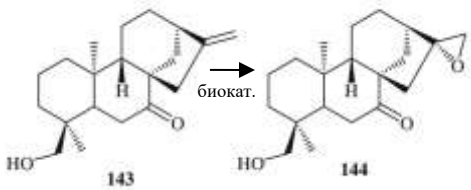
1.2.4 Эпоксидирование

При биотрансформации нескольких соединений образуются эпоксиды, терпеноиды и другие продукты 111 более 60 [241-250].

Грибковые штаммы были протестированы на их способность к биотрансформации (R) - (+) - и (S) - лимонена, используя твердофазную микроэкстракцию в качестве методики мониторинга процесса. Виды пенициллиев биотрансформировали (R) - (+) - лимонен 140 до транс- и цис-лимоненоксида 141-142 (реакция 23) . Сесквитерпеновый (4E, 8R) -кариофил-4- (5) -эн-8-ол был биотрансфораван с эпоксидированим по двойной связи, что дало продукт, ранее полученный в биотрансформации оксида кариофиллена *B. cinerea*. Инкубация типа дитерпеновый 7-оксо-18-гидроксиент-кауро-16-эе 143 с *Gibberella fujikuroi* с продуктами реакции 18-гидрокси-16a, 17-эпокси-7-оксо-лор-кауран 144. Стереохимия процесса была изучена с учетом того, что в этих типах эпоксидирование соединений происходит на поверхности, эта структура подтверждается реакциям эпоксидирования 7-оксо-дорг-каур-16-эн [241-253].



Реакция 23. Биотрансформация (R) - (+) - лимонен 140 видами *Penicillium.*



Реакция 24 Биотрансформация 7-оксо-18-гидрокси-лор-Каур-16-ен 143 путем *Gibberella fujikuro*

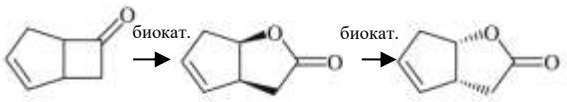
1.2.5 Окисление кетонов, реакция Байера-Виллигера

Окисление линейных и циклических кетонов Байера-Виллигера в их соответствующие эфиры или лактоны являются важной реакцией в органической химии. В настоящее время для удовлетворения растущего спроса на биологически активные хиральные молекулы возникла необходимость ввести в широкую практику новые методы асимметричного окисления Байера-Виллигера. Микроорганизмы способны проводить эту реакцию с высокой регио- и энантиоселективностью и поэтому являются хорошей альтернативой в этом плане [254].

Всего для окисления Байера-Виллигера двух циклических кетонов было использовано девять штаммов *Aspergillus*. В некоторых случаях производство хирального лактона наблюдали в энантиомерном количестве до 99% выхода [255].

Бицикло [3.2.0] гепта-2-ен-6-он 145 используют для синтеза простагландинов. Он интересен как предшественник некоторых антибиотиков. Это соединение было биотрансформировано различными штаммами *Fusarium sp*. (+) - (1R, 5S) -лактон 146 с выходом 78% (73% эи) и 86% (70%). *Aspergillus terricola и A. amazonicus* производят (-) - (1S, 5R) – лактон(продукт 147) из исходного материала 145 в энантиомерном избытке (реакция 25) [256].

Реакция 25. Биотрансформация бицикло [3.2.0] гепт-2-ен-6-он 145 изолятами *Fusarium sp. и F. solani.*



1.2.6 Дерацемизация

Дерацемизация путем микробного стереоселективного биовосстановления, или энантиоселективный гидролиз, является очень важной реакцией в биокатализе, и это было предметом изучения лишь в нескольких публикациях [257-260].

Значительное количество термофильных мицелиальных грибов были изучены для энантиомерно и энантиотопно-селективного биотрансформаций. Гидролазы из термофильных грибов изучали с использованием стереоселективной тестовой реакции. Приведенные результаты свидетельствуют, что эти ферменты могут превосходить синтетическую биотрансформацию и более эффективны по сравнению с термофильными грибковыми липазами в зависимости от степени энантиомерной селективности или направления степени энантиотопической селективности. Дерацемизация путем окисления и энантиоселективной биоредукции

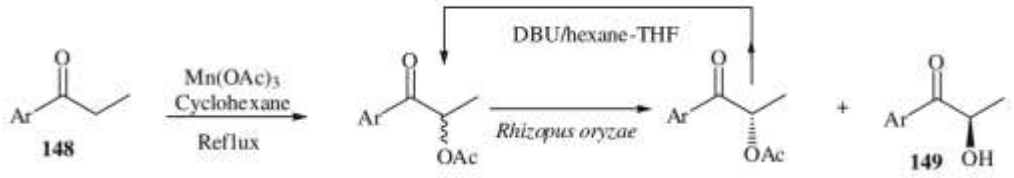
ацетофенона и его производных была проведена с использованием нескольких видов грибов [261-265].

Сообщается о гидролитическом кинетическом разделении 2-пиридилоксирана с использованием сверхэкспрессированной эпоксидгидролазы из мицелиального гриба *A. niger*. За последние несколько лет был опубликовано ряд статей, описывающих получение интересных промежуточных продуктов синтеза фармацевтических препаратов и агрохимикатов или структурных элементов биоактивных соединений [266].

Сообщается о простом хемоэнзиматическом доступе к энантиомерно фармакологически интересном (R) -2-гидроксипропиофенонам из пропиофенона [267].

Ацетоксилирование пропиофенона (вещество 148) с ацетатом марганца (III) с последующим гидролизом ацетокси производное с использованием *Rhizopus oryzae* в качестве биокатализатора дает гидроксиацетон (продукт 149) в высоких энантиомерных избытках и с хорошими выходами. Нежелательные ацетоксикетоны были эпимеризованы и рециркулируют, получая (R) –энантиомер (реакция 26).

Реакция 26. Биотрансформация пропиофенона 148 под воздействием *Rhizopus oryzae* и металоорганических катализаторов



1.2.7 Стерео- и энантиоселективное восстановление кетонов

В нескольких статьях сообщалось о реакциях микробного восстановления для стерео- и энантиоселективного восстановления кетонов. [268].

Нынешний интерес к применению биокатализа в органическом синтезе в основном связан с получением оптически активных соединений с высокой стереоселективностью при условиях безопасных для окружающей среды. Значительное внимание было уделено стерео- и энантиоселективному синтезу энантиомерно чистых соединений хиральных синтонов, необходимых в условиях растущего спроса для развития современных лекарств и агрохимикатов. Из хиральных соединений энантиомерно чистые спирты особенно полезны в качестве строительных блоков для синтеза фармацевтических препаратов и агрохимикатов [269].

Биотрансформация является удобным методом получения хиральных спиртов. Использование целых микробных клеток особенно выгодно для проведения восстановления кетонов, поскольку они не требуют добавления кофакторов для их регенерации. Следовательно, несколько грибов и дрожжей

можно использовать для стерео- и энантиоселективного восстановления прохиральных кетонов [270].

Известно о сравнительных исследованиях с использованием целых клеток грибков белой гнили *Merulius tremellosus* как биокаталитической восстановительной системы и комплексов рутениевого (II) -амино-спирта и иридия (I) -аминосульфида в качестве металлических катализаторов в ассимметричное гидрирование. Был сделан вывод о том, что биокаталитического и трансферного гидрирования, по-видимому, являются взаимодополняющими друг друга [271-273].

Несколько органоселено-ацетофенонов, 3,5-бис (трифторметил) ацетофеноны и производные ацетонафтонов взаимодействовали с целыми грибковыми клетками родов *Rhizopus, Aspergillus, Emicerella, Lactobacillus, Geotrichum, Candida и Yarrowi* [274] .

Вышеперечисленные виды микроорганизмов использовались при проведении биотрансформации циклических кетонов, был исследован набор из 416 штаммов , состоящих из 71 штамма бактерий, 45 актиномицетов, 59 дрожжи, 148 нитчатых грибов, 33 морских грибов и 60 базидиомицетов. Они были использованы для скринингового исследования в поисках наиболее перспективных реакционных агентов [275].

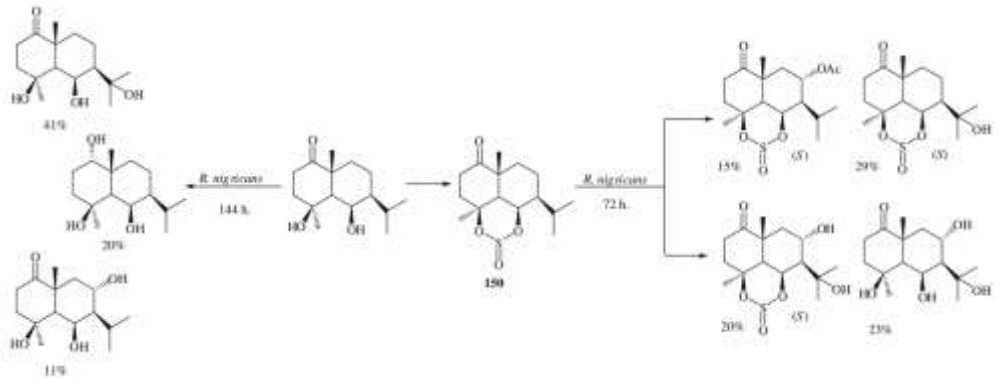
Микроорганизмы, которые проявляют активность редуктазы в отсутствие оксидазной активности, 133 и микробные биокатализаторы для стереоселективного восстановления карбонильных соединений. *Gongronella Butleri, Dipogelasinospora grovesii* и *Schizosaccharomyces Octosporus* были выбраны как наиболее интересные штаммы на основе их продуктивности, и их толерантности к высоким концентрациям кетонов и отсутствием вторичных продуктов в восстановлении циклоалканонов [276].

Стерео- и энантиоселективное микробное сокращение специфических кетонов и, следовательно, восстановление 3-метил-4-фенил-3-бутен-2-она и его фенилзамещенных производных микроорганизмами M. *isabellina* DSM 1414 и *Geotrichum candidum* LOCK 105 штаммов восстановленных a, b-ненасыщенных кетонов к соответствующим вторичным спиртам с высоким энантиомерным избытком (94-99%). 137 несколько производных оксо-сесквитерпена с различными скелетами были биотрансформированы, чтобы дать интересные производные, некоторые из них трудно получить с помощью классических методик синтеза [277].

Микробное превращение 1-оксо- и 6-оксюдесманов дали другие полезные производные гидроксиэлинана в высоких пропорциях в результате стереоселективного восстановления карбонила с помощью *R. nigricans* вещества 4b-гидроксинейдесман-1,6-диона нитчатыми грибами *Gliocadium roseum* и были получены галоиды экзорохилум 39. Несмотря на то, что *G. roseum* дал несколько гидроксилированных метаболитов, только один был получен из *Exserohilum halodes* в результате реакции регио- и стереоселективных восстановлений кетогруппы при C-1, что трудно осуществить традиционными методами. Кроме того, выросла скорость биокатализа из циклических сульфитных производных эудесмена и были

обнаружены значительные различия в биотрансформации циклических сульфитов. Выявлены перспективные 8a, 11-дигидроксипроизводные из биотрансформации (S) -диастереомера (реакция 27)

Реакция 27. Биотрансформация 1-оксоедусман-4 β, 6 β -diyl-S (S) - циклического сульфита 150 *Rhizopus nigricans*.



Предлагают привлекательные новые возможности для синтеза производных от природных соединений, таких как 8,12-эюдесманолиды. В дополнение к восстановлению ненасыщенных кетонов, гидроксилирование при C-8 и C-11 были получены путем биотрансформации α-сантонина 151 грибом *Absidia coerulea* [278].

Кроме того, сесквитерпен-лактон-киненсолид был восстановлен (C-3-кетон в спирт и / или 11 (13) метилен к метилу) тем же грибом *A. coerulea*, штамм IFO 4011, [40]

Казеиновые сесквитерпены были биотрансформированы *C. Lunata* ATCC 12017 и *B. bassiana* ATCC 7159, несколько производных были получены восстановлением кетона. Определен инсектицидный потенциал и фитотоксичность выделенных метаболитов. [38,138] Другие производные дитерпена и стероида изучались с точки зрения их биоконверсии разными видами микроорганизмов [279].

Важность оптически активных производных b-гидроксикислот в качестве универсальных строительных блоков в асимметричном синтезе хорошо известны, и доказано, что среди многих существующих методов их подготовки, микробное энантиоселективное восстановление b-кетоэфиров является одной из самых эффективных [280].

3-гидроксибутановая кислота и ее сложные эфиры являются заметными членами этой категории. Они были использованы как синтетические строительные блоки и промежуточные продукты для синтеза нескольких классов натуральных продуктов и нескольких терапевтических агентов. В частности, его алкиловый эфир широко используется для синтеза тонких химических веществ, включая фармацевтические препараты, агрохимикаты, ароматизаторы [281].

Производные алкильных оксоэфиров широко изучены с точки зрения их химических превращений с использованием широкого спектра микрооганизмов. Значительное количество микроорганизмов было

исследовано как потенциальные биокатализаторы. Производные алкил-оксобутаноата восстанавливали энантиоселективно (99 % выход) соответствующему (S) -спирту по видам *Rhizopus.*

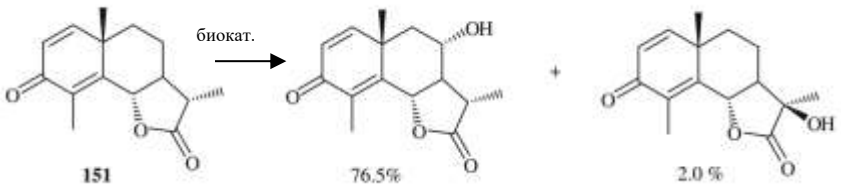
Подобные результаты были получены с помощью гриба *Cylindrocarpon sclerotigenum* [282].

Диморфный гриб *Mucor rouxii* показал хорошие результаты в цельном клеточном биокатализе в водных и органических средах.

При биотрансформации морфология мицелия и дрожжей проявляли интересную редуктазную активность. Примечательно, что дрожжеподобные клетки и споры демонстрируют наилучшие результаты в неполярной среде с использованием гексана в качестве растворителя [283].

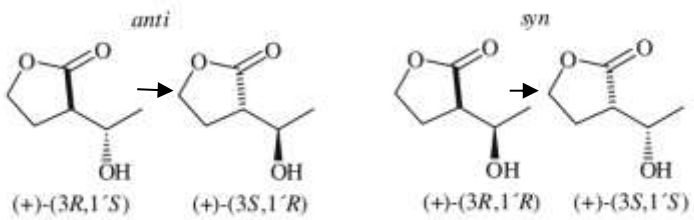
Новые функционализованные производные бутиролактона, полученные из (±) -ацетил-с-бутиролактон и соответствующий ему (±) -анти- и (±) -син-гидроксильные аналоги представляют интерес как лиганды потенциальной центральной нервной системы . *A. niger, G. Candidum* и штаммов *Kluyveromyces marxianus*, полученных (+) - (3R, 10S) -a0-10-гидроксиэтил-с-бутиролактон в превращениях от хорошего до превосходного, диастереомерных и энантиомерных избытках [284].

Реакция 28. Биотрансформация α-сантонина 151 с помощью *Absidia coerulea.*



Соответствующий энантиомер получали с использованием *Hansenula* SPP. 144 и *C. lunata* был использован для стереоселективного алкилирования-восстановление β -кетонитрилов. Этот гриб доказал свою способность алкилата и одновременно восстанавливает ароматические и гетероароматические β -кетонитрилы. После оптимизации условий реакция алкилирования-восстановления привела к образованию связи C-C и двух стереогенных центров с умеренным выходом до 69% и высокой стереоселективностью до 98% в большинстве случаев [285].

Реакция 29. Полученные продукты биотрансформации из бутиролактонов

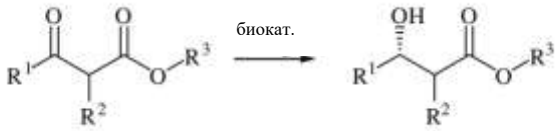


Использование метанола в качестве сорастворителя позволяет применять хемоселективное восстановление ароматических b-кетонитрилов, приводящих к синтезу соответствующих (S) -β-гидроксинитрилов с высокой степенью энантиоселективности [286].

Оптически активные β-гидроксисульфоксиды и сульфоны имеют большое значение в органическом синтезе. Одна из наиболее полезных стратегий синтеза хиральных β-гидроксисульфонов являются синтез с дрожжами Бейкера, при котором происходит асимметричное восстановление b-кетосульфонов [287].

Однако основным фактором энантиоселективности этих процессов является размер заместители, присоединенные к карбонильной группе. Наилучшие результаты были, когда заместителем была метильная группа. В этом случае β-Кетосульфоны, несущие объемистые группы, были восстановлены с высокой энантиоселективностью к соответствующим оптически активным β -гидроксисульфонам грибом *C. lunata* CECT 2130. Кроме того, клетки можно повторно использовать без потери их каталитической активности [288].

Реакция 30. Биотрансформация ряда замещенных фенилтио-2- пропанон, 1- (п-метоксифенилтио) -2-пропанон и бензилтио-2-пропанон, с использованием *Helminthosporium* Sp.108.109 и M. *isabellina* ATCC 42613, или *Rhodococcus erythropolys* IGTS8.



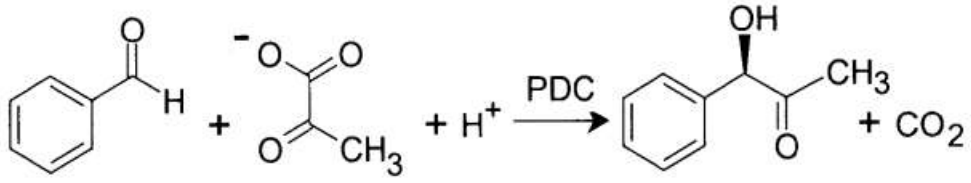
Несколько грибковых штаммов катализируют окисление сульфида до сульфоксида и восстановление карбонила до вторичного спирта в различных соединениях, продуцирующих β-гидроксисульфоксиды в среде с высокой энантиомерной и диастереомерной чистотой. Грибковая биотрансформация с использованием *Helmisthosporium sp*. изабеллина позволила получить противоположные сульфоксидные конфигурации различных b-гидроксисульфоксидных продуктов [289, 290].

Хиральные 2-гидроксиалканфосфонаты привлекли внимание благодаря их потенциальной биологической активности и универсальности в качестве субстратов для синтеза ряда фосфорорганических производных. Был проведен скрининг серии 2-оксоалканфосфонатов с *G. candidum*. Только диэтил-2-оксопропанфосфонат подвергался асимметрическому восстановлению с получением (+) - (R) -диэтил-2-гидроксипропанфосфоната с выходом 98%. В присутствии различных липаз, рацемических 2-гидроксиалканфосфонатов ацетилировали, получая соответствующие ацетокси-производные с хорошим выходом и 93% [291].

1.2.8 Смешанные реакции

Экстракты из 14 мицелиальных грибов были исследованы относительно их потенциала для получения (R) –фенилацетилкарбинола ((R) -PAC) из бензальдегида через пируватдекарбоксилазу, который является хиральным предшественником при изготовлении фармацевтического эфедрина и псевдоэфедрина. (R) -PAC получали с энантиомерным избытоком 93% с использованием *Rhizopus javanicus u Fusarium Sp* [292].

Реакция 31 - Биотрансформация бензальдегида и пирувата в (R) - PAC пируват-декарбоксилазой (PDC)



Исследование показало, что образование (R) -PAC не только с применением дрожжей и бактерий *Zymomonas mobilis*, целевой продукт может быть получен и с помощью нитчатых грибов. Более высокая начальная производительность и несколько более высокие конечные выходы были достигнуты с *R. Javanicus* в сравнени с теми, которые получены с экстрактами дрожжей *Candida utilis u Saccharomyces cerevisiae* [293].

Некоторые соединения были биотрансформированы грибами, дающими различные производные. Биотрансформация энантиомеров монотерпенов, линалоов и цитронеллолов *Aspergillus sp*. изучались в различных условиях культивирования с использованием твердофазной микроэкстракции в качестве аналитической методики взятия проб [294,295].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительное сырьё для получения субстанции заготовлено в фазу цветения в Илийском районе Алматинской области в 2016 году в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстана. В соотвествии с требованиями ГФ РК определены показатели доброкачественности, минеральный состав и количественное содержание групп БАВ в растительном сырье и полученной на его основе субстанции.

Данные приведены в таблицах 4-12

2.1 Разработка оптимальной технологической схемы выделения условного фитопрепарата из надземной части *Tamarix hispida*

Установление оптимальной степени измельчения

Подготовка растительного сырья контролируется по степени его измельчения (не более 8 мм) и по показателям доброкачественности ГФ РК. Оптимальная степень измельчения определяется в зависимости от степени извлечения комплекса БАВ из лекарственного сырья. Данные представлены в таблице 28

Подбор экстрагента

Для подбора оптимального экстрагента применяют растворители: ацетон, этиловый спирт и водные растворы последнего (10%, 50%, 70%,96%), вода. 10 г, мелко измельченного воздушно-сухого сырья надземной части *Tamarix hispida,* экстрагировали одинаковым объемом по 80 мл каждого экстрагента при постоянном времени экстракции и соотношении сырья и растворителя. Данные представлены в таблице 29

Установление оптимального времени экстракции

Определение времени экстракции является важным параметром, так как нужно выяснить, когда извлекается весь комплекс БАВ. Было изучено влияние времени экстракции растительного сырья на выход условного фитопрепарата. Для этого брали 5 г сырья, заливали 50 % этиловым спиртом в соотношении сырья с растворителем 1:8, оставляли для экстракции комплекса БАВ из сырья на 6, 12, 24 и 48 часов Данные представлены в таблице 29

Определение оптимальной температуры экстракции

Для создания оптимальной технологии получения условного фитопрепарата очень важно определить температуру экстракции. Для этого берется одинаковое количество сырья (5 г), которое заливают оптимальным экстрагентом, выбранным в соотношении сырье – экстрагент, экстракцию проводят при температурах от 22 ^{0}С до 60 ^{0}С. Данные представлены в таблице 30.

Установление кратности экстракции

Для максимально полного извлечения БАВ из лекарственного растительного сырья проводится многократная экстракция, однако с каждой новой стадией извлекается всё меньше БАВ, по этой причине при отработке технологии извлечения устанавливается оптимальное для данного комплекса

БАВ количество экстракций. Выбрав оптимальный растворитель, установив его объем, время и температуру экстракции, необходимо было также определить кратность экстракции с целью более полного извлечения БАВ из сырья. Данные представлены в таблице 32

2.2 Исследование субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом ВЭЖХ [299]

Образец условного фитопрепарата экстрагируется смесью воды и ацетонитрила в соотношении 1:1, экстракт фильтруется через бумажный фильтр, фильтрат концентрируется на ротационном испарителе.

Условия хроматографирования:

Аппарат – Waters Alliance.

Колонна – XBridge C_{18} d=3,5μм и l=15см.

10мг препарата в 10мл воды + 10мл ацетонитрила.

Диаметр пор фильтра = 0,45μм

Проба 15μл.

Детектор PDA при 271нм.

Элюент – вода – ацетонитрил

2.3 Исследование липофильных компонентов субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом хромато-масс-спектрометрии [300]

Экстракт концентрируется в мягких условиях (температура водяной бани 40-45^{0}C) с использованием вакуума водоструйного насоса до густого концентрата, который анализируется на газовом хроматографе с масс-селективным детектором Agilent Technologies 7000 GS/MS. Условия проведения эксперимента: газ-носитель - гелий со скоростью потока 1 мл/мин; температурный градиент от 40˚C до 250˚C в течение 5 минут; капиллярная колонка SHP-5MS 30 м (диаметр 2,5 мм; 0,25 мкм); объем инжектора – 0.2 мкл.

Идентификация компонентов осуществлена автоматически по аналогии с известными масс-спектрами образцов, заложенных в банке данных Wiley.

2.4 Исследование гидрофильных компонентов субстанции из надземной части *Tamarix hispida* методом масс-спектрометрии [301]

Экстракт исследован методом высокоэффективной жидкостной хроматографи с масс-селективным детектором Aligent Technologies 6400 Series Triple Quadrupole LC/MS.

Определение гидрофильных компонентов проводили при следующих условиях: использована колонка Poroshell 120 EC-C18 (длинна- 50мм, диаметр 3 мм, размер частиц сорбента 4,0, 2,7 и 1,9 мкм), с 10% метанолом водным раствором метанола в качестве исходного растворителя и 90% метанолом в качестве конечного растворителя при давлении 11,5 мПа и температуре 40 ºC.

Компоненты идентифицированы по масс-спектрам и временам удерживания, с использованием библиотеки NIST и Wiley LC/MS.

2.5 Метод определения биологической активности с использованием 96 местного планшета [302, 303]

Микроорганизмы выращены в среде Мюллера-Хинтона. Инокулянты доводены до 0,5 индекса мутности McFarland, затем подготовлены маточные растворы различных тестируемых соединений в ДМСО (1: 1 концентрации). После чего разлили среду в лунки планшета . Работа, выполненна в трех повторностях. При этом паралельно проводился контрольный опыт без добавления тестируемого соединения в лунки, контрольные лунки не содержат испытуемое соединение. Объем 96-луночного планшета составил 200 мкл. Наконец, добавляются микоорганизмы во все лунки, после чего планшет закрывается парафином и инкубируется 18-20 часов. Сигнальный краситель распределяется в каждую лунку и встряхивается при 80 оборотах в минуту в течение 2- 3 часов. Планшет должен быть покрыт фольгой при встряхивании в инкубаторе.

Аналитическим сигналом является изменение цвета красителя в лунках от синего до розового, что указывает на рост бактериальных штаммов. Абсорбция была записана на 570 и 600 нм считывающим устройством для ELISA.

2.6 Определение противогрибковой активности фитопрепаратов методом растворения в агаровой трубке [304-306]

Полученые испытуемые образцы: 24 мг неочищенного экстракта и 12 мг чистого соединения растворены в 1 мл ДМСО, служащего в качестве исходного раствора. Паралельно подготавливается питательная среда, которой является агар с pH 5,5-5,6. Нагретый до состояния текучести агар распределяли в 4 мл пробирки с закручивающейся крышкой. Пробирки необходимо проавтоклавировать при температуре 121°С в течение 15 мин. После чего производится загрузка образца. Перед инокуляцией пробирки требуется остудить до 50 ° С , при этом агар не должен затвердеть, затем загружают 66,6 мкл соединения пипеткой из маточного раствора. В результате достигается концентрация 400 мкг / мл (применяется при работе с суммарными экстрактами) и 200 мкг / мл (для индивидуальных соединений) соответственно. После внесения тестовых соединений пробирки остужают до затвердения агара в наклонном положении при комнатной температуре. Затем производится посев гриба: Каждую пробирку засевают диаметром 4 милиметровыми фрагментами гриба, полученными из семидневной культуры.

В качестве образца сравнения используется аналогичным образом подготовленная пробирка с противогрибковым соединением вместо исследуемого и пробирка без какого либо вещества кроме растворителя (ДМСО)

После инокуляции грибков пробирки инкубируют при 27-29 ° С в течение 3-7 дней. Культуры наблюдают два раза в неделю во время инкубации.

Рост в соединении с поправками сред определяется путем измерения линейного роста (мм) и ингибирования, рассчитанного по отношению к контрольному образцу (без внесения анализируемого вещества).

Таблица-1 Стандартные противогрибковые препараты

Наименование Грибков	Стандартный препарат
Trichophyton longifusis	Miconazole
Candida albicans	Miconazole
Aspergillus flavus	Amphotericin B
Microsporum canis	Miconazole
Fusarium solani	Miconazole
Candida glaberata	Miconazole

Представленные в таблице препараты обладают стандартной активностью для указанных организмов.

2.7 Определение цитотоксичности [307-310]

Цитотоксическая активность соединений оценивалась в 96-луночных плоскодонных микропланшетах с использованием MTT (3- [4, 5-диметилтиазол-2-ил] -2, 5-дифенил-тетразолия бромид) с колориметрической активностью 40. Для этой цели стандартная культура (фибробласты клеток мыши) клетки выращивалась в среде Дульбекко, дополненной 5% фетальной бычьей сывороткой (FBS), 100 мкг / мл пенициллина и 100 мкг / мл стрептомицина в 75 $см^2$, колбы выдерживают в инкубаторе с 5% CO_2 при 37 °C. Экспоненциально растущие клетки собирались, подсчитывались с гемоцитометра и разбавлялись в определенной среде. Клеточные культуры с концентрацией $5x10^4$ клеток / мл готовились и вводились (100 мкл / лунку) в 96-луночных планшетах. После инкубации в течение ночи среда удалялась, и добавлялось 200 мкл свежей среды. Субстрат добавляют с различными концентрациями соединений (1-30μM). После того, как пробы выдержали 48 часов необходимо довабить 200 мкл MTT (0,5 мг / мл) в каждую лунку и инкубировать еще в течение 4 часов. Впоследствии 100 мкл ДМСО добавлялся в каждую лунку. Степень снижения активности MTT формазана в клетках рассчитывали путем измерения оптической плотности при длине волны 540 нм с помощью микро-планшетного-ридера (Spectra Max Plus, Molecular Devices, CA, USA). Цитотоксичность регистрировали как 50% концентрационное ингибирование роста (IC_{50}).

Результаты (% ингибирование) были обработаны с помощью Soft- Max Pro программное обеспечение (Molecular Device, USA).

MTT является быстрым способом количественного определения уцелевших или пролиферирующих клеток. Он основан на восстановлении соли тетразолия MTT (3- (4,5-диметилтиазол-ил) -2,5-дифенил-тетразолия бромид) различными ферментами, присутствующих в живых клетках. Тетразолиевое кольцо присутствует в MTT, расщепляется в активных митохондриях, что приводит к получению пурпурных цветных кристаллов формазана. Эти кристаллы растворяют в ДМСО и анализируются с помощью спектрофотометра по оптической плотности, полученного раствора (считыватель ELISA), с высокой эффективностью и точностью. Этот анализ был оптимизирован и слегка изменен в соответствии с наличными

клеточными линиями, т.е. MCF-7 и MDA-MB-231 рака молочной линии раковых клеток. MCF-7 клеточные линии культивировали в модифицированной по способу Дульбекко (содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки) в 75 см колбах, и выдерживали в инкубаторе с 5% CO_2 при 37 ° C. После клетки собирали и высевали в 96-луночные культуральные ткани, обработанные с плоским дном пластины (плотность высева 8000 клеток / лунку для MCF-7 в 100 мкл среды. На следующий день, соединения добавляли в трех повторах при 50 мкМ концентрации, и инкубировали в течение 48 часов. Для получения натуральных экстрактов, концентрация составляла 50 мкг / мл. После 48 часов инкубации, соединения удаляли и 200 мкл МТТ в 0,5 мг / мл, добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37 ° C в течение 3-х часов. Формазан кристаллы, образованные восстановлением МТТ растворяли в 100 мкл ДМСО и поглощение было принято при 570 нм с использованием микро-планшет-ридер (Spectra Max Plus, Molecular Devices, CA, USA). Процент ингибирования или снижения жизнеспособных клеток рассчитывали. Если соединения показали 50% больше ингибирования, они были дополнительно обработаны для расчета IC_{50}. Двадцать (20) мм маточного концентрация соединений разбавляют до рабочей концентрации 50 мкМ, а затем дополнительно серийные разведения были сделаны для того, чтобы получить ингибирование менее чем на 50%. IC_{50} вычисляли с использованием EZ-fit5 программного обеспечения.

2.8 Определение показателя $ЛД_{50}$ на ракообразных рода *Artemia salina* [311-312]

Биологически активные соединения часто являются токсичными для *Artemia salina* личинок креветок. Яйца *Artemia Artemia salina* легко доступны, как корм для рыб в зоомагазинах. При помещении в искусственно полученную морскую воду, яйца раскрываются в течение 48 часов, что обеспечивает большое количество личинок. Это быстрый, недорогой, общий биологический анализ, который был разработан для скрининга, фракционирования и мониторинга физиологически активных натуральных продуктов.

Тестовый образец, *Artemia salina* (яйца креветок), средой для роста личинок являлся водно\солевой раствор с содержанием соли 38 г / л и pH 7,4. Личинки выращивали в шрихованном лотке с перфорированной перегородкой, Для блогоприятного роста лотки были помещены под искусственное освещение.

Получение личинок *Artemia salina*

На половину заполненить поддон для вылупления (прямоугольное блюдо (22х32 см)) фильтрованным солевым раствором затем поместить яйца артемии (50 мг). Инкубировать при 37º С.

Приготовление образца

Растворить исследуемое вещество (20 мг) в 2 мл соответствующего растворителя и разбавить до концентрации 10, 100 и 1000 мкг / мл, оставить на ночь с целью удаления растворителя. После 2-х дней с момента вылупления и созревания личинок, необходимо отобрать из них 10, с

помощью пипетки Пастера и поместить в 5 мл с морской воды. Инкубирование производить при 25-27º С в течение 24 часов, при освещении.

Необходимо подготовить контрольные пробы без внесения дополнительных веществ и с добавлением контрольного вещества.

Анализ данных проводится помощью компьютерной программы Финни для определения значений LD_{50} с 95% доверительными интервалами.

2.9 Определение рострегулирующей способности [313]

Семейство *Lemnaceae* являются подходящими организмами для исследования физиологической активности.

Характеристика растения *Lemna minor*

Растения *Lemna minor* состоят из центральной полости листеца или основного листеца с двумя присоединенными дочерними ветвями и мицелиальными корнями.

Выбор методики продиктован тем, что она позволяет достаточно быстро определить рострегулирующую активность при использовании минимального количества исследуемого вещества. Для определения рострегулирующей активности на проростки растения *Lemna minor* помещены были в питательную среду, состав которой указан в таблице. При этом были подготовлены контрольные образцы без дополнительных веществ, образцы со стандартным рострегулятором и образцы с исследуемым веществом (в 3 повторностях). Подготовленные колбы инкубировали при 25-27º С в течение недели, после чего замерялся рост относительно базового образца.

Таблица 2 - Состав питательной среды для определения рострегулирующей способности

Название соединения	г/л
Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4)	0.68
Нитрат калия (KNO_3)	1.515
Нитрат кальция ($Ca(NO_2)_2,4H_2O$)	1.180
Сульфат магния ($MgSO_4,7H_2O$)	0.492
Борная кислота (H_3BO_3)	0.00286
Марганцевый хлорид ($MnCl_2, 4H_2O$)	0.00362
Хлорид железа ($FeCl_2,4H_2O$)	0.00540
Сульфат цинка ($ZnSO_4,5H_2O$)	0.00022
Сульфат меди ($CuSO_4,5H_2O$)	0.00022
Молибдат натрия ($Na_2MO_4,2H_2O$)	0.00012
Этилендиамино-тетрауксусная кислота (ЭДТА)	0.01120

Сохранение и выращивание растений *Lemna minor*: для выращивания *Lemna minor* обычно включает в себя процесс очистки новых образцов воде и культивирования при оптимальных условиях в течение одного или двух дней. Таким образом, будет получено большое количество здоровых листьев. которые необходимо промыть в воде и поместить в питательный раствор.

2.10. Определение противоспалительной активности [314]

Определение противоспалительной активности, по следующей методике: 25 мкл разведенной HBSS цельной крови, инкубировали с 25 мкл

трех различных концентраций соединений (1, 10 и 100 мкг / мл), каждый в трех повторностях. Контрольные лунки подготовили по аналогичной методике, но без внесения анализируемых соединений. Тест проводился в 96-луночном планшете [Costar, NY, USA], который инкубировали при 37 ° С в течение 15 мин в термостате камере люминометра [Labsystems, Хельсинки, Финляндия]. После инкубации в течение суток 25 мкл сыворотки опсонизировали зимозаном [Fluka, Buchs, Switzerland] и 25 мкл внутриклеточных активных форм кислорода, детектировали люминолом [Research Organics, Кливленд, Огайо, США]. Полученная сыворотка была добавлена в каждую лунку, за исключением пустых лунок (содержащий только HBSS). Уровень РОС был записан на фотометре. Стандарт, используемый для анализа является ибупрофен $IC_{50} = 11,2 \pm 1,9$:

2.11 Подготовка ферментационной среды для биотрансформации Существует несколько экспериментальных методов, которые использовались для изучения процессов биотрансформации. Самые распространенные методы, обычно используемые в лабораторной практике, описаны ниже.

Для проведения процесса биотранформации готовятся ферментационные системы, состоящие из ферментирующего микроорганизма в питательной среде.

Для эффективного роста культур были подобраны питательные среды

Список питательных сред для различных культур представлен в таблице 3, количество компонентов указано с расчётом на один литр питательной среды

Таблица 3- Питательные среды для выращивания трансформирующих культур на 1000 мл

Названия культур	Компонент	Количество
1	2	3
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A	Глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10мл
Microphomina phaseoline KUCC 730	глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10мл
Fuscasium lini NRRL 2204	глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10 мл

Продолжение таблицы 3

1	2	3
Glomerella fusarioides ATCC 9552	глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10млl
Curvularia lunata ATCC 12017	глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10мл
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300	глюкоза	50 г
	Дигидрофосфат калия	1г
	Глицин	2 г
	Хлористый калий	1 г
	Гептагидрат сульфата магния	2 г
	Гибб. Элемент трассировки	2 мл
Rhizopus stolonifer TSY 047	глюкоза	20 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	3 г
	pH	5.6
Guoclodium viride ATCC 10097	глюкоза	10 г
	Пептон	5 г
	Дигидрофосфат калия	5г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Хлорид натрия	5 г
	Глицерол	10мл

Готовые среды разливаются в 1000мл конические колбы, закрываются ватной пробкой и отправляются на 4часовое автоклавирование для стерилизации. После того как температура питательных сред падает до комнатной, осуществляется проверка среды на стерильность, затем производится посев культур.

После внесения культур в питательную среду, колбы на 72 часа помещаются на качалку с целью создания жизнеспособной колонии.

В колбы с разросшейся культурой вносится растительный экстракт в количестве 0,3 грамм, после внесения экстракта колба возвращается на качалку и на 7 и 14 суток для выявления влияния продолжительности биотранформации на конечный результат.

После 7 и 14 суток выдержки колбы снимаются с качалки, обрабатываются по следующей методике: в колбу заливается 200мл бутанола для остановки процесса биотрансформации, затем получившаяся смесь фильтруется через ватный тампон в делительную воронку и экстрагируется

бутанолом. Затем бутанольная и водная фракции концентрируются на ротационном испарителе, после чего густой экстракт дополнительно лиофилизируется.

Полученный экстракт продуктов реакции биотрансформации отправляется на дальнейшее исследование.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ АНАЛИЗ

3.1 Определение доброкачественности надземной части *Tamarix Hispida* семейства *Tamaricacea*

Доброкачественность сырья определяется его внешними признаками и числовыми показателями (влажность, зольность, содержание экстрактивных веществ). Важным показателем качества сырья является товарная влажность. Товарная влажность означает потерю в массе сырья за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую обнаруживают при высушивании сырья до постоянной массы.

Лекарственное растительное сырье не должно содержать влаги выше допустимых норм, так как повышенная влажность при хранении приводит снижению его качества. Для большинства видов лекарственного растительного сырья допустимый предел влажности обычно 12-15 %. Влажность надземной части исследуемого растения (таблица 2) не превышает значений данного показателя для фармакопейных образцов (от 10 до 20 % для надземной части растений)

На начальном этапе сырьё было заготовлено в соответствии с требованиями, описанными в Государственной Фармакопее РК.

Тамарикс был заготовлен в удалении не менее 500 метров от дороги в период цветения, сырьё было высушено методом раскладывания под вентилируемым навесом при температуре 28-30 градусов на протяжении 10 дней.

В дальнейшем были определены параметры доброкачественности лекарственного растительного сырья, такие как влажность, зольность, зола нерастворимая в 10% хлороводороде .

Результаты определения доброкачественности растительного сырья и субстанции приведены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 – Показатели доброкачественности надземной части *Tamarix Hispida* семейства *Тамариксовые (Tamaricaceae)*

Параметр	Значение (%)
Влажность	8,13
Зольность	17,12
Доля золы нерастворимой в 10% HCI	15,31

Таблица 5 – Показатели доброкачественности субстанции, полученной из надземной части *Tamarix Hispida*

Параметр	Значение, (%)
Влажность субстанции	9,304
Зольность	31,435
Доля золы нерастворимой в 10% HCI	1,340

Влажность, общая зольность и зола нерастворимая в 10 % HCl полностью соответствуют требованиям и являются типичными для лекарственного растительного сырья, заготовленного на сильнозасоленных почвах.

Существенным показателем доброкачественности сырья служит содержание в нем золы. Золой растительного сырья называют остаток неорганических веществ, получаемый после сжигания сырья и последующего прокаливания остатка до постоянной массы.

Общая зола растений состоит из смеси различных неорганических веществ, находящихся в самом растении (свойственных растению), и минеральных примесей (земля, песок, камешки, пыль), которые могут попасть в сырье при его сборе и сушке.

В золе чаще всего содержатся следующие элементы: К. Na, Mg, Ca, Fe, C, Si, P реже и в меньшем количестве Cu, Mn, A1 и другие Эти элементы находятся в золе в виде оксидов или солей угольной, фосфорной, серной и других кислот.

В растительном сырье проводится определение золы общей, золы, нерастворимой в 10 % HCl, которая представляет собой остаток после обработки общей золы HCl и состоит в основном из примесей, являющихся для некоторых объектов естественной составной частью.

Высокие показатели золы, нерастворимой в соляной кислоте, объясняются физиологическими особенностями строения растения. Содержание всех видов золы в надземной части растения не превышает максимально приемлемого значения для фармакопейных образцов. Данный показатель характеризует исследуемое растение как достаточно качественное лекарственное сырье.

Также для дальнейшей отработки технологии получения лекарственной субстанции были определены показатели экстрактивности растворами этанола различной концентрации по методу сухого остатка.

Экстрактивными веществами лекарственного растительного сырья условно называют комплекс веществ, извлекаемых из растительного сырья соответствующим растворителем и определяемых количественно в виде сухого остатка.

Выбор этанола в качестве основного растворителя обусловлен требования Фармакопеи и рекомендацией этанола в качестве наиболее безопасного органического растворителя для пероральных и трансдермальных форм.

Результаты определения представлены в таблице 6

Таблица 6 - Сумма экстрактивных веществ водно-этанольных растворов полученных из надземной части растение рода *Tamarix hispida*

Экстрагент	10% этанол	50 % этанол	70% этанол
Экстрактивность сырья %	30,5	33,6	26,5

Из полученных данных следует, что 10 % и 50 % этанол обладают практически одинаковой экстрактивной способностью. Однако из

литературного анализа следует, что 10 % экстракты обладают сравнительно меньшей биологической активностью и меньшим сроком хранения, в то время как 70 % экстракт обладает худшей растворимостью и менее пригоден для создания стабильных лекарственных форм, что делает 50 % экстракт более предпочтительным.

3.2 Минеральный состав сырья

Микроэлементы – это группа химических элементов, которые содержатся в организме человека и животных в очень малых количествах, в пределах 10^{-3}-10^{-12} мг %.

Наряду с «биометаллами» они могут быть отнесены к тяжелым металлам – кадмий, свинец, никель, хром, ртуть и другие d-элементы, содержание которых, согласно градации А.П. Виноградова, соответствует уровню микроэлементов в растениях.

На микроэлементный состав растений оказывают непосредственное влияние естественные и антропогенные факторы зон произрастания, то есть места произрастания (ареалы почвы), что следует учитывать при заготовке сырья. Выяснилось, что микроэлементы в подавляющем большинстве активируют определенные ферментативные системы. Это осуществляется различными путями: непосредственным участием в составе молекул ферментов или их активацией. Значительным в действии всех микроэлементов является их способность давать комплексные соединения с различными органическими соединениями, в том числе и с белками.

Накопление микроэлементов в растениях происходит в зависимости от вида почвы, ее физических свойств и химического состояния, географического расположения района, климатических условий, от вида, сорта и стадии вегетации растений, источников орошения и других факторов.

Существует взаимосвязь между содержанием микроэлементов в почве и продуцированием растениями определенного класса биологически активных веществ. Растения, продуцирующие сердечные гликозиды, поглощают марганец, молибден, хром; растения, продуцирующие алкалоиды – медь, марганец и кобальт; сапонины – молибден и ванадий, терпены – марганец; витамины, кумарины и полифенольные соединения – медь, цинк, марганец; полисахариды – марганец, хром; углеводы - цинк.

В экологически неблагоприятных районах происходит чрезмерное накопление тяжелых металлов, таких как свинец, никель, хром, ртуть, и любые нарушения оптимальных соотношений микроэлементов в них, могут привести к непредсказуемым последствиям.

Представители семейства *Tamaricaceae*, известны как источники алкалоидов, флавоноидов сапонинов и гликозидов и других биологически активных веществ, поэтому многие виды используются в официальной и народной медицине в качестве стимулирующих, болеутоляющих, противовоспалительных и других средств.

По - видимому, растения семейства Тамариксовые, действующим началом которых являются алкалоиды, в большом количестве извлекают из

почвы железо, марганец, цинк, магний, калий и натрий, что хорошо согласуется с литературными данными о биосинтезе и свойствах алкалоидов, полифенолов, витаминов, кумаринов, полисахаридов и углеводов а, также является типичным для растений встречающихся на сильно засоленных почвах.

Данные о минеральном составе были получены методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Результаты представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7 - Количественное содержание микроэлементов в надземной части *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* в %

Элемент	Cu	Fe	Ni	Pb	Mn	Zn	Cd
Содержание в образце %	$0{,}51\ 10^{-4}$	$33{,}10\ 10^{-4}$	$0{,}42\ 10^{-4}$	$0{,}911^{-4}$	$2{,}57\ 10^{-4}$	$1{,}42\ 10^{-4}$	$0{,}01\ 10^{-4}$

Таблица 8 - Количественное содержание макроэлементов в надземной части *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* в %

Элемент	Ca	Mg	K	Na
Содержание в образце %	1,51	0,88	0,60	0,94

Сравнение данных, приведённых в таблицах 7-8, свидельствуют, о том, что по содержанию железо, кальций, калий и натрий доминируют в надземной части, тамарикса щетиностого, вне зависимости от года заготовки.

Содержание тяжелых металлов: кадмия и свинца не превышает предельно допустимых норм для лекарственного растительного сырья .

Из данных изучения минерального состава субстанции полученной из надземной части *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* заготовленного в в таблицах 9 и 10

Таблица 9 - Количественное содержание микроэлементов в субстанции полученной из из *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* в %

Элемент	Cu	Fe	Ni	Pb	Mn	Cd
Содержание в образце %	$4{,}30\ 10^{-4}$	$42{,}00\ 10^{-4}$	$0{,}70\ 10^{-5}$	$11{,}80\ 10^{-4}$	$3{,}20\ 10^{-4}$	$0{,}05\ 10^{-4}$

Таблица 10 - Количественное содержание макроэлементов в субстанции полученной из *Tamarix hispida* семейства *Tamaricaceae* в %

Элемент	Ca	Mg	K	Na
Содержание в образце %	0,08	1,62	1,76	3,64

Так как условный фитопрепарат представляет собой высушенный 50% спирто-водный экстракт, то является полярной системой растворителей, в экстракт перешло значительное количество растворимых в воде солей, содержащихся в растении, при этом содержание некоторых металлов, например железа, калия, магния, меди и свинца в экстракте выше, чем в растительном сырье.

Также, как и в растительном сырье, содержание минеральных компонентов различается в зависимости условия заготовки, однако количество металлов в условном фитопрепарате и количество металлов в растительном сырье не находится в прямой зависимости. Это объясняется тем, что часть компонентов может иметь разную растворимость в разных системах растворителей.

При этом содержание макроэлементов, вроде натрия, калия и кальция, и в растительном сырье и в условном фитопрепарате является стабильно высоким.

В условном фитопрепарате, по причине использования экстрагента, в котором легко растворяются натриевые и кальциевые соли и соли практически любых соединений, содержание солей значительно выше чем, в растительном сырье. Соединения натрия наблюдаются в количестве 0,94 процента соответственно, в то время, как в условном фитопрепарате их количество достигает 2,00 и 3,64 %. Аналогичное, почти двукратное превосходство, наблюдается и в содержании магния в растении и в экстракте, и ещё большую трёхкратную разницу между содержанием элемента в сырье и конечном препарате показывает калий.

Все экстракты показывают нормальное количество тяжелых металлов, неопасное для человека.

Полученные результаты согласуются с общей закономерностью, согласно которой минеральный состав сказывается на накоплении определенных групп биологически активных соединений.

Таким образом, в результате проведённых сравнительных исследований, нами был изучен минеральный состав надземной части тамарикса щетинистого, заготовленного в Илийском районе Алматинской области. Для большей полноты исследования были рассмотрены образцы разных годов заготовки. Полученные данные указывают на незначительные различия микроэлементного состава и значительные (порой почти вдвое) различия в макроэлементном составе, в частности, по содержанию кальция и натрия.

Установлено, что содержание тяжёлых металлов в тамариксе щетинестом, заготовленного в Алматинской области, соответствует санитарным нормам лекарственного растительного сырья.

Проведённый сравнительный анализ субстанции, полученной из надземной части *Tamarix hispida* с помощью экстракции 50% водно-спиртовым раствором, позволяет утверждать, что условный фитопрепарат является безопасным для человека с точки зрения содержания тяжелых металлов.

Полученные данные позволяют лучше отработать технологию получения биологически активных субстанций на основе *Tamarix hispida*.

3.3 Химический состав надземной части *Tamarix hispida*

3.3.1 Количественный химический состав надземной части *Tamarix hispida*

Вытяжки из данного растения обладают мочегонным, потогонным,

вяжущим, обезболивающим и кровоостанавливающим эффектами. Из него готовят настои и отвары, которые используются при различных заболеваниях. Настой цветков полезен при заболеваниях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), отвар ветвей эффективен при болезнях суставов, настой из листьев и коры назначают для лечения диареи, кровотечения и заболевания селезенки. Веточки тамариска заваривают и употребляют в качестве общеукрепляющего и тонизирующего средства.

Знание количественного содержания основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье является важным параметром для определения его пригодности в качестве источника комплексов БАВ и является определяющим фактором того, может ли растение использоваться в качестве сырья для получения лекарственных стредств.

Дальнейшее исследование фитохимического состава позволит получить на основе тамарикса фитопрепараты с более выраженной активностью (например, за счёт изменения системы экстрагентов повысить количество алкалоидов, что позволит получить более сильное анестезирующее действие). Знание количественного и качественного состава БАВ в растении открывает новые возможности в области модификации соединений, входящих в состав лекарственного сырья с целью повышения его терапевтического действия. Определение качественного состава растительного сырья и полученной из него субстанции представлены в таблицах 11 и 12.

Данные определения представлены в таблице 11

Таблица 11 -Содержание основных групп БАВ надземной части растения *Tamarix hispida*

Группа БАВ	Содержание, (%)
Дубильные вещества	3,31
Алкалоиды	0,32
Полисахариды	1,22
Флавоноиды	0,34
Кумарины	0,10
Каротиноиды	1,33
Органические кислоты	9,87
Аминокислоты	13,61

Таблица 12 -Содержание основных групп БАВ в субстанции, полученной из надземной части растение *Tamarix hispida*

Группа БАВ	Субстанция
1	2
Дубильные вещества	19,690
Алкалоиды	2,341
Полисахариды	3,026
Флавоноиды	2,424
Кумарины	0,182

Продолжение таблицы 12

1	2
Каротиноиды	2,678
Органические кислоты	12,125
Углеводы	0,00442
Аминокислоты	35,145

Установлено, что в исследуемом растении доминируют аминокислоты, каротиноиды, органические кислоты, дубильные вещества, рибофлавин и полисахариды. Данные по химическому составу не противоречат данным о биологической активности гребеньщика щетиностого, который, как известно, отличается вяжущим, антибактериальным, мочегонным и обезболивающим действием. Известно, что данные типы активности проявляют вещества, относящиеся к классам полифенолов, дубильных веществ, алкалоидов и каротиноидов.

Известно, что биологически активные вещества группы алкалоидов обладают высокой биологической активностью, а именно проявляют обезболивающее, тонизирующее и психостимулирующее действие, в надземной части тамарикса нами обнаружено содержание алкалоидов в 0,32% в пересчёте на абсолютно сухое сырьё, что является сравнительно высоким значением и частично объясняет биологическую активность настоек на основе тамарикса[314].

Также нами выявлено высокое содержание каротиноидов в исследуемом растении, более 1 процента, что является косвенным подтверждением тонизирующего действия тамарикса.

Таким образом, в работе определён количественный фитохимический состав гребенщика щетиностого, заготовленного в Илийском районе Алматинской области. Установлено, что лекарственное растительное сырьё соответствует всем требованиям Государственной Фармакопей. В заготовленной траве доминируют аминокислоты, каротиноиды, органические кислоты, дубильные вещества, рибофлавин и полисахариды, что согласуется с биологической активностью типичной для данного вида.

Полученные данные позволяют оптимизировать технологическую схему получения препарата тамариксидин и стандартизировать процессы заготовки сырья, что является необходимым для промышленного производства препарата [315].

3.3.2 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix Hispida,* полученного в растворе этанола

Известно, что химический состав растительных экстрактов напрямую зависит от множества факторов, таких как: температура процесса экстракции, время экстракции, соотношения «растительное сырьё/ экстрагент» и, конечно, главным фактором является природа использованного растворителя или системы растворителей.

В зависимости от решаемых задач для извлечения биологически активных веществ используется богатый арсенал органических растворителей, таких как гексан, хлороформ или бензол.

Рассмотрим сравнительный анализ фитохимического состава спиртовых экстрактов тамарикса с различным соотношением спирт/ вода.

В 96% экстракте из надземной массы *Tamarix hispida*, было обнаружено присутствие большого количества фенольных и полифенольных соединений таких как: 8- [2- (2-ацетиламинофенил) -2-оксоэтил] -3-изопропил-6a, 7,10β триметилдодекадибензо [f] хромен-7-карбоновой кислоты, метилового эфира (63,35%), финолин (3,23%), 3,8,12-три-О-ацетилингол-7-фенилацетат (1,23%), диметиловый эфир гексестрола (1,21%). Помимо перечисленных соединений идентифицировано множество азотосодержащих соединений и их ароматических производных. Наибольшим содержанием выделяются следующие соединения: 6Н-бензо [β] нафто [2,3-Н] карбазол (6,17%), бензенамин, 4-метил-N, N-бис (4-метилфенил) (4,46%) и 4-трет-бутил-2- (4-метокси-фенил) -6-п-толил-пиридин (3,57%). Также в 96% экстракте идентифицировано одно серосодержащее соединение спиро (17-ацетохадроксан-3-ол) 2,2 '(1', 3'-дитиан) (1,4%). Данные представлены в таблицах 13 и в приложении А

Из данных, представленных в таблице 13 видно, что в 96% экстракте из растительного сырья перешло значительное количество растительных красителей, в частности 5,12-дигидрокуино [2,3-β] акридин-7,14-дион и множество соединений класса алкалоидов пиридиного и пиримидиного ряда

Таблица 13 - Данные хромато-масс-спектрометрии 96% этанольного экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

Название соединения	Молекулярная формула	Время удерживания	Содержание,%
1	2	3	4
8- [2- (2-ацетиламинофенил) -2-оксоэтил] -3-изопропил-6a, 7,10b триметилдодекадибензо [f] хромен-7-карбоновой кислоты, метилового эфира	$C_{31}H_{45}NO_5$	5,96	0,8
5,12-Дигидрокуино [2,3-Ь] акридин-7,14-дион	$C_{20}H_{12}N_2O_2$	6,43	2,48
Спиро (17-ацетохадроксан-3-ол) 2,2 '(1', 3'-дитиан)	$C_{24}H_{38}O_3S_2$	6,64	1,4
3,8,12-три-О-ацетилингол-7-фенилацетат	$C_{34}H_{42}O_{10}$	6,99	1,23
Филонтн	$C_{17}H_{14}O_6$	7,49	3,23
4-амино-2- (п-толил) -5Н (1) бензопирано (4,3-d) пиримидин-5-она	$C_{18}H_{13}N_3O_2$	8,11	2,23
Бензенамин, 4-метил-N, N-бис (4-метилфенил)	$C_{21}H_{21}N$	8,40	4,46

Продолжение таблицы 13

1	2	3	4
Бензенамин, 3-метил-N, N-бис (3-метилфенил) -	$C_{21}H_{21}N$	8,78	1,9
15H-бензо [α] нафто [2,3-H] карбазол	$C_{24}H_{15}N$	8,92	0,88
6H-бензо [β] нафто [2,3-H] карбазол	$C_{24}H_{15}N$	9,36	6,17
4-трет-бутил-2- (4-метокси-фенил) -6-п-толил-пиридин	$C_{23}H_{25}NO$	10,03	3,57
Пиррол, 2- (2-нафтил) -3,5-дифенил-	$C_{26}H_{19}N$	10,76	1,87
Диметиловый эфир гексестрола	$C_{20}H_{26}O_2$	11,64	1,21
.1- (3-фурил) -4 β, 7,7,9 β, 11α-пентаметил-3,8-диоксогексадекагидроксирено [2,3-d] оксирено [2' , 3' : 7,8] нафт [2,1 -f] изохромен-5-илацетата	$C_{28}H_{34}O_8$	11,86	3,65
2,4,6-декатриенова кислота, 1a, 2,5,5a, 6,9,10,10a-октагидро-5,5a-дигидрокси-4- (гидроксиметил) -1,1,7,9-тетраметил-11 -оксо-1H-2,8a-метаноциклопента [a] циклопропа [e] циклодецен-6-илового эфира, [1aR- (1aα, 2α, 5β, 5aβ, 6β, 8aα, 9α, 10aα)] -	$C_{30}H_{40}O_6$	12,81	0,67
8- [2- (2-ацетиламинофенил) -2-оксоэтил] -3-изопропил-6a, 7,10b триметилдодекадибензо [f] хромен-7-карбоновой кислоты, метилового эфира	$C_{21}H_{32}O_4$	13,85	63,35

В 70% экстракте также выделяются ароматические соединения, в частности доминируют 1,2-бензолдикарбоновая кислота, децилоктиловый эфир (69,25%). Как и в 96% идентифицирован финолин (2,09%) и выявлено высокое содержание биологически активных азотосодержащих соединений: неоауретин (3,07%), морфинан-4,6-диол, N-формил-6-ацетат (4,18%), .2-2-Метокси-N-метил-4- (метилсульфанил) -N-фенилбензамид (5,04%), 7-7-тиено- [3,2-β] пиридин (4,36%) [316].

Как видно из данных, представленных в таблице 2, в 70 % экстракт перешло значительное количество алкалоидов, являющихся производными, пиридина, пиримидина. В 70% экстракт также идентифицированы производные морфина и меньшее, чем в 96% экстракте, число растительных красителей. В 70% экстракте присутствуют сероорганические соединения 7-тиено- [3,2-β] пиридин (4,36%). Данные представлены в таблице 14 и в приложении А

Таблица 14 - Данные хромато-масс-спектрометрии 70% этанольного экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

Название соединения	Молекулярная формула	Время удерживания	Содержание, %
Неоауретин	$C_{28}H_{31}NO_6$	0,47	3,07
Морфинан-4,6-диол, N-формил-6-ацетат	$C_{19}H_{23}NO_4$	5,84	4,18
5,12-дигидроквино [2,3-Ь] акридин-7,14-дион	$C_{20}H_{12}N_2O_2$	6,42	3,52
20-этил-1,7,8-тригидрокси-6,16-диметокси-4- (метоксиметил) аконитан-14-илацетат	$C_{26}H_{41}NO_8$	6,97	3,86
Финолин	$C_{17}H_{14}O_6$	7,48	2,09
2-Метокси-N-метил-4-(метилсульфанил) -N-фенилбензамид	$C_{16}H_{17}NO_2S$	8,06	5,04
8а (ацетилокси) -2а - [(ацетилокси) метил] -6b-гидрокси-3а-метокси-1,1,5,7-тетраметил-4-оксо-1,1а, 1б, 1в, 2а, 3,3а , 4,6а, 6b, 7,8-додекагидро-8а-циклопропа [5 ', 6'] бензо [1 ', 2': 7,8] азулено [5,6-b] оксиран-8-илацетата	$C_{27}H_{36}O_{10}$	8,88	1,12
10-гидрокси-1,2,6а, 6b, 9,9,12а-гептаметил-4а-метоксикарбонил-13-оксо-1,2,3,4,4а, 5,6,6а, 6b, 7,8, 8а, 9,10,11,12,12а, 12b, 13,14b-октадекагидро-2Н-пицена	$C_{31}H_{48}O_4$	9,37	1,86
7-тиено- [3,2-β] пиридин	C_8H_7NS	11,64	4,36
Диметиловый эфир гексестрола	$C_{20}H_{26}O_2$	11,86	0,83
2,4,6-декатриенова кислота, 1а, 2,5,5а, 6,9,10,10а-октагидро-5,5а-дигидрокси-4- (гидроксиметил) -1,7,9-триметил-1-[[(2-метил-1-оксо-2-бутенил) окси] метил] -11-оксо-1Н-2,8а-метаноциклопента [а] циклопропа [е] циклодецен-6-илового эфира	$C_{35}H_{46}O_8$	12,81	0,82
1,2-Бензолдикарбоновая кислота, децилоктиловый эфир	$C_{26}H_{42}O_4$	13,85	69,25

Данные, представленные в таблице 15 и в приложении А, свидельствуют о том, что 50% экстракт отличается наибольшим числом идентифицированных соединений. Помимо ранее обнаруженных полиароматических и азотосодержащих и серосодержащих соединений, были

выявлены в значительном количестве метил (((1E) -2- (4-хлорфенил) -3- [4- (2-фуроил) -1-пиперазинил] -3-тиоксо-1-пропенил) амино) ацетат (4,4%) относящийся к галоген органическим соединениям, также присутствуют природные красители 5,12- дигидроквино [2,3- β] акридин-7,14-дион

Из ранее перечисленных классов в 50% экстракте также доминирут производные фталевой кислоты Фталевая кислота, гексадецил-2-метилбутиловый эфир (52,89%) и алкалоиды 20-Этил-1,7,8-тригидрокси-6,16-диметокси-4- (метоксиметил) аконитан-14-илацетат (6,34%), 7-7-тиено- [3,2-Ь] пиридин (2,69), хоть и в меньшем, чем в предыдущих экстрактах количестве.

Таблица 15 - Данные хромато-масс-спектрометрии 50% этанольного экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

Название соединения	Молекулярная формула	Время удерживания	W, %
1	2	3	4
Метил (((1E) -2- (4-хлорфенил) -3- [4- (2-фуроил) -1-пиперазинил] -3-тиоксо-1-пропенил) амино) ацетат	$C_{21}H_{22}ClN_3O_4S$	0,47	4,4
6-нитро-1,4-дигидропиразоло [4,3-с] пиразол-3-карбоновой кислоты	$C_5H_3N_5O_4$	5,85	7,29
5,12- дигидроквино [2,3-Ь] акридин-7,14-дион	$C_{20}H_{12}N_2O_2$	6,42	3,44
20-Этил-1,7,8-тригидрокси-6,16-диметокси-4- (метоксиметил) аконитан-14-илацетат	$C_{26}H_{41}NO_8$	6,97	6,34
1-метилкоронен	$C_{25}H_{14}$	7,49	4,22
2-метокси-N-метил-4- (метилсульфанил) -N-фенилбензамид	$C_{16}H_{17}NO_2S$	8,07	7,79
1- (3-фурил) -4b, 7,7,9b, 11а-пентаметил-3,8- диоксогексадекагидроксирено [2,3-d] оксирено [2' , 3' : 7,8] нафт [2,1 f] изохроман-5-илацетат	$C_{28}H_{34}O_8$	8,89	1,44
7-гидрокси-3о, 6,12а-триметил-1- (1,4,5-триметилгексил) тетрадекагидро-4Н-циклопент [а] cyclopropa [е] фенантрено-4-он	$C_{30}H_{50}O_2$	9,37	3,62
Алхлометазон дипропионат	$C_{28}H_{37}ClO_7$	9,73	1,1
4-трет-бутил-2- (4-метокси-фенил) -6-п-толил-пиридин	$C_{23}H_{25}NO$	10,10	0,78
7-тиено- [3,2- β] пиридин	C_8H_7NS	11,65	2,69
1,2-дигодромерогидунол	$C_{21}H_{30}O_4$	11,86	0,55

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4
2,4,6-декатриенова кислота, 1a, 2,5,5a, 6,9,10,10a-октагидро-5,5a-дигидрокси-4-(гидроксиметил) -1,7,9-триметил-1- [[(2-метил-1-оксо-2-бутенил) окси] метил] -11-оксо-1H-2,8a-метаноциклопента [a] циклопропа [e] циклодецен-6-илового эфира	$C_{35}H_{46}O_8$	12,82	0,67
Фталевая кислота, гексадецил-2-метилбутиловый эфир	$C_{29}H_{48}O_4$	13,87	52,89

Как следует из вышеприведённой таблицы, во всех исследуемых экстрактах обнаружено высокое содержание азотосодержащих соединений и соединений, относящихся к классу сложных эфиров, а также полиароматические вещества.

Во всех 3 экстрактах различные эфиры фталевой кислоты являются доминирующими соединениями. Эта фталевая кислота, гексадецил-2-метилбутиловый эфир (63,35%) в 96% экстракте. Доминирующим являются 1,2-бензолдикарбоновая кислота, децилоктиловый эфир (69,25%) в 70% экстракте и фталевая кислота, гексадецил-2-метилбутиловый эфир (52,89%) в 50% экстракте. Во всех экстрактах выявлено высокое содержание алкалоидов различных групп, например, 4-трет-бутил-2- (4-метокси-фенил) -6-п-толил-пиридин (3,57%) в 96% экстракте, морфинан-4,6-диол, N-формил-6-ацетат (4,18%) в 70% экстракте и 7-тиено- [3,2- β] пиридин (2,69%) в 50% экстракте. Все вышеперечисленные параметры являются весьма высокими для алкалоидов, дикорастущих растительных объектов, произрастающих в Центральной Азии, при этом необходимо отметить, что наибольшее содержание алкалоидов отмечено в 70% спиртовом экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* .

Если более детально рассмотреть содержание разных типов органических соединений во всех трёх экстрактах, то получим следующие цифры.

Содержание полиароматических углеводородов составляет, в 96% экстракте – 0%, в 70% экстракте- также не обнаружены и только в 50% идентифицировано одно соединение 1-метил-коронен с содержанием в 4,22%.

Кислородосодержащие соединения без включения азота, серы или галогенов: в 96% экстракте - 73,34 %, в 70% экстракте- 75,97%, в 50% экстракте- 59,17%. Как видно, наибольшее содержание кислородосодержащих соединений выявлено в 70% экстракте, наименьшее в 50%, при этом во всех экстрактах это в основном производные фталевой кислоты.

Азотосодержащие соединения представлены во всех трёх экстрактах наибольшим разнообразием соединений, при этом присутствуют как

азотосодержащие красители, так и алкалоиды. Сравним количество азотосодержащих соединений без серы и галогенов во всех 3 экстрактах:

В 96% экстракте- 24,36%

В 70% экстракте- 14,63%

В 50% экстракте- 17,85%

В каждом из экстрактов доминирующими являются

Бензанамин, 4-метил-N, N-бис (4-метилфенил) (4,46%), 6H-бензо [b] нафто [2,3-h] карбазол (6,17%) в 96% экстракте. Неоауротин (3,07%) Морфинан-4,6-диол, N-формил-6-ацетат (сложный эфир) (4,18%), 5,12-дигидрохино [2,3-b] акридин-7,14- дион (3,52%), 20-этил-1,7,8-тригидрокси-6,16-диметокси-4- (метоксиметил) аконатан-14-илацетат (3,86%) в 70% экстракте и 6- Нитро-1,4-дигидропиразоло [4,3-c] пиразол-3-карбоновой кислоты (7,29%), 5,12-дигидрохино [2,3-b] акридина-7,14-диона (3,44 %) в 50%экстракте. Все остальные азотосодержащие соединения представлены в относительно незначительных количествах.

При этом обнаружены как соединения, включающие помимо водорода и углерода только азот, так и с наличием кислорода, серы или хлора в молекуле вещества. Однако соединения, включающие в качестве гетероатома, только азот идентифицированы исключительно в 96% экстракте в количестве 9,08%.

Содержание веществ, включающих два гетероатома (азот и кислород), составляет в 96% экстракте 15,28%. В 70% и 50% экстрактах доля кислородосодержщих азотных соединений составляет 14,63 для 70% и 17,85% для 50% экстрактов.

Количество серосодержащих соединений во всех 3 экстрактах сравнительно невелико, в 96% экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* идентифицировано только одно вещество содержащее серу в молекулярной структуре, а именно спиро (17-ацетоксиандростан-3-ол) 2,2 '(1', 3'-дитиан) в количестве 2,23%

В 70% экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* определено 2 серосодержащих соединения, при этом помимо серы в молекуле 7-метилтиено [3,2-b] пиридин содержание еще и азот, а в 2-метокси-N-метил-4-(метилсульфанил) -N-фенилбензамид присутствует кислород, общая массовая доля серосодержащих соединений составляет 9,4%.

В 50% экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* определено одно соединение, включающее серу и азот это 7-тиено- [3,2-β] пиридин, одно, включающее серу, азот и кислород- 2Метокси-N-метил-4- (метилсульфанил) -N-фенилбензамид и одно, включающее в составе молекулы серу, азот, кислород и хлор- Метил (((1E) -2- (4-хлорфенил) -3- [4- (2-фуроил) -1-пиперазинил] -3-тиоксо-1-пропенил) амино) ацетат, необходимо отметить, что вещество включающее и серу, галоген, азот и кислород идентифицировано только в 50% экстракте. Общая массовая доля серосодержащих соединений, включая и галогенсодержащие, составляет в 50% экстракте 14,88%.

В 50% экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* идентифицирован ряд интересных метаболитов, содержащих в своём составе галогены- метил (((1E) -2- (4-хлорфенил) -3- [4- (2-фуроил) -1-пиперазинил] -3-тиоксо-1-пропенил) амино) ацетат (4,4%), алкометазон дипропионат (1,1%), общая массовая доля галогенорганических соединений составляет в 50% экстракте 5,5% [318].

3.3.3 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix Hispida* полученный в растворе гексана

Химический состав гексанового экстракта растительного сырья гребенщик щетинистоволосый определен методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией. Компоненты идентифицировали по масс-спектрам и временам удерживания с использованием библиотеки Wiley GC/MS. Процентное содержание компонентов вычисляли автоматически, исходя из площадей пиков общей хроматограммы ионов. Данные анализа приведены в таблице 16.

В результате идентифицировали 30 компонентов, из которых 8 - кислот и их эфиров, 5 – спиртов, 4 – кетона, 1– альдегид, 1– фенол, 3 – алкана, 3 – галогенопроизводных, 2 – циклических, 3 – гетероциклических соединений. Выявлено значительное содержание β-каротина (23.73%), 2-цис-9-октадецинилоктаэтанола (16.99%), пропилового эфира 3-октадецилоксиолеиновой кислоты (14.34%), октакозилтрифторацетата (8.60%), цис- 11- октадеценовой кислоты (7.49%), гептакозана (6.01%), 2-бромоктадеканаля (5.24%), β-ситостерола (4.49%) соответственно.

Ранее нами из растения гребенщик щетинистоволосый в индивидуальном состоянии были выделены и охарактеризованы спектральными методами анализа β-каротин, β-ситостерол и фитол.

Впервые в растениях рода гребенщик выявлены галогенопроизводные, которые редко встречаются в растительных объектах. Имеются литературные данные о присутствии галогенопроизводных компонентов в высших растениях.

Данные представлены в таблице 16 и в приложении Б

Таблица 16 - Химический состав гексанового экстракта растения *Tamarix hispida.*

Название соединения	Молекулярная формула	Время удерживания, мин	Содержание, %
1	2	3	4
Гексановая кислота	$C_6H_{12}O_2$	3.58	0.06
1-Метил-2-пирролидинон	C_5H_9NO	12.56	0.13
3-Этил-4-метил-пиррол-2,5-дион	$C_7H_9NO_2$	13.65	0.11
Нонановая кислота	$C_9H_{18}O_2$	18.91	0.14
Декановая кислота	$C_{10}H_{20}O_2$	19.82	0.07

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4
Ванилин	$C_8H_8O_3$	22.03	0.56
Цис-геранилацетон	$C_{13}H_{22}O$	22.71	0.17
4-ацетил 2- метоксифенол	$C_9H_{10}O_3$	23.59	0.06
5,6,7,7*a*-тетрагидро-4,4,7*a*-триметил 2 (4*H*) –бензофуранон	$C_{11}H_{16}O_2$	24.39	0.09
Додекановая кислота	$C_{12}H_{24}O_2$	24.52	0.17
Этил-2-метилаллиловый эфир фумаровой кислоты	$C_{10}H_{14}O_4$	25.48	0.70
4-3-гидрокси-1-бутенил -3,5,5-триметил 2-циклогексан-1-нон	$C_{13}H_{20}O_2$	25.98	0.41
6,10,14-триметил-2-пентадеканон	$C_{18}H_{36}O$	27.71	0.11
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадека-1-ол	$C_{20}H_{40}O$	32.77	1.62
Гексадекановая кислота	$C_{16}H_{32}O_2$	33.02	0.72
Фитол	$C_{20}H_{40}O$	34.50	0.51
Цис- 11- октадеценовая кислота	$C_{18}H_{34}O_2$	38.92	7.49
5-метил-5-(4,8,12-триметилтридецил) дигидро-2(3*H*) –фуранон	$C_{21}H_{40}O_2$	42.28	1.42
Гептакозан	$C_{27}H_{56}$	43.08	6.01
9- (2', 2'-диметилпропанилгидразоно) - 3,6-дихлор-2,7-*бис* [2-(диэтиламино) этокси] флуорен	$C_{30}H_{42}Cl_2N_4O_3$	46.13	0.11
Октакозан	$C_{28}H_{58}$	48.42	0.84
2-*цис*-9-октадеценилоктаэтанол	$C_{20}H_{40}O_2$	49.94	16.99
Тетратетраконтан	$C_{44}H_{90}$	50.87	1.07
Триаконтан-1,30-диол	$C_{30}H_{62}O_2$	51.30	3.05
Октакозилтрифторацетат	$C_{30}H_{57}F_3O_2$	53.13	8.60
Пропиловый эфир 3-октадецилоксиолеиновой кислоты	$C_{39}H_{76}O_3$	52.04	14.34
2-*цис*-9-оксидеценилоксиэтанол	$C_{20}H_{40}O_2$	53.78	0.78
2-бромоктадеканаль	$C_{18}H_{35}BrO$	47.82	5.24
β-Каротин	$C_{40}H_{56}$	54.66	23.73
β-Ситостерол	$C_{29}H_{50}O$	57.32	4.49

Определен качественный и количественный компонентный состав гексанового экстракта, полученного из надземной части гребенщика щетинистоволосого (*Tamarix hispida*) с использованием метода газовой

хроматографии с масс-селективным детектором. В результате идентифицировали 30 компонентов, из которых 8 - кислот и их эфиров, 5 – спиртов, 4 – кетона, 1– альдегид, 1– фенол, 3 – алкана, 3 – галогенопроизводных, 2 – циклических, 3 – гетероциклических соединений. Выявлено значительное содержание β-каротина (23.73%), 2-цис-9-октадецинилоктаэтанола (16.99%), пропилового эфира 3-октадецилоксиолеиновой кислоты (14.34%), октакозилтрифторацетата (8.60%), цис- 11- октадеценовой кислоты (7.49%), гептакозана (6.01%), 2-бромоктадеканаля (5.24%), β-ситостерола (4.49%) соответственно.

Кроме того, в надземной массе *Tamarix hispida* идентифицированы соединения, ранее не обнаруженные в представителях данного вида, а именно: галогенпроизводные, производные пиролидина и имиды: 9- (2', 2'-диметилпропанилгидразоно) -3,6-дихлор-2,7-бис [2- (диэтиламино) этокси] флуорен, 2-бромооктадеканаль, октакосилтрифторацетат, а также *N*-метил-α-пирролидинон (0.13%) и этилметилмалеимид (0.11%). Они не были описаны в представителях рода *Tamarix*.

Проведён сравнительный анализ с липофильным составом надземной части *Tamarix boveana:* прослеживается сходство в качественном составе *Tamarix hispida и Tamarix boveana*, в частности, содержание ванилина и фитола в их составе практически одинаково, в то время как количество жирных кислот и углеводородов (гептакозана) сильно отличается.

Впервые в растениях рода гребенщик обнаружены галогенсодержащие биологически активные соединения.

Действующих и вспомогательных веществ требуется более подробное изучение отдельных соединений и групп биологически активных веществ, что будет произведено в дальнейшем [319].

3.3.4 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix Hispida,* полученный в растворе хлороформа

Всего в хлороформенном экстракте из надземной массы *Tamarix hispida* было идентифицировано 58 соединений. Из них: 7 углеводородов с общей удельной массой 16,69%, 5 альдегидов, с общим содержанием 1,6%, 5 спиртов, с содержанием 8,15%, 5 органических кислот- 10,38%, 21 органический эфир- 47,02%, 7 кетонов- 4,75%, 3 азотосодержащих соединения- 0,56% и 1 серосодержащее 0,4%.

Доминируют в хлороформенном экстракте следующие соединения: дигидроактинидиолид (6,02%), гексадекановая кислота, метиловый эфир (20,61%), транс-13-октадеценовая кислота, метиловый эфир (7,69%), гептакозан (9,99%), цис-вакценовая кислота (4 , 51%), 1,2-бензолдикарбоновой кислоты, моно (2-этилгексил) -эфира (3,68%), пропановой кислоты, 2- (3-ацетокси-4,4,14-триметиландрост-8-ен-17- ил) (3,32%).

Данные представлены в таблице 17 и в приложении В

Таблица 17 - Компонентный состав хлороформенного экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

Соединение	Брутто-формула	Молекулярная масса, г/моль	Время удерживания	W, %
1	2	3	4	5
Углеводороды				
октан	C_8H_{18}	114	5.95	0.47
2,6,10-триметилтетрадекан	$C_{17}H_{36}$	240	28.57	1.24
Геникозан	$C_{21}H_{44}$	296	35.28	1.59
Гептакозан	$C_{27}H_{56}$	380	43.79	9.99
тетратетраконтан	$C_{44}H_{90}$	618	48.89	1.21
17-пентатриаконтен	$C_{35}H_{70}$	490	51.58	2.2
Альдегиды				
2-гептеналь	$C_7H_{12}O$	112	11.09	0.47
нонаналя	$C_9H_{18}O$	142	15.37	0.17
2-деценаль (Z)	$C_{10}H_{18}O$	154	19.05	0.14
2,4-декадиен-1-аль	$C_{10}H_{16}O$	152	20.70	0.52
2-ундеканаль	$C_{11}H_{20}O$	168	21.72	0.3
Спирты				
Циклогексанол 2-метил-3- (1-метилэтенил) - (1α, 2α, 3α)	$C_{10}H_{18}O$	154	19.40	2.05
2-цис-9-октадеценлоктаэтанол	$C_{20}H_{40}O_2$	312	34.50	1.08
фитол	$C_{20}H_{40}O$	296	33.03	1.95
4,6-холецестадиен-3β-ол	$C_{27}H_{44}O$	384	54.68	2.24
Органические кислоты				
н-декановая кислота	$C_{10}H_{20}O_2$	172	21.92	0.08
Z-8-Метил-9-тетрадеценовую кислоту	$C_{15}H_{28}O_2$	240	28.43	0.34
цис-9,10-эпоксиоктадекановая кислота	$C_{18}H_{34}O_3$	298	45.44	2.07
цис-вакценовая кислота	$C_{18}H_{34}O_2$	282	46.13	4.51
Пропановая кислота 2- (3-ацетокси-4,4,14-триметиландрост-8-ен-17-ил)	$C_{27}H_{42}O_4$	430	51.83	3.32
Органические эфиры				
Метиловый эфир октановой кислоты	$C_9H_{18}O_2$	158	15.91	0.14
Циклогексанол 2-метил-3- (1-метилэтил) -, (1α, 2α, 3α)	$C_{10}H_{18}O$	154	19.40	2.05
изованилина	$C_8H_8O_3$	152	22.70	0.73
9-оксоновановой кислоты метиловый эфир	$C_{10}H_{18}O_3$	186	23.20	0.12
Метиловый эфир ваниловой кислоты	$C_9H_{10}O_4$	182	25.11	0.35
Эфир 2-метилаллиловый эфир фумаровой кислоты	$C_{10}H_{14}O_4$	198	26.33	1.71

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4	5
Геранил изовалерат	$C_{15}H_{26}O_2$	238	26.46	1.25
5,8-эпокси-3Н-2-бензопиран 4,4а, 5,8-тетрагидро-5,8-диметил-, (4аα, 5α, 8α)	$C_{11}H_{14}O_2$	178	29.91	0.78
1,2-Бензолдикарбоновая кислота. Бис (2-метилпропил) сложный эфир	$C_{16}H_{22}O_4$	278	34.08	1.27
Метиловый эфир гексадекановой кислоты	$C_{17}H_{34}O_2$	270	36.76	20.61
Бутилоксиловый эфир фталевой кислоты	$C_{20}H_{30}O_4$	334	38.27	0.22
Эфир гексадекановой кислоты	$C_{18}H_{36}O_2$	284	39.29	2.71
Ацетат Z-8-октадецен-1-ола	$C_{20}H_{38}O_2$	310	41.06	0.83
транс-13-октадеценовой кислоты метиловый эфир	$C_{19}H_{36}O_2$	296	42.02	7.69
Тетрагидропираниловый эфир цитронеллола	$C_{15}H_{28}O_2$	240	42.08	1.08
Октадекановая кислота метиловый эфир	$C_{19}H_{38}O_2$	298	42.51	3.03
Z- (13,14-эпокси) тетрадек-11-ен-1-олацетат	$C_{16}H_{28}O_3$	268	42.82	0.46
Этил 9.цис.11.транс.-октадекадиеноат	$C_{20}H_{36}O_2$	308	43.14	0.62
9,12,15-октадекариеновой кислоты 2,3-дигидроксипропиловый эфир, (Z, Z, Z)	$C_{21}H_{36}O_4$	352	43.25	0.13
Дибутиловый эфир декандиовой кислоты	$C_{18}H_{34}O_4$	314	43.32	1.04
Циклопропанбутановая кислота 2 - [[2 - [[2 - [(2-пентилциклопропил) метил] циклопропил] метил] циклопропил] метил] метиловый эфир	$C_{25}H_{42}O_2$	374	43.63	0.34
7-Метил-Z-тетрадецен-1-ола	$C_{17}H_{32}O_2$	268	45.19	0.24
1,2,4-триоксолан-2-октановой кислоты 5-октилметиловый эфир	$C_{19}H_{36}O_5$	344	45.72	0.42
1,2-Бензолдикарбоновой кислоты моно (2-этилгексил) -эфир	$C_{16}H_{22}O_4$	278	48.43	3.68
Этил-изо-аллохолат	$C_{26}H_{44}O_5$	436	50.20	0.43
5β-кард-20 (22) -этол-3, 14-дигидрокси-3- (трис- (дигексоксид))	$C_{41}H_{64}O_{13}$	764	52.62	0.2
Кетоны				
3-метокси-4-гидроксиацетофенон	$C_9H_{10}O_3$	166	24.53	1.17
дигидроактинидиолит	$C_{11}H_{16}O_2$	180	25.54	6.02
2,5,5,8а-тетраметил-6,7,8,8а-тетрагидро-5Н-хромен-3-он	$C_{13}H_{20}O_2$	208	25.93	0.28
3-Кето-β-ионон	$C_{13}H_{18}O_2$	206	28.17	0.65
Z-5-метил-6-геникозен-11-он	$C_{22}H_{42}O$	322	44.37	0.2

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4	5
Спиро-8-ен-11-он, 3-гидрокси-, (3β, 5α, 14β, 20β, 22β, 25R)	$C_{27}H_{40}O_4$	428	53.33	0.29
4H-1-бензопиран-4-он. 3,5-Дигидрокси-2- (4-гидрокси-3-метоксифенил) -7-метокси	$C_{17}H_{14}O_7$	330	55.66	1.18
4H-1-бензопиран-4-он. 5,7-дигидрокси-2- (3,4,5-триметоксифенил)	$C_{18}H_{16}O_7$	344	56.30	0.98
Азотосодержащие соединения				
2-окса-6-азатрицикло [3.3.1.1 (3,7)] декан	$C_8H_{13}NO$	139	18.88	0.12
Аспидоспермидин-17-ol, 1-ацетил-19,21-эпокси-15,16-диметокси	$C_{23}H_{30}N_2O_5$	414	29.20	0.2
N- (2-метилбутил) undeca- (2E, 4E) диен-8,10-диамид	$C_{16}H_{21}NO$	243	44.12	0.24
Серосодержащие соединения				
трет-гексадекантиол	$C_{16}H_{34}S$	258	46.28	0.4

Как видно из данных, представленных в таблице, в хлороформенном экстракте, полученном из надземной массы *Tamarix hispida,* обнаружено некоторое количество, азото- и серосодержащих соединений в сумме 0,56 и 0,4 процента соответственно, данные классы соединений ранее не были идентифицированы в надземной части представителей рода *Tamarix*.

Если провести сравнительный анализ с фитохимическим составом надземной части *Tamarix boveana,* то можно констатировать следующие параллели: содержание углеводов в *Tamarix boveana* и *Tamarix hispida* является сравнительно близким (22,514% и 16,69%), органических кислот и эфиров в хлороформенном экстракте *Tamarix hispida* значительно больше, чем в *Tamarix boveana* (28,975% и 57,4%). В хлороформенном экстракте *Tamarix hispida* нами было идентифицировано 22 терпена разных типов, общее содержание которых составляет 23,87%, в то время как в хлороформенном экстракте *Tamarix boveana* содержание терпенойдов составляет 23,76%, что практически идентично. Количество ароматических соединений различных классов в хлороформенном экстракте *Tamarix hispida* составляет 10 при общем содержании -11,61%, что несколько больше чем в *Tamarix boveana* (8,536%), содержание спиртов 8,15% в *Tamarix hispida* и 6,035% в *Tamarix boveana*, альдегидов 1,6% в *Tamarix hispida* и3,5% в *Tamarix boveana*.

Из данного сравнения видно, что значительно отличается (более чем в полтора раза) только содержание органических кислот с эфирами и альдегидов. В *Tamarix hispida* идентифицированы 3 азотосодержащих соединения (2-окса-6-азатрицикло [3.3.1.1 (3,7)] декан, Аспидоспермидин-17-ол, 1-ацетил-19,21-эпокси-15,16-диметокси, N- (2-метилбутил) ундека - (2E,

4E) -диен-8,10-динамид) и одно серосодержащее (трет-гексадекантиол), правда оба в минорных количествах (менее одного процента).

3.3.5 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix Hispida*, полученный в растворе дихлорметана

Компоненты идентифицировали по масс-спектрам и временам удерживания с использованием библиотеки NIST и Wiley GC/MS.

Данные представлены в таблице 18 и в приложении Г

Таблица -18 Компонентный состав дихлорметанового экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

Соединение	Молекулярная формула	Время удерживания, мин	W, %
1	2	3	4
4'- гидрокси ацетофенон (пицеол),	$C_8H_8O_2$	3.61	36.91
2-хлорфенилэтиловый эфир фумаровой кислоты	$C_{12}H_{11}ClO_4$	24.38	1.33
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	$C_{20}H_{40}O$	26.74	2.30
6,10,14-триметил-2-пентадеканон	$C_{18}H_{36}O$	33.56	7.82
1,2-Эпоксиоктодекан	$C_{18}H_{36}O$	34.51	1.31
Гептадециловый эфир 3-хлорпропионовой кислоты	$C_{20}H_{39}ClO_2$	35.35	2.75
2-гидрокси-1,1,10-триметил-6,9-эпидиоксидекалин	$C_{13}H_{22}O_3$	42.04	0.56
3,7,11,15-тетраметил-1-гексадецин-3-ол	$C_{20}H_{38}O$	42.41	0.46
(8*Z*) -14-метил-8-гексадеценаль	$C_{17}H_{32}O$	42.52	0.59
Изопропил 9- октадеценоат	$C_{21}H_{40}O_2$	43.19	1.30
4,7,7-триметилбицикло [4.1.0] гептан-3-ол	$C_{10}H_{18}O$	44.08	0.96
(2*E*) -5-гидрокси-3,4,4-триметил-2-гексеновая кислота	$C_9H_{16}O_3$	45.13	0.48
Монододециловый эфир этиленгликоля	$C_{40}H_{82}O_2$	47.22	1.85
Моноэтилгексилфталат	$C_{16}H_{22}O_4$	48.06	0.39
2-гидрокси-1,1,10-триметил-6,9-эпидиоксидекалин	$C_{13}H_{22}O_3$	48.73	7.04
Бис (2-этилгексил) эфир декандиовой кислоты,	$C_{26}H_{50}O_4$	49.55	0.63
Метил 3-(ацетокси)-20-гидроксиурс-12-ен-28-оат	$C_{33}H_{52}O_5$	51.38	22.26
15-Гидрокси-4-метилпикраза-1,13-диен-3,16-дион	$C_{21}H_{28}O_4$	52.24	1.71
1,54-дибром тетрапентаконтан	$C_{54}H_{108}Br_2$	52.91	1.16

Продолжение таблицы 18

1	2	3	4
4,6-Холестадиен-3*β*-ол	$C_{27}H_{44}O$	54.96	1.25
Стигмастан-3,5-диен	$C_{29}H_{48}$	55.20	0.96
1,30-Триаконтандиол	$C_{30}H_{62}O_2$	55.53	0.89
3- (1,5-диметил-гексил) -3*a*, 10,10,12b-тетраметил-1,2,3,3*a*, 4,6,8,9,10,10*a*, 11,12,12*a*, 12*b*- тетрадекагидро-бензо [4,5] циклогепта [1,2-e] инден	$C_{30}H_{50}$	57.77	2.54
3,6,6-триметил-2-циклогексен-1-ол	$C_9H_{16}O$	60.32	2.60

В дихлорметановом экстракте идентифицировали 25 соединений, из которых в наибольшем количестве составили: пицеол (36.91%); метил 3-(ацетокси)-20-гидроксиурс-12-ен-28-оат (22.26%); 6,10,14-триметил-2-пентадеканон (7.82%); 2-гидрокси-1,1,10-триметил-6,9-эпидиоксидекалин (7.04%) соответственно.

В исследуемом экстракте выявили присутствие галогенорганических соединений в небольших количествах: гептадециловый эфир 3-хлорпропионовой кислоты (2.75%), 2-хлорфенилэтиловый эфир фумаровой кислоты (1.33%) и 1,54-дибром тетрапентаконтан (1.16%). Галогенопроизводные соединения впервые обнаружены в растениях рода *Tamarix*.

Из литературных данных известно, что галогенопроизводные редко встречаются в растениях, но на сегодняшний день известны хлор- и бром содержащие моно-, ди-, три-, сесквитерпеноиды, иридоиды, алкалоиды, фенольные соединения, жирные кислоты и другие соединения, выделенные из растительного сырья.

Следует отметить, что ранее нами из отечественных видов растений *Tamarix,* выделены в индивидуальном состоянии и охарактеризованы физико-химическими данными некоторые терпеноиды, стероиды и предельные спирты. Химический состав дихлорметанового экстракта из *Tamarix hispida* методом газовой хроматографии исследуется впервые [300].

3.3.6 Анализ химического состава экстракта надземной части *Tamarix Hispida* полученный в растворе бутанола

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором исследован в работе бутанольный экстракт, полученный из надземной части *Tamarix hispida* Willd.

Данные представлены в таблице 19 и на рисунке 2

Таблица -19 Компонентный состав бутанольного экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

Соединение	Молекулярная формула	Время удерживания, мин	W, %
1	2	3	4

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4
Уксусной кислоты, 17-ацетокси-3-гидроксиимино-4,4,13-триметил-гексадекагидроциклопента [а] фенантрен-10-илметиловый эфир	$C_{25}H_{39}NO_5$	0,36	23,34
Эргоста-14,22-диен-3-ол, ацетат (3β, 5α) -	$C_{30}H_{48}O_2$	0,44	7,58
2,3,16,17-октадекантетраон тетраоксим	$C_{18}H_{34}N_4O_4$	0,76	1,91
Пирролин, 3- [2- (метоксикарбонил) этил] -4-метил-4 - [(трет-бутоксикарбонил) метил] -2- [(трет-бутоксикарбонил) метилиден] -5 - [[3- [2-(метоксикарбонил) этил] -5-циано-4,5-диметил-4 - [(трет-бутоксикарбонил) метил] -1-пирролин-2-ил] метилиден] -. δ1-пирролин	$C_{39}H_{59}N_3O_{10}$	5,52	1,74
3-Форбинопропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21-(метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	6,01	58,81
Милбемицин В, 5-деметокси-5-он-6,28-ангидро-25-этил-4-метил-13-хлороксим	$C_{32}H_{44}ClNO_7$	6,48	4,41
Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,11	1,6
(25S) -3β-ацетокси-5α, 22β-спиро-9 (11) -о-12β-ол	$C_{29}H_{44}O_5$	7,37	0,61

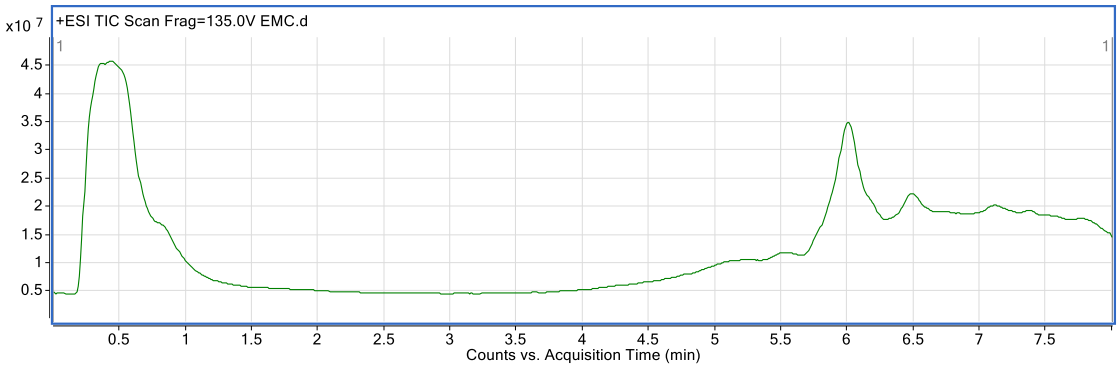


Рисунок 2 – Хромато-масс спектр бутанольного экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

Как видно из данных представленных в баблице 20 и на рисунке 2, в бутанольном экстракте идентифицировано 8 соединений из них 4 относяся к азотсодержащим, 3 являются органическими эфирами и 1 содержит в составе

азот и хлор. Доминирующим соединением является 3-форбинопропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир (58,81%), за ним следует уксусная кислота, 17-ацетокси-3-гидроксиимино-4,4,13-триметил-гексадекагидроциклопента [a] фенантрен-10-илметиловый эфир (23,34%), также в значительном количестве обнаружен пирролин, 3- [2-(метоксикарбонил) этил] -4-метил-4 - [(трет-бутоксикарбонил) метил] -2-[(трет-бутоксикарбонил) метилиден] -5 - [[3- [2- (метоксикарбонил) этил] -5-циано-4,5-диметил-4 - [(трет-бутоксикарбонил) метил] -1-пирролин-2-ил] метилиден] -. δ1-пирролин и милбемицин B, 5-деметокси-5-он-6,28-ангидро-25-этил-4-метил-13-хлороксим. Столь большое содержание соединений, обладающих потенциально биологически активными центрами, позволяет предположить высокую активность бутанольного экстракта.

3.3.7 Анализ химического состава водной фракции экстракта надземной части *Tamarix Hispida*

Водная фракция экстракта, полученного из надземной части *Tamarix hispida* Willd исследована методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором.

Результаты представлены в таблице 20 и на рисунке 3

Таблица -20 Компонентный состав водной фракции экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

Соединение	Молекулярная формула	Время удерживания, мин	W, %
1	2	3	4
14-Бензил-6-гидрокси-4,6,15,15a-тетраметил-3,13,14,14a, 15,15a, 16a, 16b-октагидро [1,3] диоксоциклотридецино [4,5-d] оксирено [2,3-e] изоиндол-5,10,12 (4H, 6H) -трион	$C_{28}H_{33}NO_7$	0,24	38,96
3-фенилпропиловый эфир акриловой кислоты	$C_{12}H_{14}O_2$	0,4	10,28
5,8- (4-Фенил-1,2,4-триазолидин-3,5-дион-1,2-диил) холеста-6,22-диен, 3-метоксиметокси	$C_{37}H_{51}N_3O_4$	0,57	3,86
8- [2- (2-Ацетиламинофенил) -2-оксоэтил] -3-изопропил-6a, 7,10b-триметилдодекадибензо [f] хромен-7-карбоновой кислоты, метилового эфира	$C_{31}H_{45}NO_5$	2,94	0,68

Продолжение таблицы 20

1	2	3	4
Индан, 1- (п-цианобензилиден, -5- (N, N-диметиламино)	$C_{19}H_{18}N_2$	5,3	15,60
N, N-диметил-п-аминобензальдегид	$C_9H_{11}NO$	5,74	3,89
2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4Н-хромен-4-он	$C_{19}H_{18}O_7$	6,49	3,26
2,3-дифенилквинелин	$C_{20}H_{14}N_2$	6,83	9,47
2-метил-6,7-дигидро-5Н-циклопент [d] пиримидин-4-амин	$C_8H_{11}N_3$	7,18	14,01

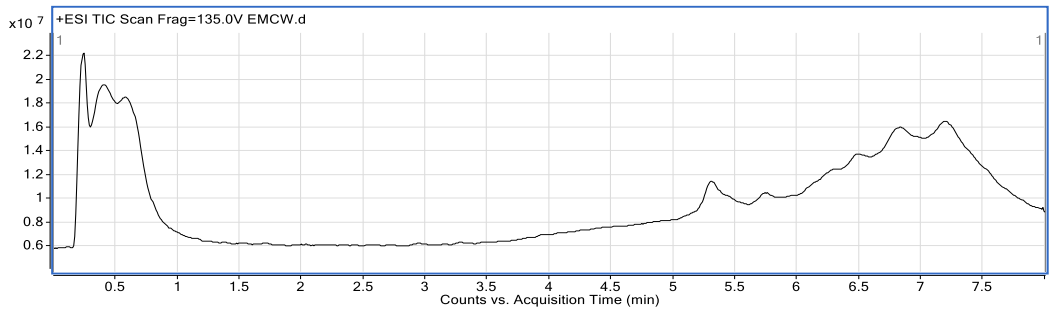


Рисунок 3– Хромато-масс спектр водной фракции экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd

Как видно из представленной таблицы 20 и данных на рисунке 4 в водной фракции было идентифицировано 9 соединений.

Основную массу идентифицированных соединений составляют азотосодержащие, при этом выявлено, что содержание азота в составе пиримидинового кольца (2-метил-6,7-дигидро-5Н-циклопент [d] пиримидин-4-амин), в составе амино и в виде циановых функциональных групп. Помимо азотосодержащих соединений также идентифицирован 3-фенилпропиловый эфир акриловой кислоты в количестве 10,28% и 2- (3-гидрокси-4-метоксифенил)-3,5,7-триметокси-4Н-хромен-4-он.

Доминирующими по количественному содержанию соединениями являются 14-бензил-6-гидрокси-4,6,15,15а-тетраметил-3,13,14,14а, 15,15а, 16а, 16b-октагидро [1,3] диоксоциклотридецино [4,5-d] оксирено [2,3-e] изоиндол-5,10,12 (4Н, 6Н) –трион (38,96%), 2-метил-6,7-дигидро-5Н-циклопент [d] пиримидин-4-амин (15,60%) и 2-метил-6,7-дигидро-5Н-циклопент [d] пиримидин-4-амин (14,01%).

3.4 Биологическая активность экстракта *Tamarix hispida*

3.4.1 Цитотоксичская активность экстракта *Tamarix hispida*

Цитотоксическая активность различных фракций, полученных из субстанции на основе надземной части растения *Tamarix hispida*, определена с использованием тестовых организмов, а именно рачков вида *Artemia salina*.

Результаты представлены в таблице 21

Таблица 21 - Цитотоксическая активность различных экстрактов, полученных из надземной массы *Tamarix hispida* Wild.

Доза	Количество организмов (исходное)	Количество выживших организмов	LD_{50}	Стандартный препарат	LD_{50}
Экстрагент- 70% этанол					
10	30	30	-	Etoposite	7.4625
100	30	30			
1000	30	29			
Экстрагент- 50% этанол					
10	30	29	-	Etoposite	7.4625
100	30	29			
1000	30	26			
Экстрагент- 90% этанол					
10	30	28	489.6056	Etoposite	1.4625
100	30	27			
1000	30	0,9			
Экстрагент- дихлорметан					
10	30	21	-	Etoposite	1.4625
100	30	26			
1000	30	26			
Экстрагент-гексан					
10	30	29	-	Etoposite	1.4625
100	30	29			
1000	30	28			
Экстрагент- хлолроформ					
10	30	30	-	Etoposite	1.4625
100	30	29			
1000	30	29			
Экстрагент-бутанол					
10	30	29	-	Etoposite	1.4625
100	30	29			
1000	30	28			
Экстрагент- вода					
10	30	30	-	Etoposite	1.4625
100	30	29			
1000	30	29			

В результате сравнения данных по цитотоксической активности мы видим, что во всех образцах кроме 90% этанольного экстракта смертность не превышает 20% от общего числа организмов, что позволяет говорить о достаточно низком уровне токсичности и, как следствие, безопасности препаратов на основе надземной массы тамарикса.

Однако в 90% спиртовом экстракте, при которой погибает более 50% испытуемых, концентрация организмов составила более 400 мкл, что, учитывая чувствительность личинок *Artemia salina* к токсичным соединениям, не является безусловным доказательством опасности 90% экстракта для человека и требует дополнительных исследований.

Цитотоксическая активность как полярных (различные спиртовые экстракты), так и неполярных фракций относительно невелика и не препятствует использованию препаратов тамарикса в медицине, даже в высоких концентрациях. Анализ цитотоксической активности различных экстрактов *Tamarix hispida* проводился впервые.

3.4.2. Противогрибковая активность экстракта *Tamarix hispida*

Определение противогрибковой активности различных экстрактов, полученных из надземной части *Tamarix hispida,* была осуществлёна для подбора организмов и условий биотранформации. Вместе с тем определялась возможность применения экстракта в качестве дерматологического противогрибкового средства.

Определение проводилось в среде агара, активность образцов расчитывалась по способности угнетать рост грибков в сравнении со стандартным образцом

Таблица 22- определение фунгицидной активности экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

70% этанольный экстракт					
Название грибка	Влияние препарата на рост (мм)		% ингибирования	Стандарт	Рост %
	Изначальный уровень	После определения			
1	2	3	4	5	6
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
50% этанольный экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
50% этанольный экстракт					

Продолжение таблицы 22

1	2	3	4	5	6
Candida albicans	77,5	100	22.5	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
Гексановый экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	80	100	20	Miconazole	73.50
Хлороформенный экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	85	100	15	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
Дихлорметановый экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	75	100	25	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
Бутанольный экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	100	100	0	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	85	100	15	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50
Водный экстракт					
Candida albicans	100	100	0	Miconazole	97.8
Trichphyton nubeum	75	100	25	Miconazole	113.5
Aspergilus flavus	100	100	0	Amphotericin B	20.70
Microsporum canis	100	100	0	Miconazole	98.1
Fusarium lini	100	100	0	Miconazole	73.50

Выводы по противогрибковой активности экстракта *Tamarix hispida.*

В большинстве случаев экстракты, полученные в водно-этанольных системах, гексане, хлороформе и дихлорметане не проявляют какой либо значительной активности по отношению к колониям тестовых грибков, что позволяет с высокой эффективностью проводить их биотрансформацию без повышения концентрации микроорганизмов или внесения дополнительных стимуляторов роста с целью компенсации убыли организмов под воздействием экстракта.

Кроме того, экстракты из надземной *Tamarix hipida* не проявляют фунгицидной активности. Они не могут быть использованы в качестве эффективных противогрибковых средств. Это является логичным следствием того, что типичным ареалом распространения *Tamarix hipida* являются засушливые и сильнозасоленные зоны пустынь и полупустынь, где грибки не распространены и растению не требуется вырабатывать против них защитные механизмы.

3.4.3. Инсектицидная активность экстракта *Tamarix hispida*

Определение инсектицидной активности экстракта *Tamarix hispida* проводилось для выявления потенциала действенности против вредоносных насекомых в сельском хозяйстве.

Данные представлены в таблице 23

Таблица 23 - инсектицидная активность экстрактов *Tamarix hispida*

Название насекомых	% выживших	% умерших	Эффективность образца%
1	2	3	4
70% этанольный экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
50% этанольный экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
96% этанольный экстракт			
Tribolium castaneum	-	-	-
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbuchus analis	-	-	-

Продолжение таблицы 23

1	2	3	4
Trogoderma granarium	-	-	-
Гексановый экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
Хлороформенный экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
Дихлорметановыйэкстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
Бутанольный экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0
Водный экстракт			
Tribolium castaneum	100	0	0
Sitophilius oryzae	100	0	0
Rhyzopertha dominica	100	0	0
Callosbruchus analis	100	0	0
Trogoderma granarium	100	0	0

Как видно из данных представленных в таблице 23 ни один из образцов не проявил сколь-нибудь заметной активности против насекомых использованных в определении. Данный факт является ожидаемым, учитывая крайне низкую токсичность, но эти показатели и очередной раз подтверждают безопасность экстрактов *Tamarix hispida*.

3.4.4. Противобактериальная активность экстракта *Tamarix hispida*

Противобактериальная активность, является одним из наиболее интересных направлений в серии испытаний экстракта *Tamarix hispida,* так как напрямую связано с его терапевтической активностью. Для опыта нами было выбрано 5 видов бактерий, широко распространённых и представляющих реальную опасность как для человека, так и для экстракта, при его долговременнном хранении. Это: *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi.*

Результаты опыта представлены в таблице 24

Таблица 24 - противобактериальная активность экстракта *Tamarix hispida*

Название бактерии	% ингибирования экстракта	% ингибирования стандарта
1	2	3
70% этанольный экстракт		
Escherichia coli	Нет ингибирования	90.31
Bacillus subtilis	Нет ингибирования	88.76
Staphylococcus aureus	Нет ингибирования	92.76
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	90.15
Salmonella typhi	Нет ингибирования	86.30
50% этанольный экстракт		
Escherichia coli	Нет ингибирования	90.31
Bacillus subtilis	Нет ингибирования	88.76
Staphylococcus aureus	Нет ингибирования	92.76
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	90.15
Salmonella typhi	Нет ингибирования	86.30
96% этанольный экстракт		
Escherichia coli	Нет ингибирования	90.31
Bacillus subtilis	Нет ингибирования	88.76
Staphylococcus aureus	Нет ингибирования	92.76
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	90.15
Salmonella typhi	Нет ингибирования	86.30
Гексановый экстракт		
Escherichia coli	Нет ингибирования	90.31
Bacillus subtilis	8.77	88.76
Staphylococcus aureus	36.05	92.76
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	90.15
Salmonella typhi	Нет ингибирования	66.30
Хлороформенный экстракт		
Escherichia coli	Нет ингибирования	94.43
Bacillus subtilis	17,54	93.77
Staphylococcus aureus	Нет ингибирования	94.08
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	94.14
Salmonella typhi	Нет ингибирования	69.75
Дихлорметановый экстракт		

Продолжение таблицы 24

1	2	3
Escherichia coli	Нет ингибирования	90.31
Bacillus subtilis	Нет ингибирования	88.76
Staphylococcus aureus	22.48	92.76
Pseudomonas aeruginosa	Нет ингибирования	90.15
Salmonella typhi	Нет ингибирования	6.30
Бутанольный экстракт		
Escherichia coli	7.42	94.43
Bacillus subtilis	2.65	93.11
Shigella flexenari	8.12	-
Staphylococcus aureus	-	94.08
Pseudomonas aeruginosa	-	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Водная фракция		
Escherichia coli	3.98	94.43
Bacillus subtilis	N\I	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	17.7	94.08
Pseudomonas aeruginosa	22.67	94.14
Salmonella typhi	13.87	69.75

Экстракты *Tamarix hispida* проявляют сравнительно небольшую противобактериальную активность, в частности в гексановом экстракте обнаружена активность против *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus*, хлороформенный экстракт проявил активность против *Bacillus subtilis*, дихлорметановый также несколько активен против *Staphylococcus aureus.*

У бутанольного экстракта невысокая активность против *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Shigella flexenari. Однако* водный экстракт демонстрирует среди прочих максимальную эффективность против, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, при этом против бактерии *Salmonella typhi* водная фракция демонстриует наибольшую активность.

3.4.5. Рострегулирущая активность экстракта *Tamarix hispida*

Среди множества классов биологически активных веществ, выделяемых из растений и получаемых методом синтеза, особое значение для сельского хозяйства имеют вещества, обладающие рострегулирующей способностью. Они в определённых пределах оказывают влияние на развитие отдельных органов, либо растений в целом угнетая, либо стимулируя набор биомассы.

Регуляторы развития — это физиологически активные вещества, проявляющие своё действие в крайне малых количествах (обычно дозировка измеряется в микролитрах). Они позволяют воздействовать на интенсивность и направленность физиологических процессов в сельскохозяйственных культурах, повышая их урожайность, ускоряя набор зелёной массы, либо, наоборот, угнетая рост сорняков.

К регуляторам роста, в первую очередь, относятся фитогормоны, подразделяемые на 5 основных групп: ауксины, гибберлины, цитокинины, абсцизины, и этилен. Первые 3 класса обладают спобностью индуцировать рост, примером подобных соединений является индолоуксусная кислота и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота.

Абсцизины и этилен, являются природными ингибиторами, то есть веществами, тормозящими рост. Природные ингибиторы чаще всего накапливаются в покоящихся органах, в частности в почках, семенах и клубнях.

Из данных, представленных в таблице 1 мы видим, что 70% этанольный экстракт из надземной части *Tamarix hispida* проявляет значительно большую рострегулирующую активность в намного меньшей концентрации, то есть 50% экстракт проявляет значительную активность (43.13%) только при максимальной концентрации в 100мкл, в то время как 70% демонстрирует активность 50% уже при 10мкл что говорит о высокой рострегулирующей активности.

Однако при повышении концентрации изменения уже не столь велики и составляют 55% при 100 мкл и 69 при 1000 мкл. Из чего следует, что изменения концентрации в 10 не приводит к значительному росту эффективности, что подтверждает утверждение о целесообразности использования рострегулирующих веществ исключительно в низких концентрациях, так как увеличение концентрации приводит только к бессмысленному расходу препарата.

Данные представлены в таблице 25

Таблица 25- рострегулирующая способность экстракта из надземной массы *Tamarix hispida* Wild

Контрольное растение	Концентрация исследуемого вещества	Типы образцов		Степень роста	Концентрация стандарта
		Организмы без изменений	контрольный		
70%-этанольный экстракт					
Lemna minor	10 мкл	20	40	50 %	0,015
	100 мкл	18		55 %	
	1000 мкл	16		69 %	
50%-этанольный экстракт					
Lemna minor	10 мкл	51	51	0 %	0,015
	100 мкл	51		0 %	
	1000 мкл	29		43.13 %	
96%-этанольный экстракт					
Lemna minor	10 ml	27	40	32,5 %	0,015
	100 ml	27		32,5 %	
	1000 ml	27		32,5 %	

Полученные данные наглядно демонстрируют то, что рострегулирующий эффект, который достигается в 50% экстракте при

концентрации в 1000мкл на 1000мл, а именно 43.13%, значительно меньше, чем в 70% при концентрации 10 мкл (50%) то есть 70% экстракт показывает более чем в 100 раз большую эффективность в лабораторных испытаниях. Этот факт убедил нас рассматривать 70% экстракт как основной при определении рострегулирующей активности. Отметим, что наиболее интересные результаты показал 96% экстракт, 32,5 % при всех концентрациях.

3.4.6. Миеломодулирующая активность экстракта *Tamarix hispida*

В настоящее время в медицинской клинической практике используют препараты с миелосупрессивным действием. В частности, все цитостатики, применяющиеся в онкологической практике (в результате чего больной погибает не из-за онкологического заболевания, а от острой миелосупрессии), вызывают тяжелую панцитопению, — одновременное уменьшение числа лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов. Это касается и противотуберкулезных препаратов (стрептомицин, тиацетазон, изониазид, р-аминосалициловая кислота, диметилкарбазин), раствора Шторддарта (продукт перегонки нефти), тринитротолуола, пестицидов, особенно хлорорганических препаратов, линдана (гамма-гексахлорциклогексан) и ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан). Но выбор эффективных миелостимулирующих препаратов, способных за короткий промежуток времени поднять (восстановить) показатели периферической крови и миелограммы костного мозга, очень ограничен. Препараты, применяющиеся в качестве миелостимуляторов, являются производными от ГМ-КСФ, Г-КСФ и т.д., которые вызывают иногда необратимые изменения в костном мозге. Таким образом, фармакологический скрининг миелостимулирующих препаратов актуален на сегодняшний день. Кроме того, миелостимуляторы находят широкое применение в офтальмологии, хирургии, косметологии и в биотехнологии.

Нами изучена иммуностимулирующая активность спиртовых экстрактов тамарикса, как наиболее пригодных в качестве лекарственных средств.

Данные представлены в таблице

Таблица 26- миеломодулирующая способность экстракта из надземной масс *Tamarix hispida*

Название образца	Концентрация мг/мл	Ингибирование	Стимуляция	IC_{50}±50
50%-этанольный экстракт	30	21	236	Не активен
70%-этанольный экстракт	30	11	281	Не активен
96%-этанольный экстракт	30	10	860	Не активен
10%-этанольный экстракт	30	24	236	Не активен
Стандарт	30			03±0.02

Как видно из данных, представленных в таблице, экстракты из надземной части *Tamarix hispida* не проявляют значительной миеломодулирующей активности.

3.4.7. Противовоспалительная активность экстракта *Tamarix hispida*

Регуляция процессов воспаления является одной из важнейших проблем фармации. Поэтому поиск новых соединений, обладающих противовоспалительным действием, является актуальной задачей. В связи с этим поиск новых эффективных противовоспалительных препаратов растительного происхождения является беспрерывным процессом. Преимущества применения растительных средств обусловлены широким спектром: мягкостью, отсутствием побочных действий при длительном применении, так как они по химической природе близки к естественным метаболитам синтезируемым в организме человека и легко включаются в процесс обмена веществ [320-323] .

Нами рассмотрены гексановый, хлороформенный, дихлорметановый, этанольные, водный и бутанольный экстракты из надземной части *Tamarix hispida*

Результаты представлены в таблице

Таблица 27- Противовоспалительная активность экстрактов, полученных из надземной части *Tamarix hispida*

Название образца	Противовоспалительная активность	
	%ингибирование (µg/mL)	IC 50 (µg/mL)
Гексановый экстракт	28.1	15.3 ±1.1
Хлороформенный экстракт	23.4	16.6 ±3.4
Дихлорметановый экстракт	21.0	12.4 ±2.5
Экстракт 96% этанолом	10	Не активен
Экстракт 70% этанолом	11	Не активен
Экстракт 50% этанолом	21	Не активен
Водная фракция	38.0	-
Бутанольная фракция	51.8	35.7 ±3.1

Как мы видим из данных, представленных в таблице 27, наибольшую биологическую активность проявляют этанольный и бутанольный экстракты из растения *Tamarix hispida*, что и обусловлиеват наш выбор в качестве одной из фракций, выделяемых из субстрата после биотрансформации, водные экстракты тамарикса изучались нами по причине того .что биотрансформация проводиться исключительно на основе водных питательных сред являющихся единственно возможными в которых могут выживать микроорганизмы.

3.5 Процесс получения биотрансформированного фитопрепарата на основе субстанции полученной из надземной части растения *Tamarix hispida*

В соответствии с технологическим планом растительное сырье высушивали, измельчали до размера (не более 3 мм, 5 мм и 8 мм) и проводили экстракцию с дальнейшим концентрированием объединенных экстрактов в мягких условиях досуха (таблица 28).

Таблица 28 – Выход субстанции (г), полученной из исследуемых растений, в зависимости от степени измельчения сырья

Общее время экстракции, час	Степень измельчения сырья, мм	Температура, ^{o}C	Объем экстрагента, мл	Выход субстанции, г
24	3,00	25	100	6,72
24	5,00	25	100	5,53
24	8,00	25	100	5,21

Как видно из данных, представленных в таблице 28, наибольшая полнота экстракции достигается при измельчении сырья до 3 мм, что обеспечивается максимальной площадью соприкосновения сырья с экстрагентом.

Наиболее подходящими растворителями, используемыми в качестве экстрагентов, могут быть этиловый спирт и его водные растворы различной концентрации: 30 %, 40 %, 50 %, 70 % (таблица 29).

Из таблицы 4 можно видеть, что оптимальным экстрагентом является 50 % этанол, так как именно при его применении выход субстанции является максимальным. Этиловый спирт отличается от других растворителей своей меньшей токсичностью для живого организма и он разрешен для применения в медицине, т.е. является фармакопейным компонентом.

Таблица 29 – Выход субстанции (г), полученной из исследуемых растений, в зависимости от экстракционной системы

Общее время экстракции, час	Экстра-гент этанол	Степень измельчения сырья, мм	Темпера-тура, ^{o}C	Объем экстра-гента, мл	Выход субстан-ции, г
24	30 %	3,00	25	100	5,55
24	40 %	3,00	25	100	6,53
24	50 %	3,00	25	100	6,72
24	70 %	3,00	25	100	4,21

Аналогично было установлено оптимальное время экстракции сырья, необходимое для максимального извлечения из него субстанции и отсутствия избыточных временных затрат 24 часа (таблица 30).

Таблица 30 – Выход субстанции (г), выделяемой из исследуемых растений в зависимости от времени экстракции

Общее время экстракции, час	Степень измельчения сырья, мм,	Темпе-ратура ^{o}C	Экстрагент - этанол, %	Соотношение сырьё: экстрагент, г	Выход субстан-ции, г
6	3,00	25	50%	1:5	3,79
8	3,00	25	50%	1:5	4,82
12	3,00	25	50%	1:5	5,16
24	3,00	25	50%	1:5	6,72
48	3,00	25	50%	1:5	6,45
64	3,00	25	50%	1:5	6,71
72	3,00	25	50%	1:5	6,73

Как следует из данных таблицы 27, оптимальный выход экстрактивных веществ в виде субстанции достигается при экстракции в течение 24 часов, что было использовано далее в эксперименте.

При проведении экстракции сырья необходимо было рассмотреть влияние температуры на выход субстанции (таблица 31).

Как видно из данных, представленных в таблице 6, при изменении температуры экстракции от 25 °С до 60 °С при постоянстве остальных параметров наибольший выход субстанции достигается при температуре 25 ^{o}C.

Таблица 31 – Выход субстанции (г), полученной из исследуемых растений, в зависимости от температуры экстракции

Общее время экстракции, час	Температура, ^{o}C	Объем экстрагента, мл	Выход субстанции, г
24	22-25	100	6,72
24	30	100	6,69
24	40	100	6,73
24	50	100	6,56
24	60	100	6,43

Известно, что при подобной температуре при экстракции, не приводит к деструкции в экстракте действующих БАВ, что очень важно для сохранения первоначальной биологической активности выделяемой субстанции, т.е. ее нативного состояния.

Далее был проведен эксперимент по установлению кратности экстракции с целью определения оптимального числа экстракции из лекарственного растительного сырья.

Данные представлены в таблице 31.

Таблица 32 – Выход субстанций (г), выделяемых из исследуемого вида растений, в зависимости от числа экстракций

Количество экстракций	Выход субстанции, г
1 экстракция	6,72
2 экстракция	3,2
3 экстракция	1,37

Как следует из данных, приведенных в таблице 32, экстракция должна быть проведена дважды, так как именно ее двукратность способствует максимальному извлечению комплекса БАВ из сырья большее количество лишь незначительно повышает эффективность процесса извлечения, так как масс полученной при 3-ей экстракции субстанции составляет 20,4% от массы субстанции полученной при первой экстракции.

Ниже показана принципмальная блок- схема получения субстанции и её последующая биотрансформация.

Процесс получения трансформированной субстанции включает в себя стадии подготовки лекарственного растительного сырья, подготовки экстрагента для получения исходной субстанции, процесс экстракции и концентрации субстанции на ротационном испарителе. Также включены стадии стандартизации и изучения полученной субстанции. Кроме того в схему включены этапы необходимые для биотрансформации исходной субстанции это- подготовка питательной среды для роста модифицирующих микроорганизмов, подготовка непосредственно трансформирующей среды где будет проходить непосредственно процесс биотрансформации, а также процесс выделения, разделения и изучения продуктов реакции.

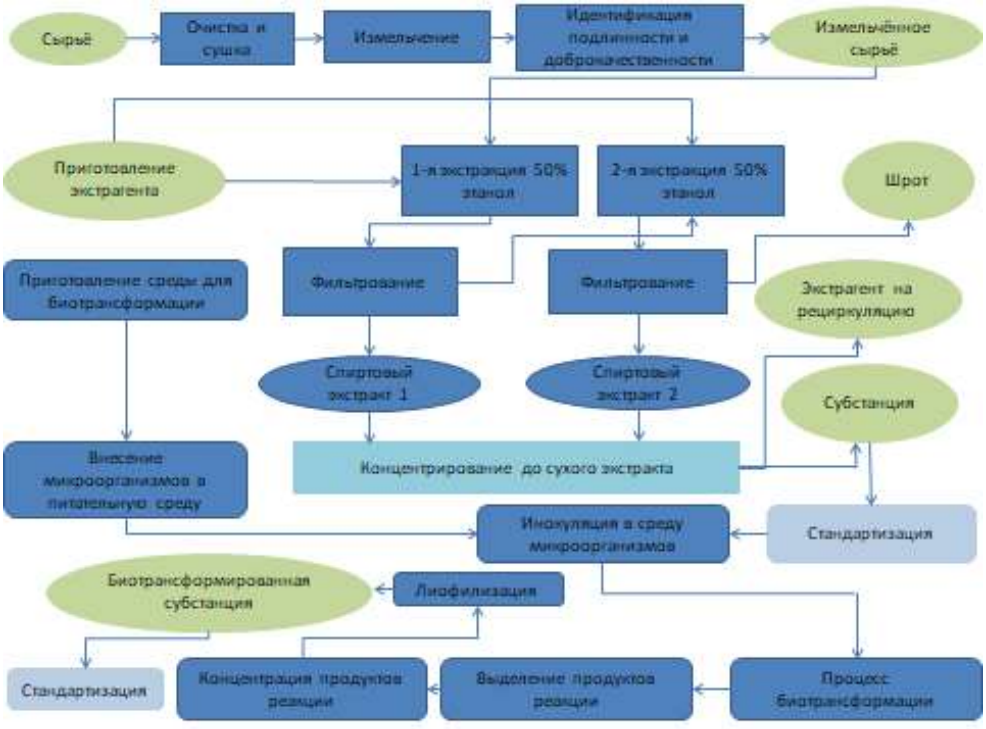


Рисунок 4- принципиальная блок-схема получения биомодифицированного фитопрепарата из надземной части растения *Tamarix hispida*

Блок-схема демонстрирует этапы и последовательность получения субстанции, биомодифицированного фитопрепарата из надземной части растения *Tamarix hispida.*

Из представленной схемы мы видим, что процесс получения субстанции начинается с заготовки растительного сырья.

Далее сырьё сушится при температуре 20-25 ^{o}C и измельчается на разрезной мельнице, потом проводится идентефикация и контроль доброкачественности в соответствии с требованиями ГФ РК.

Паралельно готовится экстрагент (50% водный раствор этанола) и среда для биотрансформации (питательная среда с развитой колонией микроорганизмов, осуществляющих процесс биотрансформации). Затем проводится двухкратная экстракция 50% водным спиртом и концентрация объединённого извлечения досуха на ротационном испарителе.

Далее проводится стандартизация полученной субстанции и её инокуляция в модифицирующую среду, затем в течение не менее 7 дней система выдерживается на качалке при температуре 20^{o}C, после чего реакция останавливается. Остановка процесса биотрансформации проводится путём добавления растворителя токсичного для микроорганизмов, в нашем случае это бутанол. Использование бутанола позволяет совместно с остановкой процесса биотрансформации выделить из субстрата и менее полярную фракцию для более подробного изучения количественного и качественного состава продуктов реакции, так как бутанол и вода несмешиваются и образуют чёткую линию раздела фаз, что позволяет провести жидкостную экстракцию из водного субстрата. Заметим, что бутанольный экстракт из тамарикса проявил высокую биологическую активность.

На следующем этапе полученный субстрат фильтруется, выделяется водная и бутанольная фракции, затем проводится концентрация продуктов реакции на ротационном испарителе, после чего дополнительно лиофилизируется до полного удаления растворителя (воды и бутанола) затем полученная модифицированная субстанция стандартизируется и изучается методом хромато-масс спектрометрии.

3.6. Биологическая трансформация субстанции, полученной из надземной части растения *Tamarix hispida*

3.6.1. Условия биотрансформации и список организмов, использованных при трансформации субстанции, полученной из надземной части растения *Tamarix hispida*

По результатам проведённого литературного обзора было решено выбрать два срока выдержки 7 и 14 суток при температуре 20^{o}C на качалке , меньший срок в большинстве случаев не позволял получить необходимое для дальнейших тестов количество продуктов реакции.

Данные представлены в таблице 33

Таблица 33- Названия организмов, использованных в процессе биотранстформации и продолжительность выдержки проб на качалке

Название грибка	Т1	Т2
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A	7 дней	14 дней
Microphomina phaseoline KUCC 130	7 дней	14 дней
Fuscasium lini NRRL 2204	7 дней	14 дней
Glomerella fusarioides ATCC 9552	7 дней	14 дней
Curvularia lunata ATCC 12017	7 дней	14 дней
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300	7 дней	14 дней
Rhizopus stolonifer TSY 047	7 дней	14 дней
Guoclodium viride ATCC 10097	7 дней	14 дней

3.6.2 Определение химического состава продуктов реакции биотрансформации в бутанольной фракции

Обратим внимание на бутанольную фракцию с семью- и четырнадцатидневной выдержкой.

В системе, трансформированной под воздействием *Cunninghamella blakeleeana,* при семидневной выдержке идентифицировано 8 соединений. Доминирующим веществом является Три-N- (фенилсульфонил) гексагидро-S-триазин в количестве 68,36%, в количестве более 10% присутствуют Циано колхицин и 1,3-бензодиола, O, O'-ди (циклобутанкарбонил). Данный состав кардинально отличается от образца 14 -дневной выдержки, в котором выделено 4 вещества, среди которых доминирует 21H, 23H-порфин-2,18-дипропановая кислота, 3,7,12,17-тетраметил-8,13-бис [2 - [(триметилсилил) окси] этил] -, диметиловый эфир (79.64%), что является нетипичным для растительных экстрактов и, вероятнее всего, является результатом воздействия специфических ферментов. Идентифицирован метил холат в количестве более 10% и L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] -L -пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, β; -лактон в количестве 6,07% , кроме того обнаружено 3,68% вещества церкоспорин, относящегося к классу фотоактивных токсинов.

В образце, модифицированном с помощью *Microphomina phaseoline* KUCC 130, идентифицировано 5 соединений. где доминирующими являются вещества в бутанольной фракции 7 дневной выдержки.

Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир (51,61%) и N- (2,4-дихлорфенил) -5,6-диметил [2,3-d] пиримидин-4-амин (23,37%) в колбе находившейся на качалке 14 дней было распознано 6 веществ, большим содержанием выделяться 3- (7,8,12,13,17,18-гексаэтил-3-метил-22,24-дигидро-порфин-2-ил) пропионитрила (35,73%), уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 ']

бинафталин-4-ил эфир (26,22%), 3-метоксинафталин-1,4-диолдиацетатный эфир (13,71%) и пентаконтановая кислоты этиловый эфир (14,45%)

В пробе, находившейся под воздействием *Fuscasium lini* в 7дневной бутанольной фракции, идентифицировано 4 соединения. Здесь доминирующими веществами являются флуметралин и мезоморфин іх в 14дневном образце определено10 соединений: битувитан и тиазоло [4,5-d] пиримидин-5,7 (4H, 6H) -дион, 2-амино-4- (фенилметил) и, -каротин-4-он. Примечательно, что значительное количество галогенорганических соединений в семидневной пробе в противовес большему содержанию азоторганических (в частности нитрилов) в пробе с большей выдержкой.

В колбе с внесённым *Glomerella fusarioides* в бутанольном экстракте семидневной выдержки идентифицировано 6 соединений из них показал высокое содержание милбемицин B, 5-деметокси-5-он-6,28-ангидро-25-этил-4-метил-13-хлороксим и уксусную кислоту, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил -6,7,6 ', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2'] бинафталиненил-4-илового эфира в четырнадцатидневном экстракте выделено 4 опознанных вещества из которых доминирующими были гамабутоталин и уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4 сложный эфир.Также, как и в предыдущих пробах отмечается большее содержание галогенорганических веществ при меньшем времени нахождения на качалке.

В бутанольной фракции из колбы, в которую была инокулирована *Curvularia lunata* в семидневном экстракте, идентифицированы 5 соединений среди которых доминировала Fluprednisolone, 7-дифторметокси-2,3-дигидро-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-2-он, в 14 дневном бутанольном экстракте. Идентифицировано 5 веществ и отмечается высокое содержание олеофилина, уксусной кислоты, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфира.

В колбе с внесением *Cephalosporium aphidicola*: через 7 дней обнаружено идентифицировано 7 соединений, среди которых высокое содержание L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-тетраметил, дигидрокодеин Битартрат, и относящегося к классу алкалоидов проявляющих анестезирующее действие, также в целом данная проба отличается высоким содержанием азотоорганических соединений.

В образце с внесённой культурой *Cephalosporium aphidicola* после 14 дней выдержки на качалке определено 5 веществ. Доминирующими являются 21H, 23H-порфин-2,18-дипропановая кислота, 3,7,12,17-тетраметил-8,13-бис [2 - [(триметилсилил) окси] этил] -, диметиловый эфир, пентаконтановая кислота, этиловый эфир, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир, интересным является высокое содержание (более 75%) кремний органических соединений.

Подобное в нашей работе отмечается в образце, который находился под воздействием *Cunninghamella blakeleeana* и *Cunninghamella blakeleeana* на протяжении 14 дней.

В пробе модифицированной *Rhizopus stolonifer* на протяжении 7 дней в бутанольной фракции, идентифицировано 4 соединения, доминирующие соединения, Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил сложный эфир, декановая кислота, 1,1a, 1b, 4,4a, 5,7a, 7b, 8,9-декагидро-4a, 7b-дигидрокси-1,1,6,8-тетраметил-5-оксо-3- [[(1-оксодецил) окси] метил] -9aH-циклопропа [3,4] бенз [1,2-e] азулен-9,9a-диэтиловый эфир, [1aR- (1aα, 1bβ, 4aβ, 7aα, 7bα, 8α, 9β, 9aα)].

Четырнадцатидневный образец с внесённым *Rhizopus stolonifer* от семидневного отличается, в первую очередь, появлением значительного количества сероорганических соединений (более 35%) в виде Милбемицин b, 5-O-деметил-28-дезокси-6,28-эпокси-25- (1-метилэтил) -13- (метилтио) -, (6R, 13R, 25R). Также отличается большим количеством уксусной кислоты 1 , 1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-илового эфира и меньшим количеством идентифицированных соединений.

В пробе, модифицированной культурой *Guoclodium viride,* через неделю выделено 6 соединений. Доминировали следующие соединения: 8- [2- (2-амино-фенил) -2-оксо-этил] -3- (1-гидрокси-1-метил-этил) -6a, 7,10b-триметил-додекагидро-бензо [e] chromene- 7-карбоновая кислота, уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил 6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталил -4-иловый эфир также алкалоид. 4-Амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин.

В другой колбе с той же культурой, но четырнадцатидневной выписки, распознано 6 соединений, доминировали: три-N- (фенилсульфонил) гексагидро-s-триазин, карда-4,20 (22) -диенолида, 3 - [(6-дезокси-3 -O-метил-α-D-аллопиранозил) окси] -1,14-дигидрокси-, (1β, 3β), (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этил эфир.

Данные в форме таблицы и спектра представлены приложениях Д и Е.

3.6.3 Определение химического состава продуктов реакции биотрансформации в водной фракции

Полученные в присутствии *Cunninghamella blakeleeana* водные фракции показали следующие результаты: доминирующими соединениями являются O-трифторацетилдигидроциннамиловый спирт (34,77%), 4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин (34,89%), также в значительном количестве обнаружен уилфорин и (3- (2- (п- (диметиламино)) бензилидно) гидразин) -6-изопропил-4-метокси-2,4,6-циклогептатриенилдиен) малононитрил.

В колбе с 14 дневной выдержкой доминируют 1 [4 (Диметиламино) бензилиденамино] нафталин, 1,1 ': 3', 1 " - Терфенил, 3,3 ", 5,5 " - тетрабром-5- (3, 5-дибромфенил), пропановая кислота, 2-метил-, 3-фенилпропиловый

эфир, демострирует большее присутствие галогенорганических соединений в отличие от бутанольной фракции.

В водных фракциях полученных из модифицированного *Microphomina phaseoline* образца, в 7дневной колбе отмечено наибольшее содержание (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир (42,34%) и 3-форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро- 21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецениловый эфир, [3s- [3.] (30,24%) в 14 дневной колбе выделяется большое содержание (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир (30,12%) и 2-метил-6-фенилпиразоло [3,4-d] тиазоло [3,2-a] пиримидин-4 (2H) -он (32,46%), как видим в 14 и 7 дневном экстракте доминируют азотосодержащие соединения.

Водная фракция, полученная из колбы, инокулированной *Fuscasium lini,* отличается от предыдущих значительным содержанием 3-форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир, [3s- 3], (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусной кислоты, этилового эфира и вилфолина в 7дневной пробе.

Также образец отличается наличием 5H-1-пириндин-3- карбонитрил, 6,7-дигидро, 1,3,4-диоксазолидин-5-он, 3-циклогексил-2,2-диметил, тиазоло [4,5-d] пиримидин-5,7 (4H, 6H) -дион , 2-амино-4- (фенилметил) и 5H-индено [1,2-b] пиразин-5-он, 6,7,8-трибром-9- (этоксикарбонил) -N, N'-диэтил-1, 2,3,4-тетрагидро в 14 дневном опыте.

Состав водной фракции, модифицированной *Glomerella fusarioides*: 5 β; -Чолан-24-овая кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир , L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] L-пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, β; -лактон и (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусной кислоты, этиловый эфир, в семидневной пробе и холестан-26-овая кислота, 3,7,12-тригидрокси-, (3α, 5β, 7α, 12α), 2-пропеновая кислота, 3-фенилпропиловый эфир, 5β-Cholan-24-овая кислота, 4- (23 -карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5β-хол-3-ен-3-ил) -3,7,12-триооксо-, диметилового эфира в четырнадцатидневной.

Водные фракции после семидневной выдержки, после трансформации исходного препарата посредством *Curvularia lunata*: 3-форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусной кислоты, этиловый эфир.

После 14 дней состав значительно изменяется, и теперь доминируют такие соединения как: вилфолин, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир 6

В экстракте после модификации *Cephalosporium aphidicola* при семидневной выдержке, в водной фракции доминируют резерпин, стрихнин, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота,

этиловый эфир, при этом резерпин, стрихнин известны как высокоактивный вещества, в частности стрихнин относится к индоловым алкалоидом и проявляет сильное инсектицидное действие.

В экстракте, модифицированным тем же грибком, но при четырнадцатидневной выдержке, доминировали: L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-тетраметил, D-Homo-24- ни-17-оксахола-20,22-диен-3,16-дион, 14,15: 21,23-диэпокси-7-гидрокси-4,4,8-триметил-, (5α, 7α, 13α, 14β, 15β, 17aα)

Препарат, трансформированный посредством *Rhizopus stolonifera* через 7 дней в водной фракции проявил доминирование эфира 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил уксусной кислоты, этилового эфира, 1,1a, 1b, 4,4a, 5,7a, 7b, 8,9-декагидро-4a, 7b-дигидрокси-1,1,6,8-тетраметил-5-оксо-3- [(1-оксодецил) окси] метил] -9aH-циклопропа [3,4] бенз [1,2-e] азулен-9,9a- декановой кислоты, [1aR- (1aα, 1bβ, 4aβ, 7aα, 7bα, 8α, 9β, 9aα)], через 14 дней, милебицин β, 5-O-деметил-28-дезокси-6,28-эпокси-25- (1-метилэтил) -13- (метилтио) -, (6R, 13R, 25R), уксусную кислоту, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '], бинафталин-4-илового эфира.

После модификации с помощью *Guoclodium viride,* получены следующие результаты: в водной фракции сохранявшейся в течение семи дней основными доминирующими соединениями были 5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир , Индана, 1- (п-цианобензилидена, -5- (N, N-диметиламино), D-глюкопиранозида, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил

В фракции с периодом течения реакции в четырнадцать дней прибладали: 5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир , бензолпропанамин, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир, метил 3- (24-метокси-3,7,12,24-тетраоксохолан-4-ил) -7,12-диоксохол-3-ан-24-оата, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусной кислоты, этилового эфира, D-глюкопиранозида (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил, (6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3- илокси) уксусная кислота, этиловый эфир.

В целом, результаты изучения химического состава экстракта из надземной части *Tamarix hispida,* модифицированного восемью вышеперечисленными видами грибков на протяжении двух периодов, свидетельствуют о том, что после 14 дней в большинстве образцов доминируют азот- и кислородсодержащие соединения, относящиеся к классам нитридов, амидов и нитритов.

Выявлено некоторое количество сероорганических и, что примечательно, присутствие кремний-органических соединений. Данный факт можно объяснить особенностью использованных грибков, выделяющих вещества, промотирующие присоединения и окисления.

Высокое содержание галогенорганических соединений можно объяснить тем, что в изначальном экстракте присутствует значительное количество солей, что характерно для растений, произрастающих в аридных зонах, к которым и относится *Tamarix hispida*. Особенностью данного растения является выделение избытков соли через надземную часть, которая и была использована в качестве лекарственного растительного сырья.

Отсутствие галогенорганических соединений в более поздней пробе объясняется особенностями состава, выделяемых грибками ферментов. В соответсвии с логикой живых организмов, промотирующие реакции в сторону более биосовместимых азоторганических соединений, в некоторых случаях продуктами реакций являются сероорганические и кремний органический соединения, так как сера и кремний находятся в одной группе с кислородом и углеродом и в некотором роде являются их химическими аналогами.

Данные в форме таблицы и спектра представлены в приложениях Ж и И

3.7.Определение биологической активности продуктов реакции биотрансформации в бутанольной фракции

С целью дальнейшего изучения процессов биотрансформации субстанции из надземной части *Tamarix hispida* проведено определение противораковой, противовоспалительной и противогрибковой активности выделенных продуктов реакции биотрансформации. Также как и в определении химического состава, были взяты водные и бутанольный фракции продуктов реакции. Аналогично с определением химического состава были взяты образцы 2 периодов выдержки 7 и 14 суток.

3.7.1 Определение противораковой активности продуктов реакции биотрансформации

Так как в составе бутанольных экстрактов было обнаружено вещество гамабуфоталин, обладающее противоопухолевой активностью, нами было принято решение проверить образцы на этот тип активности, данные представлены в таблице 34

Таблица 34- противораковая активность модифицированных экстрактов

Название образца	Концентрация мг/мл	Ингибирование, %	IC_{50}
1	2	3	4
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 7 дней бутанол	30	23	
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 14 дней бутанол	30	13	
Microphomina phaseoline KUCC 730 7 дней бутанол	30	9	

Продолжение таблицы 34

1	2	3	4

Microphomina phaseoline KUCC 730 14 дней бутанол	30	13	
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней бутанол	30	39	
Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней бутанол	30	29	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней бутанол	30	30	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней бутанол	30	57	27
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней бутанол	30	4	
Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней бутанол	30	1	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней бутанол	30	10	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней бутанол	30	1	
Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней бутанол	30	13	
Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней бутанол	30	14	
Guoclodium viride ATCC 10097 7 дней бутанол	30	23	
Guoclodium viride ATCC 10097 14дней бутанол	30	16	
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 7 дней вода	30	1	
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 14 дней вода	30	1	
Microphomina phaseoline KUCC 730 7 дней вода	30	29	
Microphomina phaseoline KUCC 730 14 дней вода	30	4	
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней вода	30	13	
Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней вода	30	22	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней бутанол	30	23	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней вода	30	22	
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней вода	30	13	
Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней вода	30	24	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней вода	30	4	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней вода	30	15	
Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней вода	30	4	
Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней вода	30	10	
Guoclodium viride ATCC 10097 7 дней вода	30	4	
Guoclodium viride ATCC 10097 14дней вода	30	1	

Из представленных данных мы видим, что наибольшую активность проявляет образец номер 8, то есть бутанольная фракция экстракта тамарикса после 14 суток модифицированная организмом *Glomerella fusarioides ATCC 9552*, однако при этом наибольший рост активности отмечен в водных фракциях, более чем в 20 раз.

Нами получен результат, демонстрирующий значительный рост биологической активности вследствие воздействия грибков вида *Glomerella fusarioides* на 50% этанольный экстракт из надземной части *Tamarix hispida.*

3.7.2 Определение противовоспалительной активности продуктов реакции биотрансформации

Исследование и анализ продуктов реакции биотрансформации свидетельствует о наличии противоспалительной активности полученных фракций

Данные представлены в таблице 35

Таблица- 35 биологическая активность (противоспалительная и противораковая, бутанольной фракции)

Названия культур	Тип образца	Противовоспа-лительная активность	
		%ингибирования (мг/мл)	IC 50 (мг/мл)
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A	Водная фракция 7 суток	20.5	-
	Бутанольная фракция 7 суток	42.7	-
	Водная фракция 14 суток	43	-
	Бутанольная фракция 14 суток	43.0	-
Microphomina phaseoline KUCC 730	Водная фракция 7 суток	80.8	18.9±1.1
	Бутанольная фракция 7 суток	94.2	21.7±0.4
	Водная фракция 14 суток	71.0	38.6±0.7
	Бутанольная фракция 14 суток	9.6	-
Fuscasium lini NRRL 2204	Водная фракция 7 суток	58.9	245.1±3.3
	Бутанольная фракция 7 суток	38.2	-
	Водная фракция 14 суток	85.3	29.4 ±1.3
	Бутанольная фракция 14 суток	32.1	-
Glomerella fusarioides ATCC 9552	Водная фракция 7 суток	38.1	-
	Бутанольная фракция 7 суток	46.1	-
	Водная фракция 14 суток	34.0	-
	Бутанольная фракция 14 суток	52	45.8±3.7
Curvularia lunata ATCC 12017	Водная фракция 7 суток	93.5	22.9 ± 1.1
	Бутанольная фракция 7 суток	77.3	10.9 ±0.5
	Водная фракция 14 суток	25.5	-
	Бутанольная фракция 14 суток	65.9	30.1±1.7
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300	Водная фракция 7 суток	41.5	-
	Бутанольная фракция 7 суток	-	-
	Водная фракция 14 суток	-	-
	Бутанольная фракция 14 суток	38.2	-
Rhizopus stolonifer TSY 047	Водная фракция 7 суток	48.0	-
	Бутанольная фракция 7 суток	100	16.8 ± 0.6
	Водная фракция 14 суток	55.9	122.0 ± 0.4
	Бутанольная фракция 14 суток	31.4	-
Guoclodium viride ATCC 10097	Водная фракция 7 суток	56.2	30.6 ± 2.9
	Бутанольная фракция 7 суток	-1.1	-
	Водная фракция 14 суток	37.8	-
	Бутанольная фракция 14 суток	56.4	> 250

Результаты определения противоспалительной активности экстракта из надземной части *Tamarix hispida* после биотрансформации указывают на то, что наибольшую активность проявляет экстракт, модифицированный *Guoclodium viride* с IC 50 более 250. Данный факт можно объяснить высоким содержанием Три-N- (фенилсульфонил) гексагидро-s-триазин (67%), содержащим в своём составе сульфаниловую группу, проявляющую сильные противомикробные свойства, что повышает противоспалитьную активность и наличием 5H-индено [1,2-b] пиразин-5-он, 6,7 , 8-трибром-9-(этоксикарбонил) -N, N-диэтил-1,2,3,4-тетрагидро также проявляющим противоспалительную активность. Значительную активность проявил образец, модифицированный *Curvularia lunata* с четырнадцатидневной выдержкой, что возможно объясняется высоким содержанием алкалоида ореофилин и фторорганического соединения 7-дифторметокси-2,3-дигидро-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-2-он. Остальные образцы проявили небольшую в сравнении с немодифицированным образцом активность.

Отметим, что ряд образцов проявил большую, чем изначальный образец, степень ингибирования, а именно бутанольная фракция 7 суток *Microphomina phaseoline*.

В то время как бутанольная фракция 7 суток *Curvularia lunata*, бутанольная фракция 14 суток *Curvularia lunata* и бутанольная фракция 7 суток *Rhizopus stolonifer*, образец с наибольшей противоспалительной активностью проявил сравнительно невысокую степень ингибирования всего 56,4% что немногим больше изначального образца.

3.7.3 Определение противобактериальной активности продуктов реакции биотрансформации

Последним из трёх анализов на биологическую активность продуктов реакции биотрансформации субстанции растения *Tamarix hispida*, является определеие противобактериальной активности. Необходимо отметить, что исходная субстанция проявила сравнительно небольшой уровень противобактериальной активности. Однако, в той или иной степени угнетало, пусть и в небольшой, широкий спектр микрорганизмов. Наличие в химическом составе продуктов биотрансформации значительного числа веществ, с противобактериальной активностью, а также наличие в субстанции широкого спектра микроорганизмов сделали необходимым определение активности против патогенных бактерий *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Shigella flexenari, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa и Salmonella typhi* для бутанольной и водной фракции субстрата, в котором проводилась биомодификация.

Также как и в предыдущих анализах, активность была определена для образцов 7 и 17 дневной выдержки.

Результаты представлены в таблице 36

Таблица 36- противобактериальная активность модифицированных экстрактов, полученных из надземной части *Tamarix hispida* (Бутанольная фракция)

Название бактерии	Степень игибирования препарата	Степень ингибирования стандарт
1	2	3
Cunninghamella blakesleeana ATCC 8688A *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	8.61	94.43
Bacillus subtilis	6.22	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	7.38	94.08
Pseudomonas aeruginosa	7.81	94.14
Salmonella typhi	2.95	69.75
Cunninghamella blakesleeana ATCC 8688A *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	-	94.43
Bacillus subtilis	3.67	93.11
Shigella flexenari	N\I	-
Staphylococcus aureus	-	94.08
Pseudomonas aeruginosa	8.63	94.14
Salmonella typhi	0.26	69.75
Microphomina phaseoline KUCC 730 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	10.50	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	19.95	94.08
Pseudomonas aeruginosa	N\I	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Microphomina phaseoline KUCC 730 *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	0.41	94.43
Bacillus subtilis	6.97	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	12.46	94.08
Pseudomonas aeruginosa	7.58	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Fuscasium lini NRRL 2204 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	0.41	94.43
Bacillus subtilis	6.97	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	12.46	94.08
Pseudomonas aeruginosa	7.58	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Fuscasium lini NRRL 2204 *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	5.24	94.43

Продолжение таблицы 36

1	2	3
Bacillus subtilis	22.61	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	7.56	94.08
Pseudomonas aeruginosa	13.9	94.14
Salmonella typhi	4.68	69.75
Glomerella fusarioides ATCC 9552 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	5.92	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	0.73	94.08
Pseudomonas aeruginosa	2.03	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Glomerella fusarioides ATCC 9552 *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	N\I	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	N\I	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Curvularia lunata ATCC 12017 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	11.86	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	3.41	94.08
Pseudomonas aeruginosa	9.30	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Curvularia lunata ATCC 12017 *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	2.61	94.43
Bacillus subtilis	31.03	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	4.85	94.08
Pseudomonas aeruginosa	9.1	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	N\I	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	N\I	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 *14 дней бутанол*		

Продолжение таблицы 36

1	2	3
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	3.21	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	23.47	94.08
Pseudomonas aeruginosa	14.06	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Rhizopus stolonifer TSY 047 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	8.60	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	10.73	94.08
Pseudomonas aeruginosa	5.58	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Rhizopus stolonifer TSY 047 *14 дней бутанол*		
Escherichia coli	12.34	94.43
Bacillus subtilis	5.87	93.11
Shigella flexenari	4.32	-
Staphylococcus aureus	-	94.08
Pseudomonas aeruginosa	N\I	94.14
Salmonella typhi	8.36	69.75
Guoclodium viride ATCC 10097 *7 дней бутанол*		
Escherichia coli	7.65	94.43
Bacillus subtilis	9.46	93.11
Shigella flexenari	6.21	-
Staphylococcus aureus	-	94.08
Pseudomonas aeruginosa	N\I	94.14
Salmonella typhi	0.21	69.75
Guoclodium viride ATCC 10097 *14дней бутанол*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	1.20	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	12.40	94.08
Pseudomonas aeruginosa	6.21	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75

Из данных представленных в таблице 35 отмечается значительный рост эффективности бутанольного экстракта против бактерии *Salmonella typhi*. Если в исходном образце (его бутанольной фракции) активность не фиксировалась, то в пробах после биотрансформации она, по крайней мере, присутствует в образцах, модифицированных *Cunninghamella blakesleeana ATCC 8688A, Guoclodium viride ATCC 10097* и в пробах которые были модифицированны *Fuscasium lini* NRRL 2204 и *Rhizopus stolonifer* TSY 047.

Также отмечена активность против бактерии вида *Shigella flexenari,* в которой стандарт значительной эффективности не проявил в пробе модифицированной *Guoclodium viride* ATCC 10097.

Исследование и анализ продуктов реакции биотрансформации свидетельствует о наличии противобактериальной активности полученных фракций

Данные представлены в таблице 37

Таблица 37- данные противобактериальной активности модифицированных экстрактов, полученных из надземной части *Tamarix hispida* (Водная фракция)

Название бактерии	Степень игибирования препарата	Степень ингибирования стандарт
1	2	3
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 7 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	16.32	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	10.99	94.14
Salmonella typhi	5.73	69.75
Cunninghamella blakesleeana ATCC8688A 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	6.79	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	31.27	94.08
Pseudomonas aeruginosa	2.29	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Microphomina phaseoline KUCC 730 7 дней *вода*		
Escherichia coli	0.29	94.43
Bacillus subtilis	8.26	93.77
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	3.07	94.08
Pseudomonas aeruginosa	11.36	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Microphomina phaseoline KUCC 730 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	3.21	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	34.68	94.08
Pseudomonas aeruginosa	6.76	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	12.33	93.11

Продолжение таблицы 37

1	2	3
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	19.37	94.08
Pseudomonas aeruginosa	3.97	94.14
Salmonella typhi	8.63	69.75
Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	3.53	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	3.35	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней бутанол		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	12.82	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	6.21	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	6.09	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	9.82	94.08
Pseudomonas aeruginosa	5.41	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней *вода*		
Escherichia coli	2.82	94.43
Bacillus subtilis	34.1	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	13.82	94.08
Pseudomonas aeruginosa	21.72	94.14
Salmonella typhi	30.53	63.75
Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	3.21	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	4.87	94.08
Pseudomonas aeruginosa	6.75	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней *вода*		
Escherichia coli	12.39	94.43

Продолжение таблицы 37

1	2	3
Bacillus subtilis	0.75	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	14.23	94.08
Pseudomonas aeruginosa	9.34	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	5.75	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	16.21	94.08
Pseudomonas aeruginosa	10.34	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	2.93	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	1.24	94.08
Pseudomonas aeruginosa	8.39	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	0.52	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	6.58	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Guoclodium viride ATCC 10097 7 дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	6.99	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	12.57	94.08
Pseudomonas aeruginosa	2.76	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75
Guoclodium viride ATCC 10097 14дней *вода*		
Escherichia coli	N\I	94.43
Bacillus subtilis	3.36	93.11
Shigella flexenari	-	-
Staphylococcus aureus	N\I	94.08
Pseudomonas aeruginosa	7.53	94.14
Salmonella typhi	N\I	69.75

Биотрансформационное воздействие значительно изменило противобактериальную активность водной фракции. Под воздействием *Curvularia lunata* ATCC 12017 отмечается рост активности против бактерии *Salmonella typhi*. Что примечательно, эффект наблюдается только в пробе выдержкой в 7 дней и пропадает в образце более продолжительной выдержки. Это можно объяснить тем, что в 7 дневной пробе содержатся производные хиноксалина, проявлющие противобактериальные свойства.

В экстракте под воздействием *Cunninghamella blakesleeana* в бутанольной фракции также отмечается увеличение активности против *Escherichia coli* и фиксируемой активности против *Bacillus subtilis.* Однако падает активность против *Staphylococcus aureus и Pseudomonas aeruginosa*. В экстракте, выдерживавшемся 14 дней, активность и вовсе падает. В водных фракциях в семидневной выдержки значительно возрастает воздействие на *Bacillus subtilis*, а в фракциях четырнадцатидневной выдержки мы наблюдаем даже практически значимую (выше 30) активность против Staphylococcus aureus.

Аналогичные практически значимые значения проявляются в *Curvularia lunata* бутанольной фракции 7 дней выдержки, Microphomina phaseoline 14 - ней выдержки, водная фракция и *Curvularia lunata* 7 дней выдержики, водная фракция.

Из полученных данных следует, что прирост по сравнению с исходным экстрактом является довольно значительным, о чем свидельствуют данные Таблицы 36.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований сделано следующее заключение:

1) Метод хромато-масс спектрометрии субстанции позволил идентифицировать присутствие галогенорганических соединений в небольших количествах: гептадециловый эфир 3-хлорпропионовой кислоты, 2-хлорфенилэтиловый эфир фумаровой кислоты и 1,54-дибром тетрапентаконтан. Следует отметить, что галогенопроизводные соединения впервые обнаружены в растениях рода *Tamaricaceae*, а также в надземной части *Tamarix hispida,* идентифицировано серосодержащее соединение Спиро(17-ацетохиндростан-3-ол)2.2'(1',3'-дициан). Кроме того идентифицировано некоторое количество алкалоидов, в частности 4-t-бутил-2-(4-метокси-фенил)-6-п-толил-пиридин, миорфиан-4,6-диол, N-формил-6-ацеат и 7-метилено[3,2-b]пиридин. В результате определения качественного и количественного химического состава полученных экстрактов (в 16 вариантах) идентифицировано 260 соединений. Выявление различных типов биологической активности полученных экстрактов и сравнительный анализ их с исходным экстрактом позволяет отметить значительные изменения в составе и в биологической активности продуктов реакции. Доминирующим соединением в бутанольном экстракте до биотрансформации являлся 3-форбинопропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир, [3s- [3] и 5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир.

2) Сравнительный анализ химического состава исходного этанольного экстракта *Tamarix hispida* и экстракта биотранстформации позволил определить, что в результате воздействия культуры *Glomerella fusarioides* ATCC 9552 значительно вырастает противораковая активность экстракта. Воздействие *Fuscasium lini* NRRL 2204, *Rhizopus stolonifer* TSY 047, *Guoclodium viride* ATCC 10097 повышает противоспалительную способность. Противобактериальная активность повышается после воздействия *Curvularia lunata* ATCC 12017, *Cunninghamella blakesleeana* ATCC8688A и *Microphomina phaseoline* KUCC 730. Биотрансформация значительно изменило химический состав экстракта: обнаружены классы соединений нетипичные для этого вида растений, в том числе 3,68% вещества церкоспорин, относящийся к классу фотоактивных токсинов в экстракте биотрансформированном *Cunninghamella blakeleeana*. В целом, изучение химического состава экстракта из надземной части *Tamarix hispida*, модифицированного восемью вышеперечисленными видами грибков на протяжении двух периодов, позволяет сделать вывод о том, что после 14 дней в большинстве образцов доминируют азото- и кислородосодержащие соединения, относящиеся к классам нитридов, амидов, нитритов и эфиров органических кислот. Выявлено некоторое количество сероорганических и,

что примечательно, кремнийорганических соединений. Данный факт можно объяснить особенностью использованных грибков, выделяющих вещества, промотирующие присоединения и окисления. Высокое содержание галогенорганических соединений объясняется присутствием значительного количества солей в изначальном экстракте, что характерно для растений, произрастающих в аридных зонах, к которым и относится *Tamarix hispida*. Более того, особенностью данного растения является выделение избытков соли через надземную часть, которая и была использована в качестве лекарственного растительного сырья. Отсутствие галогенорганических соединений в более поздних пробах объясняется особенностями состава, выделяемых грибками ферментов в соответствии с логикой живых организмов, промотирующих реакции в сторону более биосовместимых азоторганических соединений. В некоторых случаях продуктами реакции являются сероорганические и кремний органические соединения, так как сера и кремний находятся в одной группе с кислородом и углеродом и в некотором роде являются их химическими аналогами. Изучение различных типов биологической активности исходного фитопрепарата способствовала определению цитотоксической активности этанольных экстрактов, гексановых, дихлорметановых и хлороформенных экстрактов тамарикса, выявлению того, что экстракты тамарикса сравнительно малотоксичны и только 90% спиртовый экстракт обладает значительной циотоксичностью. Обнаружена высокая ростстимулирующая активность полученного экстракта, особенно в 70% спиртовом экстракте тамарикса, и положительный результат достигается при концентрации около 10мкл. Фунгицидная активность экстрактов тамарикса, инсектицидная активность против сельскохозяйственных вредителей не обнаружены, противобактериальная активность изучаемых экстрактов сравнительно невысокая.

3) Разработаны и оптимизированы схемы выделения комплекса БАВ этанольного экстракта из растений вида *Tamarix hispida* и составлена блок-схема его получения. Отработана технология получения модифицированного методом биокатализа комплекса БАВ из этанольного экстракта: 50% экстракт *Tamarix hispada* модифицирован с использованием селективно трансформирующих микроорганизмов *Cunninghamella blakeleeana* ATCC8688A, *Microphomina phaseoline* KUCC 130, *Fuscasium lini* NRRL 2204, *Glomerella fusarioides* ATCC 9552, *Curvularia lunata* ATCC 12017, *Cephalosporium aphidicola* ATCC 28300, *Rhizopus stolonifer* TSY 047, *Guoclodium viride* ATCC 10097. и селективных питательных сред. Из полученных после биотрансформации растворов выделены водная и бутанольная фракции, которые были в последствии сконцентрированы, лиофилизированы и изучены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором.

Оценка полноты решения поставленных задач. Поставленные задачи выполнены полностью. В диссертационной работе представлены результаты определения компонентного состава, подбор оптимальных условий технологии получения субстанции, проведены работы по подбору

оптимальных микроорганизмов и условий биотрансформации экстракта с целью усиления его терапевтической эффективности, определён химический состав и биологическая активность продуктов биотрансформации, получены перспективные результаты по повышению противораковой и противовоспалительной активности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

4Raillard S., Krebber A., Chen Y., Jon E., Bermudez E., Trinidad R., Fulle R., Davis C., Welch M., Seernick J., Wackett L., Stemmer W., Minshull J. Novel enzyme activities and functional plasticity revealed by recombining highly homologous enzymes // Chemistry & Biology. - 2001.-№ 8.- P. 891-898

5Ramesh N Patel: Biocatalytic synthesis of intermediates for the synthesis of chiral drug substances // Chemical biotechnology New York, 2000.932 p.

6Umbetova, A. K., Choudhary, I. M., Burasheva, G. S., Sultanova, N. A., Abilov, Z. A. Triterpenoids of genus Tamarix// Chemistry of Natural compounds.- 2006.-№ 42.- P. 173-176.

7Sultanova, N.A., Makhmoor, T., Yasin A., Abilov, Z.A., Omurkanzinova, V.B., Atta-ur-Rahman., Choudhary, M.I. Isotamarixen – a new antioxidant and prolyl endopeptidase – inhibiting triterpenoid from Tamarix hispida// Planta Med.- 2004.-№ 70.- P. 65-67.

8Султанова Н.А. Гидролизуемые дубильные и родственные соединения растений рода Tamarix // Известия НАН РК, сер. хим., 2009.-№ 2.- С. 59 - 63.

9Султанова Н.А. Фенольные соединения растений рода Tamarix и их биологическая активность // Актуальные проблемы химии природных соединений: тезис международной конференций. - Ташкент. .- 2009.-№ 2.- С.198

10 Shibuya, H.; Kitamura, C.; Maehara, S.; Nagahata, M.; Winarno, H.; Simanjuntak, P.; Kim, H.-S.; Wataya, Y.; Ohashi, K. Transformation of Cinchona Alkaloids into 1-N-Oxide Derivatives by Endophytic Xylaria sp. Isolated from Cinchona // Chem. Pharm. Bull. - 2003.-№ 51.- P. 71-74.

11 Shibuya, H.; Agusta, A.; Ohashi, K.; Maehara, S.; Simanjuntak, P. Stereoselective Oxidation at C-4 of Flavans by the Endophytic Fungus Diaporthe sp. Isolated from a Tea //Plant Chem. Pharm. Bull. - 2005.-№ 53.- P. 866-867.

12 L.D. Sokolov, Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Paeoniaciae-Thymelaeaceae, Nauka, Leningrad, 1986, 102 s

13 Султанова Н.А. Химическое исследование растений рода *Tamarix - T. hispida, T. ramosissima*: дисс на соискание ученой степени: к.х.н: 05.03.2004. Алматы: КазНУ, 2004.-137 стр

14 Султанова Н.А. Солеустойчивые растения рода Tamarix, Kalidium, Camphrosma: химический состав и их биологическая активность: дисс. на соискание ученой степени д.х.н 30.10.2010. Алматы: КазНУ, 2010.- 220 стр

15 Умбетова А.К. Химическое исследование казахстанских видов эугалофитов рода *Camphorosma (C. monspeliacum), Tamarix (T. laxa, T. elongata)* семейств *Chenopodiaceae, Tamaricaceae*: дисс на соискание ученой степени: к.х.н: 23.11.2007. Алматы: КазНУ, 2007.-143 стр Регистрационный номер: 0407РК01312

16 Choudhary,M. I.; Khan, N. T.; Musharraf, S. G.; Anjum, S.; Rahman, A.-U. Biotransformation of adrenosterone by filamentous fungus, Cunninghamella elegans // Steroids. - 2007.-№ 72.- P. 923-929

17 Choudhary,M. I., M. Y. Mohammad, S. G. Musharraf, I. Onajobi, A. Mohammad, I.Anis , M. R. Shah, A. Rahman, Biotransformation of clerodane diterpenoids by Rhizopus stolonifer and antibacterial activity of resulting metabolites // Phytochemistry. - 2013.-№ 90.- P. 56-61

18 Choudhary M. I., Y. Sammer, A.A. Syed, A. Shakil and Atta-Ur-Rahman, Biotransformation of Physalin H and Leishmanicidal Activity of Its Transformed Products // Chem. Pharm. Bull. - 2006.-№ 540.- P. 927-930

19 Choudhary,M. I., M. Yasin, G. S. Ghulam Musharraf, M. Parvez , A. Al-Aboudi, Atta-ur-Rahman, New oxandrolone derivatives by biotransformation using Rhizopus stolonifer // Steroids. - 2009.-№ 74.- P. 1040-1044

20 Choudhary,M. I., S. Zafar, N. T. Khan, S. Ahmad, S. Noreen, B. P. Marasini, A. A. Al-Khedhairy, and Atta-ur-Rahman, Biotransformation of dehydroepiandrosterone with Macrophomina phaseolina and β-glucuronidase inhibitory activity of transformed products // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. - 2012.-№ 27.- P. 348-355

21 Musharraf S.G., A. Najeeb, S. Khan, M. Pervez, R. Azher Ali, M. I. Choudhary, Microbial transformation of 5-hydroxycaryophylla-4(12), 8(13)-diene with Macrophomina phaseolina // Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic - 2010.-№ 66.- P. 156-160

22 Atta-ur-Rehman, Nighat S, Muhammed IC. Microbial transformation of oleanolic acid by Fusarium lini and α-glucosidase inhibitory activity of its transformed products // Nat Product Research. - 2008.-№ 22.- P. 489-494

23 Nasib A, Musharraf SG, Hussain S, Khan S, Anjum S, Ali S, et al. Biotransformation of (-)-ambrox by cell suspension cultures of Actinidia deliciosa. // J Nat Prod. - 2006.-№ 69.- P. 957-959

24 Khalid A, Syed EI, Mayer, Kelly M, Hamann MT. The biocatalytic transformation of furan to amide in the bioactive marine natural product palinurin. // J Org Chem 64 (1999) 9258–9260. - 1999.-№ 64.- P. 9258-9260

25 C. de Carvalho, M. M. Da Fonseca R. Biotransformation of terpenes. // Biotechnol Adv. - 2006.-№ 24.- P. 134-142

26 Syed Adnan Ali Shah, Huey Ling Tan, Sadia Sultan, Muhammad Afifi Bin Mohd Faridz, Mohamad Azlan Bin Mohd Shah, Sharifah Nurfazilah and Munawar Hussain- Microbial-Catalyzed Biotransformation of Multifunctional Triterpenoids Derived from Phytonutrients // Int. J. Mol. Sci. - 2014.-№ 15.- P. 12027-12060

27 Ихсанов Е.С., Чоудхари М.И., Абилов Ж.А., Султанова Н.А., Биотрансформация растительного экстракта с помощью glomerella fusarioides// Научный форум медицина биология химия. – 2018. №10.- С. 94-103

28 Ихсанов Е.С., Абилов Ж.А. Повышение биологической активности растительного фитокомплекса посредством биотрансформации // Тезисы докл. III Международная научная конференция студентов,

аспирантов и молодых ученых “Химические проблемы современности”. - Донецк, 2018.- 172 с

29 A. Al-Aboudia, M. Y. Mohammada, S. G. Musharrafb, M. I. Choudharyb and A. Rahman, Microbial transformation of testosterone by Rhizopus stolonifer and Fusarium lini // Natural Product Research. - 2008.-№ 22.- P. 1498-1509

30 Al-Aboudi, A., Kana'an, B.M., Zarga, M.A., Bano, S., Atia-tul-Wahab, Javed, K., Choudhary, M.I., Fungal biotransformation of diuretic and antihypertensive drug spironolactone with Gibberella fujikuroi, Curvularia lunata, Fusarium lini, and Aspergillus alliaceus, // Steroids. - 2017.-№ 181.- P. 170-176

31 Baydoun, E., Atia tul, W., Iqbal, S., Smith, C., Choudhary, M.I., Biotransformation of drospirenone, a contraceptive drug, with Cunninghamella elegans. // Steroids. - 2017.-№ 126.- P. 30-34

32 Qaiser M., Iran. The genus tamarix (tamaricaceae) in pakistan //Joum. Bot. - 1983.-№ 2.- P. 21-68.

33 Venturella G., B. Baum, G. Mandracchia, The genus Tamarix (Tamaricaceae) in Sicily: first contribution// Fl. Medit. 17 (2007) 25-46

34 Байтенов М.С. Флора Казахстана. Родовой комплекс флоры. - Т.2. - Алматы, 2001. - С. 139.

35 S.K. Sharma, V.S. Parmar Novel constitutes of Tamarix species. //Journal of Scientific and Industrial Journal of Scientific and Industrial Research, - 1998.-№ 57.- P. 873-890.

36 Байтенов М.С. Флора Казахстана. Родовой комплекс флоры. - Т.2. - Алматы, 2001. - С. 139.

37 Vinogradov A.P. Osnovnye zakonomernosti v raspredelenii mikrojelementov mezhdu rastenijami i sredoj, Mikrojelementy v zhizni rastenij i zhivotnyh – M.: AN SSSR, 1952. – S. 7-20.

38 Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т.1. - Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008. - 592 с

39 Bezchasnjuk E.M., Djachenko V.V., Kucher O.V., «Process jekstragirovanija iz lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja» - Farmakom 1 – 2003, str. 54-56.

40 Milovanova L.N. Tehnologija izgotovlenija lekarstvennyh form. Rostov na Donu: Medicina, 2002 - 448 s.

41 Georgievskij V.P., Dihtjarev S.I., Gubin Ju.I., «Fitohimija v Ukraine – itogi i perspektivy», - Farmakom 3 – 1999, P. 39-43.

42 Авцын А.П., Жаворонков А.А., Реми М.А. и др. Микроэлементы человека. – М.: Медицина, 1991. – 446 с.

43 Виноградов А.П. Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями и средой // Микроэлементы в жизни растений и животных – М.: АН СССР, 1952. – С. 7-20.

44 Гринкевич Н.И., Сорокина А.А. Роль геохимических факторов среды в продуцировании растениями биологически активных веществ // Биологическая роль микроэлементов. – М.: Наука, 1983. – 283 с.

45 Лысенко А.И., Першукова А.М. К вопросу о роли марганца в растениях танидоносах // Переход. металл. в процессе хим. и биохим. окисления. – Челябинск, 1986. – С. 47-51.

46 Боровский В.М. Микроэлементы в биосфере Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1981. – С. 3-96.

47 H. Yang, Y. Zhou, H. Liu, H. Du, Z. Ma, C. Li and L. Zhou, Inhibitory activity of the extracts and fractions from six chenopodiaceous plants on plant pathogens// Nat. Prod. Res. Dev. - 2009.-№ 21.- P. 744-747

48 L.P. Sun, Z.D. Yin, Z.S. Fu, S.Z. Zheng and X.W. Shen. The chemical constituents of Elsholtzia densa Benth. // Acta Bot. Sin. - 1996.-№ 38.- P. 672-675

49 H. Liu, J. Wang, J. Zhao, S. Lu, J. Wang, W. Jiang, Z. Ma and L. Zhou, Isoquinoline alkaloids from Macleaya cordata active against plant microbial pathogens// Nat. Prod. Commun. - 2009.-№ 4.- P. 1557-1560

50 . Sun, B., Richardo-da-Silvia, J.M., Spranger, I., Critical factors of vanillin assayfor catechins and proanthocyanidins// Journal of Agriculture and Food Chemistry. - 1998.-№ 46.- P. 4276-4274

51 А.Я. Николаев Биологическая химия: М., Мед. информ. агентство, 2004 . - С. 17-19.

52 Западнюк В.И., Купраш Л.П., Зайка М.И. Аминокислоты в медицине. – Киев, 1982. – 200 с.

53 Есимова О.А., Бурашева Г.Ш. Фотохимическое определение аминокислот в растительном сырье // Химия природ. соед. – 1991. - №3. – 453 с.

54 Колева М.Н. Количественное определение углеводов в растительном сырье // Фармация. – 1981. – Т.31, вып. 1. – С. 32-36.

55 Rice-Evans A.C., Parker L. Flavonoids in healt and disease. – London: Marcel Dekker, 1998. – P. 541.

56 Harborne J.B. The flavonoids, N-Y., 1988. – P. 621.

57 Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. – Новосибирск: Наука, 1978. – С. 68-70.

58 Van Sumere C.F. Phenols and phenolic acids in «Metods in plant biochemistry» //Ed. J.B. Harborne. - 1989.-№ 1.- P. 29-74

59 Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А. и др. Природные флавоноиды. – Новосибирск, 2007. – 280 с.

60 Baydar, N.G., Özkan, G., Sagdiç, O., Total phenolic contents and antibacterialactivities of grapes (Vitis vinifera L.) extracts// Food Control. - 2004.-№ 15.- P. 335-339

61 . Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds// Food Chemistry. - 2003.-№ 97.- P. 654-660

62 Shual Li, Sheng-Iun Dai, Ruo-Yun Chen, DeQuan Yu. Triterpenoids from the stems of Myricaria paniculata// J. of Asian Natural Products Research. - 2005.-№ 7.- P. 253-257

63 . Sau Wah Ng, Chor Kwan Ching , Albert Yan Wo Chan, Tony Wing Lai Mak, Simultaneous detection of 24 toxic plant alkaloids (aconitumalkaloids, solanaceous tropane alkaloids, sophora alkaloids, strychnosalkaloids and colchicine) in human urine and herbal samples usingliquid chromatography–tandem mass spectrometry// Journal of Chromatography B.- 2013.-№ 943.- P. 63-69

64 S. Mali, R.M. Borges, Phenolics, fibre, alkaloids, saponins, andcyanogenic glycosides in a seasonal cloudforest in India// Biochemical Systematics and Ecology. - 2003.-№ 31.- P. 1221-1246

65 David O'Hagan, Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids// Nat. Prod. Rep. - 2000.-№ 17.- P. 435-446

66 Berrin Özçelik, Murat Kartal, and Ilkay Orhan, Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids// Pharmaceutical Biology. - 2011.-№ 49.- P. 396-402

67 K. H. Kyung, H. P. Fleming, Antimicrobial Activity-of Sulfur Compounds Derived'from Cabbage, Journal of Food Protection. - 1997.-№ 60.- P. 67-71

68 K. C. Engvil, Chlorine - containing natural compounds in higher plants // Phyrochemistry. - 1986.-№ 25.- P. 781-791

69 G. W. Gribble, The natural production of organobromine compounds Environ// Sci. & Pollut. Res. - 2000.-№ 7.- P. 37-49

70 G. W. Gribble, The handbook of environmental chemistry Vol. 3, Part Organofluorines, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002, 121-132 p.

71 A.I. Virtanen, Some Organic Sulfur Compounds in Vegetables and Fodder Plants and their Significance in Human Nutrition // Angew. Chem. internat. - 1962.-№ 6.- P. 299-306

72 A.I. Virtanen, Studies on organic sulphur compounds and other labile substances in plants // Phytochemistry. - 1965.-№ 4.- P. 207-228

73 Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. – Киев, 1976. – 260 с.

74 Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. – М.: Мир, 1977. – 240 с.

75 Бандюкова В.А., Югин В.А. Природные С-гликозиды флавоноидов // Химия природ. соед. – 1981. - №4. – С. 5-24.

76 Эмануэль Н.М., Богословская Е.П., Кругляк С.А и др. Подавление роста некоторых экспериментальных опухолей полиненасыщенными жирными кислотами. // Докл. АН СССР. - Сер. биол. – 1969. - №5. – С. 752-758.

77 Богословская Е.П. Жирные кислоты как возможные противоопухолевые агенты. // Докл. АН СССР. - Сер. биол. – 1976. - С. 440-449.

78 Ukita T., Tanimura A. Studies on the anti-tumor component in the seeds of Coix lachryma Jobi L. var Ma-yuen (Roman). Isolation and anti-tumor activity of coixenolid // Chem. Pharm.Bull. – 1961. – P. 43.

79 Carter H.E., Lohnson P., Teets D.W. Isolation of etjylene glycol from the lipids of beef lung // Biochem. – Biophys. Rec. Commun. – 1963. – P. 156.

80 35 Rice-Evans A.C., Parker L. Flavonoids in healt and disease. – London: Marcel Dekker, 1998. – P. 541.

81 Nelson G.J. In: Analysis of lipids and lipoproteins // Amer. Oil. Chem. Soc. - 1975.-№ 26.- P. 1

82 Паносян А.Г. Поиск простагландинов и простогландиноподобных соединений в растениях // Химия природ. соед. – 1981. - №2. – С. 139-146.

83 Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. – Алматы: Қазақ университеті, 2004. –С. 278-281.

84 Бунятян Н.Д., Герасимова О.А., Сахарова Т.С. и др. Природные антиоксиданты как гепатопротекторы // Эксперим. и клин. фармакол. – 1999. –Т. 62, № 2. – С. 64-67.

85 Ержанова М.С., Бикбулатова Т.Н. Методические разработки к конспекту лекций по спецкурсу «Химия углеводов». – Алма-Ата: КазГУ, 1987. – 38с.

86 Корулькин Д.Ю. Полисахариды растений. – Алматы: ОА-ЮС, 2000. – 95с.

87 Яковлева Л.В., Ивахненко А.К., Бунятян Н.Д. Защитное действие эллаговой кислоты при экспериментальном миокардите // Эксперим. и клин. фармакол. – 1998. – Т. 61, № 3. – С. 32-34.

88 Бобкова В.И., Ежова И.С. Влияние ненасыщенных жирных кислот на состояние свертывающей и противосвертывающей системы у больных коронарным атеросклерозом // Кардиология. – 1970. - №10. – С. 26-30.

89 Эмануэль Н.М., Богословская Е.П., Кругляк С.А и др. Подавление роста некоторых экспериментальных опухолей полиненасыщенными жирными кислотами // Изв. АН СССР.Сер. биол. – 1969. - №5. – С. 752-758.

90 Гаммерман А.Ф., Кадаев Г.Н., Яценко-Хмелевский А.А. Лекарственные растения. - М., 1990. - 543 с.

91 Рахметова А.А., Мельдеханов Т.Т., Мухаметгалиев А.Г. Современные проблемы фармации. – Алма-Ата: Наука, 1989. – 102 с.

92 Агрохимия. - 2-е изд., перераб. // доп. под ред. Смирнов П.М., Муравин Э.А. Агропромиздат, 1989. - 654 с.

93 Ed. D. Barcelo, J. Chrom. Application of LC-MS in Environmental chemistry Libr v 59 Amsterdam Elsevier, 1996, 543 p

94 Паперно Т.Я., Поздняков В.П., Смирнова А.А., Елагин Л.М. Физико-химические методы исследования в органической и биологической химии. - М.: Просвещение, 1977. – 176 с.51

95 Государственная Фармакопея СССР. Вып.2: Общие методы анализа. . - М.: Медицина, 1991. – 387 с.

96 Георгиевский В.П. и др. Биологически активные вещества лекарственных растений: Новосибирск, 1990. – 333 с.

97 Муравьева В.И., Баньковский А.И. Исследование растений, применяемых в народной медицине на содержание аскорбиновой кислоты // Тр. ВИЛАР. – М., 1947. – Вып. 9. – С. 39-119.

98 52 Морозкина Т.С. Витамины - Минск: Асар, 2002. - С. 7-8.

99 Shimoi K., Masuda S., Shen B. Radioprotective effects of antioxidative flavonoids in gamma-ray irradiated mice // Carcinogenesis. – 1994. – № 15. – P. 2669-2672.

100 Shimoi K., Masuda S., Shen B. Radioprotective effects of antioxidative flavonoids in mice // Mulat. Res. – 1996. – № 64. – P. 397-399.

101 Rice-Evans A.C., Parker L. Flavonoids in healt and disease. – London: Marcel Dekker, 1998. – 541p.

102 Markham K.R. Flavones, flavonols and their glycosides in “Methods in plant biochemistry” // Ed. Harborne J.B. – London: Academic Press, 1989. – № 1. – P. 197-235.

103 Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The systematic identification of flavonoids. – Heidelberg: Springer-Vorlag, 1970. – 286p.

104 Яковлева Л.В., Герасимова О.А., Карбушева И.В. и др. Сопоставление антиоксидантных свойств новых препаратов, производных бифлавоноидов и дубильных веществ // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 61, № 2. – С. 55-59.

105 Беклемишев Н.Д. Лекарства из растений. – Алматы, 2002. - 208 с.

106 K. H. Kyung, Y. C. Lee, Antimicrobial activities of sulfur compoundsderived from s-alk (en) yl-l-cysteinesulfoxides in allium and brassica // Food reviews international. - 2001.-№ 17.- P. 183-198

107 M. Karker, N. Tommasi, A.Smaoui, C. Abdelly, R. Ksouri, A. Braca, New Sulphated Flavonoids from Tamarix africana and Biological Activities of Its Polar Extract // Planta Med. - 2016.-№ 82.- P. 1374-1380

108 Laumen, K.; Kittelmann, M.; Ghisalba, O. J. Mol. Catal. B: ‘Chemo-enzymatic approaches for thecreation of novel chiral building blocks and reagent for pharmaceutical application // Enzym. - 2002.-№ 20.- P. 55-66

109 García-Granados, A.; Fernández, A.; Gutierrez, M. C.; Martínez, A.; Quirós, R.;Rivas, F.; Arias, J. M. Biotransformation of ent-13-epi-manoyl oxides difunctionalized at C-3 and C-12 by filamentous fungi // Phytochemistry. - 2004.-№ 65.- P. 107-115

110 Schoemaker, H. E.; Mink, D.; Wubbolts, M. G. Dispelling the Myths--Biocatalysis in Industrial Synthesis // Science. - 2003.-№ 299.- P. 1694-1697

111 De Santis, G.; Zhu, Z.; Greenberg, W. A.; Wong, K.; Chaplin, J.; Hanson, S. R.Farwell, B.; Nicholson, L. W.; Rand, C. L.; Weiner, D. P.; Robertson, D. E.; Burk, M. J. Creation of a productive, highly enantioselective nitrilase through gene site saturation mutagenesis (GSSM) // J. Am. Chem. Soc. - 2003.-№ 124.- P. 9024-9025

112 Wilson, D. Oikos Endophyte: The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition 1995, 73, 274–276.

113 Redman, R.; Dunigan, D.; Rodriguez, Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader // New Phytologist. - 2001.-№ 151.- P. 705-716

114 Ganley, R. J.; Brunsfeld, S. J.; Newcombe, A community of unknown, endophytic fungi in western white pine G. Proc. // Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2004.-№ 101.- P. 1010-1112

115 Schulz, B.; Boyle, The endophytic continuum // Mycol. Res. - 2005.-№ 109.- P. 661-686

116 Stanosz, G.; Smith, D.; Guthmiller, M.; Stanosz, Persistence of Sphaeropsis sapinea on or in Asymptomatic Shoots of Red and Jack Pines // J. Mycologia. - 1997.-№ 89.- P. 525-530

117 Redman, R. S.; Ranson, J.; Rodriguez, Conversion of the Pathogenic Fungus Colletotrichum magna to a Nonpathogenic, Endophytic Mutualist by Gene Disruption R. // J. Mol. Plant Microbe Interact. - 1999.-№ 12.- P. 969-975

118 Freeman, S.; Rodriguez, R. Genetic conversion of a fungal plant pathogen to a nonpathogenic, endophytic mutualist // J. Science. - 1993.-№ 260.- P. 75-78

119 Thilo H. , Mark S. K. Beitraege Quantification of glutaric acid by isotope dilution mass spectrometry for patients with glutaric acidemia type I: selected ion monitoring vs. selected ion storage// Clinica Chimica Acta. - 1999.-№ 282.- P. 185-195

120 Stierle, A.; Strobel, G. A.; Stierle, D Taxol and Taxane Production by Taxomyces andreanae, an Endophytic Fungus of Pacific Yew// Science. - 1993.-№ 260.- P. 214-216

121 Zikmundová, M.; Drandarov, K.; Bigler, L.; Hesse, M.; Werner, Biotransformation of 2-Benzoxazolinone and 2-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-one by Endophytic Fungi Isolated from Aphelandra tetragona // C. Appl. Environ. Microbiol. - 2002.-№ 68.- P. 4863-4870

122 Zikmundová, M.; Drandarov, K.; Hesse, M.; Werner, C. Z. Hydroxylated 2-Amino-3H-phenoxazin-3-one Derivatives as Products of 2-Hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one (HBOA) Biotransformation by Chaetosphaeria sp., an Endophytic Fungus from Aphelandra tetragona // Naturforsch. - 2002.-№ 57.- P. 660-665

123 K. B. Borges et al. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts // Tetrahedron: Asymmetry. - 2009.-№ 20.- P. 385-397

124 Agusta, A.; Maehara, S.; Ohasshi, K.; Simanjuntak, P.; Shibuta, H. Biooxidation of Catechin and Epicatechin into 3,4-Dihydroxyflavan Derivatives by the Endophytic Fungus Diaporthe sp. Isolated from a Tea // Plant Chem. Pharm. Bull. - 2005.-№ 53.- P. 1565-1569

125 Borges, K. B.; Borges, W. S.; Pupo, M. T.; Bonato, P. S. Endophytic fungi as models for the stereoselective biotransformation of thioridazine // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2007.-№ 77.- P. 669-674

126 . Borges, K. B.; Borges, W. S.; Pupo, M. T.; Bonato, P. S. Endophytic Fungi: Natural Products, Enzymes and Biotransformation Reactions // Current Organic Chemistry. - 2009.-№ 13.- P. 1137-1163

127 Strobel, G. A.; Long, D. M. In Vivo Addition of Telomeric Repeats to Foreign DNA Generates Extrachromosomal DNAs in the Taxol-Producing Fungus Pestalotiopsis microspore // Am. Soc. Microbiol. News. - 1998.-№ 64.- P. 263-268

128 Holland, H. L. In Stereoselective Hydroxylation reactions; Patel, R. N., Ed.; Stereoselective Biocatalysis; Marcel Dekker: New York, 2000; pp 131–152.

129 Miyazawa, M.; Kawazoe, H.; Hyakumachi, Biotransformation of l-menthol by twelve isolates of soil-borne plant pathogenic fungi (Rhizoctonia solani) and classification of fungi // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2003.-№ 78.- P. 620-625

130 Farooq, A.; Tahara, S.; Choudhary, M. I.; Rahman, A.-U.; Ahmed, Z.; Baser, K. H. C.; Demirci, F. Z. Biotransformation of (Ð)-α-Pinene by Botrytis cinerea // Naturforsch. - 2002.-№ 57.- P. 303-306

131 Demyttenaere, J. C. R.; Belleghem, K. V.; Kimpe, N. D. Biotransformation of (R) (+) and D (-)- limonenr by fungi and the use solid phase microextraction for screening // Phytochemistry. - 2001.-№ 57.- P. 199-2

132 Adams, A.; Demyttenaere, J. C. R.; Kimpe, Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-()-limonene to a-terpineol by Penicillium digitatum— investigation of the culture conditions // Food Chem. - 2003.-№ 80.- P. 525-534

133 Nano, G. M.; Binello, A.; Cravotto, G.; Bianco, M. A. Biotransformation of (−)-bornyl acetate using submerged cultures of Collybia velutipes, Trametes hirsuta and Ganoderma applanatum // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2005.-№ 80.- P. 657-661

134 Miyazawa, M. Kawazoe, H. Hyakumachi, Biotransformation of l-menthol by twelve isolates of soil-borne plant pathogenic fungi (Rhizoctonia solani) and classification of fungi // J Chem Technol Biotechnol. - 2003.-№ 78.- P. 620-625

135 Miyazawa, M.; Miyasato, Y. Biotransformation of (□)- and (ÿ)-bornyl acetate using the plant parasitic fungus Glomerella cingulata as a biocatalyst // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2001.-№ 761.- P. 220-224

136 Collins, D. O.; Buchanan, G. O.; Reynolds, W. F.; Reese, P. B. Biotransformation of squamulosone by Curvularia lunata ATCC 12017 // Phytochemistry. - 2001.-№ 57.- P. 377-383

137 .Furusawa, M.; Hashimoto, T.; Noma, Y.; Asakawa, Y. Highly Efficient Production of Nootkatone, the Grapefruit Aroma from Valencene, by Biotransformation // Chem. Pharm. Bull. - 2003.-№ 53.- P. 1423-1429

138 Aleu, J.; Hanson, J. R.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. Biotransformation of the fungistatic sesquiterpenoids patchoulol, ginsenol, cedrol and globulol by Botrytis cinerea // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2001.-№ 11.- P. 329-334

139 Collins, D. O.; Reese, P. B. Biotransformation of cadina-4,10(15)-dien-3-one and 3a-hydroxycadina-4,10(15)-diene by Curvularia lunata ATCC 12017 // Phytochemistry. - 2002.-№ 59.- P. 489-492

140 Durán-Patrón, R.; Aleu, J.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. Botrytis Species: An Intriguing Source of Metabolites with a Wide Range of

Biological Activities. Structure, Chemistry and Bioactivity of Metabolites Isolated from Botrytis Species // Current Organic Chemistry. - 2000.-№ 4.- P. 1261-1286

141 García-Granados, A.; Melquizo, E.; Parra, A.; Perez, F. L.; Simeo, Y.; Viseras, B.; Arias, J. M. Chemical Semisynthesis and Biotransformation with Rhizopus nigricans of Several Sesquiterpenes: Obtention of New 1a- and 2a-Hydroxyselinane Derivatives // Tetrahedron. - 2000.-№ 56.- P. 6517-6526

142 Collins, D. O.; Reese, P. B. Microbial transformation of cadina-4,10(15)-dien-3-one, aromadendr-1(10)-en-9-one and methyl ursolate by Mucor plumbeus ATCC 4740 // Phytochemistry. - 2002.-№ 59.- P. 489-492

143 García-Granados, A.; Gutiérrez, M. C.; Rivas, F.; Arias, J. M. Biotransformation of 4b-hydroxyeudesmane-1,6-dione by Gliocladium roseum and Exserohilum halodes // Phytochemistry. - 2001.-№ 58.- P. 891-895

144 Yang, L.; Dai, L.; Sakai, Biotransformation of a- and 6b-santonin by fungus and plant cell cultures // J.-I.; Ando, M. J. Asian Nat. Prod. Res. - 2006.-№ 8.- P. 317-326

145 Aranda, G.; Moreno, L.; Cortes, M.; Orange, T.; Mauro, M.; Azerad, R. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts // Tetrahedron. - 2001.-№ 57.- P. 6051-6056

146 Alarcón, J.; Aguila, S.; Cornejo, F.; Alderete, J. Biotransformation of 5-hydroxy-14-eudesm-11-en-3-one by Rhizopus nigricans, Cunninghamella elegans and Mucor plumbeus // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2007.-№ 48.- P. 23-27

147 Flores, R. C.; Pous, L.; Tonn, C. E.; Guerreiro, E.; Giordano, O. S. Microbial Hydroxylation of Tedonodiol with Cultures of *Aspergillus Niger* // Molecules. - 2000.-№ 5.- P. 357-357

148 García-Granados, A.; Gutiérrez, M. C.; Rivas, F. Biotransformation of a 4β-hydroxylated eudesmane with Exserohilum halodes Chemo-enzymatic synthesis of cryptomeridiol and 6-epi-colartin derivatives // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 27.- P. 133-138

149 García-Granados, A.; Melquizo, E.; Parra, A.; Simeo, Y.; Viseras, B. Regioselective Enzymatic Acylations of Polyhydroxylated Eudesmanes: Semisynthesis, Theoretical Calculations, and Biotransformation of Cyclic Sulfites // J. Org. Chem. - 2000.-№ 65.- P. 8214-8223

150 Furusawa, M.; Hashimoto, T.; Noma, Y.; Asakawa, Y. Biotransformation of Aristolane- and 2,3-Secoaromadendrane-Type Sesquiterpenoids Having a 1,1-Dimethylcyclopropane Ring by Chlorella fusca var. vacuolata, Mucor Species, and Aspergillus niger // Chem. Pharm. Bull. - 2006.-№ 54.- P. 861-868

151 Daoubi, M.; Deligeorgopoulou, A.; Macías-Sánchez, A. J.; Hernández-Galán, R.; Hitchcock, P. B.; Hanson, J. R.; Collado, I. G. Antifungal Activity and Biotransformation of Diisophorone by Botrytis cinerea // J. Agric. Food Chem. - 2005.-№ 53.- P. 6035-6039

152 Kiran, I.; Yildirim, H. N.; Hanson, J. R.; Hitchcock, P. B. The antifungal activity and biotransformation of diisophorone by the fungus Aspergillus niger // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2004.-№ 79.- P. 1366-1370

153 Kiran, I.; Akar, T.; Gorgulu, A.; Kazaz, C. Programmed cell death 6 (PDCD6) protein interacts with death-associated protein kinase 1 (DAPk1): additive effect on apoptosis via caspase-3 dependent pathway // Biotechnol. Lett. - 2005.-№ 27.- P. 1007-1010

154 Kaspera, R.; Krings, U.; Nanzad, T.; Berger, R. G. Bioconversion of (+)-valencene in submerged cultures of the ascomycete Chaetomium globosum // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2005.-№ 67.- P. 477-483

155 Aguila, S.; Alarcon, J.; Conejeros, C.; Alderete,Regio and stereoselective hydroxylation of 5a-hydroxy-14-eudesm-11-en-3-one eudesmane by biotransformation of *Rhizopus nigricans***.** // J. B. J. Chil. Chem. Soc. - 2006.-№ 51.- P. 855-857

156 Daoubi, M.; Hernández-Galán, R.; Benharref, A.; Collado, I. G. Screening Study of Lead Compounds for Natural Product-Based Fungicides: Antifungal Activity and Biotransformation of 6r,7r-Dihydroxy-â-himachalene by Botrytis cinerea // J. Agric. FoodChem. - 2005.-№ 53.- P. 6673-6677

157 Alarcon, J.; Alderete, J. B.; Aguila, S.; Meter, M. G.Regio and stereoselective hydroxylation of a-agarofuran by biotransformation of *Rhizopus nigricans* // J. Chil. Chem. Soc. - 2005.-№ 50.- P. 715-718

158 Swizdor, A.; Szpineter, A.; Kolek, T. Regio- and stereoselective hydroxylation of bi- and tricyclic enones by fungal strain Fusarium culmorum // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2006.-№ 42.- P. 10-13

159 Pous, L.; Carrizo, R.; Sanz, M. K.; Gianello, J. C.; Guerreiro, E. Biotransformation of Ilicic Alcohol with Aspergillus Niger // Molecules. - 2000.-№ 5.- P. 325-326

160 Nuñez, Y. O.; Salabarria, I. S.; Collado, I. G.; Hernandez-Galan, R. The Antifungal Activity of Widdrol and Its Biotransformation by Colletotrichum gloeosporioides (penz.) Penz. & Sacc. and Botrytis cinerea // Pers.: Fr J. Agric. FoodChem. - 2006.-№ 54.- P. 7517-7521

161 García-Granados, A.; Gutiérrez, M. C.; Rivas, F. Improved microbiological hydroxylation of sesquiterpenoids: semisynthesis, structural determination and biotransformation studies of cyclic sulfite eudesmane derivatives // Org. Biomol. Chem. - 2003.-№ 1.- P. 2314-2320

162 Hu, S.; Sun, D.-A.; Tian, X.; Fang, Q.Regio- and stereoselective hydroxylation of toxoids by filamentous fungi // Chirality. - 2002.-№ 14.- P. 495-497

163 Ning, L.; Zhan, J.; Qu, G.; Zhong, L.; Guo, H.; Bi, K.; Guo, D. Biotransformation of triptolide by Cunninghamella blakesleana // Tetrahedron. - 2003.-№ 59.- P. 4209-4213

164 Fraga, B. M.; Guillermo, R.; Hernandez, M. G.; Chamy, M. C.; Garbarino, J. A. Biotransformation of two stemodane diterpenes by Mucor plumbeus // Tetrahedron. - 2004.-№ 60.- P. 7921-7932

165 Chen, A. R. M.; Reese, P. B. Biotransformation of terpenes from Stemodia maritima by Aspergillus niger ATCC 9142 // Phytochemistry. - 2002.-№ 59.- P. 57-62

166 Fraga, B. M.; González, P.; Hernández, M. G.; Suarez, S. Biotransformation of 7-oxo-ent-kaur-16-ene derivatives by Gibberella fujikuroi // Tetrahedron. - 2005.-№ 61.- P. 5623-5632

167 Fraga, B. M.; Hernández, M. G.; González, P.; Chamy, M. C.; Garbarino, J. A. Microbial Transformation of 18-Hydroxy-9,13-epi-ent-pimara-7,15-diene by Gibberella fujikuroi // J. Nat. Prod. - 2003.-№ 66.- P. 392-397

168 Fraga, B. M.; Hernández, M. G.; González, P.; López, M.; Suarez, S. Biotransformation of the diterpene ribenone by Mucor plumbeus // Tetrahedron. - 2001.-№ 57.- P. 761-770

169 Fraga, B. M.; González, P.; Hernández, M. G.; Suarez, S. The biotransformation of the diterpene 2b-hydroxy-ent-13-epimanoyl oxide by Gibberella fujikuroi // Phytochemistry. - 2003.-№ 62.- P. 67-70

170 Vieira, H. S.; Takahashi, J. A.; Boaventura, M. A. D. Novel Derivatives of ent-17,19-Dihydroxy-16âH-kaurane Obtained by Biotransformation with Verticillium lecanii // J. Agric. Food Chem. - 2002.-№ 50.- P. 3704-3707

171 Vieira, H. S.; Takahashi, J. A.; Boaventura, M. A. D. Biotransformation of methyl ent-17-hydroxy-16b-kauran-19-oate by Rhizopus stolonifer // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2000.-№ 53.- P. 601-604

172 Aranda, G.; Azerad, R.; Maurs, M.; Bertho, G.; Jiménez-González, D.; CabreraTorres, E.; Barrero, A. F. Microbial hydroxylation/functionalization of terpenoid synthons derived from communic acids // Phytochemistry. - 2000.-№ 54.- P. 23-27

173 Buchanan, G. O.; Reese, P. B. Biotransformation of diterpenes and diterpene derivatives by Beauveria bassiana ATCC 7159 // Phytochemistry. - 2001.-№ 56.- P. 141-151

174 Schmeda-Hirschmann, G.; Astudillo, L.; Palenzuela, J. A. Biotransformation of solidagenone by Alternaria alternata, Aspergillus niger and Curvularia lunata cultures // World J. Microbiol. Biotechnol. - 2004.-№ 20.- P. 93-97

175 Oliveira, B. H.; Filho, J. D. S.; Leal, P. C. Biotransformation of Steviol Derivatives by Aspergillus niger and Fusarium moniliforme // J. Braz. Chem. Soc. - 2005.-№ 16.- P. 210-213

176 Farooq, A.; Tahara, S. Biotransformation of Two Cytotoxic Terpenes, a-Santonin and Sclareol by Botrytis cinerea Z. // Naturforsch. - 2000.-№ 55.- P. 713-717

177 Gouiric, S. C.; Feresin, G. E.; Tapia, A. A.; Rossamando, P. C.; Schmeda Hirschmann, G.; Bustos, D. A. 1β,7β-Dihydroxydehydroabietic acid, a new biotransformation product of dehydroabietic acid by Aspergillus niger // World J. Microbiol. Biotechnol. - 2004.-№ 20.- P. 281-284

178 Van Beek, T. A.; Claassen, F. W.; Dorado, J.; Godejohann, M.; Sierra-Alvarez, R.; Wijnberg, B. P. A. Fungal Biotransformation Products of Dehydroabietic Acid // J. Nat. Prod. - 2007.-№ 70.- P. 154-159

179 Fraga, B. M.; Alvarez, L.; Suarez, S. Biotransformation of the Diterpenes Epicandicandiol and Candicandiol by Mucor plumbeus // J. Nat. Prod. - 2003.-№ 66.- P. 327-331

180 Silva, E. A.; Takahashi, J. A.; Oliveira, A. B. An Interesting Backbone Rearrangement and Novel Derivatives from the Biotransformation of Trachyloban-19-oic Acid by *Rhizopus stolonifer* // J. Braz. Chem. Soc. - 2002.-№ 13.- P. 101-105

181 Fraga, B. M.; Guillermo, R.; Hernández, M. G. The Microbiological Transformation of Two 15â-Hydroxy-ent-kaurene Diterpenes by Gibberella fujikuroi // J. Nat. Prod. - 2004.-№ 67.- P. 64-69

182 Bastos, D. Z. L.; Pimentel, I. C.; Jesus, D. A.; Oliveira, B. H. Biotransformation of betulinic and betulonic acids by fungi // Phytochemistry. - 2007.-№ 68.- P. 834-839

183 Peterson, D. H.; Murray, H. C.; Eppstein, S. H.; Reineke, L. M.; Weintraub, A.; Meister, P. D.; Leigh, H. M. Microbiological Transformations of Steroids.] I. Introduction of Oxygen at Carbon-1 1 of Progesterone // J. Am. Chem. Soc. - 1952.-№ 23.- P. 5933-5936

184 Manosroi, J.; Chisti, Y.; Manosroi, A. Biotransformation of Cortexolone to Hydrocortisone by Molds Using a Rapid Color-Development Assay // Appl. Biochem. Microbiol. - 2006.-№ 42.- P. 479-483

185 Manosroi, J.; Saowakhon, S.; Manosroi, A. A novel one-step biotransformation of cortexolone-21-acetate to hydrocortisone acetate using Cunninghamella blakesleeana ATCC 8688a // Enzyme Microbiol. Technol. - 2007.-№ 41.- P. 322-325

186 Ye, M.; Han, J.; An, D.; Tu, G.; Guo, D. New cytotoxic bufadienolides from the biotransformation of resibufogenin by Mucor polymorphosporus // Tetrahedron. - 2005.-№ 61.- P. 8947-8955

187 Zhang, J.; Guo, H.; Tian, Y.; Liu, P.; Li, N.; Zhou, J.; Guo, D. Biotransformation of 20(S)-protopanaxatriol by Mucor spinosus and the cytotoxic structure activity relationships of the transformed products // Phytochemistry. - 2007.-№ 68.- P. 2523-2530

188 Padua, R. M.; Oliveira, A. B.; Filho, J. D. S.; Vieira, G. J.; Takahashi, J. A.; Braga, F. C.Biotransformation of digitoxigenin by *Fusarium ciliatum* // J. Braz. Chem. Soc. - 2005.-№ 16.- P. 614-619

189 Farooq, A.; Tahara, S. Biotransformation of Testosterone and Pregnenolone Catalyzed by the Fungus Botrytis cinerea // J. Nat. Prod. - 2000.-№ 63.- P. 489-491

190 Janeczko, T.; Dmochowska-Gladysz, J.; Bialonska, A.; Ciunik, Z. Microbial hydroxylation of chiral bicyclic enones by Chaetomium sp.1 and Didymosphaeria igniaria cultures // Biocatal. Biotransform. - 2006.-№ 24.- P. 458-463

191 Bustillo, A. J.; Aleu, J.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. Biotransformation of the fungistatic compound (R)-(+)-1-(4 -chlorophenyl)propan-1-ol by Botrytis cinerea // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2003.-№ 21.- P. 267-271

192 Pothuluri, J. V.; Freeman, J. P.; Heinze, T. M.; Beger, R. D.; Cerniglia, C. E. Biotransformation of Vinclozolin by the Fungus Cunninghamella elegans // J. Agric. Food Chem. - 2000.-№ 48.- P. 6138-6148

193 Wong, J. W.; Burns, M. P. Microbial hydroxylation of (Z)-2-benzylidene1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-one // Tetrahedron: Asymmetry. - 1999.-№ 10.- P. 4295-4305

194 Oda, S.; Isshiki, K. Liquid-surface immobilization system and liquid–liquid interface bioreactor: Application to fungal hydrolysis // J. Mol. Catal. B. - 2007.-№ 48.- P. 106

195 Tsurumi, J.; Miyazawa, M. Biotransformation (-)-fraxinellone to (-)-fraxinellonone by Aspergillus niger and biological activity of the metabolites // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2007.-№ 48.- P. 112

196 Olejniczak, T.; Grabarczyk, M.; Wawrzenczyk, C. Lactones 7 1. Enantioselective lactonization of racemic ethyl 5,5-dimethyl-2,3-epoxycyclohex-1-yl acetate // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2001.-№ 11.- P. 243-247

197 Uzura, A.; Katsuragi, T.; Tani, Y. Optimal conditions for production of (R)-1-phenylpropanol by Fusarium moniliforme strain MS31. // J. Biosci. Bioeng. - 2001.-№ 91.- P. 217-221

198 Gladkowski, W.; Grabarczyk, M.; Konopka, M.; Wawrzeñczyk, C. Lactones 20: Biohydroxylation of saturated bicyclic -lactones with the substituted cyclohexane system // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 29.- P. 13-17

199 Agusta, A.; Maehara, S.; Ohashi, K.; Simanjuntak, P.; Shibuya, H. Stereoselective Oxidation at C-4 of Flavans by the Endophytic Fungus Diaporthe sp. Isolated from a Tea // PlantChem. Pharm. Bull. - 2005.-№ 53.- P. 1565-1569

200 Shukla, V. B.; Kulkarni, P. R. Production of Allyl Phenyl Carbinol (APC) by Biotrans-formation using *Rhizopus arrhizus* // Braz. Arch. Biol. Technol. - 2005.-№ 43.- P. 249-252

201 Bustillo, A. J.; Garcia-Pajon, C. M.; Aleu, J.; Hernandez-Galan, R.; Collado, I. G. Studies on biotransformation of (±)-1-(4-chlorophenyl)-2-phenylethanol // Tetrahedron: Asymmetry. - 2003.-№ 14.- P. 3755-3760

202 Haufe, G.; Wolker, D. Synthesis of Fluorinated Cycloalkyl *N*-Phenylcarbamates and Their Microbial Defluorination/Oxygenation by *Beauveria bassiana*. // Eur. J. Org. Chem. - 2003.-№ 11.- P. 2159-2165

203 Da Costa, C. E.; Comasseto, J. V.; Crusius, I. H. S.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M. Biotransformation of -hydroxyphenyl selenides, diphenyldiselenide and benzeneseleninic acid by whole cells of Aspergillus terreus // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2007.-№ 47.- P. 135-139

204 Olivo, H. F.; Osorio-Lozada, A.; Peeples, T. L. Microbial oxidation/amidation of benzhydrylsulfanyl acetic acid. Synthesis of (+)-modafinil // Tetrahedron: Asymmetry. - 2005.-№ 16.- P. 3507-3510

205 Pinedo-Rivilla, C.; Aleu, J.; Collado, I. G. Enantiomeric oxidation of organic sulfides by the filamentous fungi Botrytis cinerea, Eutypa lata and Trichoderma viride // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2007.-№ 49.- P. 18-23

206 Holland, H. L.; Ihasz, N.; Lounsbery, B. Formation of single diastereomers of -hydroxysulfoxides by biotransformation of -ketosulfides using Helminthosporium species NRRL 4671 // J. Can. J. Chem. - 2002.-№ 80.- P. 640-642

207 Holland, H. L.; Browm, F. M.; Barrett, F.; French, J.; Johnson, D. V. Biotransformation of b-ketosulfides to produce chiral b-hydroxysulfoxidesJ. // Ind. Microbiol. Biotechnol. - 2003.-№ 30.- P. 292-301

208 Holland, H. L. Biotransformation of organic sulfides // Nat. Prod. Rep. . - 2001.-№ 18.- P. 171-181

209 Gladkowski, W.; Grabarczyk, M.; Winska, K.; Ratus, B.; Bialonska, A.; Ciunik, Z.; Wawrzenczyk, C. Lactones 26 [1]: Stereoselective microbial epoxidation of unsaturated bicyclic -lactones with the alkylsubstituted cyclohexane system // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2007.-№ 49.- P. 79-87

210 Keppler, A. F.; Porto, A. L. M.; Schoenlein-Crusius, I. H.; Comasseto, J. V.; Andrade, L. H. Enzymatic evaluation of different Aspergillus strains by biotransformation of cyclic ketones // Enzyme Microb. Technol. - 2005.-№ 36.- P. 967-975

211 Fantin, G.; Giovannini, P. P.; Guerrini, A.; Maietti, S.; Medici, A.; Pedrini, P. Enantioselective Baeyer–Villiger oxidation of bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-one with fungi: optimization of biotransformation and use of TiO_2 as support of cell growth // Biotechnol. Lett. - 2006.-№ 28.- P. 805-810

212 Bodai, V.; Peredi, R.; Balint, J.; Egri, G.; Novak, L.; Szakacs, G.; Poppe, L. Novel Hydrolases from Thermophilic Filamentous Fungi for Enantiomerically and Enantiotopically Selective Biotransformations // Adv. Synth. Catal. - 2003.-№ 345.- P. 811-818

213 Nakamura, K.; Inoue, Y.; Matsuda, T.; Misawa, I. Stereoselective oxidation and reduction by immobilized Geotrichum candidum in an organic solvent // J. Chem. Soc., Perkin. Trans. - 1999.-№ 1.- P. 2397-2402

214 K. B. Borges et al. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. // Tetrahedron: Asymmetry. - 2009.-№ 20.- P. 385-397

215 Comasseto, J. V.; Omori, A. T.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M. Bioreduction of fluoroacetophenones by the fungi Aspergillus terreus and Rhizopus oryzae // Tetrahedron: Asymmetry. - 2003.-№ 14.- P. 711-715

216 Cardus, G. J.; Carnell, A. J.; Trauthwein, H.; Riermeir, T. Microbial deracemisation of N-(1-hydroxy1-phenylethyl)benzamide // Tetrahedron: Asymmetry. - 2004.-№ 15.- P. 239-243

217 Comasseto, J. V.; Andrade, L. H.; Omori, A. T.; Assis, L. F.; Porto, A. L. M. Deracemization of aryl ethanols and reduction of acetophenones by whole fungal cells of Aspergillus terreus CCT 4083, A. terreus CCT 3320 and Rhizopus oryzae CCT 4964 // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 29.- P. 55-61

218 Genzel, Y.; Archelas, A.; Broxterman, Q. B.; Schulze, B.; Frutos, R. Microbiological transformations. Part 46: Preparation of enantiopure (S)-2-pyridyloxirane via epoxide hydrolase-catalysed kinetic resolution // Tetrahedron: Asymmetry. - 2000.-№ 11.- P. 3041-3044

219 Demir, A. S.; Hamamci, H.; Sesenoglu, O.; Aydogan, F.; Capanoglu, D.; Neslihanoglu, R. Simple chemoenzymatic access to enantiopure pharmacologically interesting (R)-2-hydroxypropiophenones // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 1953-1956

220 Miyazawa, M.; Hashimoto, Y. Microbial resolution of racemic 2-endo-acetoxy-1,8-cineole by Glomerella cingulate // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 3185-3187

221 Lunardi, I.; Conceiçao, G. J. A.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. Highly stereoselective preparation of (3R,4S)-3,4-chromanediol by deracemization of (±)-3-hydroxy-4-chromanone by Trichosporon cutaneum // Tetrahedron: Asymmetry. - 2005.-№ 16.- P. 2515-2519

222 Comasseto, J. V.; Assis, L. F.; Andrade, L. H.; Schoenlein-Crusius, I. H.; Porto, A. L. M. Biotransformations of ortho-, meta- and para-aromatic nitrocompounds by strains of Aspergillus terreus: Reduction of ketones and deracemization of alcohols // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2006.-№ 39.- P. 24-30

223 Mandal, D.; Ahmad, A.; Khan, M. I.; Kumar, R. Enantioselective bioreduction of acetophenone and its analogous by the fungus Trichothecium sp. // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 27.- P. 61-63

224 Andrade, L. H.; Keppler, A. F.; Schoenlein-Crusius, I. H.; Porto, A. L. M.; Comasseto, Evaluation of acetophenone monooxygenase and alcohol dehydrogenase activities in different fungal strains by biotransformation of acetophenone derivatives // J. V. J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 31.- P. 129-135

225 Kurbanoglu, E. B.; Zilbeyaz, K.; Kurbanoglu, N. I.; Kilic, H. Enantioselective reduction of substituted acetophenones by Aspergillus niger // Tetrahedron: Asymmetry. - 2007.-№ 18.- P. 1159-1162

226 Hage, A.; Schoemaker, H. E.; Field, Optimization of stereoselective ketone reduction by the white-rot fungus Merulius tremellosus // J. A. Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2001.-№ 57.- P. 79-84

227 Hage, A.; Petra, D. G. I.; Field, J. A.; Schipper, D.; Wijnberg, J. B. P. A.; Kamer, P. C. J.; Reek, J. N. H.; van Leeuwen, P. W. N. M.; Wever, R.; Schoemaker, H. E. Asymmetric reduction of ketones via whole cell bioconversions and transfer hydrogenation: complementary approaches // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 1025-1034

228 Andrade, L. H.; Omori, A. T.; Porto, A. L. M.; Comasseto, J. V. Preparation of chiral organochalcogeno-a-methylbenzyl alcohols via biocatalysis. The role of Daucus carota root // J. Mol. Catal. B: Enzym. - 2004.-№ 29.- P. 47-54

229 Roy, A.; Bhattacharyya, M. S.; Kumar, L. R.; Chawla, H. P. S.; Banerjee, U. C. Microbial reduction of 1-acetonapthone: a highly efficient process for multigram synthesis of S(−)-1-(1 -napthyl) ethanol // Enzyme Microb. Technol. - 2003.-№ 33.- P. 576-580

230 Miyazawa, M.; Okamura, S.; Yamaguchi, M.; Kameoka, H. Biological stereoselective reduction of 4-methylcyclohexanone and 4-ethylcyclohexanone by anthracnose fungi // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2000.-№ 75.- P. 143-146

231 Carballeira, J. D.; Alvarez, E.; Campillo, M.; Pardo, L.; Sinisterra, Diplogelasinospora grovesii IMI 171018, a new whole cell biocatalyst for the stereoselective reduction of ketones // Tetrahedron: Asymmetry. - 2004.-№ 15.- P. 951-962

232 Demir, A. S.; Hamamci, H.; Ayhan, P.; Duygu, N.; Igdir, A. C.; Capanoglu, D. Fungi mediated conversion of benzil to benzoin and hydrobenzoin // Tetrahedron: Asymmetry. - 2004.-№ 15.- P. 2579-2582

233 Patel, R.; Chu, L.; Nanduri, V.; Li, J.; Kotnis, A.; Parker, W.; Liu, M.; Mueller, R. Enantioselective microbial reduction of 6-oxo-8-[4-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]butyl]-8-azaspiro[4.5]decane-7,9-dione // Tetrahedron: Asymmetry. - 2005.-№ 16.- P. 2778-2783

234 Zagozda, M.; Plenkiewicz, Enantioselective reduction of a,b-unsaturated ketones by Geotrichum candidum, Mortierella isabellina and Rhodotorula rubra yeast // J. Tetrahedron: Asymmetry. - 2006.-№ 17.- P. 1958-1962

235 Buchanan, G. O.; Willians, L. A. D.; Reese, P. B. Biotransformation of cadinane sesquiterpenes by Beauveria bassiana ATCC 7159 // Phytochemistry. - 2000.-№ 54.- P. 39-45

236 Salvi, N. A.; Chattopadhyay, S. Rhizopus arrhizus mediated asymmetric reduction of alkyl 3-oxobutanoates // Tetrahedron: Asymmetry. - 2004.-№ 15.- P. 3397-3400

237 Saratani, Y.; Uheda, E.; Yamamoto, H.; Nishimura, A.; Yoshizako, F. Stereoselective Reduction of Ethyl 4-chloro-3- oxobutanoate by Fungi // Biosci. Biotechnol. Biochem. - 2001.-№ 65.- P. 1676-1679

238 Patel, R. N.; Chu, L.; Chidambaram, R.; Zhu, Enantioselective microbial reduction of 2-oxo-2- (1,2,3,4-tetrahydro-1,1,4,4-tetramethyl-6-naphthalenyl)acetic acid and its ethyl ester J.; Kant, // J. Tetrahedron: Asymmetry. - 2002.-№ 13.- P. 349-355

239 Mangone, C. P.; Pereyra, E. N.; Argimon, S.; Moreno, S.; Baldessari, A. Chemo- and stereoselective reduction of -keto esters by spores and various morphological forms of Mucor rouxii // EnzymeMicrob. Technol. - 2002.-№ 30.- P. 596-601

240 Ribeiro, J. B.; Sousa, L. M. A.; Soares, M. V.; Ramos, M. C. K. V.; Neto, F. R. A.; Fraga, C. A. M.; Leite, S. G. F.; Cordeiro, Y.; Antunes, O. A. C. Microbial reduction of a-acetyl-c-butyrolactone // Tetrahedron: Asymmetry. - 2006.-№ 17.- P. 984-988

241 Dehli, J. R.; Gotor, V. Stereoselective alkylation–reduction of -keto nitriles by the fungus Curvularia lunata // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 1485-1492

242 Dehli, J. R.; Gotor, V. Enantio- and chemoselective bioreduction of b-keto nitriles by the fungus Curvularia lunata // Tetrahedron: Asymmetry. - 2000.- № 11.- P. 3693-3700

243 Csuck, R.; Glänzer, B. I. Methylenation of aldonolactones // Chem. Rev. - 1991.-№ 91.- P. 49-97

244 Iriuchijima, S.; Kojima, N. Comparative Asymmetric Reduction of Phenylthioacetone, (±)-Phenylsulfinylacetone and Phenylsulfonylacetone with Fermenting Bakers' Yeast // Agric. Biol. Chem. - 1978.-№ 42.- P. 451-455

245 Gotor, V.; Rebolledo, F.; Liz, R. Enantioselective bioreduction of b-keto sulfones with the fungus Curvularia lunata // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 513-515

246 Zurawinski, R.; Nakamura, K.; Drabowicz, J.; Kielbasinski, P.; Mikolajczuk, M. Biocatalytic syntheses of chiral non-racemic 2-hydroxyalkanephosphonates // Tetrahedron: Asymmetry. - 2001.-№ 12.- P. 3139-3145

247 Rosche, B.; Sandford, V.; Breuer, M.; Rogers, P. Biotransformation of benzaldehyde into (R)-phenylacetylcarbinol by filamentous fungi or their extracts // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2001.-№ 57.- P. 309-315

248 Demyttenaere, J. C. R.; Adams, A.; Vanoverschelde, J.; Kimpe, N. D. Biotransformation of (S)-(+)-Linalool by Aspergillus niger: An Investigation of the Culture Conditions // J. Agric. Food Chem. - 2001.-№ 49.- P. 5895-5901

249 Demyttenaere, J. C. R.; Vanoverschelde, J.; Kimpe, N. D. Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(−)-citronellol by Aspergillus sp. and Penicillium sp., and the use of solid-phase microextraction for screening // J. Chromatogr. - 2004.-№ 1027.- P. 137-146

250 A. B. Oliveira, J. R. Hanson and J. A. Takahash, The biotransformation of ent-15-oxokaur-16-en-19-oic acid and its methyl ester by Cephalosporium aphidicola, // Phytochemistry. - 1995.-№ 40.- P. 439-442

251 M. S. Ahmad, S. Zafar, M. Bibi, S. Bano, A. Wahab, A.Rahman, M. I. Choudhary, Biotransformation of androgenic steroid mesterolone with Cunninghamella blakesleeana and Macrophomina phaseolina // Steroids. - 2014.-№ 82.- P. 53-59

252 T. Akihisa, K. Watanabe, R. Yoneima, T. Suzuki, and Y. Kimura, Biotransformation of Cycloartane-Type Triterpenes by the Fungus Glomerella fusarioides // J. Nat. Prod. - 2006.-№ 69.- P. 604-607

253 Y. Amate, A. Garsia-Granados, A. Matinz, A. Saenz de Buruaga, Biotransformation of 6β Eudesmanolides Functionalized at C-3 with Curvularia lunata and Rhizopus nigricans Cultures, // Tetrahedron. - 1991.-№ 41.- P. 5811-5818

254 E. Bedir, C. Kula, O. Oner, M. Altas, O. Tag, G. Ongen, Microbial transformation of Astragalus sapogenins using Cunninghamella blakesleeana NRRL 1369 and Glomerella fusarioides ATCC 9552, // Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. - 2015.-№ 115.- P. 29-34

255 S. Bhosale, G. Saratale and S. Govindwar, Biotransformation enzymes in Cunninghamella blakesleeana (NCIM-687) // J. Basic Microbiol. - 2006.-№ 46.- P. 444-448

256 M. D. Boaventura, A. B. Oliveira, J. Hadson, P. B. Hitchcock and J.A.Takahashi, The biotransformation of methyl ent-15-oxokaur-16-en-19-oate by rhizopus stolonifer and mucor plumbeus // Phytochemisfry. - 1995.-№ 40.- P. 1667-1669

257 D. O. Collins, G. O. Buchanan, W. F. Reynolds, P. B. Reese, Biotransformation of squamulosone by Curvularia lunata ATCC 12017, // Phytochemistry. - 2001.-№ 57.- P. 377-383

258 A. Dong, M. Ye, H. Guo, J. Zheng and D. Guo, Microbial transformation of ginsenoside Rb1 by Rhizopus stolonifer and Curvularia lunata, // Biotechnology Letters. - 2003.-№ 25.- P. 339-344

259 B. Feng, B.Ma, L.Kang, C. Xiong and S. Wang, The microbiological transformation of steroidal saponins by Curvularia lunata // Tetrahedron. - 2005.-№ 61.- P. 11758-11763

260 J. Hanson and H. Nasir, The biotransformation of some steroids by cephalosporium aphidicola // Phyrochemistry. - 1993.-№ 33.- P. 834-844

261 J. R. Hanson, P. B. Hitchcock and J. Takahashi, Biotransformation of ent-16β,19-dihydroxykaurane by cephalosporium aphidicola // Phytochemistry. - 1995.-№ 40.- P. 797-800

262 J. Hanson and A. Trune, The biotransformation of ambrox and sclareolide by cephalosporium aphidicola // Phytochemistry. - 1996.-№ 42.- P. 1021-1023

263 M. Kuban, G. Ongen, I. A. Khan, E..Bedir, Microbial transformation of cycloastragenol // Phytochemistry. - 2013.-№ 88.- P. 99-104

264 J. Manosroi, S. Saowakhon, A. Manosroi, A novel one-step biotransformation of cortexolone-21-acetate tohydrocortisone acetate using Cunninghamella blakesleeana ATCC 8688a // Enzyme and Microbial Technologyю - 2007.-№ 41.- P. 322-325

265 Q. Yu-Juan, F. Bing, S. Xin-Bon, Z. Wen-Bin, Y. He-Shui, 2, Z. Li-Li, Y. Li-Yan, M. Bai-Ping, Biotransformation of Glycyrrhetinic Acid by Cunninghamella blakesleeana // Chinese Journal of Natural Medicines. - 2010.-№ 8.- P. 373-381

266 E.A. Silva, J.A. Takahashi, M.A.D. Boaventura, A.B. Oliveira, The biotransformation of ent-kaur-16-en-19-oic acid by Rhizopus stolonifer, // Phytochemistry. - 1999.-№ 52.- P. 397-400

267 S. Su, X. Zeng, L. Bai, L. Li, R. Duan, Arsenic biotransformation by arsenic-resistant fungi Trichoderma asperellum SM-12F1, Penicillium janthinellum SM-12F4, and Fusarium oxysporum CZ-8F1 // Science of the Total Environment. - 2011.-№ 409.- P. 5057-5062

268 N. Sultana and Z. S. Saify, Enzymatic biotransformation of terpenes as bioactive agents // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistryc. - 2012.-№ 28.- P. 1-16

269 H. S. Vieira á J. A. Takahashi á M. A. D. Boaventura, Biotransformation of methyl ent-17-hydroxy-16b-kauran-19-oate by Rhizopus stolonifer // Appl Microbiol Biotechnol. - 2000.-№ 53.- P. 601-604

270 W. S. Weber, D. C. Ridderbusch and H. Anke, 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) tolerance and biotransformation potential of microfungi isolated from TNT-contaminated soil // Mycol. Res. - 2003.-№ 106.- P. 336-344

271 M. R. Wilson, W. A. Gallimore, P. B. Reese, Steroid transformations with Fusarium oxysporum var. cubense and Colletotrichum musae // Steroids. - 1999.-№ 64.- P. 834-843

272 Z. Y. Xie, H. H. Huang, and D. F. Zhong, Biotransformation of pantoprazole by the fungus Cunninghamella blakesleeana // Xenobiotica. - 2005.-№ 35.- P. 467-477

273 M.M. Cowan, Plant products as antimicrobial agents. // Clin Microbiol Rev. - 1999.-№ 12.- P. 564-582

274 Cerniglia CE, Freeman JP, Mitchum RK. Glucuronide and sulfate conjugation in the fungal metabolismof aromatic hydrocarbons // Applied and Environmental Microbiology. - 1982.-№ 43.- P. 1070-1075

275 Xin X, Liu Y, Ye M, Guo H, Guo D. Microbial transformation of glycyrrhetinic acid by Mucor polymorphosporus. // Planta Med. - 2006.-№ 72.- P. 156-161

276 Lippin G, Tampion J, Sride J, Morris P, Scragg HA, Stafford A, Fowler WM, eds. Secondary Metabolism in Plant Cell Cultures. London: Cambridge University press, 113p.

277 Suga T, Hirata T. Biotransformation of exogenous substrates by plant cell cultures. // Phytochemistry. - 1990.-№ 29.- P. 23-93

278 Hamada H, Miyamoto Y, Nakajima N, Furuya T. Highly selective transformation by plant catalysts // J Mol Catal B Enzyme. - 1998.-№ 5.- P. 1-87

279 Suga T, Hirata T. Biotransformation of exogenous substrates byplant cell cultures. // Phytochemistry. - 1990.-№ 29.- P. 23-93

280 Hashimoto T, Noma Y, Asakawa Y. Biotransformation of terpenoids from the crude drugs and animal origion by micro organisms. // Heterocycles. - 2001.-№ 54.- P. 5-29

281 C. de Carvalho, M. M. Da Fonseca R. Biotransformation of terpenes. // Biotechnol Adv. - 2006.-№ 24.- P. 134-142

282 Chen XY, Zhao LM, Zhong DF. An novel metabolic pathway of morphine: formation of morphine glucosides in cancer patients. // British Journal of Clinical Pharmacology. - 2003.-№ 55.- P. 570-578

283 Clark AM, Hufford CD. Use of microorganisms for the study of drug metabolism: an update. // Medical Research and Review. - 1991.-№ 11.- P. 473-501

284 Rosazza JP. 1982. Microbial transformations of bioactive compounds. Boca Raton, FL: CRC Press. pp 111.

285 Lin-min Feng, Shuai Ji, Xue Qiao, Zi-wei Li, Xiong-hao Lin, and Min Ye Biocatalysis of Cycloastragenol by Syncephalastrum racemosum and Alternaria alternata to Discover Anti-Aging Derivatives // Adv. Synth. Catal. - 2015.-№ 357.- P. 1928-1940

286 Obsidiana Abril, Carol C. Ryerson, Christopher Walsh, And George M. Whitesides- Enzymatic Baeyer-Villiger Type Oxidations of Ketones Catalyzed by Cyclohexanone Oxygenase // Bioorganic Chemistry. - 1989.-№ 17.- P. 41-52

287 Asha S, Vidyavathi M. Cunninghamella–A microbial model for drug metabolism studies–A review [J]. // Biotechnol Adv. - 2009.-№ 27.- P. 16-29

288 Maitraie D, Hung CF, Tu HY, et al. Synthesis, antiinflammatory, and antioxidant activities of 18β-glycyrrhetinic acid derivatives as chemical mediators

and xanthine oxidase inhibitors // Bioorgan Med Chem. - 2009.-№ 17.- P. 2786-2792

289 O. Ozçinar, O. Tag, H. Yusufoglu , B. Kivçak, E. Bedir, Biotransformation of ruscogenins by Cunninghamella blakesleeana NRRL 1369 and neoruscogenin by endophytic fungus Neosartorya hiratsukae // Phytochemistry. - 2018.-№ 152.- P. 1-9

290 Wu Y, Li H, Zhang XM, Gong JS, Rao ZM, Shi JS, Zhong XJ, Xu ZH, Efficient hydroxylation of functionalized steroids by Colletotrichum lini ST-1, // J. Mol. Catal. B Enzym. - 2015.-№ 120.- P. 11-118

291 Baydoun, E., Atia tul, W., Iqbal, S., Smith, C., Choudhary, M.I., Biotransformation of drospirenone, a contraceptive drug, with Cunninghamella elegans. // Steroids. - 2017.-№ 126.- P. 30-34

292 Piska, K., Zelaszczyk, D., Jamrozik, M., Kubowicz-Kwasny, P., Pekala, E. Cunninghamella biotransformation - similarities to human drug metabolism and its relevance for the drug discovery process. Curr. Drug Metab. - 2016.-№ 17.- P. 107-117

293 Wang, X.B., Yao, J.H., Liu, K.X., Ma, X.C. Regio- and stereo-selective oxidation of beta-boswellic acids transformed by filamentous fungi. // Rsc Adv. - 2015.-№ 5.- P. 12717-12725

294 Xu, M., Huo, X.-K., Tian, X.-G., Dong, P.-P., Wang, C., Huang, S.-S., Zhang, B.-J., Zhang, H.-L., Deng, S., Ma, X.-C. Microbial transformation of diosgenin by Cunninghamella blakesleana AS 3.970 and potential inhibitory effects on Pglycoprotein of its metabolites. // RSC Adv. - 2015.-№ 5.- P. 78081-78089

295 Br¨uhlmann F, Bosijokovic B. Efficient biochemical cascade for accessing green leaf alcohols. // Org. Process Res. Dev. - 2016.-№ 20.- P. 1974-1978

296 Durairaj P, Malla S, Nadarajan SP, Lee P-G, Jung E, et al. Fungal cytochrome P450 monooxygenases of Fusarium oxysporum for the synthesis of ω-hydroxy fatty acids in engineered Saccharomyces cerevisiae. // Microb. Cell Fact. - 2015.-№ 10.- P. 14-45

297 Engleder M, Pavkov-Keller T, Emmerstorfer A, Hromic A, Schrempf S, et al. Structure-based mechanism of oleate hydratase from Elizabethkingia meningoseptica. // ChemBioChem. - 2015.-№ 16.- P. 1730-1734

298 France SP, Hepworth LJ, Turner NJ, Flitsch SL. Constructing biocatalytic cascades: in vitro and in vivo approaches to de novo multi-enzyme pathways. //ACS Catal. - 2017.-№ 7.- P. 710-724

299 Heshof R, de Graaff LH, Villaverde JJ, Silvestre AJD, Haarmann T, et al. Industrial potential of lipoxygenases. // Crit. Rev. Biotechnol. - 2015.-№ 26.- P. 1-10

300 Hirata A, Kishino S, Park S-B, Takeuchi M, Kitamura N, Ogawa J. A novel unsaturated fatty acid hydratase toward C16 to C22 fatty acids from Lactobacillus acidophilus. // J. Lipid Res. - 2015.-№ 56.- P. 1340-1350

301 Jan AH, Subileau M, Deyrieux C, Perrier V, Dubreucq E. Elucidation of a key position for acyltransfer activity in Candida parapsilosis

lipase/acyltransferase (CpLIP2) and in Pseudozyma antarctica lipase A (CALA) by rational design. // Biochim. Biophys.Acta. - 2016.-№ 1864.- P. 187-194

302 Rosazza JP, Steffens JJ, Sariaslani FS, Goswami A, Beale JM, Reeg S et al. Microbial hydroxylation of 1,4-cineole. // Appl Environ Microbiol. - 1987.-№ 53.- P. 2482-2486

303 Kang WR, Seo MJ, Shin KC, Park JB, Oh DK. 2017. Comparison of biochemical properties of the original and newly identified oleate hydratases from Stenotrophomonas maltophilia. // Appl. Environ. Microbiol. - 2017.-№ 83.- P. 1-11

304 Golan-Rozen N, Seiwert B, Riemenschneider C, Reemtsma T, Chefetz B, Hadar Y (2015) Transformation pathways of the recalcitrant pharmaceutical compound carbamazepine by the white-rot fungus Pleurotus ostreatus: effects of growth conditions. // Environ Sci Technol. - 2015.-№ 49.- P. 12351-12362

305 Pettit, R.K., Weber, C.A., Kean, M.J., Hoffmann, H., Pettit, G.R., Tan, R., Franks K.S., and Horton, M.L. Microplate alamar blue assay for *Staphylococcus epidermidis* Biofilm susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 №49-P. 2612–2617.

306 Sarkar, S.D., Nahar, L. and Kumarasamy, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. Methods 2007 №42-P. 321–324.

307 Choudhary, M. I., Dur-e-Shahwar, Parveen, Z., Jabbar, A., Ali, I., and Atta-ur-Rahman. Antifungal steroidal lactones from Withania coagulance. Phytochemistry 1995 №40 -P. 1243-6.

308 Janaki S, Vijayasekaram V. Antifungal activities of aglaia roxburghiana (W&A), MIQ, Var, Beddome.i. Biomedicine,1998 №18-P. 86-91.

309 Mosmann, T. *J. Immunol*. Utilization of purified human monocytes in the agarose droplet assay for measuring migration inhibitory factors *Methods* 1983№65-P. 55-63

310 Alves, T.M.A., Silva, A.F., Brandao, M., Grandi, T.S.M., Smania, E.F.A., Smania, Jr. A., Zani, C.L. (2000). Biological screening of brazilian medicinal plants. Mem Inst Oswaldo Cruz, 95: 367-

311 Kivack, B., Mert, T., and Tansel, H. (2001). Antimicrobial and Cytotoxic activities of Ceratonia siliqua L. extracts. Turk. J. Biol., 26:197-200

312 Carballo. L. J., Hernandez-inda. L. Z., Perez. P., and Gravalos, M.D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. Bio Med Central Biotechnology, 2, 1-10

313 Mayer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nicholas P. E., and McLaughin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Medica, 45: 31-34

314 Atta-ur-Rehman, Studies in Natural Product Chemistry, Netherlands, Elsevier Science Publishers, B. V., vol. 9, p, 383-409 (1991)

315 Hideji, Y. Oshida, A. Ikuta, H. Inatomi and T. Adachi, Phenolic plant growth inhibitors from the flowers of Cucurbita Pepo, Phytochemistry, vol 21, no. 8. pp 1935-37 (1982).

316 Gulde R et al Systematic exploration of biotransformation reactions of amine-containing micropollutants in activated sludge. // Environ Sci Technol. - 2016.-№ 50.- P. 2908-2920

317 D. Samatkyzy, Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Analysis of some primary and secondary metabolites of the aerial part of tamarix hispida // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- С. 177-185

318 D. Samatkyzy, Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Analysis of cytotoxic activity and quantity of biologically active metals of the aerial mass of tamarix hispida // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- С. 194-199

319 Y.S. Ikhsanov Chemical compositional analysis of the tamarix hispida aerial part extract obtained in ethanol solutions of different concentration" // Journal of Applied Engineering Science. - 2018.-№ 16.- P. 233-241

320 Е.С. Ихсанов, Ж.А. Абилов, Н.А. Султанова, М.И. Чоудхари Исследование компонентов гексанового экстракта из растения гребенщик методом газовой хроматографии // Изв. вузов. Химия и хим. Технология. - 2018.-№ 6.- С. 83-87

321 Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Study of the chemical composition of dichloromethane extract Tamarix hispida // Вестник Карагандинского университета. Серия «Химия». - 2018.-№ 89.- С. 8-13

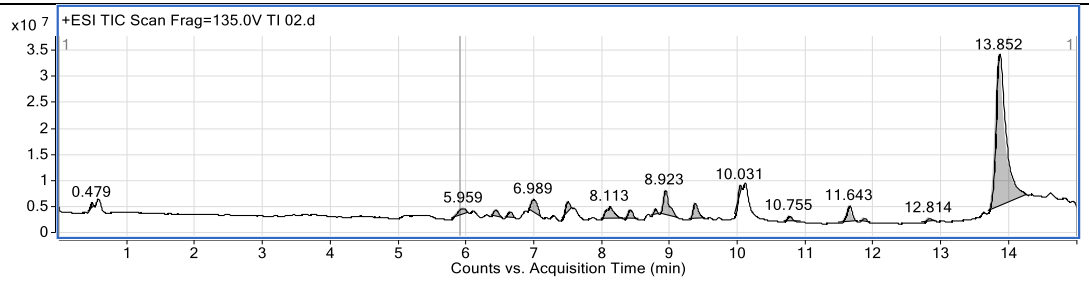
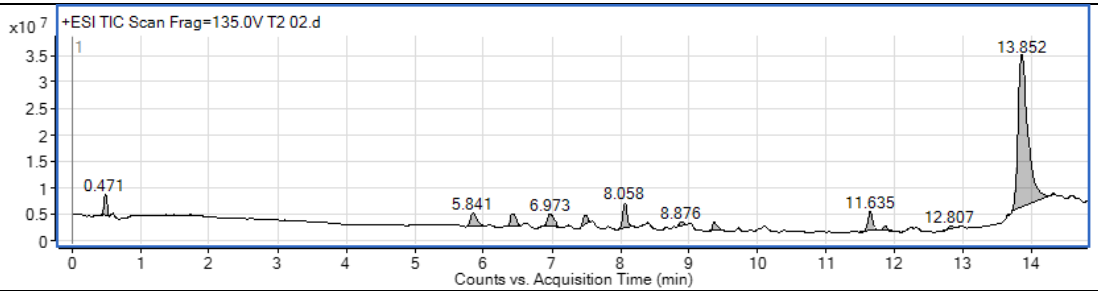
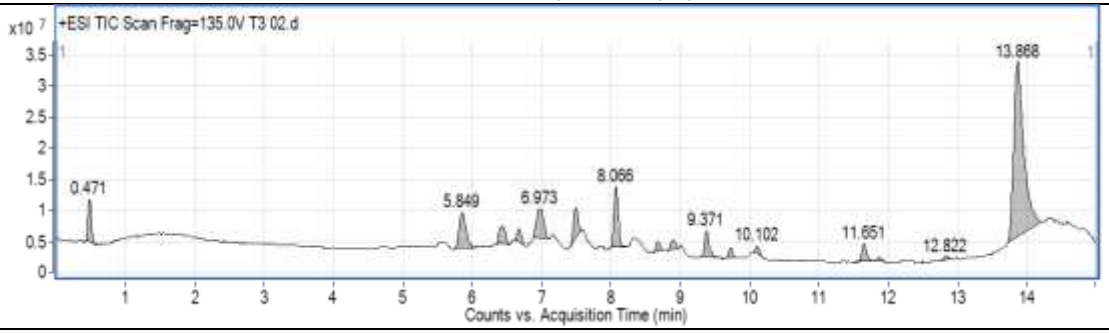
322 Y.S Ikhsanov, N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, M.I. Choudhary Chemical composition and growth regulating activity of tamarix hispida substance // Химический журнал Казахстана. - 2018.-№ 61.- P. 40-46

323 "Жер үсті бөлігіндегі tamarix hispida фитопрепарат негізіндегі трансдермальды дәрілік формалар" /Тезисы международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных аль-Фараби Алемы 2017;

324 "Новые полимерные материалы на основе карбопола для использования в фармацевтике" /Тезисы международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных аль-Фараби Алемы 2017;

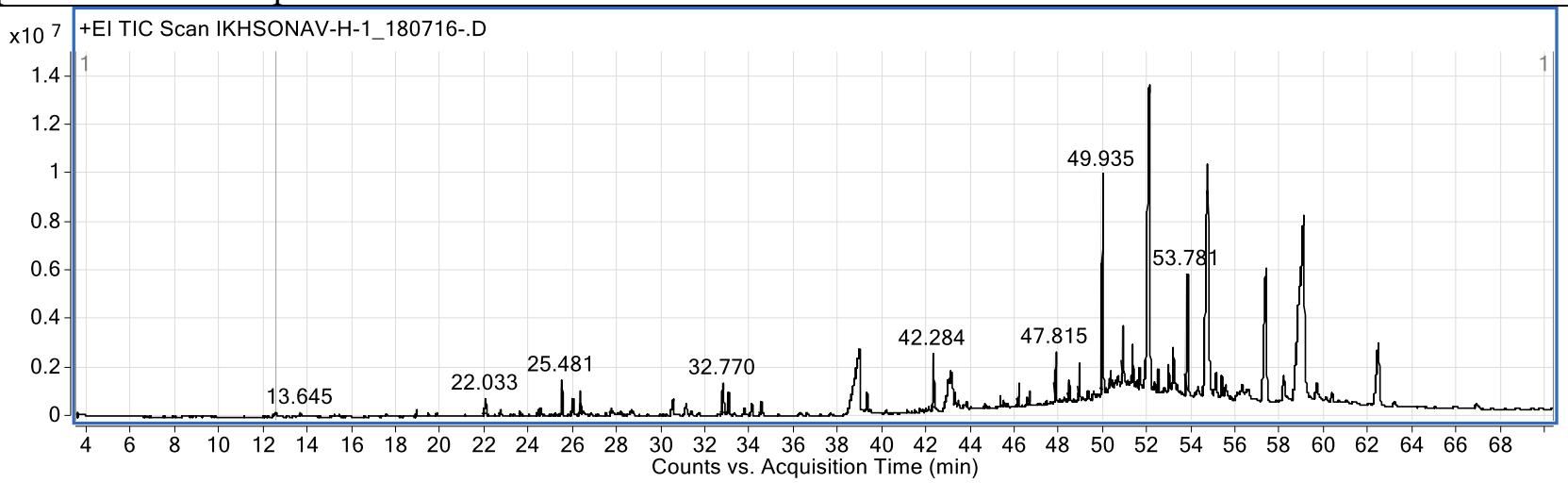
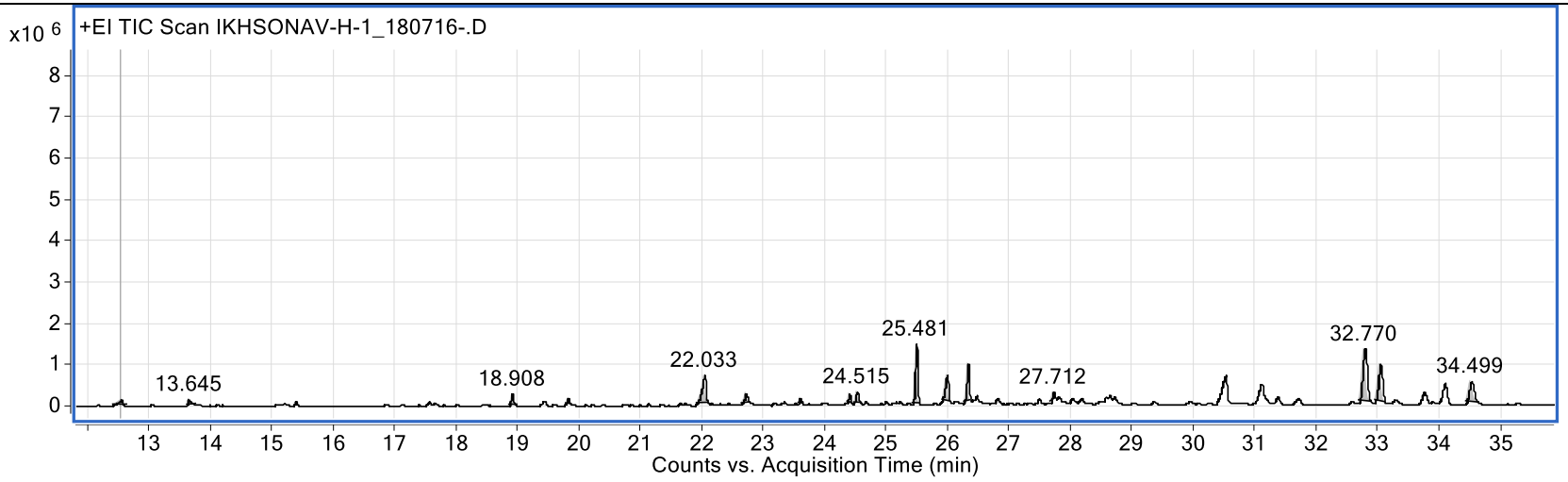
ПРИЛОЖЕНИЯ

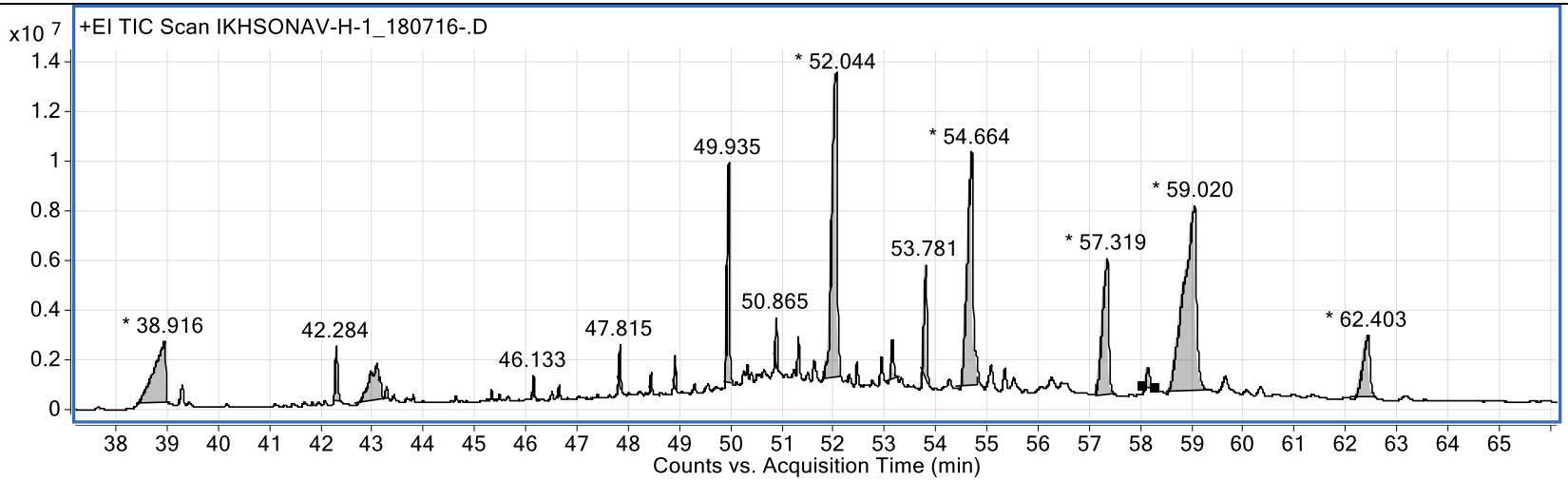
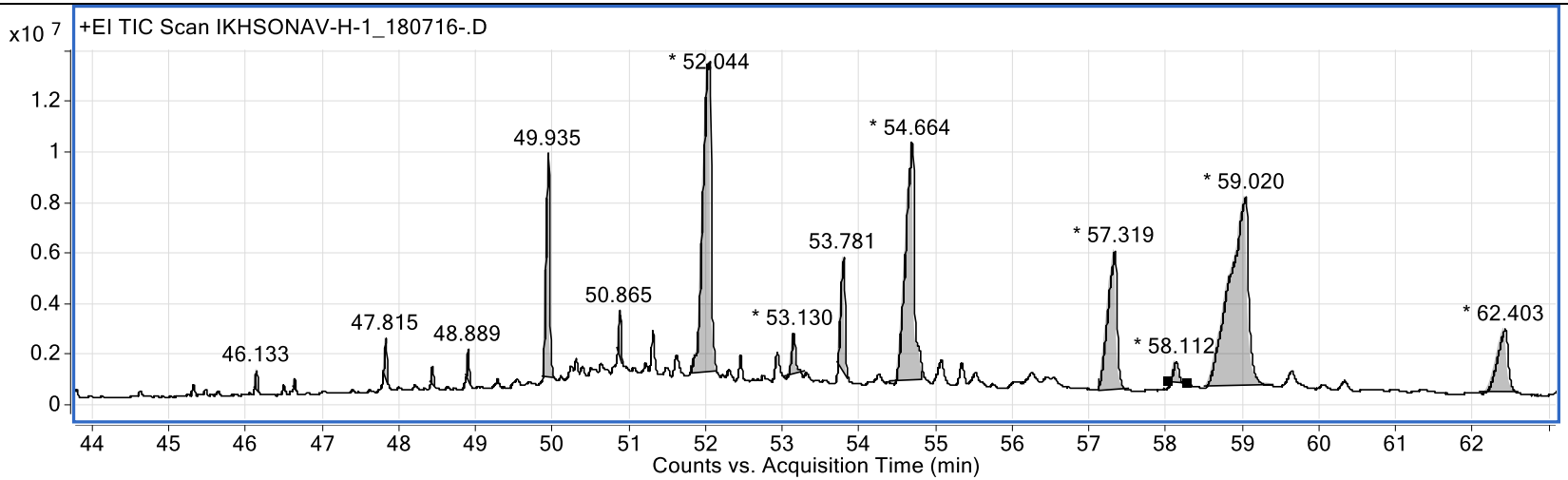
ПРИЛОЖЕНИЕ А

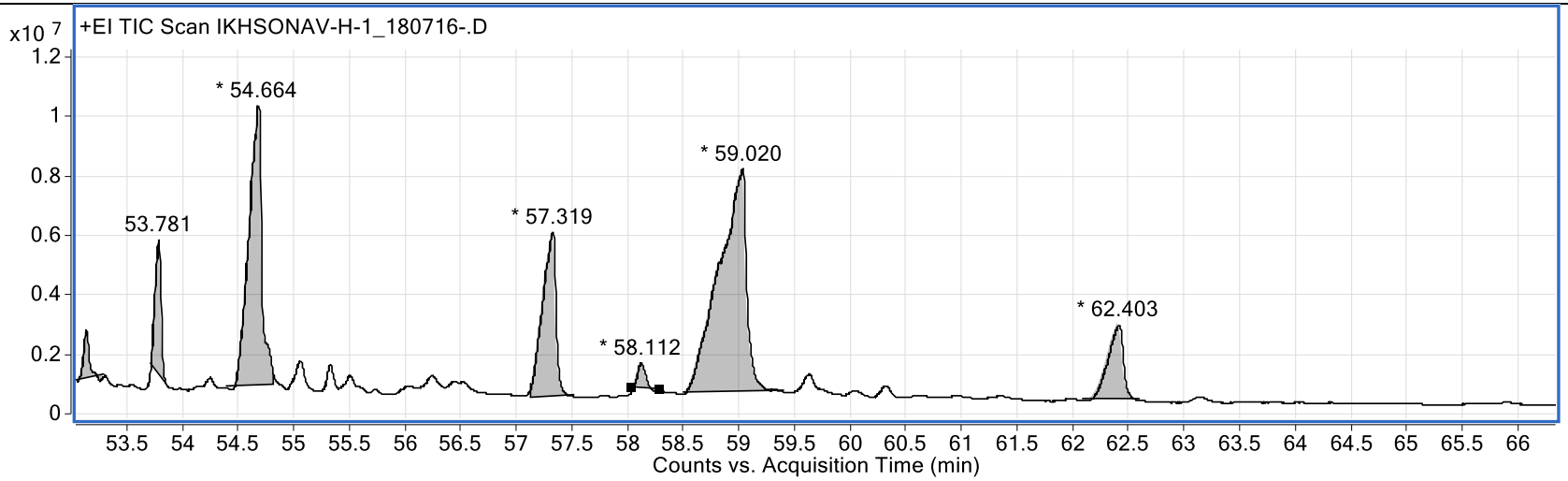
Экстракт	Хромато-масс спектр
96% этанольный экстракт	
70% этанольный экстракт	
50% этанольный экстракт	

Масс-хроматограммы этанольных экстрактов, полученных из надземной части растения *Tamarix hispida*

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

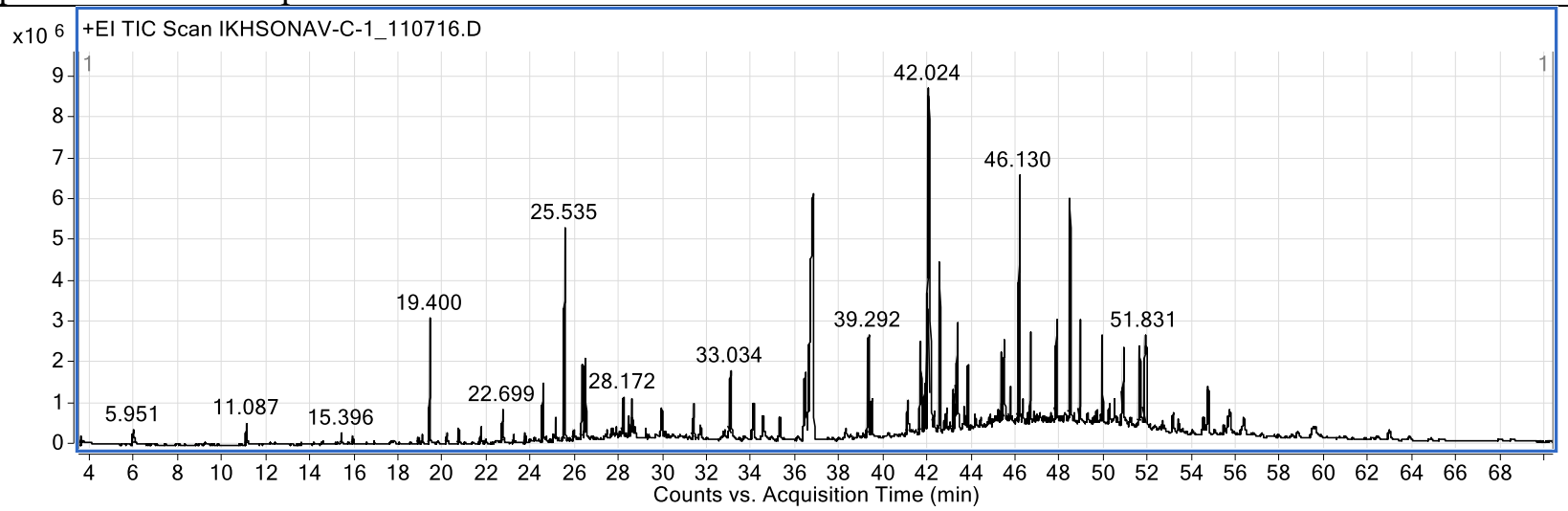
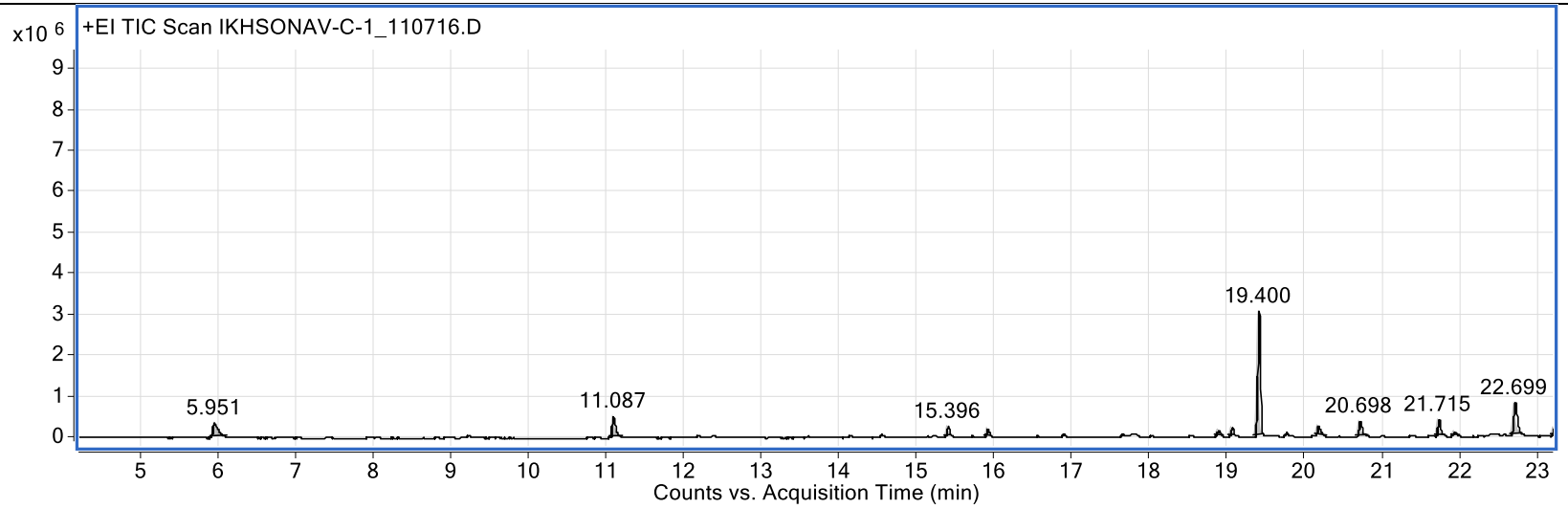
Период	Хромато-масс спектр
с 0 до 70.417 минуты	
С 0 до 36 минуты	

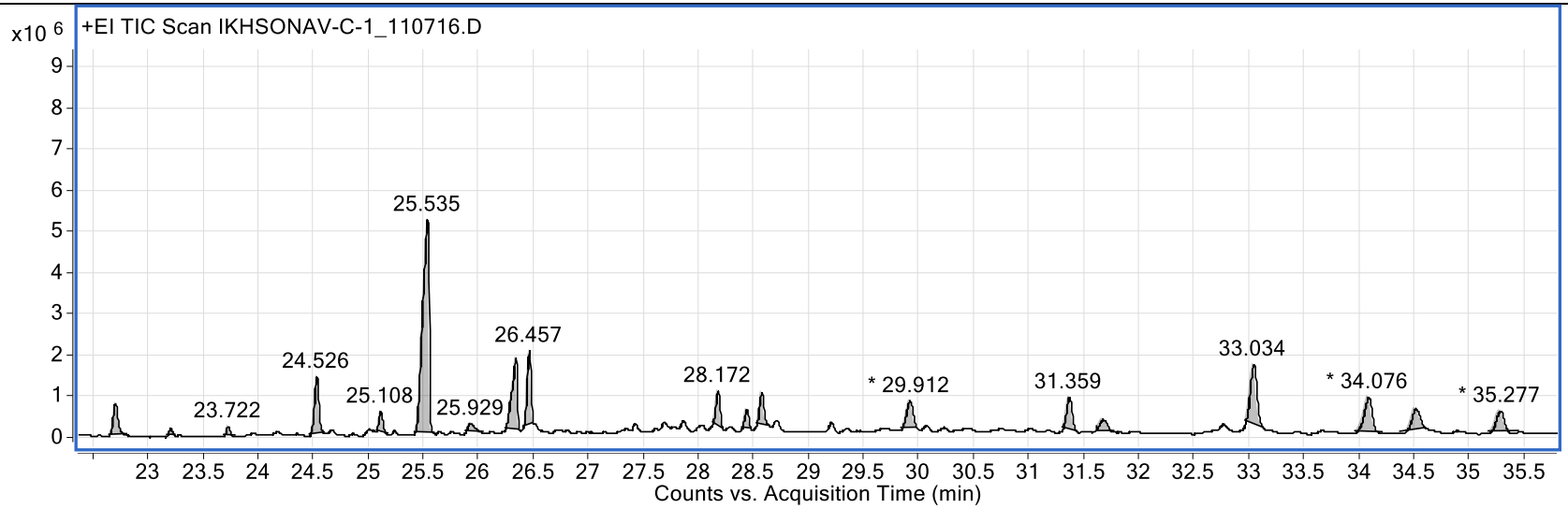
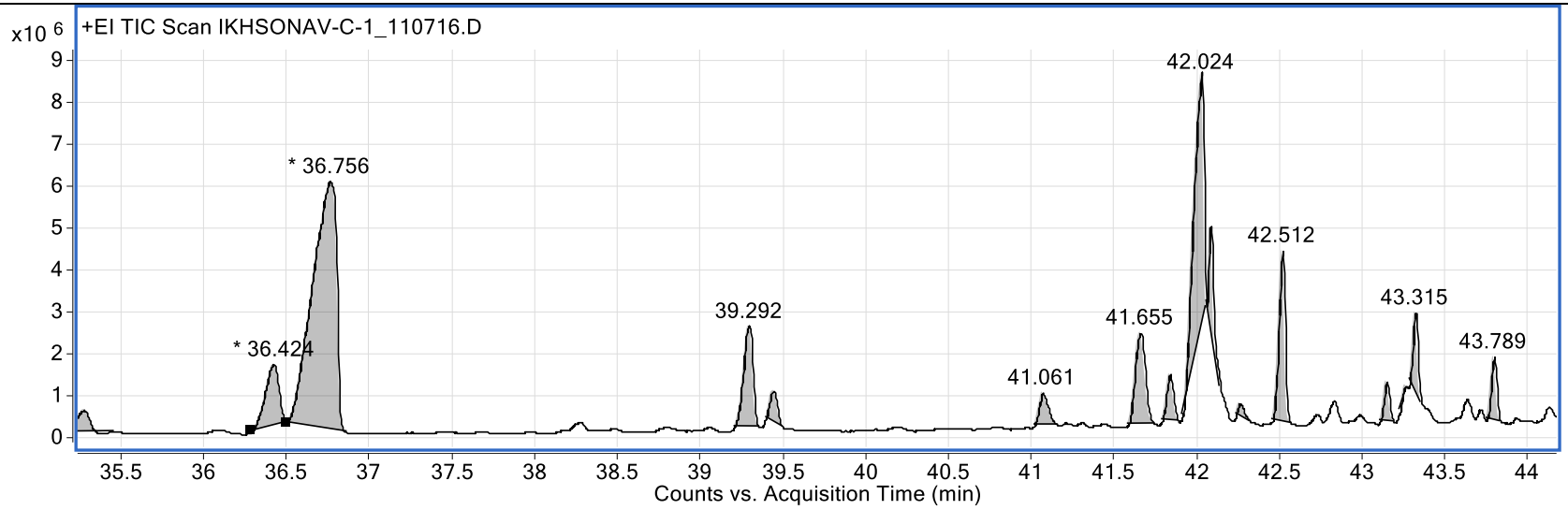
С 37 до 70.417 минуты	
С 44 до 63 минуты	

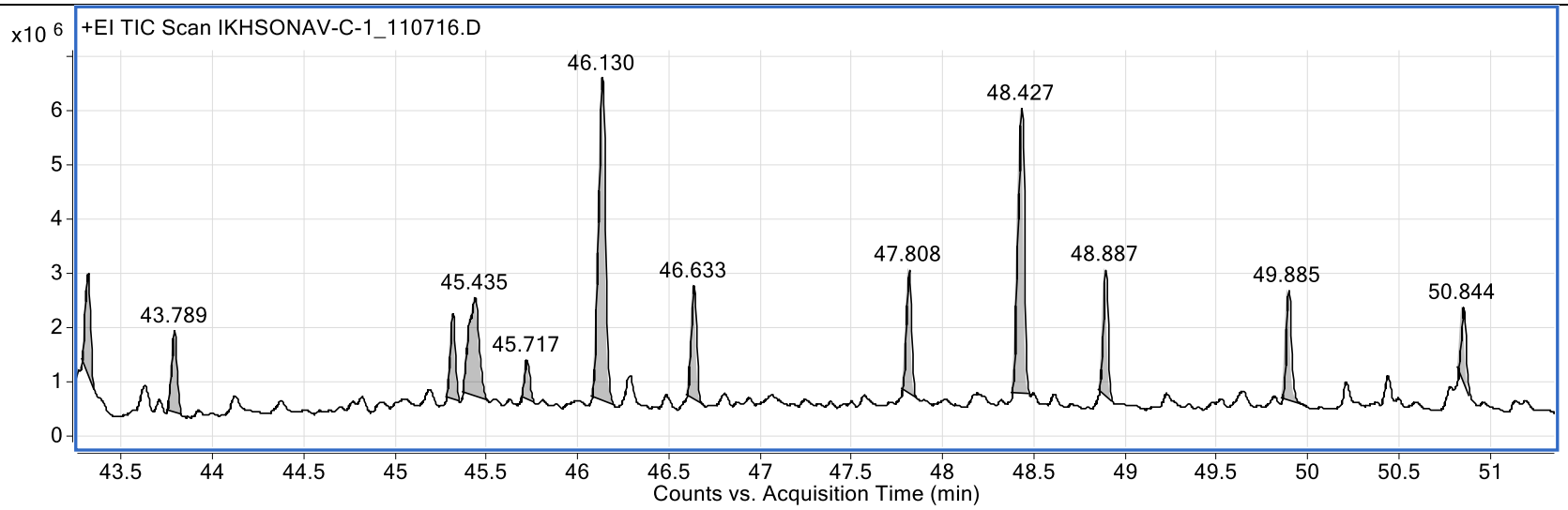
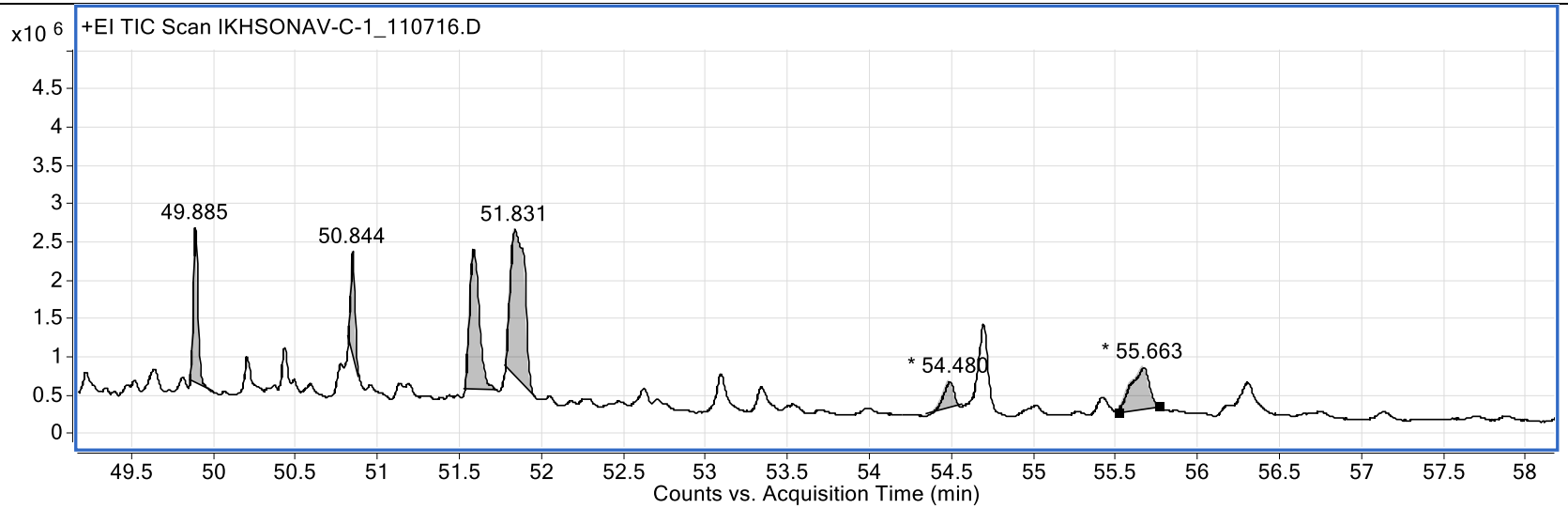
С 54 до 67 минуты	

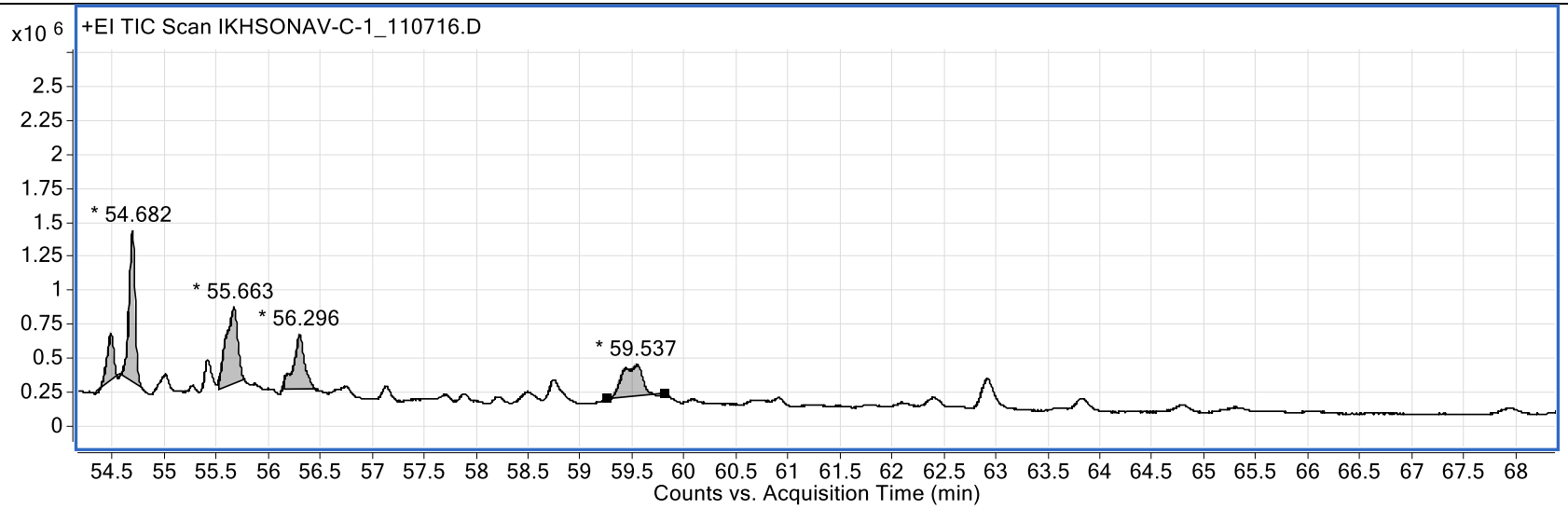
Масс-хроматограмма гексановой фракции из надземной части растения вида *Tamarix hispida*

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Период	Хромато-масс спектр
с 0 по 70.417 минуту	
с 0 по23 минуту	

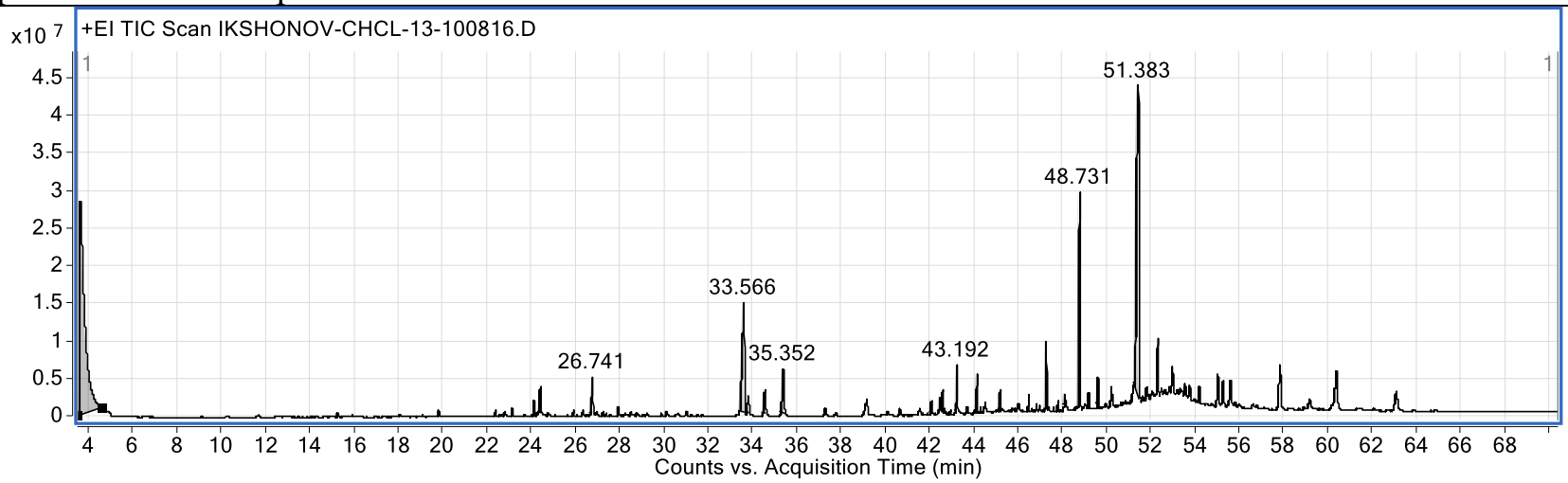
с 23 по 35,5 минуту	
с 35,5 по 44 минуту	

с 43,5 по 51 минуту	
с 49,5 по 58 минуту	

с 54,5 по 70.417 минуту	

Компонентный состав хлороформенного экстракта надземной массы *Tamarix hispida* Willd.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Период	Хромато-масс спектр
с 0 по 70.417 минуту	

Хромато-масс спектр дихлорметанового экстракта

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Название пробы	Название Соединения	Брутто-формула	Время удержания	Содержание %
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 7 дней бутанол	Аренобуфагин	$C_{24}H_{32}O_6$	0,23	1,34
	Циано колхицин	$C_{23}H_{24}N_2O_6$	0,39	12,89
	1,3-бензодиола, O, O'-ди (циклобутанкарбонил)	$C_{16}H_{18}O_4$	5,4	13,23
	4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,72	1,18
	Три-N- (фенилсульфонил) гексагидро-S-триазин	$C_{21}H_{21}N_3O_6S_3$	6,27	68,36
	5-гидрокси-7-метокси-2-метил-3-фенил-4-хроменон	$C_{17}H_{14}O_4$	6,85	0,48
	α-Пиридон, 5-метил-1,3,4,6-тетрафенил-	$C_{30}H_{23}NO$	7,27	0,65
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,36	1,86
Microphomina phaseoline KUCC 130 7 дней бутанол	N- (2,4-дихлорфенил) -5,6-диметил [2,3-d] пиримидин-4-амин	$C_{14}H_{11}C_{l2}N_3S$	0,38	23,37
	Роксодаксин	$C_{40}H_{50}O_2$	5,4	7,64
	1,1 ': 3', 1 " - Терфенил, 3,3 ", 5,5 " - тетрабром-5- (3,5-дибромфенил) -	$C_{24}H_{12}Br_6$	5,73	0,93
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,26	51,61
	Пентаконтановая кислота, этиловый эфир	$C_{52}H_{104}O_2$	7,33	16,46
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней бутанол	Флуметралин	$C_{16}H_{12}ClF_4N_3O_4$	0,38	21,75
	1-этанон, 1- [4 - [(2-фторфенил) метокси] -3-метоксифенил] -	$C_{16}H_{15}FO_3$	5,95	4,03
	4-амино-2-метил-5,6-trimethylenepyrimidine	$C_8H_{11}N_3$	6,48	0,64
	Мезопорфирин ix	$C_{34}H_{38}N_4O_4$	7,1	73,57
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней бутанол	Милбемицин B, 5-деметокси-5-он-6,28-ангидро-25-этил-4-метил-13-хлороксим	$C_{32}H_{44}ClNO_7$	0,31	50,65
	Милбемицин B, 5-деметокси-5-он-6,28-ангидро-25-этил-4-метил-13-хлороксим	$C_{32}H_{44}ClNO_7$	4,27	1,37
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	5,75	45,36
	Трис (п-нитрофенил) фосфат	$C_{18}H_{12}N_3O_{10}P$	6,53	0,55
	5 β; -Холан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	7	0,43
	α-Пиридон, 5-метил-1,3,4,6-тетрафенил-	$C_{30}H_{23}NO$	7,7	1,65
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней бутанол	флупреднизолон	$C_{21}H_{27}FO_5$	0,42	54,98
	6H-бензотиено [2,3-d] пиримидо [6 ', 1'-b'] хиназолин-6-он, 10,11,12,13-тетрагидро-4-бром	$C_{17}H_{12}BrN_3OS$	5,28	0,32
	7-дифторметокси-2,3-дигидро-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-2-он	$C_{16}H_{12}F_2N_2O_2$	5,97	15,45
	4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,47	1,26
	Диметиловый эфир мезопорфирина	$C_{36}H_{42}N_4O_4$	7,12	27,98

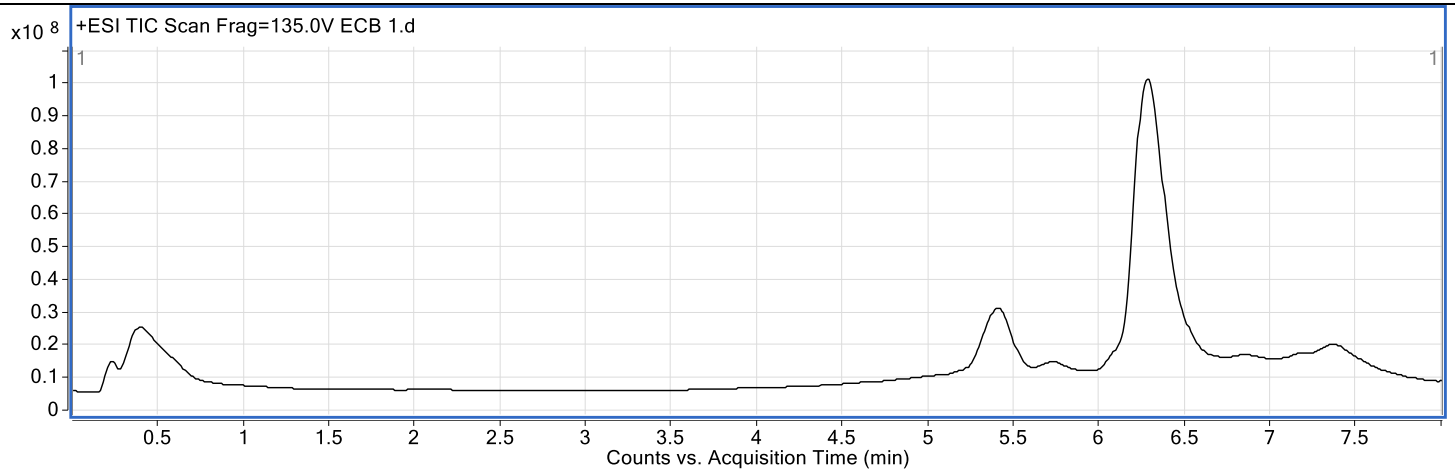
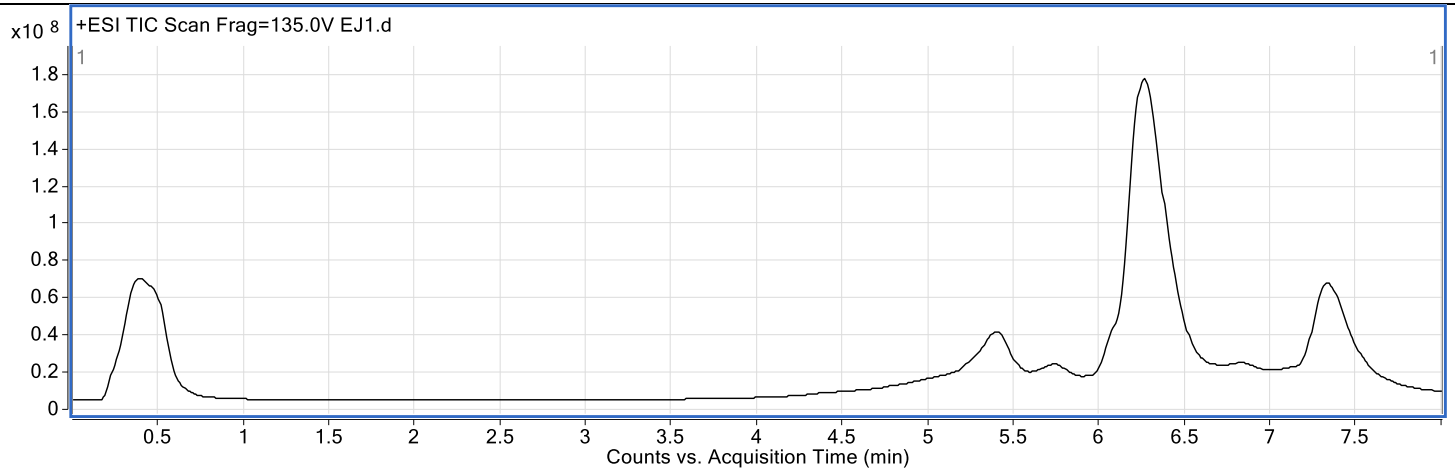
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней бутанол	3,9-эпоксиппрегн-16-ен-14-ол-20-он, 11,18-диацетокси-3-метокси-	$C_{26}H_{36}O_8$	0,22	1,32
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-тетраметил	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	0,36	35,93
	Рибофлавин, 2 ', 3', 4 ', 5'-тетрабутаноат	$C_{33}H_{44}N_4O_{10}$	5,31	4,71
	Спиро (пиразол-3,2'-нафталин-1 '(2'H) -он, 2,4-дигидро-2- (2,4-динитрофенил) -5-метил-5', 7 ', 8'- триметоксихинолин	$C_{22}H_{20}N_4O_8$	5,72	0,24
	Дигидрокодеин битартрат	$C_{18}H_{23}NO_3$	6,27	49,47
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	7,21	0,14
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,37	7,36
Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней бутанол	Декановая кислота, 1,1a, 1b, 4,4a, 5,7a, 7b, 8,9-декагидро-4a, 7b-дигидрокси-1,1,6,8-тетраметил-5-оксо-3 - [[1-оксодецил) окси] метил] -9aH-циклопропа [3,4] бенз [1,2-e] азулен-9,9a-диэтилового эфира, [1aR- (1aα, 1bβ, 4aβ, 7aα, 7bα, 8α, 9β, 9aα)]	$C_{50}H_{82}O_9$	0,39	31,5
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,94	5,26
	4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,42	1,28
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,11	61,97
Gliocladium viride ATCC 10097 7 дней бутанол	8- [2- (2-амино-фенил) -2-оксо-этил] -3- (1-гидрокси-1-метил-этил) -6a, 7,10b-триметил-додекагидро-бензо [e] chromene-7-карбоновой кислоты	$C_{28}H_{41}NO_5$	0,34	46,83
	2,16,27,28Tetraazaheptacyclo [12,7,1,1 (3,25) .1 (5,8) .1 (10,13) 1, (15,19) .0 (18,21)] nonacosa 1,3, 5,7,9,11,13 (28), 14,17,19 (29) декаен -20,22-дион, 12-этил-21-метокси-6,11,26,29-тетраметил-7-этенил	$C_{34}H_{34}N_4O_3$	5,42	8,12
	4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,76	1,8
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил 6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталиненил-4-иловый эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,27	38,95
	Хиноксалин, 2,3-дифенил	$C_{20}H_{14}N_2$	6,81	1,05
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,32	3,25
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 14 дней бутанол	Метиловый холат	$C_{25}H_{42}O_5$	0,41	10,61
	L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] -L -пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, β; -лактон	$C_{52}H_{93}N_7O_{11}$	6	6,07
	Cercosporin	$C_{29}H_{26}O_{10}$	6,42	3,68
	21H, 23H-порфин-2,18-дипропановая кислота, 3,7,12,17-тетраметил-8,13-бис [2 - [(триметилсилил) окси] этил] -, диметиловый эфир	$C_{42}H_{58}N_4O_6Si_2$	7,11	79,64
Microphomina phaseoline KUCC 130 14 дней бутанол	3- (7,8,12,13,17,18-Hexaethyl-3-метил-22,24-дигидро-порфин-2-ил) пропионитрила	$C_{36}H_{43}N_5$	0,39	35,73
	3-метоксинафталин-1,4-диолдиацетат	$C_{15}H_{14}O_5$	5,4	13,71
	4-амино-2-метил-5,6-триметиленпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,75	1,2
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,26	34,22
	Хиноксалин, 2,3-дифенил	$C_{20}H_{14}N_2$	6,82	0,69
	Пентаконтановой кислоты, этиловый эфир	$C_{52}H_{104}O_2$	7,31	14,45

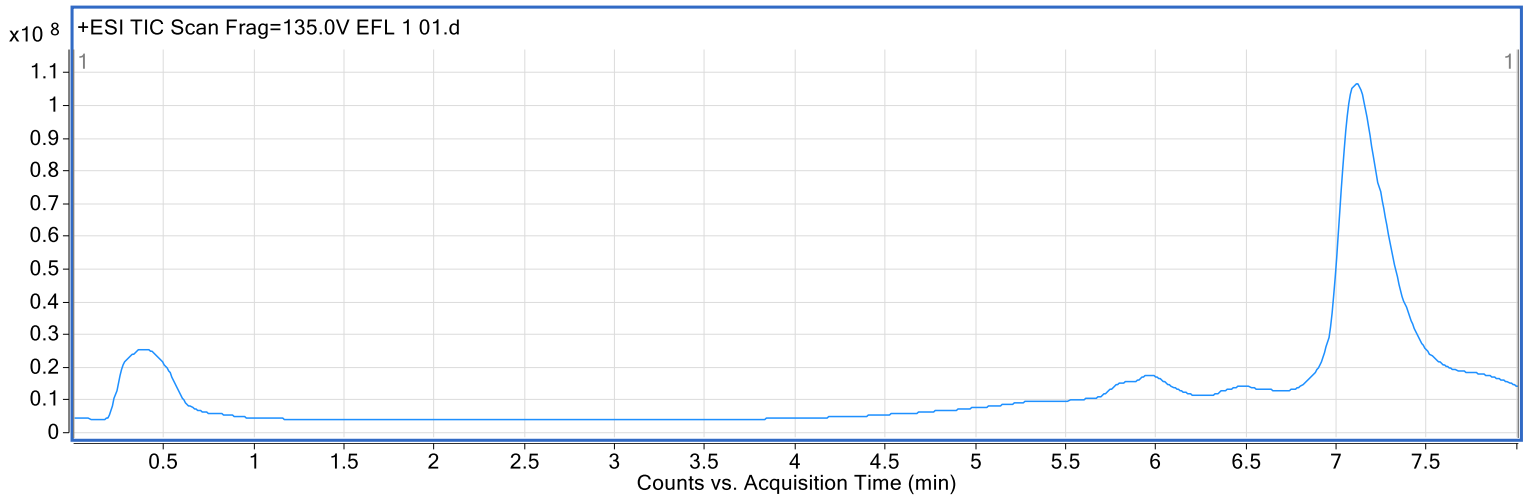
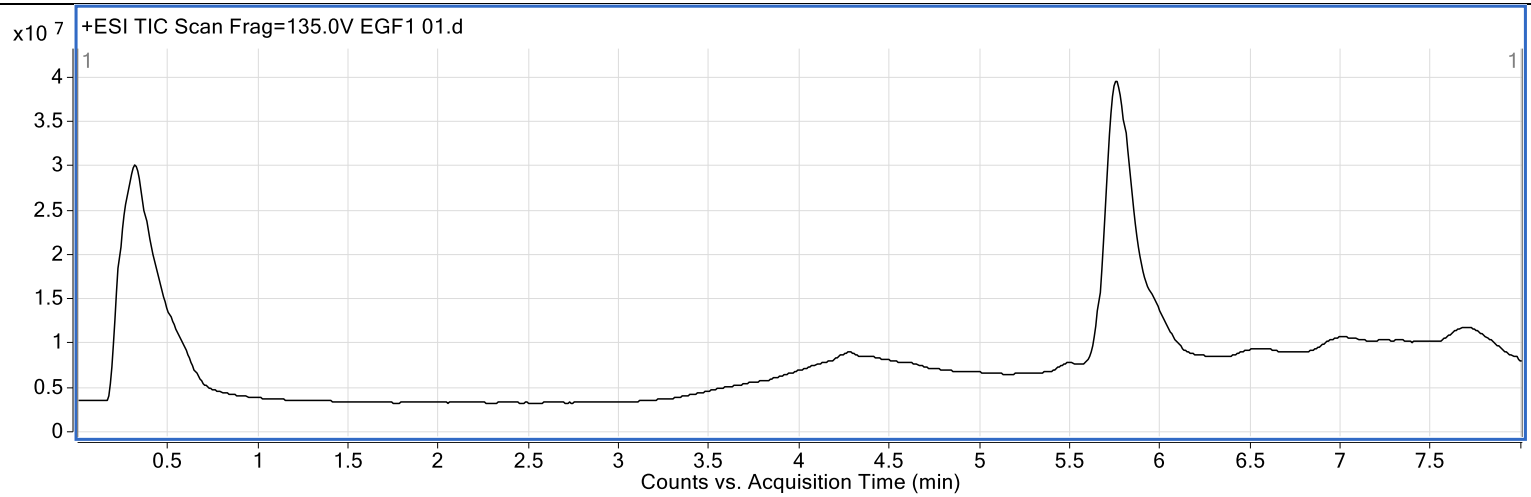
Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней бутанол	Битувитан	$C_{33}H_{44}N_4O_{10}$	0,3	36,37
	4а-форбол 12,13-дидеканоат	$C_{40}H_{64}O_8$	2,69	0,4
	Милбемицин b, 13-хлор-5-деметокси-28-дезокси-6,28-эпокси-5- (гидроксиимино) -25- (1-метилэтил) -, (6R, 13R, 25R) -	$C_{33}H_{46}ClNO_7$	4,04	0,62
	Тиазоло [4,5-d] пиримидин-5,7 (4H, 6H) -дион, 2-амино-4- (фенилметил)	$C_{12}H_{10}N_4O_2S$	5,29	35,17
	Цеанотин E	$C_{34}H_{40}N_4O_4$	5,71	3,42
	1- (3-фурил) -4b, 7,7,9b, 11a пентаметил-3,8-диоксогексадекагидроксирено [2,3-d] оксирено [2 ', 3': 7,8] нафта [2,1-f] изохромен- 5-илацетат	$C_{28}H_{34}O_8$	6,03	0,21
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,28	2,68
	Йошинокс SR	$C_{22}H_{30}O_2S$	6,5	1,22
	2,3-дифеникиноксилин	$C_{20}H_{14}N_2$	6,83	6,78
	β, β-каротин-4-он	$C_{40}H_{54}O$	7,19	13,14
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней бутанол	Гаммабуфоталин	$C_{24}H_{34}O_5$	0,35	56,37
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,25	1,11
	Церкоспорин	$C_{29}H_{26}O_{10}$	5,77	4,84
	10- (метоксикарбонил) -N-ацетилколхинол	$C_{22}H_{25}NO_7$	6,59	0,24
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,06	37,44
Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней бутанол	Ореофилин	$C_{22}H_{25}NO_6$	0,43	69,47
	L-пролин, 1- [O- (1-оксогексил) -N- [N- [N6- (1-оксогексил) -N2- [N- (1-оксогексил) -L-валил] -L-лизил] L-валил] -L-тирозил] метилового эфира	$C_{49}H_{80}N_6O_{10}$	5,48	0,84
	7-дифторметокси-2,3-дигидро-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-2-он	$C_{16}H_{12}F_2N_2O_2$	5,96	4,76
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,44	0,44
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,11	24,18
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,72	0,31
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней бутанол	4'-Аро-β, -пиро-каротиновую кислоту, метиловый эфир	$C_{36}H_{48}O_2$	0,32	8,79
	Мезопорфирин ix	$C_{34}H_{38}N_4O_4$	5,33	3,14
	21H, 23H-порфин-2,18-дипропановая кислота, 3,7,12,17-тетраметил-8,13-бис [2 - [(триметилсилил) окси] этил] -, диметиловый эфир	$C_{42}H_{58}N_4O_6Si_2$	6,27	77,01
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,84	0,04
	Пентаконтановая кислота, этиловый эфир	$C_{52}H_{104}O_2$	7,35	11,02

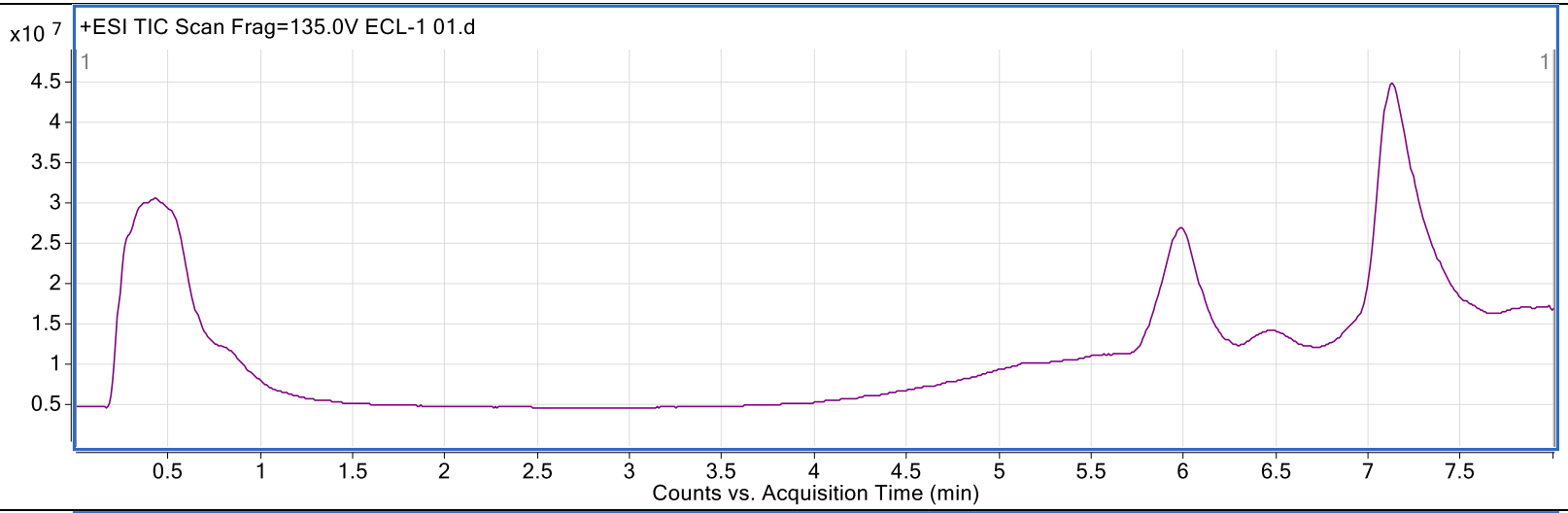
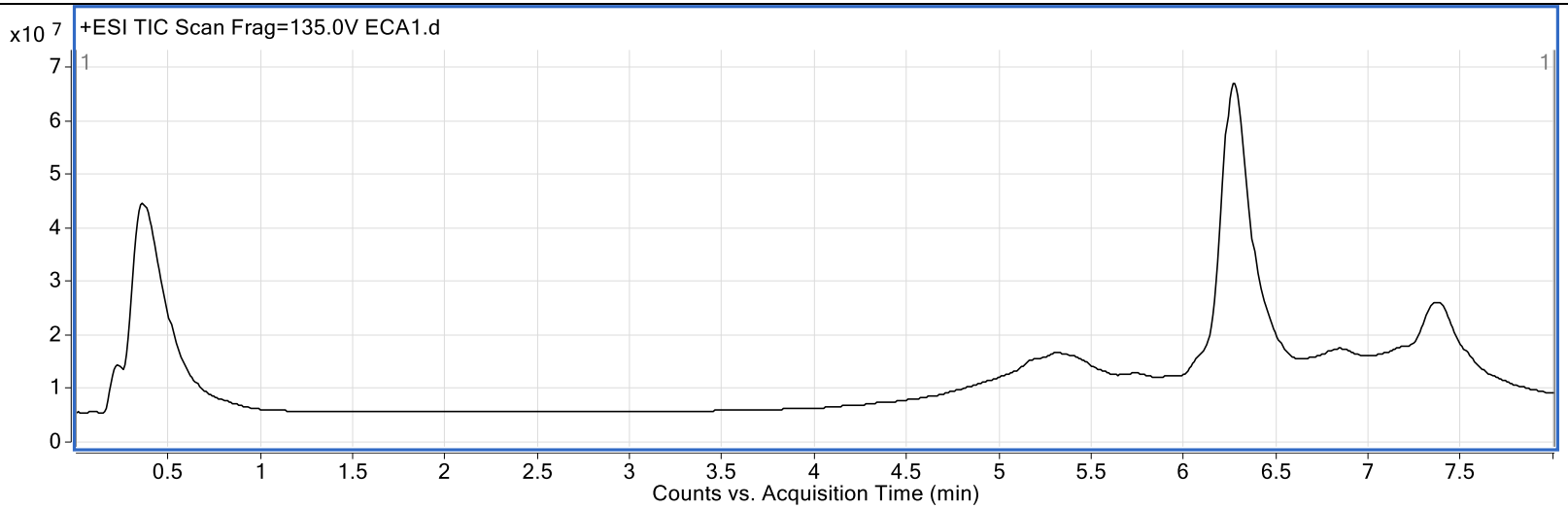
Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней бутанол	Милбемицин b, 5-O-деметил-28-дезокси-6,28-эпокси-25- (1-метилэтил) -13- (метилтио) -, (6R, 13R, 25R) -	$C_{34}H_{50}O_7S$	0,41	35,45
	Метансульфонат, 2- (2-фенил-1,3-диоксан-4-ил) этил	$C_{13}H_{18}O_5S$	5,48	1,55
	9-октадеценовой кислоты (Z) -, 3 - [(1-оксогексадецил) окси] -2 - [(1-оксооктадецил) окси] пропилового эфира	$C_{55}H_{104}O_6$	6	8,17
	Бензальдегид, 4- (диметиламино)	$C_9H_{11}NO$	6,4	1,26
	Уксусной кислоты, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,12	53,57
Gliocladium viride ATCC 10097 14 дней бутанол	Гекогенин	$C_{27}H_{42}O_4$	0,24	1,81
	Карда-4,20 (22) -диенолида, 3 - [(6-дезокси-3-O-метил-α-D-аллопиранозил) окси] -1,14-дигидрокси-, (1β, 3β) -	$C_{30}H_{44}O_9$	0,38	14,22
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,43	13,31
	2-метил-6,7-дигидро-5H-циклопент [d] пиримидин-4-амин	$C_8H_{11}N_3$	5,78	0,94
	Три-N- (фенилсульфонил) гексагидро-S-триазин	$C_{21}H_{21}N_3O_6S_3$	6,3	67
	5H-индено [1,2-b] пиразин-5-он, 6,7,8-трибром-9- (этоксикарбонил) -N, N'-диэтил-1,2,3,4-тетрагидро-	$C_{18}H_{19}Br_3N_2O_3$	7,21	2,72

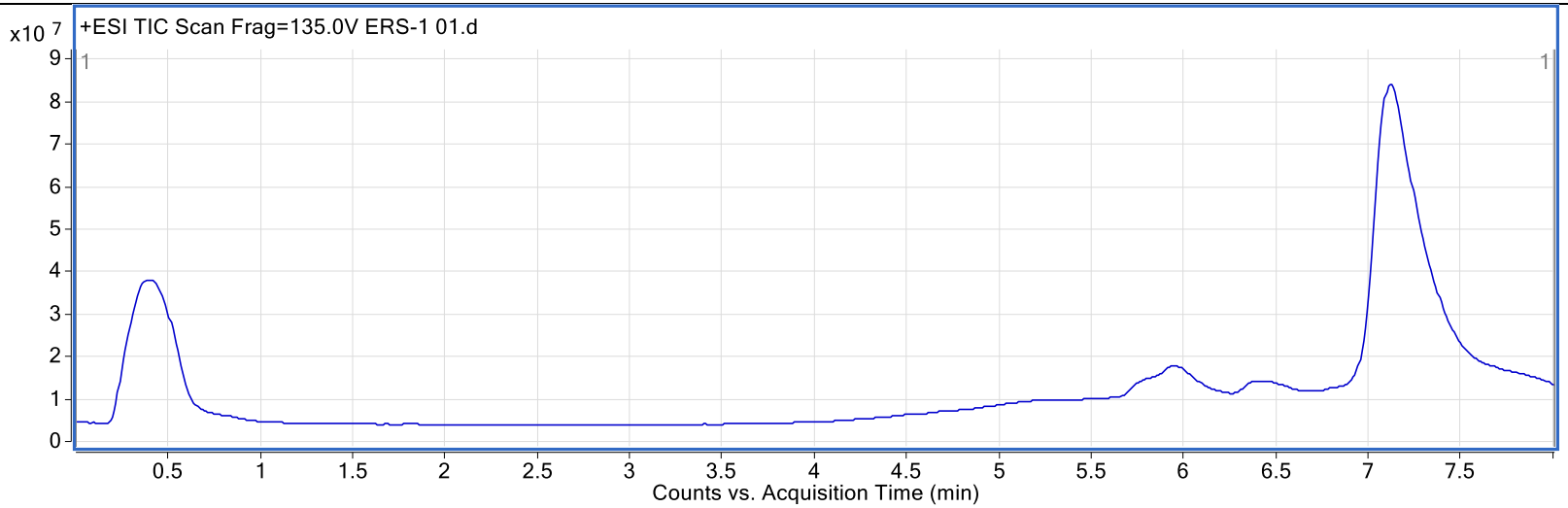
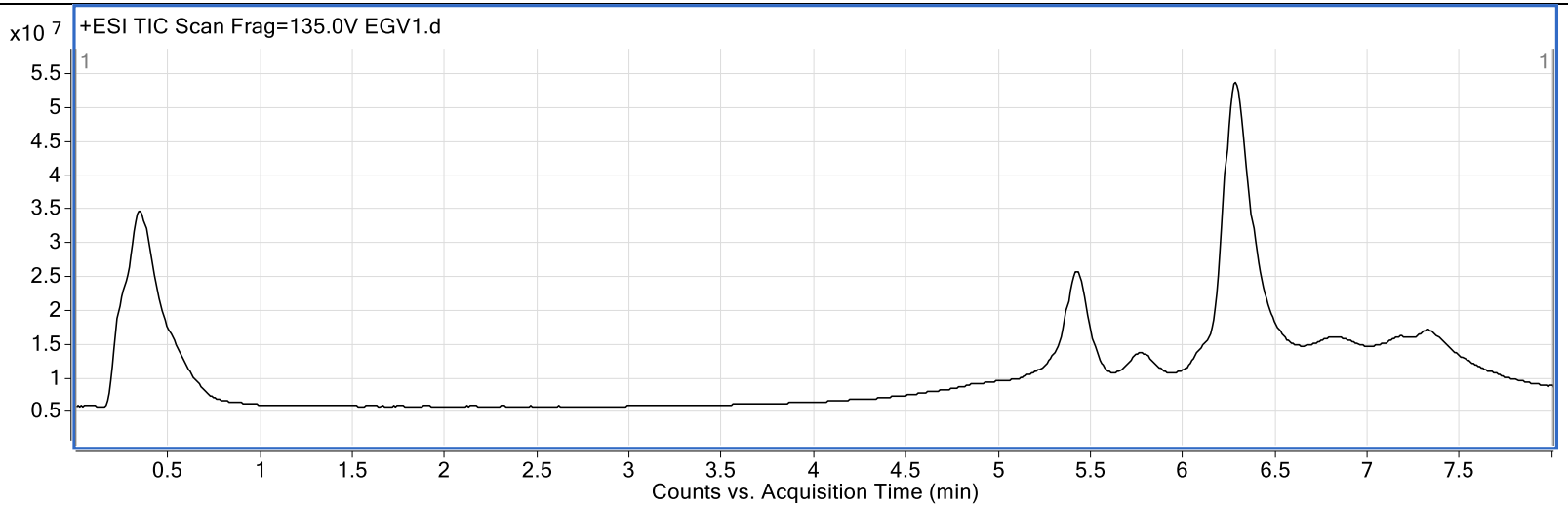
химический состав бутанольной фракции полученной в результате биотранформации экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

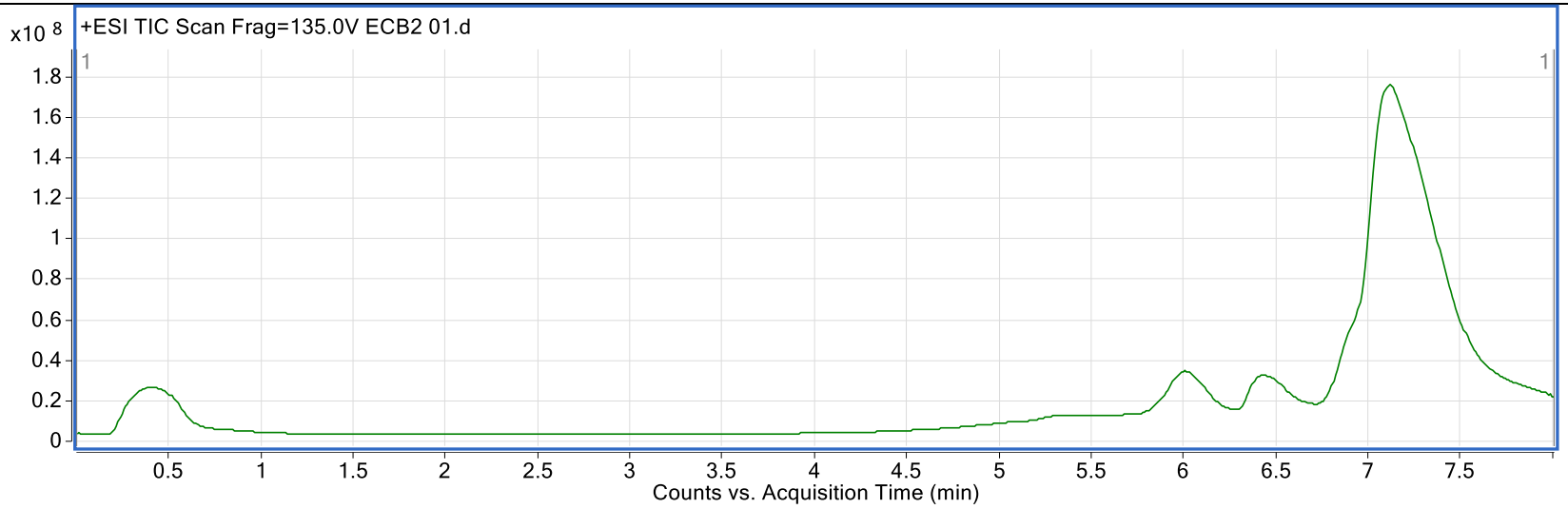
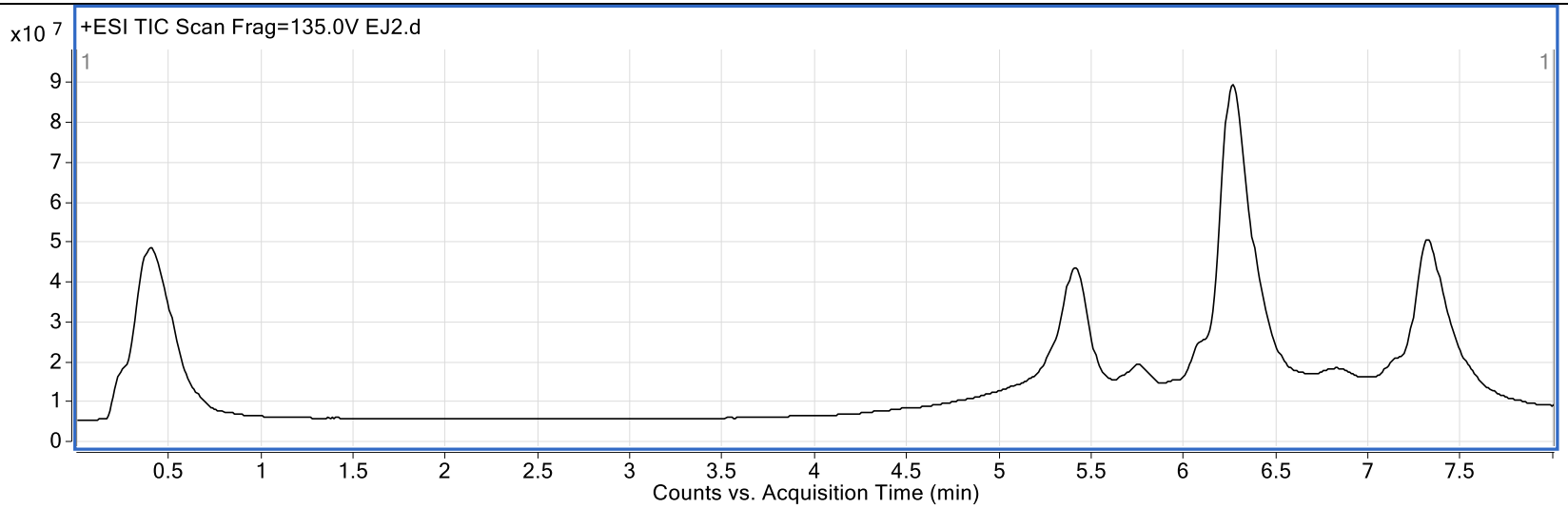
ПРИЛОЖЕНИЕ Е

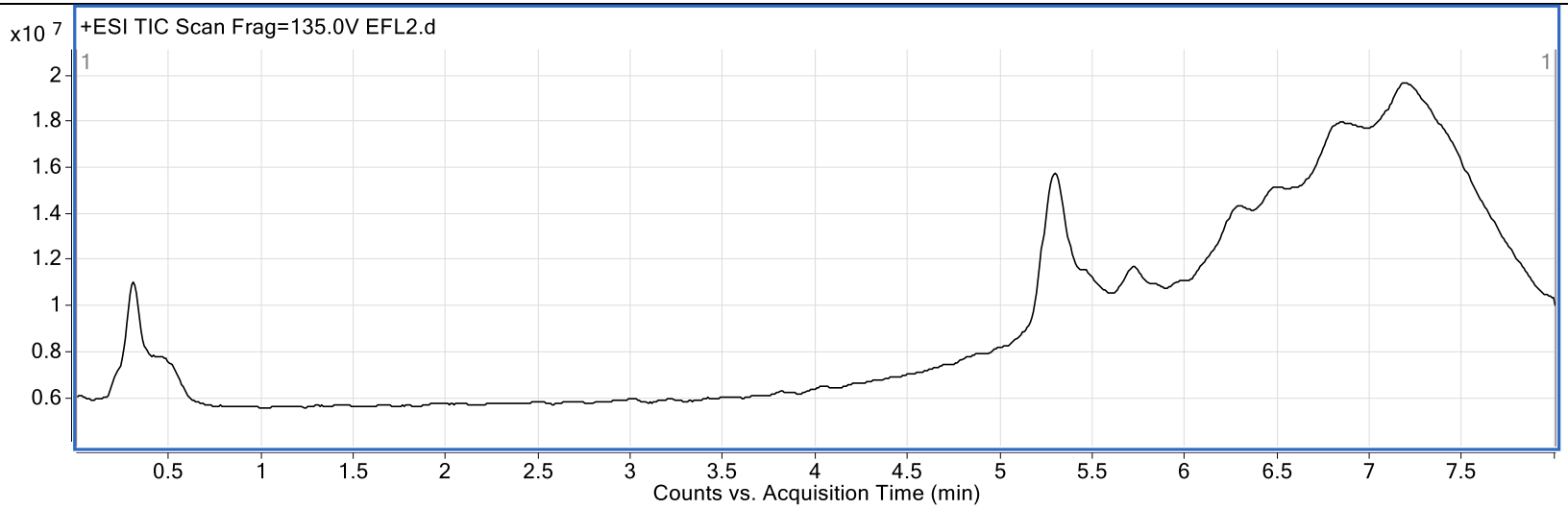
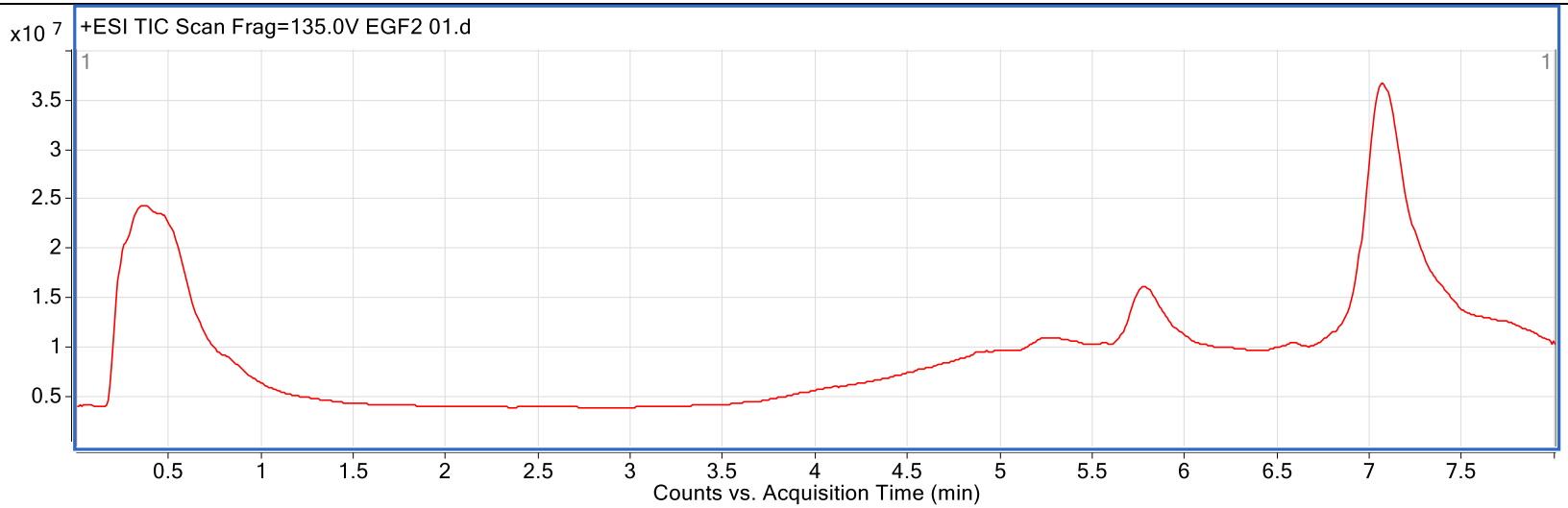
Название пробы	Хромато-масс спектрограмма
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 7 дней бутанол	
Microphomina phaseoline KUCC 130 7 дней бутанол	

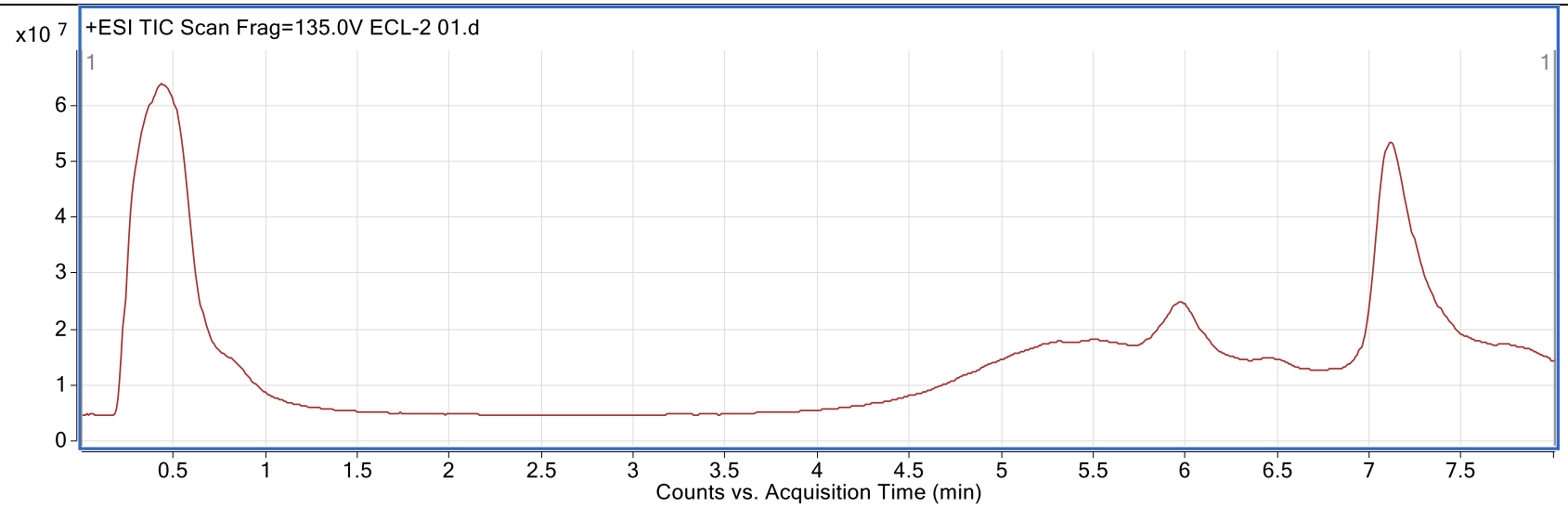
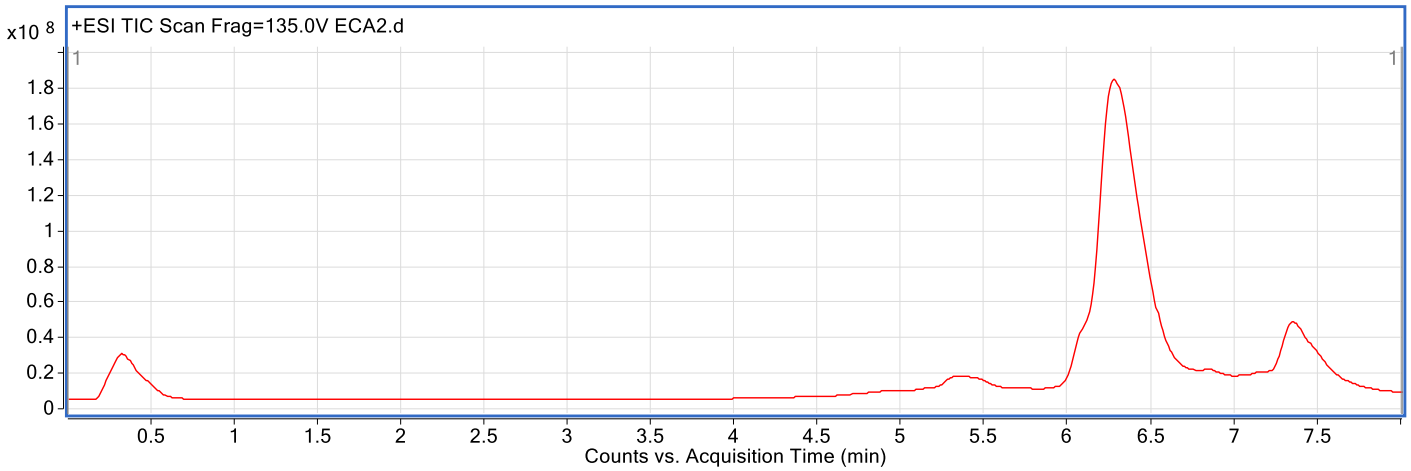
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней бутанол	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней бутанол	

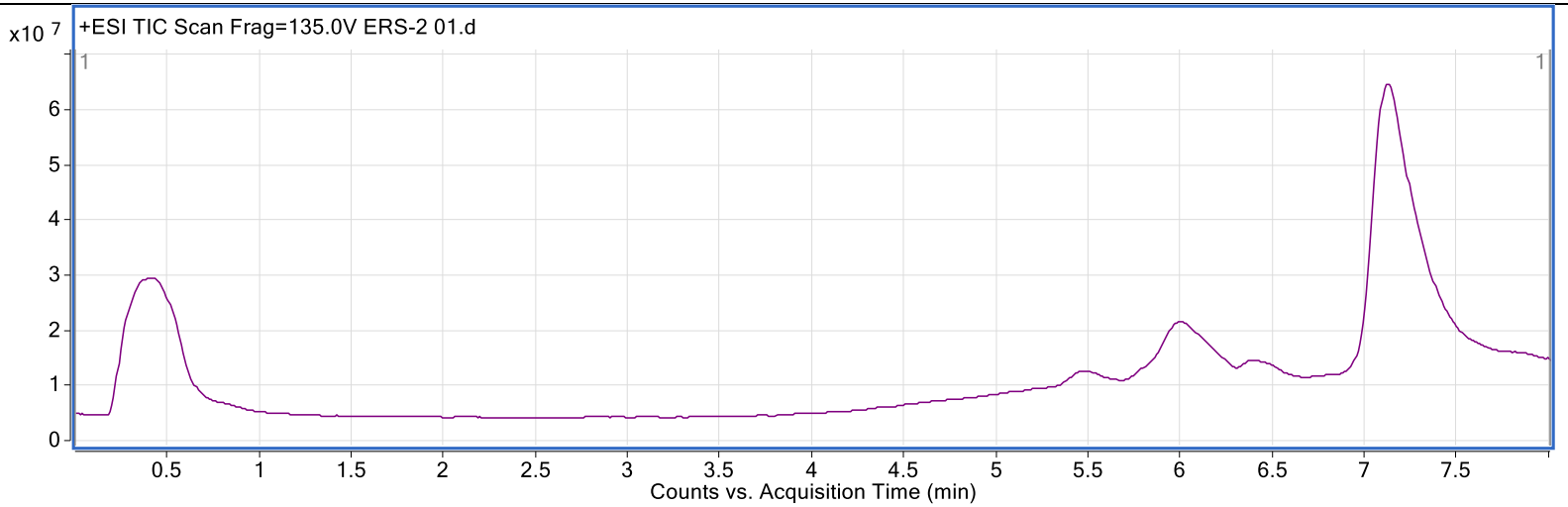
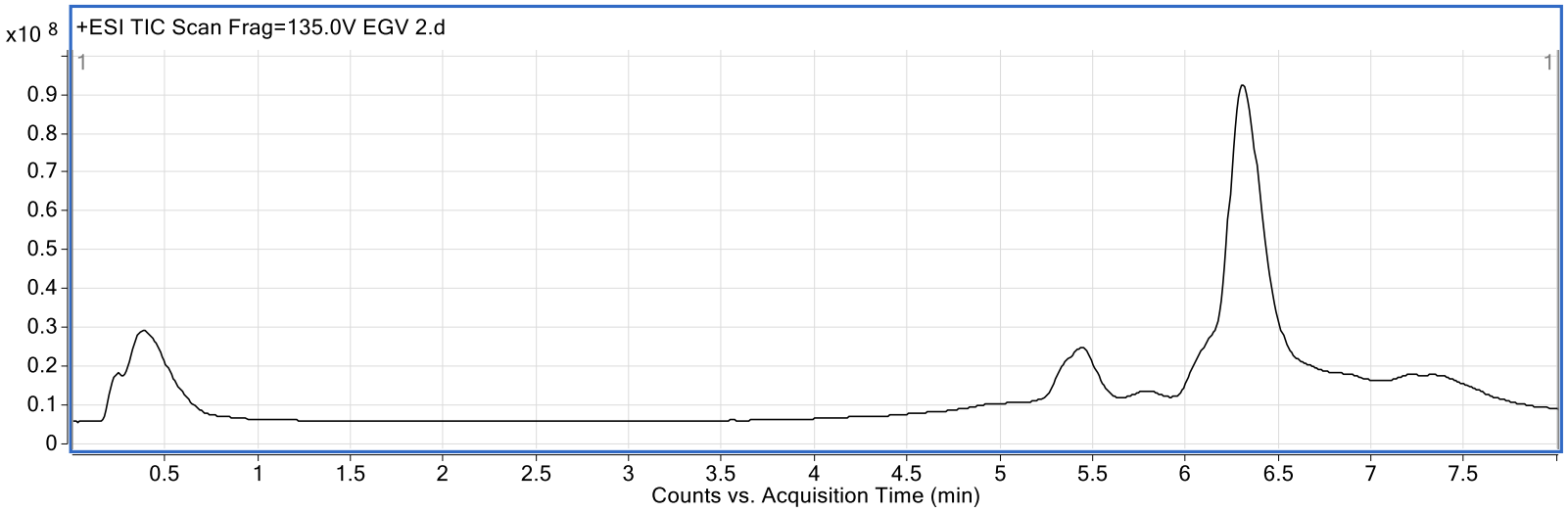
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней бутанол	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней бутанол	

Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней бутанол	
Gliocladium viride ATCC 10097 7 дней бутанол	

Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 14 дней бутанол	
Microphomina phaseoline KUCC 130 14 дней бутанол	

Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней бутанол	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней бутанол	

Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней бутанол	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней бутанол	

Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней бутанол	
Gliocladium viride ATCC 10097 14 дней бутанол	

масс спектрограммы бутанольной фракции трансформированной субстанции

ПРИЛЖЕНИЕ Ж

проба	Название соединения	Формула	ВУ, мин	W%
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 7 дней вода	О-трифторацетилдигидроциннамиловый спирт	$C_{11}H_{11}F_3O_2$	0,57	34,77
	Вилфолин	$C_{43}H_{49}NO_{18}$	0,81	6,62
	(3- (2- (п- (диметиламино) бензилиден) гидразино) -6-изопропил-4-метокси-2,4,6-циклогептатриенилдиен) малононитрила	$C_{23}H_{25}N_5O$	5,12	9,34
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,81	2,53
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,57	34,89
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,29	3,77
	1,4-Этеноантрацен-2,3-дикарбоновой кислоты, 1,4-дигидро-9,10-дифенил-, диметилового эфира	$C_{32}H_{24}O_4$	7,47	1,28
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	7,77	2,98
	О-трифторацетилдигидроциннамиловый спирт	$C_{11}H_{11}F_3O_2$	0,57	3,83
Microphomina phaseolina KUCC 130 7 дней вода	3-Форбинпропановая кислота, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилoвый эфир, [3s- [3].	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,23	30,24
	1,3,4-Диоксазолидин-5-он, 3-циклогексил-2,2-диметил-	$C_{10}H_{17}NO_3$	0,37	5,6
	Хинин 1,1'-диоксид, (9S) -	$C_{20}H_{24}N_2O_4$	2,15	0,71
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,3	42,34
	Дигидрогедунин	$C_{28}H_{36}O_7$	5,74	1,74
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	6,2	1,85
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,3	1,76
	2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4H-хромен-4-он	$C_{19}H_{18}O_7$	6,51	1,41
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,85	8,14
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-О-метил-	$C_{38}H_{62}O_9$	7,23	6,22
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней вода	3-Форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилoвый эфир, [3s- [3].	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,26	16,96
	Вилфолин	$C_{43}H_{49}NO_{18}$	0,35	23,62
	3-Фенил-1-пропанол, ацетат	$C_{11}H_{14}O_2$	0,53	0,07
	Бутановая кислота, 3-фенилпропиловый эфир	$C_{13}H_{18}O_2$	0,71	2,94
	Эстра-1,3,5 (10) -триен-17-он, 3- (ацетилокси) -4-нитро-, 17- (О-метилоксим)	$C_{21}H_{26}N_2O_5$	5,34	2,69
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,84	39,4
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,58	1,42
	Пиридин-3,5-дикарбоновая кислота, 4- (3,4-диметоксифенил) -2,6-диметил-, диметиловый эфир	$C_{19}H_{21}NO_6$	7,36	4,47
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	7,76	8,43

Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней вода	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β-хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	0,23	22,9
	L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] -L -пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, β; -лактон	$C_{52}H_{93}N_7O_{11}$	0,37	15,38
	3- Форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилový эфир, [3s- [3.	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,61	2,43
	[5- (5-циано-3,4-диметил-1H-пиррол-2-илметилен) -3,4-диметил-5H-пиррол-2-илтио] [5- (5-циано-4,4,5 -триметил-4,5-дигидро-3H-пиррол-2-илметилен) -4,4-диметилпирролиден] уксусной кислоты, трет-бутиловый эфир	$C_{35}H_{44}N_6O_2S$	1,45	0,46
	1,3,4,5,6,7-гексагидро-2H-пириндин-2-он	$C_8H_{11}NO$	2,01	0,51
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,31	44,29
	Гедунин, 1,2-дигидро-	$C_{28}H_{36}O_7$	5,73	3,33
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,63	1,42
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,8	3,36
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил-	$C_{38}H_{62}O_9$	7,18	5,92
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней вода	3- Форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилový эфир,.	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,26	39,85
	L-Метионинол	$C_5H_{13}NOS$	0,57	7,11
	2-пропеновая кислота, 3-фенилпропиловый эфир	$C_{12}H_{14}O_2$	0,81	3,47
	(3- (2- (п- (диметиламино) бензилиден) гидразино) -6-изопропил-4-метокси-2,4,6-циклогептатриенилдиен) малононитрила	$C_{23}H_{25}N_5O$	5,19	3,09
	β-каротин	$C_{40}H_{56}$	5,62	0,38
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,83	21,64
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	6,69	4,34
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,22	1,06
	1,4-Этеноантрацен-2,3-дикарбоновой кислоты, 1,4-дигидро-9,10-дифенил-, диметилового эфира	$C_{32}H_{24}O_4$	7,56	4,09
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	7,9	14,98
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней вода	резерпин	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	0,25	29,62
	Стрихнин	$C_{21}H_{22}N_2O_2$	0,48	12,15
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	0,75	2,8
	суматриптан	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	4,48	0,06
	Фоафиллин индоленин, гидрокси-	$C_{19}H_{24}N_2O_2$	4,85	0,22
	6H-бензотиено [2,3-d] пиримидо [6 ', 1'-b'] хиназолин-6-он, 10,11,12,13-тетрагидро-4-бром-	$C_{17}H_{12}BrN_3OS$	5,2	5,4
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,84	39,93
	суматриптан	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	6,9	3,1
	[(1H) -пиррол-3-пропановой кислоты, 2-этоксикарбонил-4-этоксикарбонилметил] -5,5'-метилен, бис-, диэтиловый эфир	$C_{33}H_{46}N_2O_{12}$	7,42	2,76
	2,3-дифениквиксилин	$C_{20}H_{14}N_2$	7,74	3,97

Rhizopus stolonifer TSY 0477 дней вода	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	0,23	42,61
	3-Форнилпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилový эфир, [3s- [3.	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,39	11,77
	3- Форнилпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилový эфир, [3s- [3.	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,63	7,55
	. (3- [2- (диметиламино) этил] -1H-индол-5-ил) -N-метилметансульфонамид	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	1,25	0,41
	Ангидроутеин II	$C_{40}H_{54}O$	1,58	0,83
	Индан, 1- (п-цианобензилиден, -5- (N, N-диметиламино) -	$C_{19}H_{18}N_2$	5,3	13,08
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,75	2,51
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,34	0,85
	Спиро [9,9 '] дифторен-2,2'-диметанол, диацетат	$C_{31}H_{24}O_4$	6,47	2,32
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,82	6,65
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-О-метил-	$C_{38}H_{62}O_9$	7,17	11,42
Guoclodium viride ATCC 100977 дней вода	Метил 3- (24-метокси-3,7,12,24-тетраоксохолан-4-ил) -7,12-диоксохол-3-ен-24-оата	$C_{50}H_{70}O_9$	0,23	19,55
	3- Форнилпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадеценилový эфир.	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,35	7,51
	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	0,57	5,44
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,29	45,39
	d-гомо-24-нор-17-оксахола-20,22-диен-3,16-дион, 7- (ацетилокси) -14,15: 21,23-диэпокси-4,4,8-триметил- (5α, 7α, 13α, 14β, 15β, 17aα) -	$C_{28}H_{36}O_7$	5,77	0,81
	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	6,5	6,3
	Копсин	$C_{22}H_{24}N_2O_4$	6,87	9,2
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-О-метил	$C_{38}H_{62}O_9$	7,26	5,79
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 14 дней вода	17-лактон	$C_{26}H_{32}O_6$	0,04	0,22
	1,1 ': 3', 1 " - Терфенил, 3,3 ", 5,5 " - тетрабром-5- (3,5-дибромфенил)	$C_{24}H_{12}Br_6$	0,23	18,32
	Пропановая кислота, 2-метил-, 3-фенилпропиловый эфир	$C_{13}H_{18}O_2$	0,38	14,96
	1,3,4-Диоксазолидин-5-он, 3-циклогексил-2,2-диметил-	$C_{10}H_{17}NO_3$	0,57	7,51
	Аденозин, N- (2,3-дигидрокси-3-метилбутил) -	$C_{15}H_{23}N_5O_6$	2,17	0,36
	3- [2- (диметиламино) этил] -N-метилиндол-5-метансульфонамид	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	2,7	0,58
	Фоафиллин индоленин, гидрокси-	$C_{19}H_{24}N_2O_2$	4,32	0,4
	зеаксантин	$C_{40}H_{56}O_2$	5,02	1,57
	1 [4 (диметиламино) бензилиденамино] нафталин	$C_{19}H_{18}N_2$	5,31	23,8
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,74	3,99
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,36	2,01
	2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4H-хромен-4-он	$C_{19}H_{18}O_7$	6,45	5,06
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,82	14
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-О-метил-	$C_{38}H_{62}O_9$	7,17	7,23

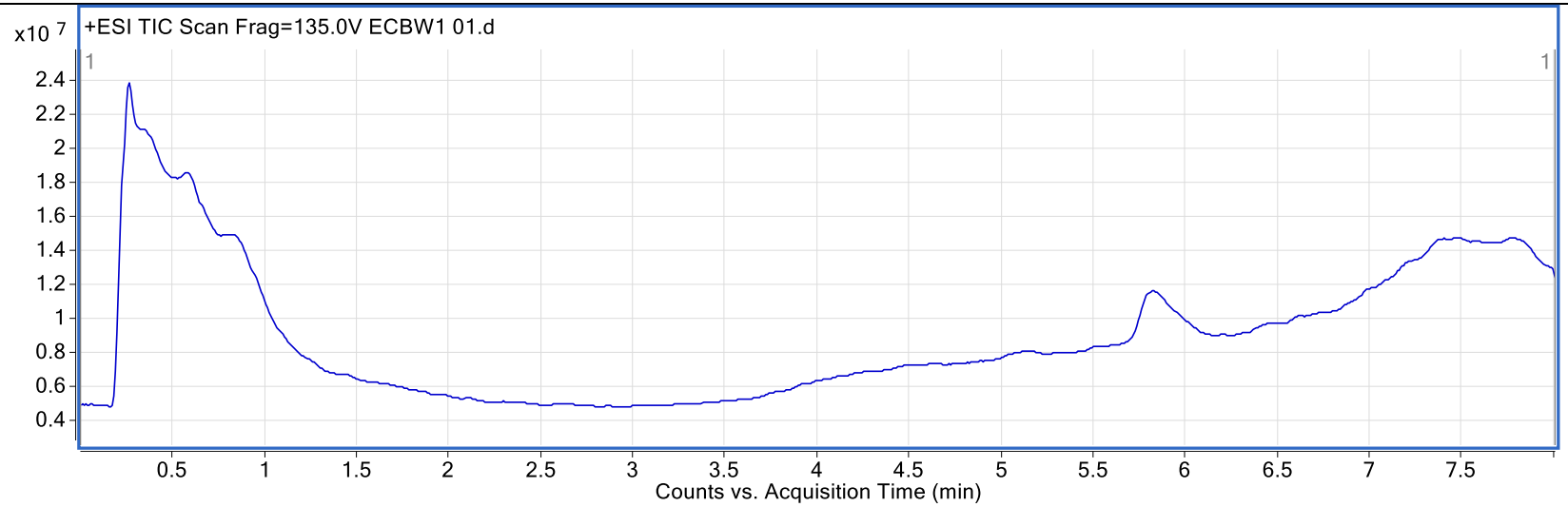
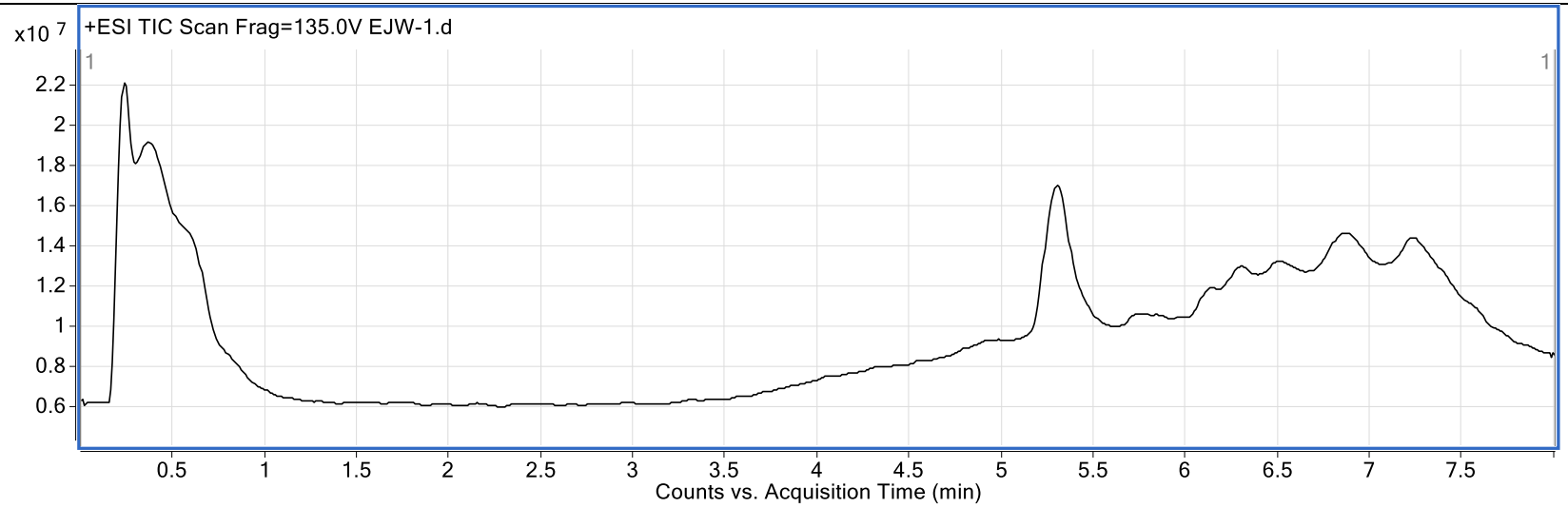
Microphomina phaseolina KUCC 130 14 дней вода	5 β-Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	0,22	18,96
	Вилфолин	$C_{43}H_{49}NO_{18}$	0,38	1,9
	1H-Пиразол, 4,5-дигидро-1-фенил-	$C_9H_{10}N_2$	0,56	2,7
	Азафрин	$C_{27}H_{38}O_4$	1,96	0,38
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,32	32,12
	D-гомо-24-нор-17-оксахола-20,22-диен-3,16-дион, 14,15: 21,23-диэпокси-7-гидрокси-4,4,8-триметил-, (5α, 7α, 13α, 14β, 15β, 17aα) -	$C_{26}H_{34}O_6$	5,73	2,17
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,3	1,21
	2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4H-хромен-4-он	$C_{19}H_{18}O_7$	6,49	2,93
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,83	5,18
	2-метил-6-фенилпиразоло [3,4-d] тиазол [3,2-a] пиримидин-4 (2H) -она	$C_{14}H_{10}N_4OS$	7,15	32,45
Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней вода	1,3,4-Диоксазолидин-5-он, 3-циклогексил-2,2-диметил-	$C_{10}H_{17}NO_3$	0,27	14,25
	5H-1-пириндин-3-карбонитрил, 6,7-дигидро-	$C_9H_8N_2$	0,35	20,37
	Флуметралин	$C_{16}H_{12}ClF_4N_3O_4$	0,75	6,2
	Андрост-4-ен-3-он, 17-метокси-, 3-метоксим, (17β) -	$C_{21}H_{33}NO_2$	2,68	0,33
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	2,93	0,64
	Тиазоло [4,5-d] пиримидин-5,7 (4H, 6H) -дион, 2-амино-4- (фенилметил)	$C_{12}H_{10}N_4O_2S$	5,83	18,17
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	7,12	13,88
	5H-индено [1,2-b] пиразин-5-он, 6,7,8-трибром-9- (этоксикарбонил) -N, N'-диэтил-1,2,3,4-тетрагидро	$C_{18}H_{19}Br_3N_2O_3$	7,83	26,15
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней вода	2-пропеновая кислота, 3-фенилпропиловый эфир	$C_{12}H_{14}O_2$	0,22	19,51
	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{50}H_{70}O_9$	0,42	11,8
	Фенил-1-пропантиол	$C_9H_{12}S$	0,59	5,06
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	1,58	0,54
	Суматриптан	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	1,84	0,46
	Холестан-26-овая кислота, 3,7,12-тригидрокси-, (3α, 5β, 7α, 12α) -	$C_{27}H_{46}O_5$	5,33	27,04
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_8H_{11}N_3$	5,76	4,81
	4- (2-метил-1-циклогексенил) -транс-3-бутен-2-он 2,4-динитрофенилгидразон	$C_{17}H_{20}N_4O_4$	6,12	2,08
	Спиро [9,9 '] дифторен-2,2'-диметанол, диацетат	$C_{31}H_{24}O_4$	6,48	5,13
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{20}H_{14}N_2$	6,8	13,31

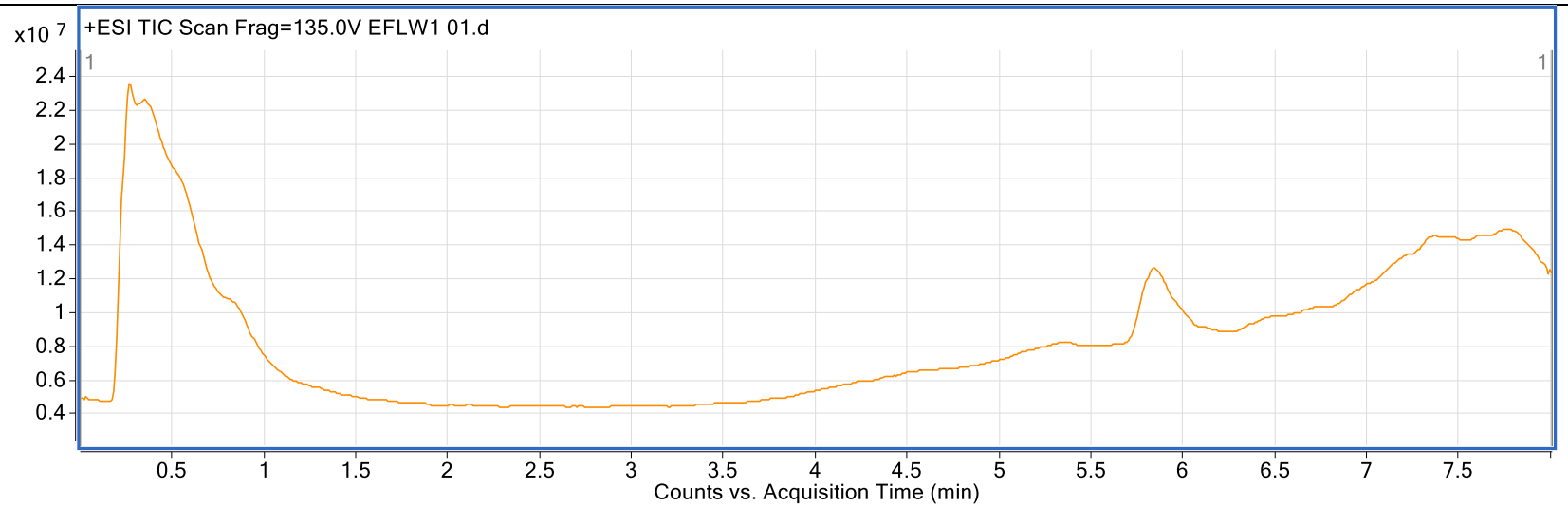
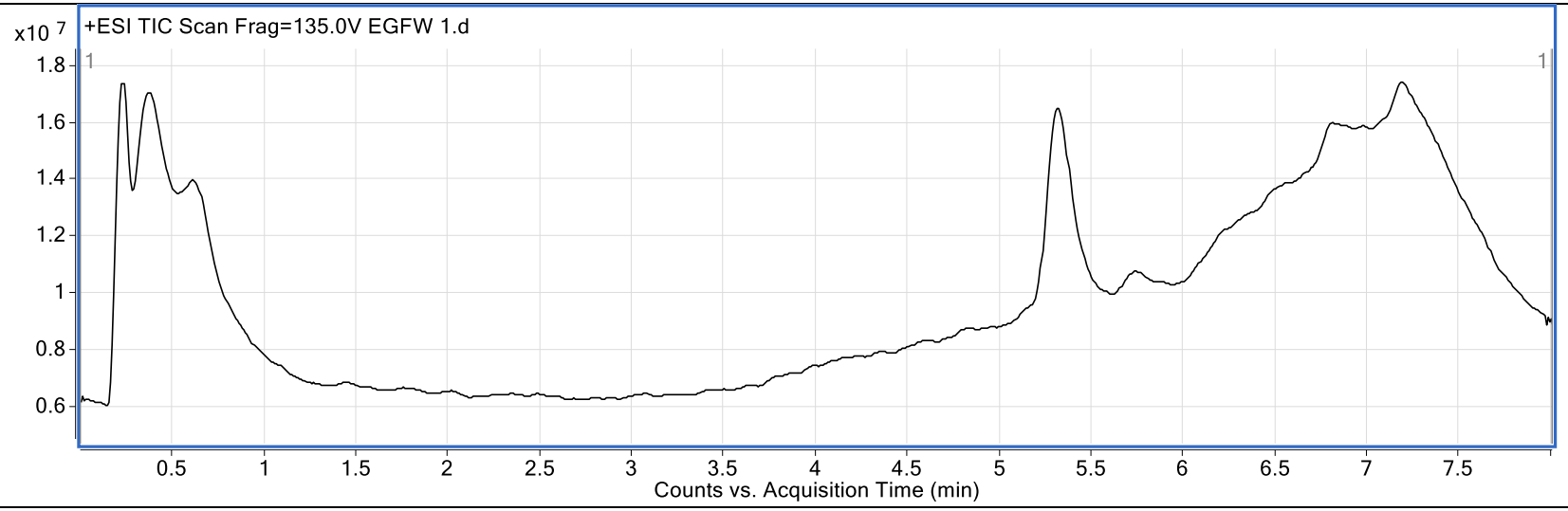
Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней вода	Вилфолин	$C_{41}H_{47}NO_{20}$	0,22	24,4
	Фенилпропилбутират	$C_{13}H_{18}O_2$	0,4	5,00
	L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] -L -пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, β; -лактон	$C_{52}H_{93}N_7O_{11}$	1,4	0,71
	Милбемицин b, 13-хлор-5-деметокси-28-дезокси-6,28-эпокси-5- (гидроксиимино) -25- (1-метилэтил) -, (6R, 13R, 25R) -	$C_{33}H_{46}ClNO_7$	2,02	0,78
	Глицериловый трибенат	$C_{69}H_{134}O_6$	2,46	0,33
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	2,72	0,38
	Суматриптан	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	2,91	1,4
	Кристосерпин	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	3,24	0,37
	(22S) -21-ацетокси-6β, 11β-дигидрокси-16α, 17α-пропилдиметилдиоксипрегна-1,4-диен-3,20-дион	$C_{27}H_{36}O_8$	4,78	0,57
	Анхидрохоровибрин	$C_{41}H_{58}O$	4,96	1,42
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,33	42,84
	Дигидрогедунен	$C_{28}H_{36}O_7$	5,74	2,66
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,39	0,7
	2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4H-хромен-4-он	$C_{19}H_{18}O_7$	6,51	2,46
	2- (3-гидрокси-4-метоксифенил) -3,5,7-триметокси-4H-хромен-4-он	$C_{20}H_{14}N_2$	6,83	7,36
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{38}H_{62}O_9$	7,2	8,61
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней вода	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	0,25	42,15
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{52}H_{93}N_7O_{11}$	0,35	5,49
	L-треонин, N- [N- [N- [1- [N- [N- [N- (3-гидрокси-1-оксоикозил) -L-треонил] -L-валил] -L-аланил] -L -пропил] -L-лейцил] -L-валил] -, & beta; -лактон	$C_{14}H_{21}N_3O_2S$	0,52	2,48
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{34}H_{48}N_8O_6$	0,72	4,94
	Суматриптан	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	1,26	0,94
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{31}H_{45}NO_5$	1,75	0,5
	3-Форбинонпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил- 2-гексадецениловый эфир	$C_{15}H_{23}N_5O_6$	2,6	0,26
	8- [2- (2-Ацетиламинофенил) -2-оксоэтил] -3-изопропил-6a, 7,10b-триметилдодекадибензо [f] хромен-7-карбоновой кислоты, метилового эфира	$C_8H_{11}NO$	3,32	0,44
	L-Серинамид, 1-метил-5-оксо-L-пропил-N, 1-диметил-L-гистидил-N, 1-L-триптофил-N, N, N2, O-	$C_{21}H_{21}ClN_2O_8$	4,57	0,62
	Аденозин, N- (2,3-дигидрокси-3-метилбутил) -	$C_{25}H_{34}O_7$	5,13	0,46
	1,3,4,5,6,7-гексагидро-2H-пириндин-2-он	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,27	0,45
	Мехоксин	$C_{26}H_{34}O_6$	5,84	34,14
	(22S) -6α, 11β, 21-тригидрокси-16α, 17α-пропилметилендиоксипрегна-1,4-диен-3,20-дион	$C_{26}H_{36}O_8$	6,6	3,23
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{38}H_{62}O_9$	6,79	1,27
	D-гомо-24-нор-17-оксахола-20,22-диен-3,16-дион, 14,15: 21,23-диэпокси-7-гидрокси-4,4,8-триметил-, (5α, 7α, 13α, 14β, 15β, 17aα) -	$C_{29}H_{44}O_5$	7,48	2,13

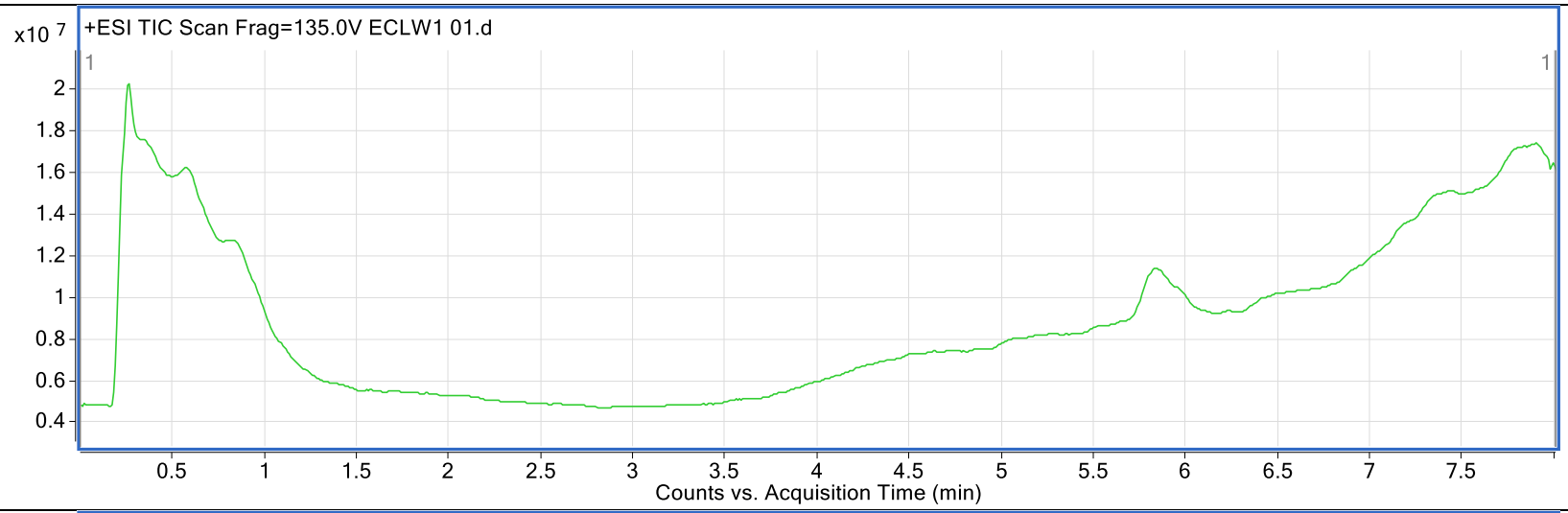
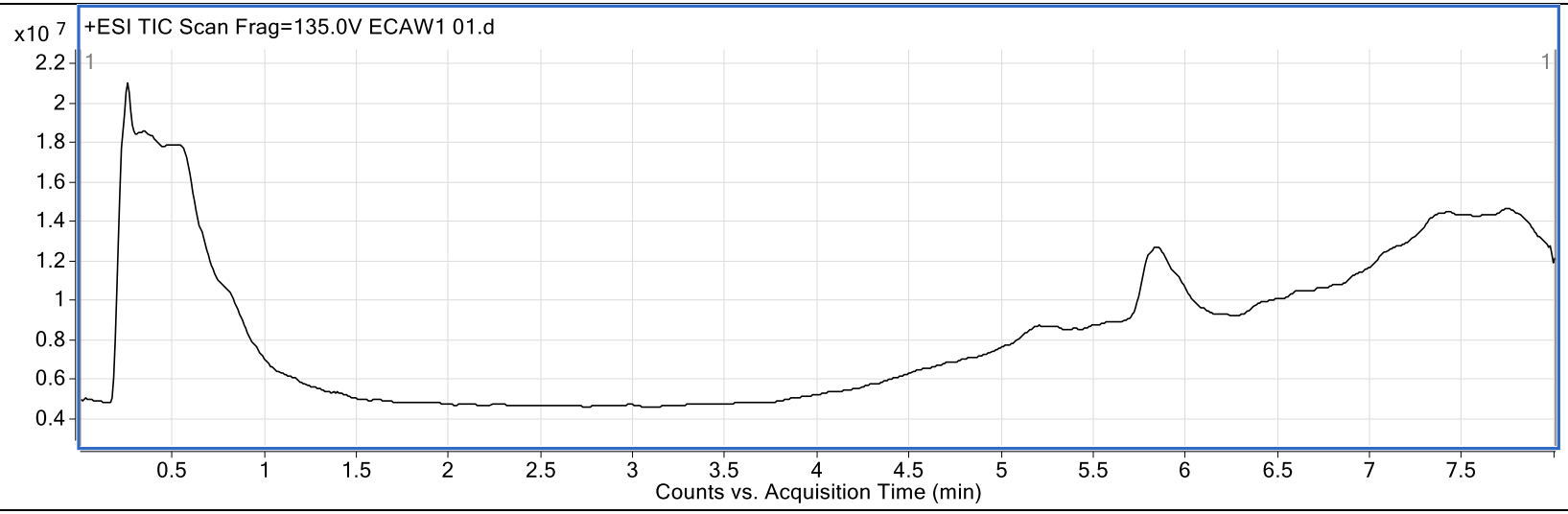
Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней вода	1H-циклопропа [3,4] бенз [1,2-e] азулен-5,7b, 9,9a-тетрол, 3 - [(ацетилокси) метил] -1a, 1b, 4,4a, 5,7a, 8 , 9-октагидро-1,1,6,8-тетраметил-, 9,9a-диацетат, [1aR- (1aα, 1bβ, 4aα, 5β, 7aα, 7bα, 8α, 9β, 9aα)] -	$C_{50}H_{70}O_9$	0,22	18,1
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил-	$C_9H_{13}N$	0,4	28,77
	(25S) -3Beta-ацетокси-5α, 22β-спиро-9 (11) -o-12beta-ол	$C_{15}H_{23}N_5O_6$	3,3	0,45
	5 β; -Чолан-24-ова кислота, 4- (23-карбокси-7,12-диоксо-24-нор-5 β; -хлор-3-ен-3-ил) -3,7,12-триоксо-, диметиловый эфир	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,32	33,09
	бензопропаанамин	$C_{28}H_{36}O_7$	5,76	2,5
	Аденозин, N- (2,3-дигидрокси-3-метилбутил) -	$C_{40}H_{46}O_{12}$	6,29	1,44
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{22}H_{30}O_4$	6,48	2,08
	13'-лактон, ацетат	$C_{20}H_{14}N_2$	6,83	4,13
	Уксусная кислота, 1,1 ', 4'-триацетокси-5,5'-диизопропил-6,7,6', 7'-тетраметокси-3,3'-диметил- [2,2 '] бинафталин-4-ил эфир	$C_{38}H_{62}O_9$	7,14	9,44
Guoclodium viride ATCC 10097 14 дней вода	4,10- (метаноксиметано) -10H-циклопента [a] фенантрен-3 (4H) -он, 17- (ацетилокси) -1,2,7,8,9,11,12,13,14,15,16 , 17-додекагидро-13-метил-, [4S- (4α, 8α, 9β, 10α, 13α, 14β, 17α)] -	$C_{38}H_{62}O_9$	0,23	21,82
	Хиноксалин, 2,3-дифенил-	$C_{55}H_{76}N_4O_6$	0,37	9,91
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил-	$C_2H_4N_4S$	0,6	2,84
	D-глюкопиранозид, (3β, 22α, 25S) -22,25-эпокси-3-метоксифуро-5-ен-26-ил 2,3,4,6-тетра-O-метил	$C_{14}H_{14}N_2O_4$	5,33	35,88
	3-форбинпропановой кислоты, 9-ацетил-14-этил-13,14-дигидро-21- (метоксикарбонил) -4,8,13,18-тетраметил-20-оксо-, 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецениловый эфир, [3s- [3	$C_{74}H_{98}N_8$	5,57	3,05
	1-метил-5-тетразолитеон	$C_8H_{11}N_3$	5,78	5,94
	(6-оксо-1-фенил-1,6-дигидропиридазин-3-илокси) уксусная кислота, этиловый эфир	$C_{43}H_{49}NO_{18}$	6,33	7,34
	1,2-ди (2,3,7,8,12,13,17,18-октаэтил-7,8-дигидро-21H, 23H-порфинил-10) этан	$C_{50}H_{70}O_9$	6,56	1,54
	4-амино-2-метил-5,6-триметилпиримидин	$C_{20}H_{14}N_2$	6,91	6,99
	вилфолин	$C_{38}H_{62}O_9$	7,26	4,69

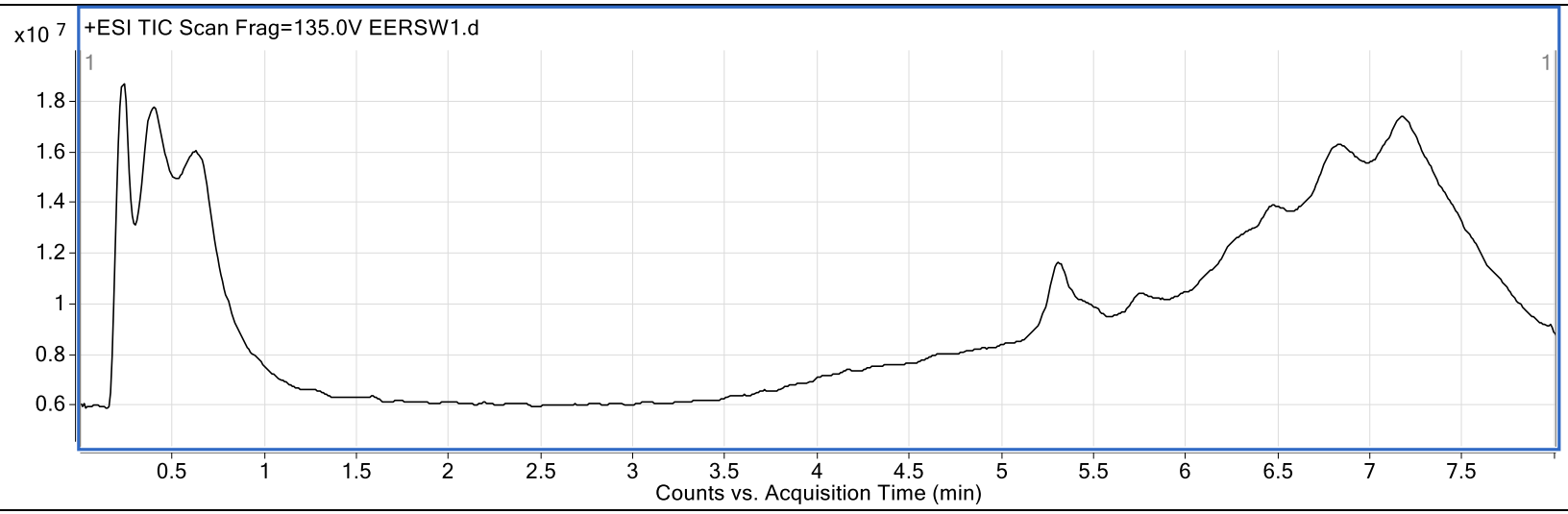
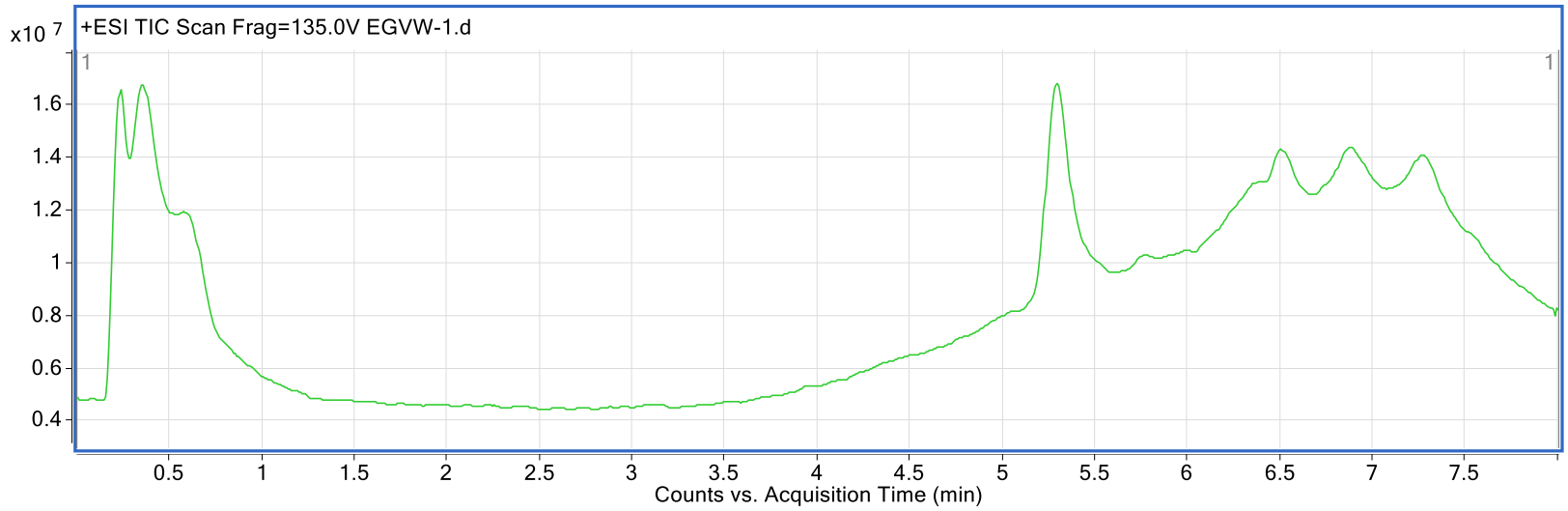
химический состав бутанольной фракции полученной в результате биотранформации экстракта из надземной части *Tamarix hispida*

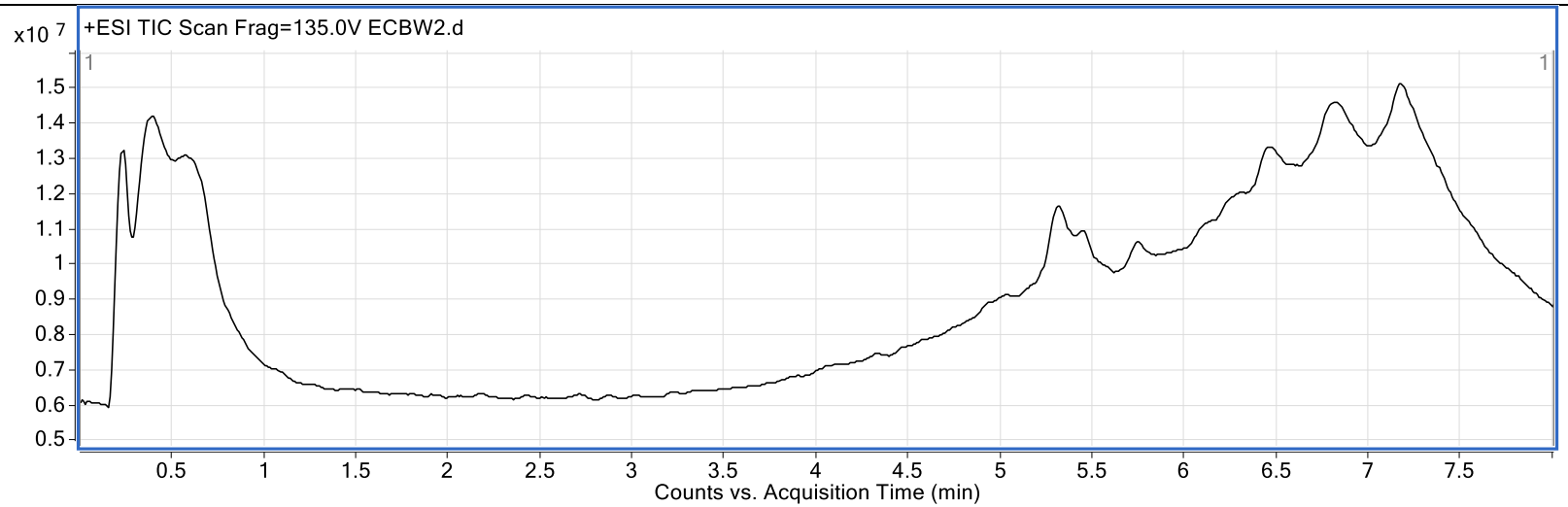
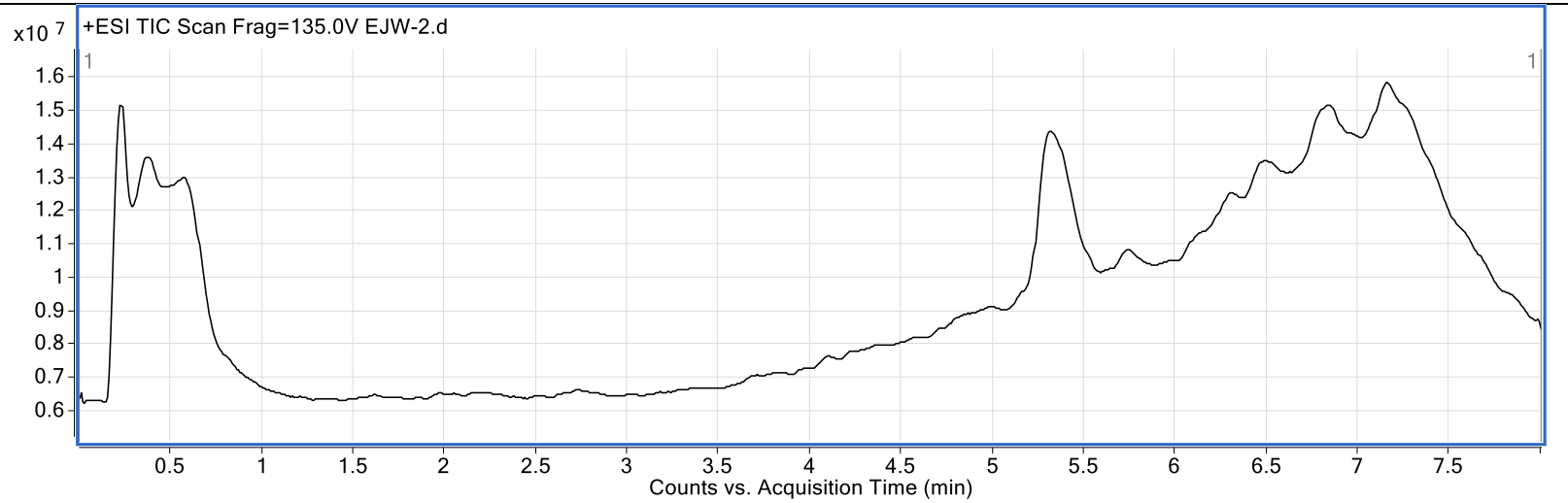
ПРИЛОЖЕНИЕ И

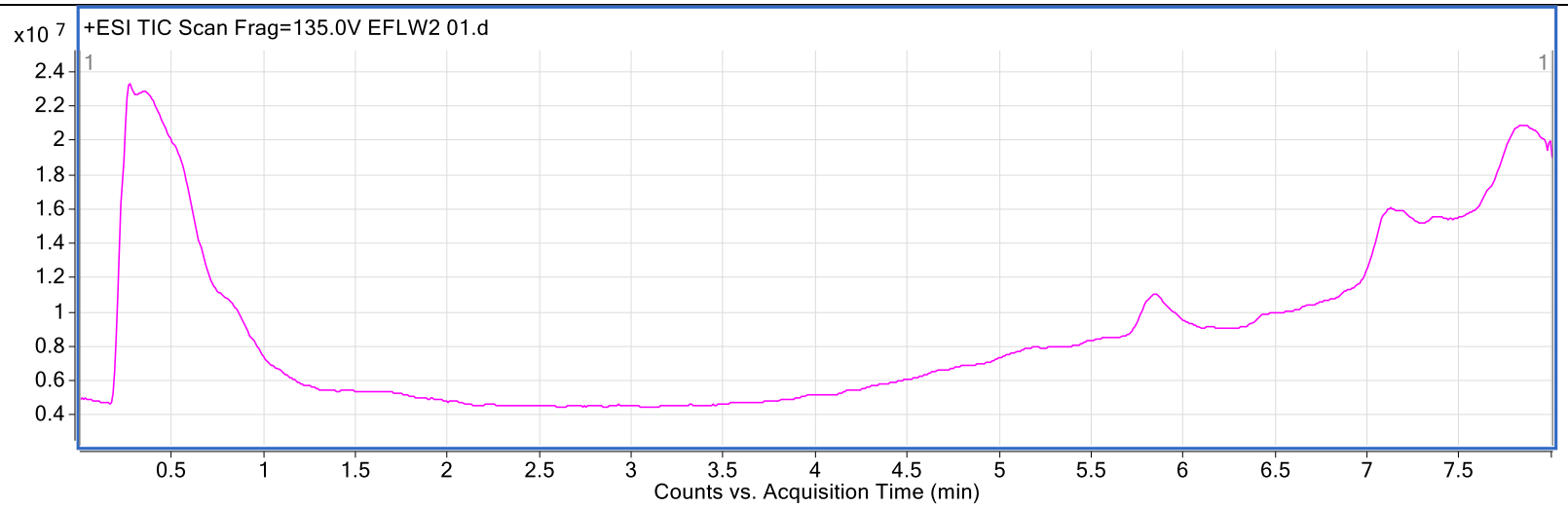
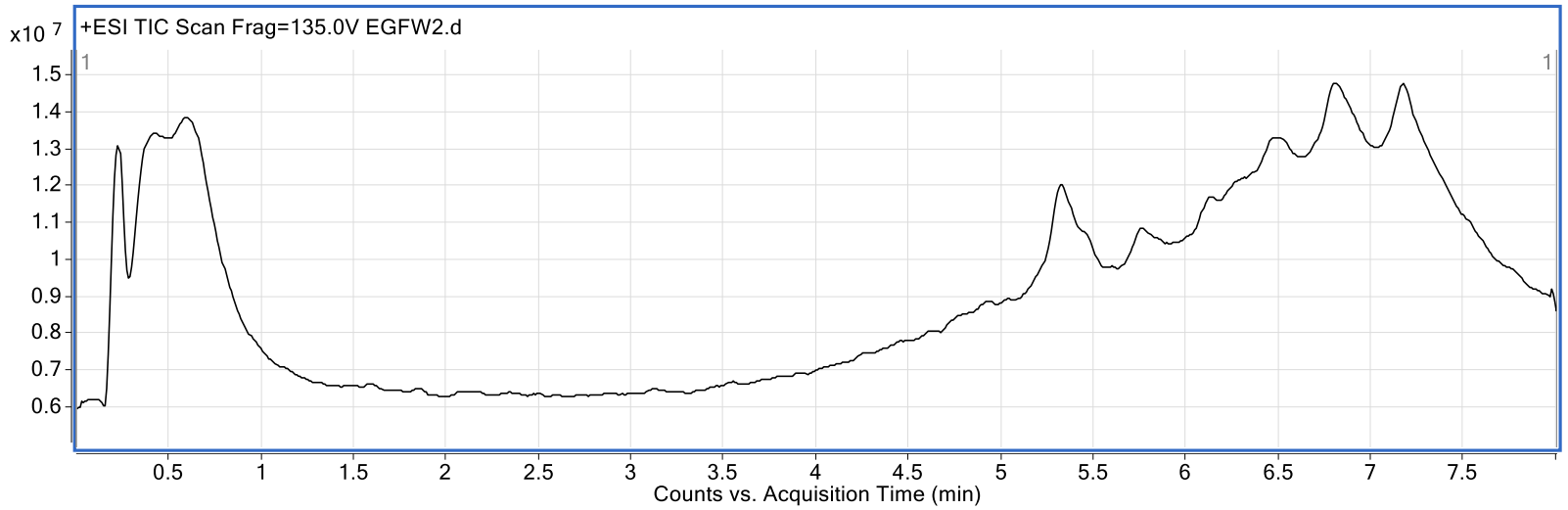
Название пробы	Хромато-масс спектрограмма
Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 7 дней вода	
Microphomina phaseoline KUCC 130 7 дней вода	

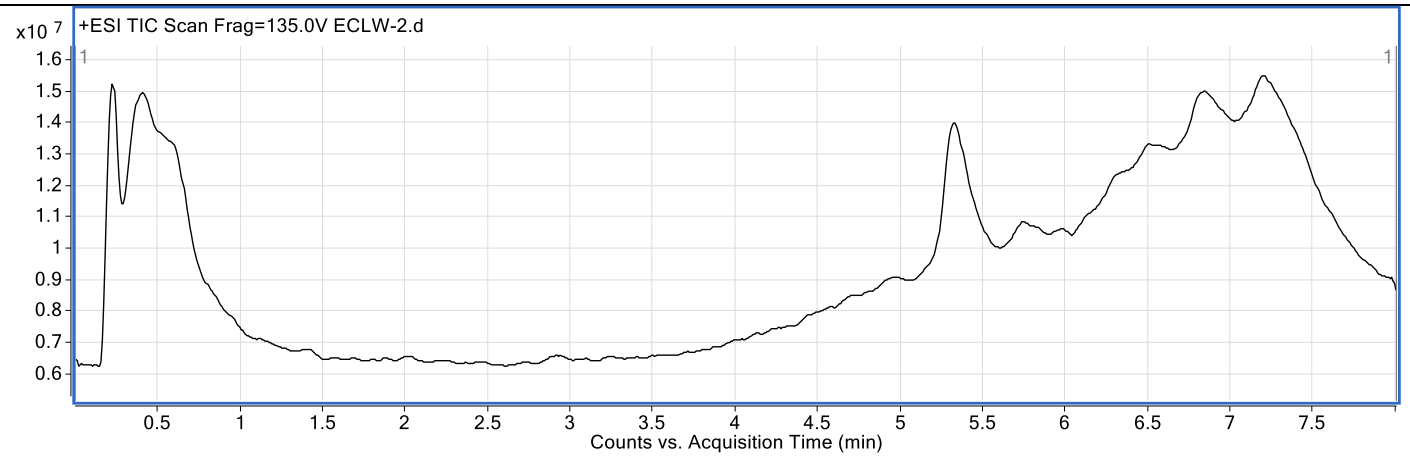
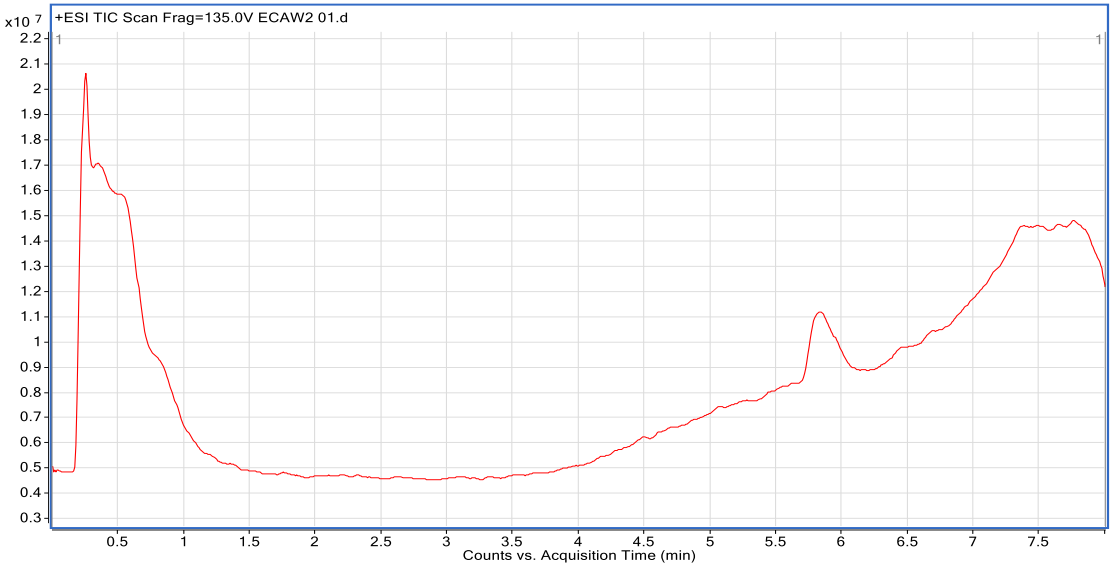
Fuscasium lini NRRL 2204 7 дней вода	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 7 дней вода	

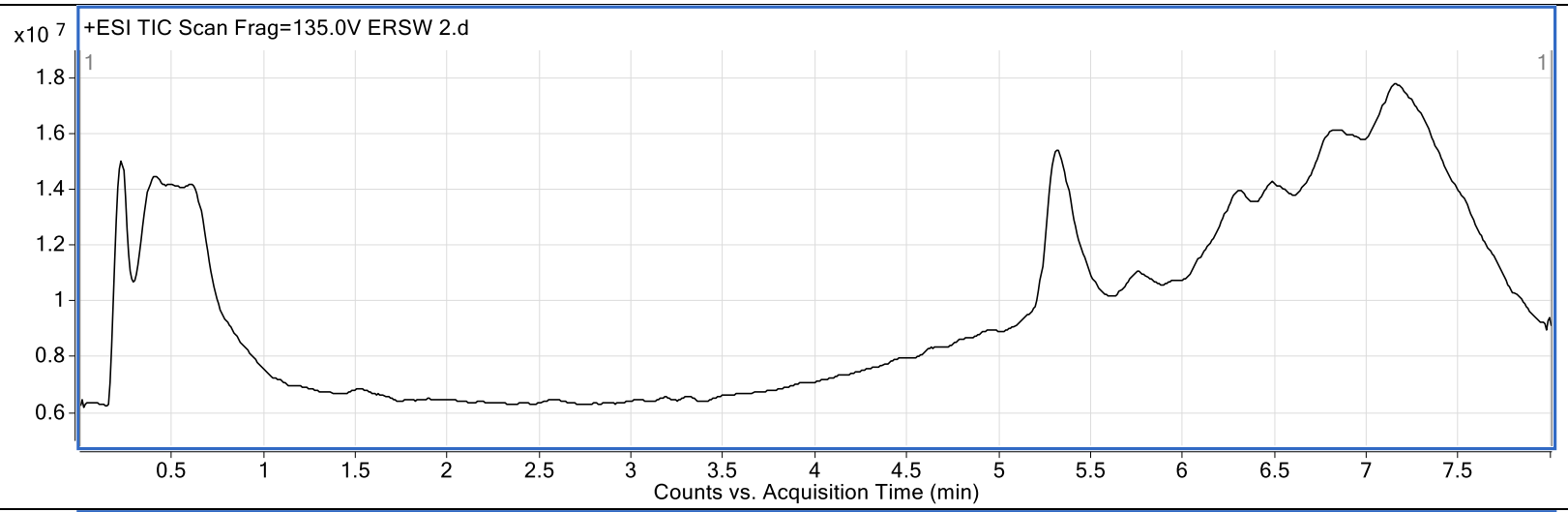
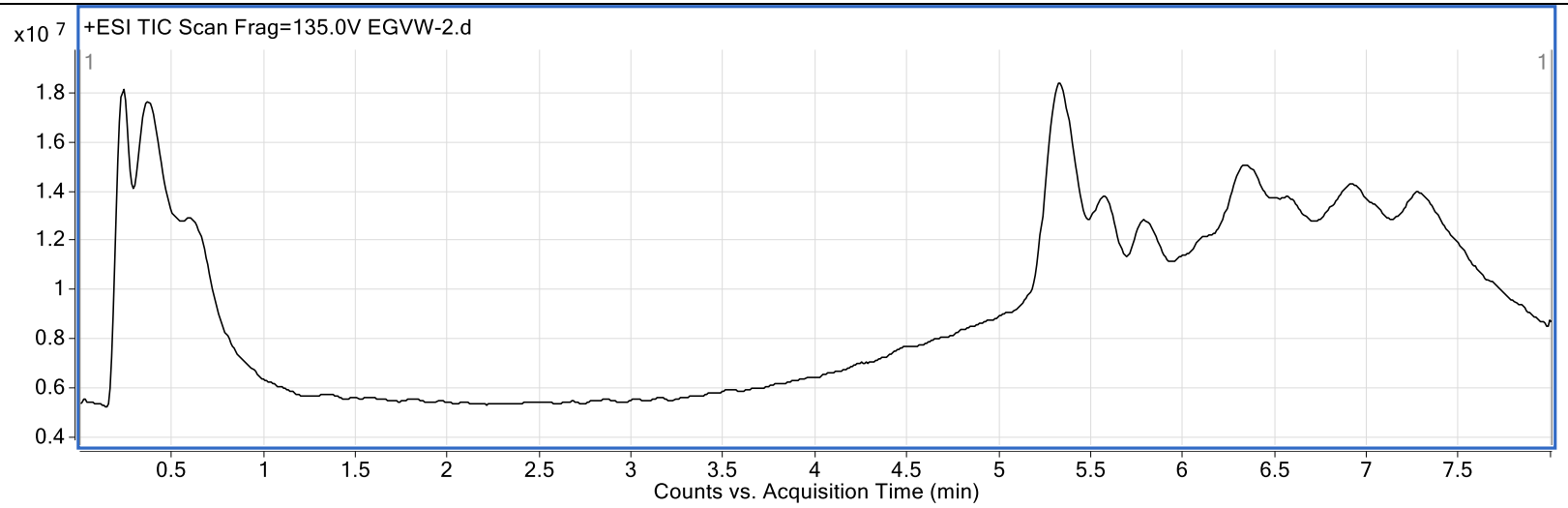
Curvularia lunata ATCC 12017 7 дней вода	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 7 дней вода	

Rhizopus stolonifer TSY 047 7 дней вода	
Guoclodium viride ATCC 10097 7 дней вода	

Cunninghamella blakeleeana ATCC8688A 14 дней вода	
Microphomina phaseoline KUCC 130 14 дней вода	

Fuscasium lini NRRL 2204 14 дней вода	
Glomerella fusarioides ATCC 9552 14 дней вода	

Curvularia lunata ATCC 12017 14 дней вода	
Cephalosporium aphidicola ATCC 28300 14 дней вода	

Rhizopus stolonifer TSY 047 14 дней вода	
Guoclodium viride ATCC 10097 14 дней вода	

масс спектрограммы бутанольной фракции трансформированной субстанци