

ӘОК 615.212.099

FTAMP 31.19.29

DOI: [10.53065/kaznmu.2026.76.1.003](https://doi.org/10.53065/kaznmu.2026.76.1.003)

Редакцияға түсті: 05.01.2026

Жариялануға қабылданды: 23.02.2026

## ПРЕГАБАЛИНДІ БИОЛОГИЯЛЫҚ СҰЙЫҚТЫҚТАРДАН БӨЛІП АЛУ ӘДІСТЕМЕСІН ӘЗІРЛЕУ

Н. ПАРХАТҚЫЗЫ<sup>1</sup>, А.Б. ШУКИРБЕКОВА<sup>1</sup>, З.У. УСМАНАЛИЕВА<sup>2</sup>,  
К.С. АЛТЫНБЕКОВ<sup>3</sup>, Е.Н. АДІЛЬБЕКОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> «Астана медицина университеті» КеАҚ Астана, Қазақстан

<sup>2</sup> Білім беру және зерттеулер фармацевтикалық институты, Ташкент, Өзбекстан

<sup>3</sup> Астана қаласы әкімдігінің «Қалалық психикалық денсаулық орталығы» ШЖҚ МКК, Астана, Қазақстан

<sup>4</sup> «ProLabSupport (ПроЛабСаппорт)» ЖШС, Астана, Қазақстан

### Түйіндеме

**Кіріспе.** Жедел улану жағдайларында тиімді шұғыл медициналық көмек көрсету интоксикацияның нақты себебін дәл анықтауды талап етеді. Сот–химиялық сараптама шеңберінде қан плазмасы мен зәр сияқты биологиялық нысандардан уытты затты сәйкестендіру ерекше маңызды, ал талдаудың ең маңызды кезеңдерінің бірі – оны зерттелетін матрицалардан бөліп алу.

**Мақсаты.** Биологиялық сұйықтықтардан (қан плазмасы, зәр) прегабалинді бөліп алу әдісін әзірлеу.

**Материалдар мен әдістер.** Прегабалиннің су ерітінділерінен экстракциясын зерттеу үшін концентрациясы 100 мкг/мл болатын стандартты ерітінділерде сұйықтық–сұйықтық экстракция әдісі қолданылды. Прегабалинді биологиялық сұйықтықтардан оқшаулаудың оңтайлы әдістемесін әзірлеу мақсатында әртүрлі жағдайларда су ортасынан экстракциялау бойынша бірқатар тәжірибелер жүргізілді. Әртүрлі полярлықтағы еріткіштерді пайдалана отырып, органикалық еріткіштердің қасиеттерінің экстракция тиімділігіне, сондай–ақ ортаның рН мәнінің прегабалиннің бөлініп шығуына әсері бағаланды. Прегабалинді қан плазмасы мен зәрден оқшаулау әдістемесін әзірлеу тәжірибелері концентрациясы 1, 10 және 100 мкг/мл болатын модельдік қоспалар (зәр және қан плазмасы) негізінде жүргізілді. Экстрагент ретінде 1:1 қатынасындағы бутанол–этилацетат қоспасы сыналды.

**Нәтижелер.** Жүргізілген эксперименттердің нәтижесінде прегабалинді бөліп алудың ең жоғары тиімділігі рН = 5,5 жағдайында бутанол–этилацетат (1:1) қоспасын қолдана отырып, су ортасынан үш мәрте экстракциялау кезінде қол жеткізілетіні анықталды. Аталған жағдайлар оңтайлы деп танылып, прегабалинді қан плазмасы мен зәр үлгілерінен оқшаулау үшін қолданылды.

**Қорытынды.** Зерттеу нәтижесінде қан плазмасы мен зәрден прегабалинді жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы және ультракүлгін детекторлау әдісімен сандық анықтауға арналған сұйықтық–сұйықтық экстракциясының оңтайлы әдістемесі әзірленді. Әдістеме келесі көрсеткіштер бойынша валидацияланды: бөліп алу дәрежесі зәрден 63,15%, қан плазмасынан 53,40%, сызықтылық (1–100 мкг/мл), салыстырмалы стандартты ауытқу (қан плазмасы үшін 2,98%, зәр үшін 2,06%), анықтау шегі (LOD: қан плазмасы үшін 0,3 мкг/мл, зәр үшін 0,3 мкг/мл) және сандық анықтаудың төменгі шегі (LLOQ: қан плазмасы мен зәр үшін 1 мкг/мл). Прегабалинді биологиялық

сұйықтықтардан оқшаулаудың оңтайлы жағдайлары ретінде рН = 5,5 кезінде бутанол–этилацетат (1:1) қоспасымен үш мәрте экстракциялау анықталды.

**Түйінді сөздер:** прегабалин, сұйықты–сұйықтық экстракция, ультракүлгін детекторы бар жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы, биологиялық сұйықтықтар.

**Кіріспе.** Соңғы жылдары клиникалық және химиялық–токсикологиялық практикада психоактивті және дәрілік заттармен, соның ішінде эпилепсияға қарсы препараттармен улану жағдайларының тұрақты өсуі байқалуда, олардың ішінде ерекше орынды прегабалин алады. Прегабалин гамма–амин май қышқылының құрылымдық аналогы болып табылады және оның әрекеті орталық жүйке жүйесіндегі әлеуетті–тәуелдік кальций каналдарының альфа2–дельта субъбірліктеріне әсер етуіне байланысты [1]. Бұл өзара әрекеттесу қоздырғыш нейромедиаторлардың бөлінуін төмендетіп, нейрондардың қозғыштығын азайтады [2].

Аталған дәрі неврологиялық бұзылыстарды емдеуде жоғары терапевтік тиімділікке ие, бірақ оны теріс мақсаттарда қолдану және тәуелділікке алып келу қаупі маңызды болып отыр. Үлкен дозаларды қабылдағанда пайда болатын эйфориялық әсер оның рұқсатсыз қолданылуына ықпал етуі көптеген зерттеулердің деректері бойынша анықталып отыр [3].

Терапевтік дозадан көп қолдану немесе бүйрек қызметінің төмендеуі кезінде дәрінің шығарылуының бұзылуы, ауыр жанама реакцияларға әкелуі мүмкін, соның ішінде орталық жүйке жүйесінің басылуы, ұйқышылдық, атаксия, сана шатасуы және тыныс алу тежелуі [4]. Прегабалинді орталық жүйке жүйесін тежейтін басқа заттармен, мысалы опиоидтармен, алкогольмен немесе бензодиазепиндермен бірге қолданғанда ауыр асқынулардың даму ықтималдығы айтарлықтай артады. Прегабалинді артық қолдану есінен тануға және өлімге әкелуі мүмкін [5]. Ұзақ уақыт, бақылаусыз қолдану когнитивті бұзылыстарға, перифериялық ісіктерге, дене массасының ұлғаюына және психоэмоциялық жағдайға теріс әсер етуге, соның ішінде алаңдаушылыққа, депрессивті көріністерге және суицидтік ойларға алып келеді [6, 7].

Аталған қауіптерді ескере отырып, қазіргі химиялық–токсикологиялық практикадағы маңызды міндеттердің бірі – қан плазмасы мен зәр сияқты биологиялық нысандардан прегабалинді бөліп алу, сәйкестендіру және сандық анықтаудың жоғары сезімтал әдістерін әзірлеу болып табылады [8]. Аналитикалық зерттеу молекуланың алифаттық құрылымымен және айқын спектралды сіңіру қабілетінің болмауымен күрделенеді. Дегенмен, әдебиеттерде әртүрлі тәсілдер кеңінен сипатталған, олардың ішінде жоғары тиімді сұйықтық хроматографиясы бар (ЖТСХ) [9, 10], газ–сұйықтық хроматографиясы масс–спектрометриямен [11], жұқа қабатты хроматография және дериватизация қолданатын спектрофотометрлік әдістер [12, 13]. Маңызды рөлді үлгіге дайындық атқарады, ол күрделі биологиялық матрицалардан прегабалинді бөліп алудың тиімділігін арттыру мақсатында сұйықты–сұйықтық және қатты фазалық экстракция әдістерін қолдануды қамтиды [9, 10].

Прегабалинді талдау әдістерін стандартизациялау және валидациялау жедел және созылмалы улану жағдайларын диагностикалау, сондай–ақ сот–химиялық сараптама міндеттерін шешу үшін маңызды рөл атқарады [14].

Осылайша, прегабалинді химиялық–токсикологиялық практикада зерттеудің өзектілігі оның фармакологиялық қасиеттерімен, теріс мақсатта қолдану мәселесінің әлеуметтік маңыздылығының артуымен, артық дозаланғанда жоғары токсикологиялық әсерімен және оны бөліп алу, сәйкестендіру және сандық анықтау әдістерін әзірлеу қажеттілігімен анықталады. Сондықтан, бұл жұмыстың мақсаты – прегабалинді

биологиялық сұйықтықтардан (қан плазмасы, зәр) экстракциялау әдістемесін әзірлеу мақсатында зерттеулер жүргізу.

#### **Материалдар мен әдістер.**

##### *Қолданылған реактивтер мен еріткіштер*

Бөліп алу процесіне органикалық еріткіш табиғатының әсерін зерттеу үшін хлороформ (қайнау температурасы = 61°C), бензол (қ.т. = 81°C), гексан (қ.т. = 69°C), этилацетат (қ.т. = 75°C) және диэтил эфирі (қ.т. = 35°C), бутанол–этилацетат (1:1) (қ.т. = 97°C) сияқты еріткіштер қолданылды.

Зерттелетін қосылысты сулы фазадан бөліп алу тиімділігіне ортаның қышқылдық–негіздік күйі айтарлықтай әсер етеді, осыған байланысты прегабалиннің экстракциялану дәрежесінің рН мәніне тәуелділігі зерттелді. Модельдік ерітінділерді дайындау үшін стандартты буферлік ерітінділер (МЕМСТ 8.135–74, стандартты рН) қолданылды, олардың рН мәндері 1,65; 3,56; 4,01; 5,5; 9,18; 12,43 деңгейінде тұрақтандырылды. рН мәндерін бақылау және верификация «Mettler Toledo» рН–метрі арқылы жүзеге асырылды.

##### *Прегабалинді оқшаулау схемасы*

250 мл көлемді герметикалық тығыз жабылатын конустық колбаларға әртүрлі рН мәндері бар 50 мл буферлік ерітінділер, концентрациясы 100 мкг/мл болатын 1 мл прегабалин жұмыс ерітіндісі және 10 мл органикалық еріткіш қосылды. Алынған жүйелер компоненттердің біркелкі таралуын қамтамасыз ету үшін 15 минут бойы механикалық шайқауышта қарқынды араластырылды. Сынауықты фазалардың өздігінен бөлінуі үшін 5 минут бойы ұстады. Толық бөлінгеннен кейін органикалық фазаны алдын ала кептірілген фарфор табақшаларға 5 г сусыз натрий сульфаты арқылы сүзуден өткізілді. Сүзгі қағазын 3–5 мл органикалық еріткішпен шайып, жуынды фракцияларды негізгі экстрактпен біріктірілді. Алынған экстракттардан органикалық еріткішті ыстық ауа ағынында буландырып, құрғақ қалдыққа дейін алып тастады, содан кейін оны 10 мл қозғалмалы фазаға ерітілді.

Сонымен қатар, су фазасынан прегабалинді бөліп алу процесіне электролиттердің әсері зерттелді. Электролиттер ретінде аммоний сульфаты мен натрий хлоридінің тұздары қолданылды. Прегабалиннің экстракциясының тиімділігіне электролиттердің әсерін эксперименттік зерттеу су–тұз ерітінділерін дайындау арқылы жүргізілді. Екі концентрациялық режимде қолданылды 5% натрий хлориді (NaCl) және 25% аммоний сульфаты ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Бөлгіш құйғышқа кезекпен рН=5,5 болатын 9 мл буферлік ерітінді, 2 мл электролит ерітіндісі және концентрациясы 100 мкг/мл болатын 1 мл прегабалиннің жұмыс ерітіндісі енгізілді. Осыдан кейін бұрын белгіленген жағдайларда сұйықтық–сұйықтық экстракциясы жүргізілді. Қосымша ретінде бутанол–этилацетат (1:1) қоспасымен экстракциялау еселік мақсатты қосылыстың толық бөлініп алынуына әсері бағаланды. Осы мақсатта бір реттік, екі реттік, үш реттік және төрт реттік экстракция жүргізілді. Алынған экстракттардан органикалық еріткішті құрғақ қалдыққа дейін буландырып алып тастағаннан кейін, анализ 10 мл қозғалмалы фазаға ерітіліп, одан әрі оның сандық анықталуы ЖТСХ–УК детектірлеумен әдісімен жүргізілді.

Биологиялық сұйықтықтардан прегабалинді бөліп алу кезінде оны су ортасынан алудың жоғарыда әзірленген шарттары пайдаланылды.

Құрамында 1, 10, 100 мкг/мл прегабалин бар биологиялық сұйықтықтардың модельдік үлгілері дайындалды. Көлемі 5 мл қан плазмасы сынамаcына ақуыздарды тұндыру мақсатында рН=2–ге жеткенге дейін 0,1 М тұз қышқылының (HCl) ерітіндісін қостық. Алынған қоспаны 3000 айн/мин (201 × g) 4 °C температурада 5 минут бойы центрифугалады (BioBase центрифугасы, ВКС–ТН21RHD r = 20 мм моделі). Тұнба

үстіндегі сұйықтық бөлгіш құйғышқа ауыстырылды және прегабалинді экстракциялау үшін оңтайлы бейтарап нысанға ауыстырылып, 25% аммиак ерітіндісімен ( $\text{NH}_3$ )  $\text{pH} = 5,5$ -ке дейін сілтіленді. Одан әрі 1:1 арақатынасында бутанол–этилацетат қоспасымен экстракция жүргізілді. Экстракцияны үш рет қайталап, әр жолы 5–10 мл бутанол–этилацетат 1:1 қоспасын қолданылды. Сығындыны 5 г сусыз натрий сульфаты бар сүзгі қағазы арқылы біріктіріліп, сүзгіден өткізілді. Органикалық еріткішті сүзіндіден бөлме температурасында булану жолымен алып тастады. Содан кейін құрғақ қалдықты 10 мл жылжымалы фазада ерітеді.

Құрамында 1, 10, 100 мкг/мл прегабалин бар 10 мл несептің көлемі ақуыздарды тұндыру мақсатында 0,1 М концентрациясымен тұз қышқылының ( $\text{HCl}$ ) ерітіндісімен  $\text{pH} = 2$  деңгейіне дейін жеткізілді. Алынған қоспаны 3000 айн/мин ( $201 \times \text{g}$ )  $4^\circ\text{C}$  температурада 5 минут бойы центрифугалады (BioBase центрифугасы, ВКС–ТН21RHD  $r = 20$  мм моделі). Тұнба үстіндегі сұйықтық бөлгіш құйғышқа ауыстырылды және прегабалинді экстракциялау үшін оңтайлы бейтарап нысанға ауыстырылып, 25% аммиак ерітіндісімен ( $\text{NH}_3$ )  $\text{pH} = 5,5$ -ке дейін сілтіленді. Одан әрі 1:1 ара қатынасында бутанол–этилацетат қоспасымен экстракция жүргізілді. Экстракцияны үш рет қайталап, әр жолы 5–10 мл бутанол–этилацетат 1:1 қоспасын қолданылды. Сығындыны 5 г сусыз натрий сульфаты бар сүзгі қағазы арқылы біріктіріліп, сүзгіден өткізілді. Содан кейін құрғақ қалдықты 10 мл жылжымалы фазада ерітеді. Алынған ерітінді 0,45 мкм көлемдегі мембраналық сүзгі арқылы сүзілген.

*Деректерді статистикалық өңдеу және әдістің валидациясы*

Сандық анықтау ЖТСХ–УК әдісімен жүргізілді.

Талдау уақыты – 7 минут.

Сынаманы енгізу көлемі – 20 мкл.

Баған температурасы – бөлмелі,  $25^\circ\text{C}$ .

Бағанша – ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  ( $150 \times 4,6$  мм, 5 мкм) Agilent Technologies.

Режим – изократиялық (20% метанол – 80% буфер  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).

Ағын жылдамдығы: 1,0 мл/мин.

Буфер құрамы – 2,72 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  тазалығы I типті судың 1 литрінде (0,02 М,  $\text{pH} \sim 4,4$ ).

Жылжымалы фазаны сүзу – нейлон сүзгілермен сүзу 47 мм, араның мөлшері 0.45 мкм (5191–4338) және вакууммен сүзу жүйелері Infinity Lab Solvent Filtration Assembly (5191–6776).

Толқын ұзындығы – 198 нм.

Деректерді өңдеу Microsoft Excel 2020 бағдарламалық жасақтамасын пайдалана отырып жүргізілді.

Сондай-ақ метрологиялық сипаттамалар бағаланды: алу дәрежесі (Recovery %), сызықтық, дәлдігі (салыстырмалы стандартты ауытқу, RSD), анықтау шегі (LOD) және биоаналитикалық әдістерді валидациялау жөніндегі халықаралық ұсынымдарға сәйкес сандық анықтау шегі (LLOQ).

Биологиялық матрицалардан прегабалин экстракциясы бойынша эксперименттердің нәтижелері валидацияланды. Ұсынылған шарттар ерекшелік, сызықтық және қайталану критерийлеріне сәйкестігін көрсетті.

**Нәтижелер.** Жүргізілген экспериментте су ерітінділерінен, қан плазмасынан және зәрден прегабалинді алу тиімділігі мынадай жағдайларға байланысты бағаланды: оқшаулаушы агенттің тұндыру сатысындағы табиғаты, экстрагенттің табиғаты, модельдік қоспаға енгізілетін заттың мөлшері.

Прегабалин экстракциясы үшін органикалық еріткіштерді таңдау полярлығы, сутегі байланыстарының пайда болу қабілеті және басқа да физикалық–химиялық

сипаттамалары бойынша ерекшеленетін қосылыстарды қамтитын кеңейтілген скрининг жүргізу қажеттілігіне байланысты болды. Зерттеуге полярлық емес (гексан), орташа полярлық (бензол, хлороформ) және полярлық апротонды (этилацетат, диэтил эфирі) еріткіштер енгізілді. Мұндай тәсіл ортаның диэлектрлік өткізгіштігінің талдауды бөлу коэффициентіне әсерін бағалауға мүмкіндік береді.

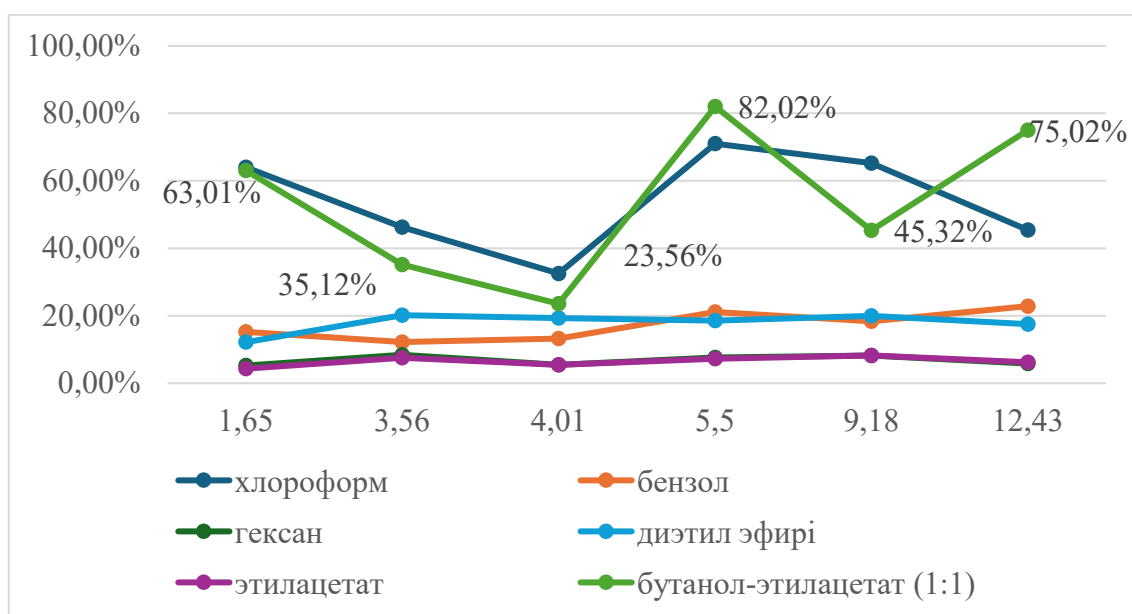
Таңдалған барлық еріткіштер салыстырмалы түрде төмен қайнау температураларымен (35–97°C) сипатталады, бұл экстракттарды аялауыш температуралық режимдерде жылдам буландыру мүмкіндігін қамтамасыз етеді, прегабалиннің термиялық ыдырау қаупін азайтады және талдаудың жылдамдылығын арттырады. Атап айтқанда, хлороформ аналиттің амин тобын сольватациялауға ықпал ететін тиімді сутектік байланыс доноры ретінде қарастырылды, ал бутанол–этилацетаттың (1:1) екілік жүйесі спиртті компоненттің гидроксил топтарының болуы есебінен цвиттер–иондық формаларға қатысты экстракциялау қабілетін бағалау мақсатында енгізілді. Гександы қолдану матрицаның липидтік компоненттерінің коэкстракциялану дәрежесін анықтауға мүмкіндік берді, бұл компоненттер кейінгі анықтауға кедергі келтіруі мүмкін.

Бензол скринингте орташа полярлы салыстырмалы еріткіш ретінде пайдаланылды, бірақ іс жүзінде ұсынылған экстрагент ретінде емес. Прегабалинді алу дәрежесі туралы деректер кестелерде берілген.

**Кесте 1.** Су ерітінділерінен прегабалинді экстракциялауға ортаның рН мәні мен органикалық еріткіштің әсері бойынша зерттеу нәтижелері (%)

рН орта	Органикалық еріткіштер					
	хлороф орм	бензол	гексан	диэтил эфирі	этилацетат	бутанол–этил ацетат (1:1)
	Бөлініп алынатын зат мөлшері					
1,65	64,02	15,26	5,23	12,15	4,31	63,01
3,56	46,26	12,21	8,42	20,16	7,51	35,12
4,01	32,53	13,19	5,42	19,31	5,42	23,56
5,5	71,01	21,06	7,63	18,56	7,21	82,02
9,18	65,21	18,37	8,23	20,01	8,23	45,32
12,43	45,37	22,85	5,81	17,50	6,21	75,02

1 кестенің деректері бойынша бес зерттелген органикалық еріткіштердің арасында мақсатты қосылыстарды экстракциялау тиімділігі бутанол–этилацетатты (1:1) (82,02%) пайдалану кезінде ең жоғары болды. Ең төменгі көрсеткіштер гексан (5,23%) және этилацетат (4,31%) үшін тіркелді.



**Сурет 1.** Су ерітінділерінен прегабалинді экстракциялауға ортаның рН мәні мен органикалық еріткіштің әсері бойынша зерттеу нәтижелері

1 суретте су ерітіндісінен прегабалиннің ең жоғары шығымы (82,02%) органикалық еріткіш ретінде бутанол–этилацетатты (1:1) қолдану жолымен рН = 5,5 мәнінде қамтамасыз етілгенін растайтын деректер ұсынылған.

Бутанол–этилацетат (1:1) қоспасымен экстракция еселігінің әсерін зерттеу рН = 5,5 оңтайлы мәні кезінде электролиттер қосылмай бір реттік экстракция 32,01% заттың, екі реттік – 53,20% заттың алынуын қамтамасыз ететінін, ал үш реттік экстракция 82,02% алу дәрежесіне жетуге мүмкіндік беретінін көрсетті. Экстракцияның үшінші циклынан кейін талдау шығуының өсуінің айтарлықтай баяулауы байқалады. Циклдар санының одан әрі ұлғаюы (4 және одан да көп) сандық көрсеткіштердің шамалы ғана өзгеруіне алып келеді, бұл үш еселенген экстракцияны осы эксперимент жағдайында жұмсалған уақыт пен алу толықтығының арақатынасы тұрғысынан оңтайлы етеді. Үш мәрте экстракцияны таңдау аз еңбек сыйымдылығы мен органикалық еріткіштердің шығыны кезінде салыстырмалы алу дәрежесін қамтамасыз ететін ұтымды жеткіліктілік қағидатына негізделген (Кесте 2).

**Кесте 2.** Прегабалинді бутанол–этилацетат (1:1) қоспасымен сұйықты–сұйықтық экстракциясының тиімділігіне электролиттердің әсері бойынша нәтижелер (%)

Электролит	Экстракция дәрежесі және бөлініп алынған прегабалин мөлшері			
	Бір реттік экстракция	Екі реттік экстракция	Үш реттік экстракция	Төрт реттік экстракция
	%	%	%	%
Электролитсіз	32,01	53,2	82,02	80,56
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	28,31	50,2	67,4	70,1
NaCl	28,01	48,2	63,1	67,2

3 кестеде ұсынылған деректер екі маңызды биологиялық матрицадан (қан плазмасы мен зәр) прегабалиннің сұйықты–сұйықтық экстракциясының тиімділігін бағалаудың

негізгі нәтижелерін көрсетеді. Зәрден прегабалинді экстракциялау ең жоғары орташа бөліну дәрежесін көрсетті 63,15%.

Қан плазмасы үлгілерінде орташа бөліну пайызы қанағаттанарлық, бірақ 53,40%–дан төмен болды. Қан плазмасындағы тиімділіктің төмендеуі әдеттегідей және прегабалиннің плазмалық ақуыздармен және липидтермен байланысуына негізделген неғұрлым айқын матрицалық әсермен байланысты болуы мүмкін, бұл оның экстрагенттің органикалық фазасына толық өтуіне кедергі келтіреді.

Биоаналитикалық әдістемені валидациялау ICH M10 (2019/2022) [15] нұсқаулығына қатаң сәйкестікте жүргізілді. Аналиттің жоғалуын барынша азайтатын сұйықты–сұйықтық экстракциясы кезеңінің жоғары тиімділігі мен қайталанушылығына байланысты, сандық бағалау сыртқы стандарт әдісі бойынша орындалды. Ішкі стандарттың болмауы матрицалық әсердің ықпалын ескеруге мүмкіндік беретін, сынама дайындаудың ұқсас процедурасынан өткен бос биоматериалдың модельдік сынамалары негізінде құрылған калибрлеу графиктерін пайдалану арқылы өтелді. Ұсынылған жағдайларға жүргізілген валидация қан плазмасы мен зәрдегі прегабалин мөлшерін бағалау үшін әдістеменің жарамдылығын растады.

**Кесте 3.** Прегабалинді қан плазмасы мен зәрден экстракциялау нәтижелері

Модельдік қоспалар	Модельдік қоспадағы прегабалин концентрациясы, 1 мкг/мл	Модельдік қоспадағы прегабалин концентрациясы, 10 мкг/мл	Модельдік қоспадағы прегабалин концентрациясы, 100 мкг/мл
Қан плазмасы	52,49%	53,15%	53,40%
Зәр	63,04%	62,86%	63,15%

4 кестеде алынған метрологиялық деректерді талдау мынадай қорытындылар жасауға мүмкіндік береді: әдістеменің 1–ден 100 мкг/мл–ге дейінгі шоғырлану диапазонындағы сызықтық тәуелділікпен сипатталатыны анықталды, бұл прегабалиннің клиникалық маңызы бар уытты шоғырлану саласын қамтиды. Детерминация коэффициенті  $R^2 > 0,99$  астам болды, бұл әдістің жоғары талдамалық сенімділігін растайды.

Екі матрица үшін де салыстырмалы стандартты ауытқу (RSD) 3% –дан аспайды (қан плазмасы үшін 2,98% және несеп үшін 2,06%). Бұл әдістеменің жоғары дәлдігі мен тұрақтылығын айғақтайды.

Сандық анықтаудың төменгі шегі (LLOQ) 1 мкг/мл деңгейінде қан плазмасы мен несептегі прегабалиннің ең аз шоғырлануы ретінде белгіленді, ол үшін бес параллель анықтама барысында қолайлылық критерийлеріне қол жеткізілді: салыстырмалы стандартты ауытқу (RSD) 20% –дан аспады, ал сигнал/шу қатынасы (S/N) кемінде 10:1. Аталған концентрация калибрлеу графигінің төменгі нүктесіне сәйкес келеді.

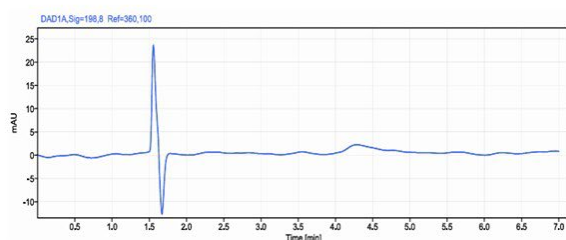
3:1 сигнал/шу арақатынасына қарай есептелген табу шегі (LOD) 0,3 мкг/мл құрады, бұл әдістің жоғары сезімталдығын растайды және сандық анықтау шегінен төмен заттың іздік мөлшерін сенімді сәйкестендіруге мүмкіндік береді. Алынған деректерді талдау (4–кесте) сызықтықтың белгіленген диапазоны (1–100 мкг/мл) прегабалиннің терапиялық және уытты шоғырлануының аумағын толығымен жабатынын көрсетеді. Жұмыс концентрациясы үшін жоғары детерминация коэффициентінің мәні ( $R^2 > 0,99$ ) және төмен RSD мәндері (3%–дан артық емес) әзірленген ЖТСХ–УК әдістемесінің дәлдігі мен талдамалық сенімділігін растайды.

**Кесте 4.** Прегабалинді сандық анықтау үшін әзірленген ЖТСХ–УК әдістемесінің метрологиялық параметрлері

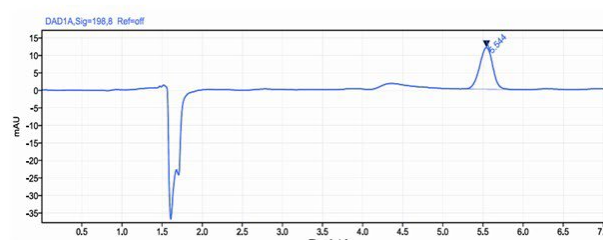
Параметрлер	Бірлік	Қан плазмасы	Зәр
Сызықтық ауқымы (LDR)	мкг/мл	1–100 мкг/мл	1–100 мкг/мл
Детерминация коэффициенті	–	0,99	0,99
Табу шегі (LOD)	мкг/мл	0,3 мкг/мл	0,3 мкг/мл
Сандық анықтау шегі (LLOQ)	мкг/мл	1 мкг/мл	1 мкг/мл
Салыстырмалы стандартты ауытқу (RSD %)	–	2,98 %	2,06 %
Стандартты ауытқу (SD %)	мкг/мл	16 мкг/мл	13 мкг/мл

2 суретте ЖТСХ–УК әдісімен алынған прегабалиннің төрт түрлі хроматограммасы көрсетілген: мұндағы бос сынама (а) жүйенің тазалығын дәлелдесе, 100 мкг/мл концентрациялы стандартты үлгі (б) прегабалиннің нақты ұсталу уақытын (шамамен 5.544 мин) айқындайды, ал зәр (в) және қан плазмасынан (г) оқшауланған үлгілердегі ұқсас уақытта пайда болған айқын шыңдар (пиктер) биологиялық матрицалардан заттың сәтті бөлініп алынғанын және оның осы орталарда нақты сәйкестендірілгенін растайды.

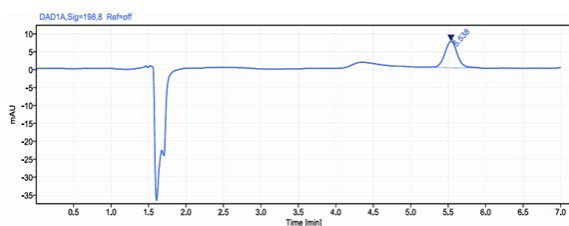
Әдістің іріктемелігі бос сынаманы талдау кезінде прегабалинді ұстап тұру уақыты саласында биобъектілер матрицасының компоненттерінен талдамалық сигналдардың болмауымен расталды.



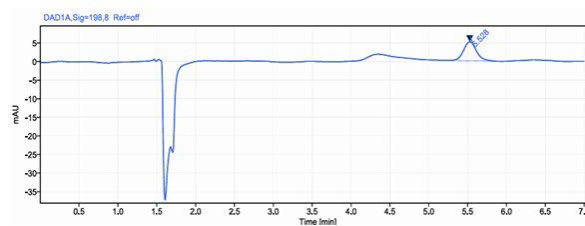
а. Бос сынаманың хроматограммасы



б. Концентрациясы 100 мкг/мл прегабалин хроматограммасы



в. Зәрден оқшауланған прегабалин хроматограммасы



г. Қан плазмасынан оқшауланған прегабалин хроматограммасы

**Сурет 2.** ЖТСХ–УК әдісімен алынған прегабалиннің хроматограммалары

5 кестедегі мәліметтер талдау әдістемесінің жоғары дәлдігі мен дұрыстығын айғақтайды. Зерттелетін үш түрлі концентрация деңгейінде 1 мкг/мл, 50 мкг/мл және 100 мкг/мл табылған орташа мәндердің нақты мөлшерге сәйкестігі 97,0–99,5% аралығында

болуы жүйелі қателіктің аздығын көрсетсе, дәлдік көрсеткішінің 1,8–4,5% шегінде сақталуы нәтижелердің қайталану деңгейінің жоғары екенін және бұл аналитикалық әдістің биологиялық сынамаларды сенімді түрде анықтауға толық жарамды екенін білдіреді.

Осылайша, әзірленген экстракция рәсімі химиялық–токсикологиялық сараптама шеңберінде екі биологиялық ортада да прегабалинді сандық анықтау үшін сенімді және валидті деп танылады.

**Кесте 5.** Дәлдік және дұрыстық кестесі (Accuracy and Precision)

Қосылған концентрация (мкг/мл)	Табылған концентрация (орташа мән)	Дұрыстығы, %	Дәлдік, %
1,0	0,98	98,0	4,5
50,0	48,5	97,0	2,1
100,0	99,5	99,5	1,8

**Талқылау.** Жүргізілген зерттеу шеңберінде прегабалинді сұйықты–сұйықтық экстракция әдісімен оқшаулау үшін жағдайлар айқындалған, бұл кейінгі ЖТСХ–УК талдау үшін негізгі кезең болып табылады. Модельді су ерітінділерінен прегабалин алудың ең жоғары тиімділігіне рН = 5,5 мәні кезінде әлсіз қышқылды–бейтарап ортада қол жеткізілетіні эксперименттік түрде анықталды. Бұл жағдайларда экстрагент ретінде органикалық еріткіштер бутанол–этилацетат (1:1) қоспасын пайдалану кезінде шығарудың ең жоғары дәрежесі 82,02%–ды құрады. Күшті сілтілі ортада рН = 12,4 сондай экстракциялық жүйені қолданған кезде шығарудың жоғары дәрежесі байқалғанына қарамастан, бірақ рН = 5,5 оңтайлы болып таңдалды, өйткені дәл осы рН мәні кезінде прегабалиннің неғұрлым толық алынуы және биологиялық матрицалармен жұмыс істеу кезінде нәтижелердің жақсы жаңғыртылуы қамтамасыз етілді.

Химиялық–токсикологиялық талдау шеңберінде прегабалинді алу үшін оңтайлы мән ретінде рН = 5,5 таңдау амфотерлік қосылыс ретінде оның физикалық–химиялық қасиеттеріне негізделген. Прегабалин иондаудың екі константасына ие:  $pK_{a1} = 4,2$  (карбоксылды топ) және  $pK_{a2} = 10,6$  (амин топ).

Алынған нәтижелер цвиттер–ион нысанындағы прегабалин бар екендігі туралы теориямен үйлеседі. рН = 5,5 диапазонында молекула электрбейтарап жағдайда (изоэлектрлік аймақ), бұл оның гидратациясын және су фазасындағы ерігіштігін азайтады. Бұл аналитті органикалық еріткіштер жүйесіне бөлу үшін қолайлы жағдайлар жасайды және экстракцияның тиімділігін арттырады.

Бес сынақтан өткен органикалық еріткіштерді салыстыру бутанол–этилацетат (1:1) неғұрлым селективті және тиімді экстрагент болып табылатынын растады, ал гексан (5,23%) және этилацетат (4,31%) сияқты полярлық емес еріткіштер экстракцияның ең төменгі нәтижелерін көрсетті. Экстракция еселігін бағалау (1:1) бутанол–этилацетатты үш мәрте алу 82,02% –ға дейін оңтайлы болып табылатынын көрсетті, өйткені жиіліктің одан әрі төрт есе ұлғаюы алу дәрежесінің елеулі өсуіне (80,56%) әкелген жоқ, бұл үш мәрте экстракцияны неғұрлым орынды етеді.

NaCl және  $(NH_4)_2SO_4$  электролиттерін экстракциялық жүйеге енгізумен қосымша эксперименттер алу тиімділігіне оң әсерін көрсетпеді, ал кейбір жағдайларда оның азаюына әкелді, бұл әзірленген сұйықты–сұйықтық экстракциясы үшін ерімталдандырмағыш қосудың қажеттілігінің жоқтығын көрсетеді.

Әзірленген шарттар биологиялық матрицалардан прегабалин экстракциясы үшін қолданылды. Оқшаулау нәтижелері әдістің сенімділігін растады: несептен алудың орташа дәрежесі 63,15% (RSD = 2,06%), ал қан плазмасынан –53,40% (RSD = 2,98%) құрады.

Несептен алудың неғұрлым жоғары пайызы прегабалин бүйрек арқылы іс жүзінде өзгеріссіз шығарылуымен түсіндіріледі [16] және несептегі матрицалық әсер азырақ көрінеді. Қан үлгілеріндегі тиімділіктің төмендеуі прегабалиннің плазма ақуыздарымен және липидтермен байланысуына байланысты неғұрлым айқын матрицалық әсермен байланысты болуы мүмкін, бұл оның экстрагенттің органикалық фазасына толық өтуіне кедергі келтіреді. Дегенмен, шығарудың қол жеткізілген көрсеткіштері, ең бастысы – жоғары өндірілетіндігі (RSD төмен мәндері) сандық талдау үшін әдістеменің валидтілігі мен сенімділігін растайды.

198 нм кезінде тікелей анықтаумен ЖТСХ–УК әдісін таңдау оның қолжетімділігіне, үнемділігіне және алдын ала дериватизациясыз талдау жүргізу мүмкіндігіне негізделген. Бұл сынама даярлау рәсімін айтарлықтай жеңілдетуге және ұшпа немесе флуоресцентті туындыларды алуды талап ететін әдістемелермен салыстырғанда зерттеудің жалпы уақытын қысқартуға, сондай-ақ хромато–масс–спектрометриялық әдістермен салыстырғанда талдаудың өзіндік құнын төмендетуге мүмкіндік береді.

Масс–спектрометриялық детекторы бар сұйық хроматография (СХ–МС/МС) 1 нг/мл деңгейінде сандық анықтау шегімен неғұрлым жоғары сезімталдықты қамтамасыз ететініне қарамастан [17], ЖТСХ–УК таңдалған әдісінің рұқсат ету қабілеті прегабалиннің терапиялық және уытты концентрацияларын сенімді анықтау үшін жеткілікті болып табылады. Біз әзірлеген әдістеде сандық анықтау шегі 1 мкг/мл құрайды, бұл дағдылы химиялық–токсикологиялық талдау үшін барабар шек болып табылады. Бұл қан плазмасындағы прегабалиннің клиникалық маңызды және ықтимал уытты шоғырлануы 1 мкг/мл және одан жоғары диапазонда болуымен расталады [18, 21].

Бұдан басқа, прегабалин үшін басқа әдістерден айырмашылығы, мысалы, 1–фтор–2,4–динитробензолды [19] пайдалана отырып, баған алдындағы дериватизацияның күрделі және көп еңбекті қажет ететін кезеңін талап етеді, біздің әдіс осы кезеңнен құтылуға мүмкіндік береді. Дериватизациялау кезеңінің болмауы жалған нәтижелер тудыруы немесе хроматографиялық бөлінудің шешілуін төмендетуі мүмкін артық дериватизациялаушы реагенттерден ықтимал интерференцияға байланысты проблемаларды жояды [20].

Осылайша, тікелей ЖТСХ–УК талдаумен үйлесімде сұйықты–сұйықтық экстракциясының әзірленген әдістемесі прегабалинді жедел химиялық–токсикологиялық талдау үшін пайдаланылатын сенімді, жоғары мамандандырылған және экономикалық тиімді рәсім болып танылады.

**Қорытынды.** Жүргізілген зерттеу нәтижесінде ЖТСХ–УК әдісімен сандық анықтау үшін қан мен зәр плазмасынан прегабалинді сұйықты–сұйықтық экстракциясының оңтайлы әдістемесі әзірленді. Биологиялық матрицалардан прегабалинді оқшаулау үшін ортаның оңтайлы мәні рН = 5,5 болып табылатыны анықталды. Бұл мәнде аналит молекуласы цвиттер–ион (изоэлектрлік облыс) күйінде болады, бұл оның сулы фазада ерігіштігін барынша азайтады және органикалық еріткішке таралуы үшін қолайлы жағдайлар жасайды.

Экстрагент ретінде 1:1 ара қатынасында бутанол–этилацетат қоспасын пайдалану прегабалинді неғұрлым тиімді алуды қамтамасыз ететіні эксперименталды түрде дәлелденді. Бұл еріткіштер жүйесі алынатын аналиттің жоғары тазалығын сақтай отырып, 53,40%–63,15% деңгейінде алу дәрежесіне қол жеткізуге мүмкіндік береді.

ЖТСХ–УК (198 нм) әзірленген әдістеме жоғары дәлдікпен (3% –дан кем RSD) және 1–100 мкг/мл диапазонындағы сызықтықпен сипатталады. Сандық анықтау шегі (1 мкг/мл) жіті улануларды диагностикалау міндеттеріне толық сәйкес келеді.

Ұсынылған әдіс экономикалық қолжетімді және қымбат тұратын масс–спектрометриялық зерттеулерге шұғыл балама болып табылады. Әдістеме жіті улануға күдікті кезде прегабалинді күнделікті талдау үшін химиялық–токсикологиялық бөлімшелер мен сот–медициналық сараптама зертханаларын практикаға енгізу үшін ұсынылады.

**Мүдделер қақтығысы.** Авторлар мүдделер қақтығысының жоқтығын мәлімдейді.

**Авторлардың үлестері.** Тұжырымдаманы әзірлеу, А.Б. П.Н.; Жоба жазу, П.Н.; Жазу және редакциялау, А.Б., П.Н., З.У.; Деректерді жинау және талдау, П.Н., З.У. К.С., Е.Н.

**Қаржыландыру.** Бұл жұмысты қаржыландыру көздері жоқ.

**Деректердің қолжетімділігі туралы мәлімдеме.** Осы зерттеудің нәтижелерін қолдайтын деректер мақала мәтінінің ішінде қамтылған.

### ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Taylor C, Angelotti T, Fauman E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha2–delta (alpha2–delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *J Epilepsy Res.* 2007; 73(2): 137–50. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2006.09.008>
2. Antunovic M, Vucinic S, Kotur–Stevuljevic J, et al. Rise of pregabalin poisoning and abuse cases in serbia: a ten–year retrospective study. *Int J Gen Med.* 2023; 16:1239–1250. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S405616>
3. Cross AL, Viswanath O, Sherman AL. Pregabalin. [Updated 2024 May 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470341/>
4. Isoardi KZ, Polkinghorne G, Harris K, Isbister GK. Pregabalin poisoning and rising recreational use: a retrospective observational series. *Br J Clin Pharmacol.* 2020; 86(12), 2435–2440. <https://doi.org/10.1111/bcp.14348>
5. Hahn J, Jo Y, Yoo SH, et al. Risk of major adverse events associated with gabapentinoid and opioid combination therapy: A systematic review and meta–analysis. *Front. Pharmacol.* 2022; 13:1009950. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1009950>
6. Schjerning O, Rosenzweig M, Pottegård A, et al. Abuse potential of pregabalin: a systematic review. *CNS Drugs.* 2016; 30(1), 9–25. <https://doi.org/10.1007/s40263–015–0303–6>
7. Zaccara G, Gangemi P, Perucca P, Specchio L. The adverse event profile of pregabalin: a systematic review and meta–analysis of randomized controlled trials. *Epilepsia.* 2011; 52(4), 826–836. <https://doi.org/10.1111/j.1528–1167.2010.02966.x>
8. Kashaba MY, et al. Novel HPLC–UV method for determination of pregabalin in human plasma: application to pharmacokinetic study. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2020; 43 (19–20), 834–840. <https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1773546>
9. Mudiam MK, Chauhan A, Jain R, Ch R, Fatima G, Malhotra E, Murthy RC. Development, validation and comparison of two microextraction techniques for the rapid and sensitive determination of pregabalin in urine and pharmaceutical formulations after ethyl chloroformate derivatization followed by gas chromatography–mass spectrometric analysis. *J Pharm Biomed Anal.* 2012 Nov; 70, 310–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.05.001>

10. Karavadi T, Challa B. Bioanalytical method development and validation of pregabalin in rat plasma by solid phase extraction with HPLC–MS/MS: Application to a pharmacokinetic study. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2014; 37, 130–144. <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.738617>
11. Hitchcock ML, Marginean I. Enantiomeric identification of pregabalin by GC–MS via methylation and S–TPC chiral derivatization. *J Forensic Sci*. 2018; 64(2), 406–412. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13888>
12. Bali A, Gaur P. A novel method for spectrophotometric determination of pregabalin in pure form and in capsules. *Chemistry Central journal*. 2011; 5(59). <https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-59>
13. Ghanem A, Abo el–Atta H, Shabka O, El–Hak S. Detection of pregabalin in urine using Thin Layer Chromatography: an Egyptian study. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*. 2015; 23, 67–80. <https://doi.org/10.21608/mjfmct.2015.47317>
14. Antunovic M, Dzudovic J, Kilibarda V, et al. Validation of the rapid and simple LC–MS/MS method for the quantification of pregabalin in plasma of acutely poisoned patients. *Acta Chromatographica*, 2023; 36(2), 106–113. <https://doi.org/10.1556/1326.2023.01104>
15. ICH M10. ICH Guideline M10 on Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2022. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/M10\\_Guideline\\_Step4\\_2022\\_0524.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/M10_Guideline_Step4_2022_0524.pdf)
16. Patsalos PN. Pregabalin. In: *Antiepileptic drug interactions*. Springer, Cham. 2016; [https://doi.org/10.1007/978-3-319-32909-3\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-319-32909-3_19)
17. Chennuru LN, Choppari T, Nandula RP, et al. Direct separation of pregabalin enantiomers using a zwitterionic chiral selector by High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry and Ultraviolet Detection. *Molecules*. 2016; 21, 1578. <https://doi.org/10.3390/molecules21111578>
18. Limon KN, Sue P. Pregabalin concentrations: establishing ‘normal’ and ‘cause for concern’ concentration ranges in postmortem blood. *Journal of Analytical Toxicology*, 2025; 49 (4), 272–279. <https://doi.org/10.1093/jat/bkaf005>
19. Mostafa M, Mohamed H, Mostaf O, et al. Validated HPLC methodology for pregabalin quantification in human urine using 1–fluoro–2,4–dinitrobenzene derivatization. *Drug Analytical Research*. 2025; 8, 38–43. <https://doi.org/10.22456/2527-2616.143059>
20. Mandal U, Sarkar AK, Gowda K, et al. Determination of pregabalin in human plasma using LC–MS–MS. *Chromatographia*. 2008; 67, 237–243. <https://doi.org/10.1365/s10337-007-0440-2>
21. Rebecca H, Anne DeP, David LB, Tim R, Yale HC, Edward JC. Urine drug testing of chronic pain patients. IV. prevalence of gabapentin and pregabalin. *Journal of Analytical Toxicology*, 2011 35 (6), 357–359, <https://doi.org/10.1093/anatox/35.6.357>

#### Авторлар туралы мәліметтер

@Пархатқызы Наргиз, «Астана медицина университеті» КеАҚ–ның фармацевтикалық пәндер кафедрасының докторанты, Астана, Қазақстан, [nargizparkhatkyzy@gmail.com](mailto:nargizparkhatkyzy@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0001-5115-9578>.

Шукирбекова Алма Боранбековна, ф.ғ.д., «Астана медицина университеті» КеАҚ–ның фармацевтикалық пәндер кафедрасының профессоры, Астана, Қазақстан, [shukirbekova.a@gmail.com](mailto:shukirbekova.a@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3316-5584>.

Усманиева Зумрат Уктамовна, ф.ғ.д., профессор, Білім беру және зерттеулер фармацевтикалық институтының аналитикалық және фармацевтикалық химия кафедрасының меңгерушісі, Ташкент, Өзбекстан, [usmanalieva1970@mail.ru](mailto:usmanalieva1970@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0000-1583-3863>.

Алтынбеков Куаныш Сагатович, м.ғ.д., Астана қаласы әкімдігінің «Қалалық психикалық денсаулық орталығы» ШЖҚ МКК-ның директоры, «Астана медицина университеті» КеАҚ-ның психиатрия, наркология және клиникалық психология кафедрасының құрамдастырылған профессоры, Астана, Қазақстан, [kaltynbekov595@gmail.com](mailto:kaltynbekov595@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3755-0914>.

Адилбеков Ерлан Нурланович, магистр, «ProLabSupport (ПроЛабСаппорт)» ЖШС Оқу орталығының менеджері, Астана, Қазақстан, [yerlan.a@prolabsupport.kz](mailto:yerlan.a@prolabsupport.kz), <https://orcid.org/0000-0002-2621-5646>.

#### **Сведения об авторах**

@Пархатқызы Наргиз, докторант кафедры фармацевтических дисциплин НАО «Медицинский университет Астана», Астана, Казахстан. [nargizparkhatkyzy@gmail.com](mailto:nargizparkhatkyzy@gmail.com)  
<https://orcid.org/0009-0001-5115-9578>.

Шукирбекова Алма Боранбековна, д.ф.н., профессор кафедры фармацевтических наук НАО «Медицинский университет Астана», Астана, Казахстан, [shukirbekova.a@gmail.com](mailto:shukirbekova.a@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3316-5584>.

Усманиева Зумрат Уктамовна, д.ф.н., профессор, заведующая кафедры аналитической и фармацевтической химии Фармацевтического института образования и исследований. Ташкент, Узбекистан, [usmanalieva1970@mail.ru](mailto:usmanalieva1970@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0000-1583-3863>.

Алтынбеков Куаныш Сагатович, д.м.н., директор ГКП на ПХВ «Городской центр психического здоровья» акимата города Астана, ассоциированный профессор кафедры психиатрии, наркологии и клинической психологии НАО «Медицинский университет Астана», Астана, Казахстан, [kaltynbekov595@gmail.com](mailto:kaltynbekov595@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3755-0914>.

Адилбеков Ерлан Нурланович, магистр, менеджер Учебного центра ТОО «ProLabSupport (ПроЛабСаппорт)», Астана, Казахстан, [yerlan.a@prolabsupport.kz](mailto:yerlan.a@prolabsupport.kz), <https://orcid.org/0000-0002-2621-5646>.

#### **Information about authors**

@Parkhatkyzy Nargiz, PhD student, Department of Pharmaceutical Disciplines, NJSC «Astana Medical University», Astana, Kazakhstan, [nargizparkhatkyzy@gmail.com](mailto:nargizparkhatkyzy@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0001-5115-9578>.

Shukirbekova Alma Boranbekovna, PhD, Professor of the Department of Pharmaceutical Sciences, NJSC «Astana Medical University», Astana, Kazakhstan, [shukirbekova.a@gmail.com](mailto:shukirbekova.a@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3316-5584>.

Usmanalieva Zumrat Uktamovna, PhD, Professor, Head of the Department of Analytical and Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Institute of Education and Research, Tashkent, Uzbekistan, [usmanalieva1970@mail.ru](mailto:usmanalieva1970@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0000-1583-3863>.

Altynbekov Kuanish Sagatovich, PhD, Director of the SCE on the REM «City Mental Health Center» of the Akimat of Astana, Associate Professor of the Department of Psychiatry, Narcology and Clinical Psychology, NJSC «Astana Medical University», Astana, Kazakhstan, [kaltynbekov595@gmail.com](mailto:kaltynbekov595@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3755-0914>.

Adilbekov Erlan Nurlanovich, Master, Manager of the Training Center of «ProLabSupport» LLP, Astana, Kazakhstan, [yerlan.a@prolabsupport.kz](mailto:yerlan.a@prolabsupport.kz), <https://orcid.org/0000-0002-2621-5646>.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЭКСТРАКЦИИ ПРЕГАБАЛИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Н. ПАРХАТҚЫЗЫ<sup>1</sup>, А.Б. ШУКИРБЕКОВА<sup>1</sup>, З.У. УСМАНАЛИЕВА<sup>2</sup>,  
К.С. АЛТЫНБЕКОВ<sup>3</sup>, Е.Н. АДІЛЬБЕКОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> НАО «Медицинский университет Астана», Астана, Казахстан

<sup>2</sup> Фармацевтический институт образования и исследований, Ташкент, Узбекистан

<sup>3</sup> ГКП на ПХВ «Городской центр психического здоровья» акимата города Астаны, Астана, Казахстан

<sup>4</sup> ТОО «ProLabSupport (ПроЛабСаппорт)», Астана, Казахстан

### Аннотация

**Введение.** В случаях острого отравления эффективное оказание экстренной медицинской помощи требует точного установления причины интоксикации. В рамках химико–токсикологического анализа ключевое значение имеет идентификация токсического вещества в биологических объектах, таких как плазма крови и моча. Одним из наиболее важных этапов анализа является его выделение из исследуемых матриц.

**Цель.** Разработка методики экстракции прегабалина из биологических жидкостей (плазмы крови и мочи).

**Материалы и методы.** Для изучения экстракции прегабалина из водных растворов применяли метод жидкость–жидкостной экстракции с использованием стандартных растворов прегабалина с концентрацией 100 мкг/мл. Для разработки оптимальной методики изолирования прегабалина из биологических жидкостей проводили серию экспериментов по экстракции из водной среды при различных условиях. Оценивали влияние свойств органических растворителей на эффективность извлечения с использованием растворителей различной полярности, а также влияние pH среды на извлечение прегабалина. Эксперименты по разработке методики изолирования прегабалина из плазмы крови и мочи проводили с использованием модельных смесей с концентрацией прегабалина 1, 10 и 100 мкг/мл. В качестве экстрагента была апробирована смесь бутанол–этилацетат в соотношении 1:1.

**Результаты.** По результатам проведенных экспериментов установлено, что наибольшая эффективность извлечения прегабалина достигается при трехкратной экстракции из водной среды с использованием смеси бутанол–этилацетат (1:1) при pH = 5,5. Указанные условия признаны оптимальными и использовались для изолирования прегабалина из образцов плазмы крови и мочи.

**Заключение.** В результате исследования разработана оптимальная методика жидкость – жидкостной экстракции прегабалина из плазмы крови и мочи, предназначенная для количественного определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием. Методика валидирована по следующим показателям: степень извлечения из мочи 63,15%, из плазмы крови – 53,40%, линейность (1–100 мкг/мл), относительное стандартное отклонение (2,98% для плазмы крови и 2,06% для мочи), предел обнаружения (LOD: для плазмы крови – 0,3 мкг/мл, для мочи – 0,3 мкг/мл) и нижний предел количественного определения (LLOQ: 1 мкг/мл для плазмы крови и мочи). Установлено, что оптимальными условиями изолирования прегабалина из биологических жидкостей являются трехкратная экстракция смесью бутанол–этилацетат (1:1) при pH = 5,5.

**Ключевые слова:** прегабалин, жидкость–жидкостная экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием, биологические жидкости.

## DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE EXTRACTION OF PREGABALIN FROM BIOLOGICAL FLUIDS

N. PARKHATKYZY<sup>1</sup>, A.B. SHUKIRBEKOVA<sup>1</sup>, Z.U. USMANALIEVA<sup>2</sup>,  
K.S. ALTYNBEKOV<sup>3</sup>, E.N. ADILBEKOV<sup>4</sup>

<sup>1</sup> NJSC «Astana Medical University», Astana, Kazakhstan

<sup>2</sup> Pharmaceutical Institute of Education and Research, Tashkent, Uzbekistan

<sup>3</sup> SCE on the REM «City Mental Health Center» of the Akimat of Astana, Astana, Kazakhstan

<sup>4</sup> «ProLabSupport» LLP, Astana, Kazakhstan

### Abstract

**Introduction.** In cases of acute poisoning, effective emergency medical care requires accurate identification of the cause of intoxication. Within the framework of chemical and toxicological analysis, the identification of toxic substances in biological matrices such as blood plasma and urine are of key importance. One of the most critical stages of the analysis is their isolation from the studied matrices.

**Aim.** To develop a method for the extraction of pregabalin from biological fluids (blood plasma and urine).

**Materials and Methods.** The extraction of pregabalin from aqueous solutions was studied using the liquid–liquid extraction method with standard pregabalin solutions at a concentration of 100 µg/mL. To develop an optimal method for isolating pregabalin from biological fluids, a series of extraction experiments from an aqueous medium under various conditions was conducted. The effect of organic solvent properties on extraction efficiency was evaluated using solvents of different polarities, as well as the influence of pH on pregabalin recovery. Experiments aimed at developing a method for isolating pregabalin from blood plasma and urine were carried out using model mixtures with pregabalin concentrations of 1, 10, and 100 µg/mL. A butanol–ethyl acetate mixture (1:1) was tested as the extraction solvent.

**Results.** The results showed that the highest extraction efficiency of pregabalin was achieved by triple extraction from the aqueous medium using a butanol–ethyl acetate mixture (1:1) at pH 5.5. These conditions were considered optimal and were applied for the isolation of pregabalin from blood plasma and urine samples.

**Conclusion.** An optimal method for the liquid–liquid extraction of pregabalin from blood plasma and urine was developed for its quantitative determination by high–performance liquid chromatography with ultraviolet detection. The method was validated in terms of recovery from urine 63.15%, from blood plasma – 53.40%, linearity (1–100 µg/mL), relative standard deviation (2.98% for blood plasma and 2.06% for urine), limit of detection (LOD: 0.3 µg/mL for both matrices), and lower limit of quantification (LLOQ: 1 µg/mL). It was established that the optimal conditions for isolating pregabalin from biological fluids involve triple extraction with a butanol – ethyl acetate mixture (1:1) at pH 5.5.

**Key words:** pregabalin, liquid–liquid extraction, high–performance liquid chromatography with ultraviolet detection, biological fluids.

УДК 578.7:616.98:575.113

МРНТИ 34.25.21

DOI: [10.53065/kaznmu.2026.76.1.004](https://doi.org/10.53065/kaznmu.2026.76.1.004)

Поступил в редакцию: 21.01.2026

Принято к публикации: 19.03.2026

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ВИРУСА КРЫМ – КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В ПОПУЛЯЦИИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ ТУРКЕСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ S И L СЕГМЕНТОВ

Т.И. НУРМАХАНОВ<sup>1</sup>, Н.А. ТУРЕБЕКОВ<sup>1</sup>, А.К. РЫСБЕКОВА<sup>1</sup>, С.К. УМАРОВА<sup>1</sup>,  
Б.К. АЙМАХАНОВ<sup>1</sup>, М.В. КУЛЕМИН<sup>2</sup>, Р.М. БОРАНБАЕВА<sup>3</sup>, Д.К. КАМАЛОВА<sup>4</sup>,  
А.Б. ШЕВЦОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева» Алматы, Казахстан

<sup>2</sup> РГУ «Шымкентская противочумная станция» Комитета санитарно–эпидемиологического контроля МЗ РК, Шымкент, Казахстан

<sup>3</sup> КГП на ПХВ «Кызылординская областная инфекционная больница» Управления здравоохранения Кызылординской области, Кызылорда, Казахстан

<sup>4</sup> РГП «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки МНВО РК, Астана, Казахстан

### Аннотация

**Введение.** Согласно классификации Всемирной Организации Здравоохранения, вирус Крым–Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) относится к патогенам высокого приоритета из–за высокой смертности, отсутствия лицензированных вакцин и специфической противовирусной терапии. В Республике Казахстан природные очаги ККГЛ расположены в Кызылординской, Жамбылской и Туркестанской областях, где ежегодно регистрируются случаи данного заболевания.

**Цель.** Проведение генетической характеристики изолятов РНК вируса ККГЛ, выявленных в клещах *Hyalomma asiaticum* на территории Туркестанской области в 2025 году и определение их филогенетического положения.

**Материалы и методы.** Выполнено секвенирование четырех образцов РНК вируса ККГЛ с последующим анализом нуклеотидных последовательностей с использованием базы данных GenBank (NCBI) и методов филогенетического анализа.

**Результаты.** Из четырех исследованных образцов, амплификация наблюдалась в трех. Филогенетический анализ S и L фрагментов генома вируса ККГЛ показал, что все выявленные в Туркестанской области изоляты, относятся к генотипу Asia 2. Анализ S–фрагмента выявил высокую степень нуклеотидной гомологии (до 97,9%) со штаммами, циркулирующими в Казахстане и Таджикистане. Филогенетическое дерево L–фрагмента продемонстрировало кластеризацию одного из изолятов с Казахстанскими штаммами, при этом максимальная идентичность (до 98,2%) отмечена со штаммом из Таджикистана. Парный сравнительный анализ показал 100% идентичность между изолятами №20 и №21, тогда как изолят №22 характеризовался большей дивергенцией (до 2,6%) и относительным генетическим удалением от остальных образцов. Кластер исследованных изолятов имел высокую статистическую поддержку значимость (95–98%).

**Заключение.** Полученные результаты подтверждают принадлежность исследованных изолятов к среднеазиатской линии Asia 2 вируса ККГЛ и указывают на циркуляцию данного генотипа в природном очаге Туркестанской области. Среди исследованных образцов не выявлено признаков присутствия других генотипов вируса. Полученные данные согласуются с ранее опубликованными результатами о доминировании генотипа Asia 2 в регионе Центральной Азии. Проведенное исследование подчеркивает значимость молекулярно–генетических методов и секвенирования для уточнения филогенетической принадлежности вируса и мониторинга его генетического разнообразия в природных очагах.

**Ключевые слова:** Крым–Конго геморрагическая лихорадка, Orthonairovirus, Nyalomma, филогения, нуклеотидная последовательность, генотип, Казахстан.

**Введение.** Крым–Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ) – одна из наиболее тяжелых форм вирусных геморрагических лихорадок, эндемичных для стран Африки, Азии, Восточной Европы и Ближнего Востока. Возбудитель ККГЛ относится к роду *Orthonairovirus* семейства *Nairoviridae* [1, 2]. Впервые научное обоснование ККГЛ как самостоятельной природно–очаговой вирусной инфекции было дано во время вспышки заболевания среди военнослужащих в Крыму в 1944 году М. П. Чумаковым [3]. В 1956 году в Бельгийском Конго был изолирован вирус из крови больного ребенка, при изучении которого были получены доказательства антигенной идентичности возбудителя ККГЛ и вируса лихорадки Конго [4]. В начале 1970–х годов в международной номенклатуре было принято объединенное название – вирус Крым–Конго геморрагической лихорадки (*Creamean–Congo hemorrhagic fever virus, CCHFV*) [5, 6].

В настоящее время ККГЛ представляет серьезную проблему для здравоохранения Республики Казахстан. Природные очаги инфекции расположены на территориях Кызылординской, Жамбылской и Туркестанской областей. В последние годы отмечается расширение границ очаговых территорий ККГЛ, о чем свидетельствует регистрация случаев заболевания в районах, где данная инфекция не выявлялась в течение нескольких десятилетий. Мониторинг эпидемиологической ситуации по ККГЛ в Республике Казахстан в 2023–2025 гг. показал, что наибольшее число случаев было зарегистрировано в Кызылординской (34 случая) и Туркестанской (31 случай) областях, где показатели заболеваемости значительно превышали среднереспубликанский уровень. В этих регионах также отмечены высокие показатели инфицированности клещей вирусом ККГЛ – 3,9% и 5,5% соответственно [7].

Важным инструментом лабораторной диагностики и эпидемиологического мониторинга ККГЛ являются молекулярно–генетические и серологические методы исследования. Диагностика заболевания, а также мониторинг зараженности клещей вирусом ККГЛ, в основном включают проведение ПЦР и иммуноферментного анализов. В последние годы внедрение методов молекулярной биологии в традиционную эпидемиологию значительно расширило возможности мониторинга вспышек и профилактики вирусных заболеваний. Эти подходы включают генотипические и фенотипические методы, позволяющие определять конкретные штаммы вируса, циркулирующие в популяции, что способствует совершенствованию диагностики, разработке терапевтических и вакцинных стратегий, а также отслеживанию распространения патогенов [8].

Наряду с традиционными методами мониторинга в Казахстане в последние годы активно применяется геномный анализ с использованием технологий секвенирования и

биоинформатики, что является мощным инструментом для изучения вспышек вирусных инфекций и углубленного понимания их молекулярной эпидемиологии [9–11]. Несмотря на то, что генетическое разнообразие вируса ККГЛ на территории Казахстана ранее становилось объектом исследований, данные по природным очагам инфекции требуют регулярного обновления в связи с высокой генетической изменчивостью вируса. Целью нашей работы было определить генетическую характеристику вируса Крым–Конго геморрагической лихорадки, обнаруженную в клещах *Hyalomma asiaticum* на территории Туркестанской области в 2025 г.

**Материалы и методы.** Идентификация клещей проводилась на основе их морфологических признаков под стереомикроскопом с использованием многоканального электронного определителя [12] и описания видов клещей Филипповой и Хоракком [13]. Идентификация клещей проводилась до видового уровня.

Выделение РНК ККГЛ из суспензий клещей было произведено с помощью коммерческого набора «QIAampViral RNA Mini Kit (250)» (Qiagen, Германия), согласно инструкции фирмы производителя [14].

Гомогенизацию клещей проводили в пробирках объемом 2,0 мл, не содержащих ДНКазу/РНКазу, в среде DMEM с добавлением циркониево–кремниевых шариков диаметром 5 мм. Механическое разрушение тканей осуществляли на гомогенизаторе TissueLyser II (QIAGEN) с частотой 30 циклов в секунду в течение 3 мин. в соответствии с рекомендациями производителя для обработки членистоногих [15].

Детекцию РНК вируса ККГЛ проводили методом обратной транскрипции с последующей ПЦР в режиме реального времени (ОТ–ПЦР–РВ) с использованием коммерческого набора реагентов «АмплиСенс® ССНФV–FL», валидированного для диагностики ККГЛ. Амплификацию выполняли на приборе Rotor–Gene 3000 (QIAGEN) в соответствии с инструкцией производителя [16].

Обратная транскрипция и секвенирование. Синтез к–ДНК проводили методом обратной транскрипции с использованием набора реагентов «Реверта L» (Россия). Амплификацию фрагментов S–, L– и M–сегментов проводили методом «nested–ПЦР» с использованием специфических к вирусу ККГЛ праймеров [17, 18].

Реакцию ПЦР проводили в объеме 30 мкл, включая 5 мкл кДНК или 5 мкл продукта первого раунда ПЦР, 20 пмоль сегмент–специфических праймеров, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1× буфера для ПЦР, 1× Q–Solution, 200 мкМ каждого дНТФ и 1,5 ед. HotStarTaq Plus ДНК–полимеразы (Qiagen, США).

Амплификацию выполняли в термоциклере T100 (Bio–Rad, США) при следующих условиях: начальная денатурация – 5 мин при 95 °С; 35 циклов (денатурация при 95 °С – 1 мин, отжиг праймеров при 58 °С (49 °С при втором раунде ПЦР) – 1 мин, элонгация при 72 °С – 1 мин); заключительная элонгация – 10 мин при 72 °С.

В ПЦР–амплификации продукты очищали экзонуклеазой I (ExoI) и щелочной фосфатазой (SAP) как описано ранее [19]. Очищенные продукты ПЦР были помечены флуоресцентными красителями с использованием BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Applied биосистемы. Образцы секвенировали с помощью автоматического анализатора ABI 3730 XL ДНК (Applied Biosystems, США).

Анализ последовательностей геномов вирусов проводился с использованием базы данных GenBank (NCBI). Для вируса Конго–Крымской геморрагической лихорадки – участок N–гена S–, L–сегментов. На основе выбранных последовательностей были спроектированы праймеры и флуоресцентно меченые зонды с использованием программ Primer–BLAST и OligoAnalyzer. Проверка «in silico» (в компьютерной модели)

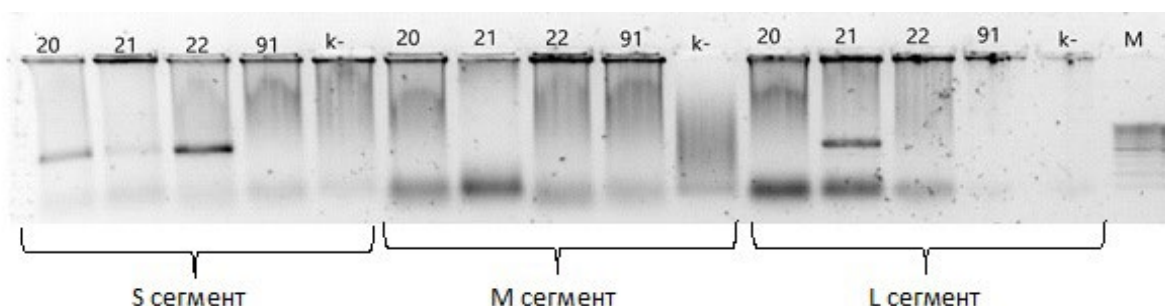
подтвердила отсутствие неспецифичных совпадений с другими ортонайровирусами и флавивирусами (Таблица 1).

**Таблица 1.** Наборы внешних и внутренних праймеров, использованных для постановки двух раундовой ПЦР

Наименование	Последовательность (5'–3')	Размер продукт а б.р.	Мишень	Ссылка
Праймеры для первого раунда амплификации				
S-rna-CCHF-F1	acgcccacagtgttctcttgagtg	738	S segment	DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
S-rna-CCHF-R1	caaggcctgttgcracaagtgctat			DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
M-CCHF-Kuhn-F	caaagaaatacttgcggcacg	956	M segment	12
M-CCHF-NCB-R1	cctyttacaccaytctagyargccttc			DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
L-CCHF-NCB-F1	cttamgaggatgctrctgacaa	821	L segment	DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
L-CCHF-NCB-R1	ttgtagarcrtataagaatgtga			DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
Праймеры для второго раунда амплификации				
Burt-CCHF-F1	tggacaccttcacaaactc	536	S segment	13
Burt-CCHF-R1	gacaaattccctgcacca			
M-CCHF-NCB-F2	tcagtagtaagtgttaactttgag	847	M segment	DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
M-CCHF-NCB-R2	ccttgaggnaangtcaagattat			DOI: 10.31082/1728-452X-

				2018–195–9–54–60
L–CCHF–NCB–F2	tggagayggtgatgtgtttacagc	608	L segment	DOI: 10.31082/1728–452X–2018–195–9–54–60
L–CCHF–NCB–R2	gctgcatatgycctttatycctgt			DOI: 10.31082/1728–452X–2018–195–9–54–60

**Результаты.** Ранее нами был проведен мониторинг зараженности иксодовых клещей вирусом ККГЛ в Туркестанской области, результаты которого подтвердили наличие РНК вируса в популяциях клещей *Hyalomma asiaticum*, снятых с овец в Созакском районе, и *H. scupense* с коров в Мактааральском районе [22]. Однако для понимания молекулярной эволюции и филогенетического происхождения циркулирующих штаммов требовалось проведение секвенирования. В настоящей работе представлены результаты генетического анализа трех выбранных положительных изолятов. Из пулов положительных проб, выявленных в ходе предыдущего исследования, для секвенирования были отобраны четыре образца показавшие положительный результат в ПЦР образец №20 Ст – 37.82 (Созакский р–н), №21 Ст – 21.34 (Созакский р–н), №22 Ст – 34.80 (Созакский р–н), №91 Ст – 36 (Мактааральский р–н). Анализ показал, что специфические полосы, соответствующие целевому фрагменту S–сегмента, четко визуализировались в трех образцах (№20, №21 и №22). В то же время, амплификация фрагмента L–сегмента оказалась успешной только для одного образца (№21), где была выявлена полоса ожидаемой молекулярной массы. При анализе фрагментов M–сегмента положительных результатов во всех четырех исследованных пробах получено не было (Рисунок 1).



**Рисунок 1.** Результаты электрофоретическое разделение продуктов амплификации четырех образцов вируса ККГЛ от клещей *Hyalomma asiaticum* из Туркестанской области

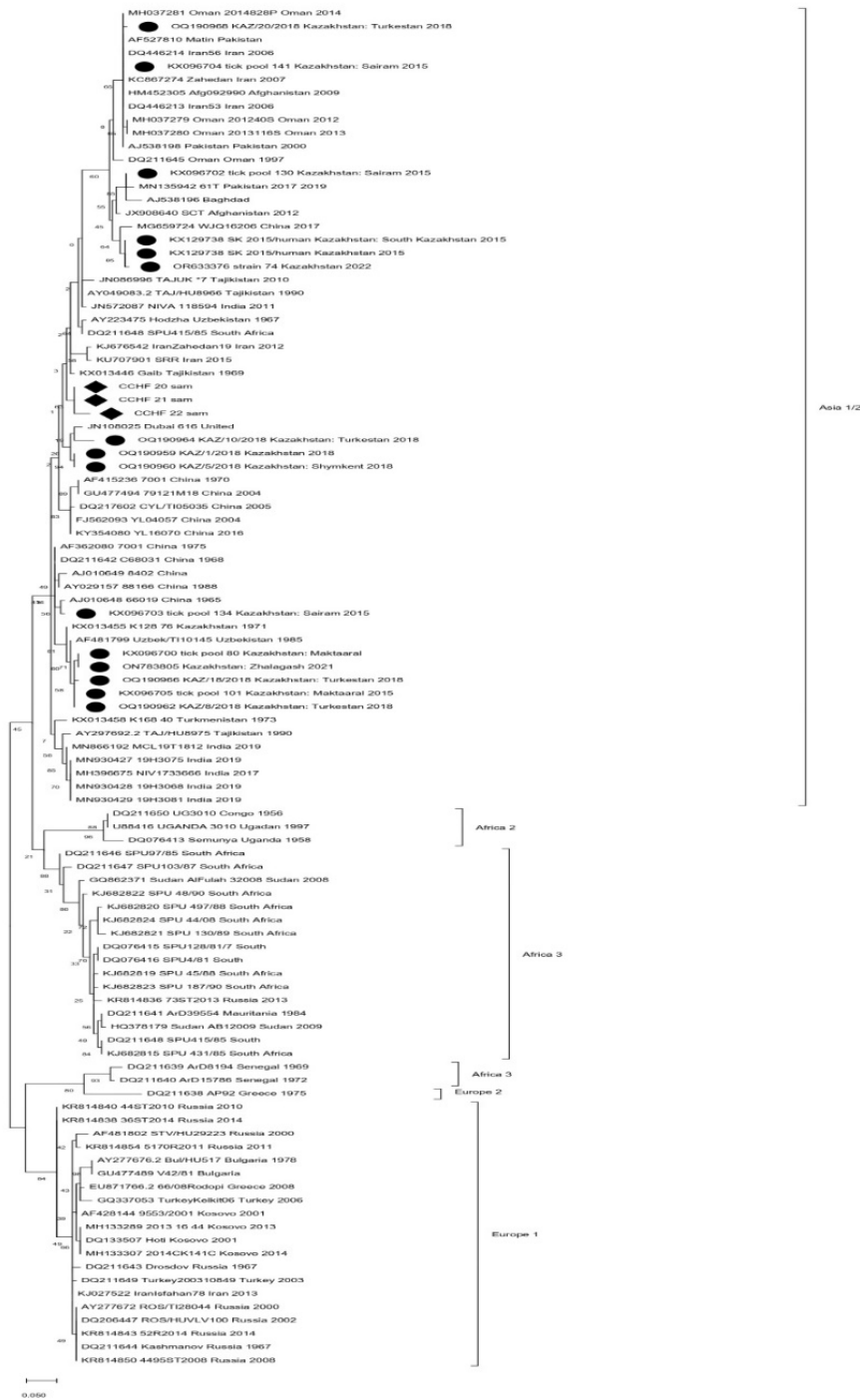
Необходимо отметить, что из четырех образцов, отобранных по результатам скрининговой ПЦР в реальном времени, один изолят (№91) не показал специфической амплификации фрагментов S, M и L–сегментов при постановке классической ПЦР. Отсутствие видимых продуктов амплификации на электрофореграмме сделало

невозможным дальнейшее секвенирование данного образца методом Сенгера. Для систематизации данных о происхождении и характеристиках исследуемых проб, основные сведения об изолятах, включая географическую локализацию, вид переносчика и результаты молекулярного скрининга, были сведены в общую панель. Подробная характеристика образцов вируса ККГЛ, отобранных для генетического анализа, представлена в таблице 2.

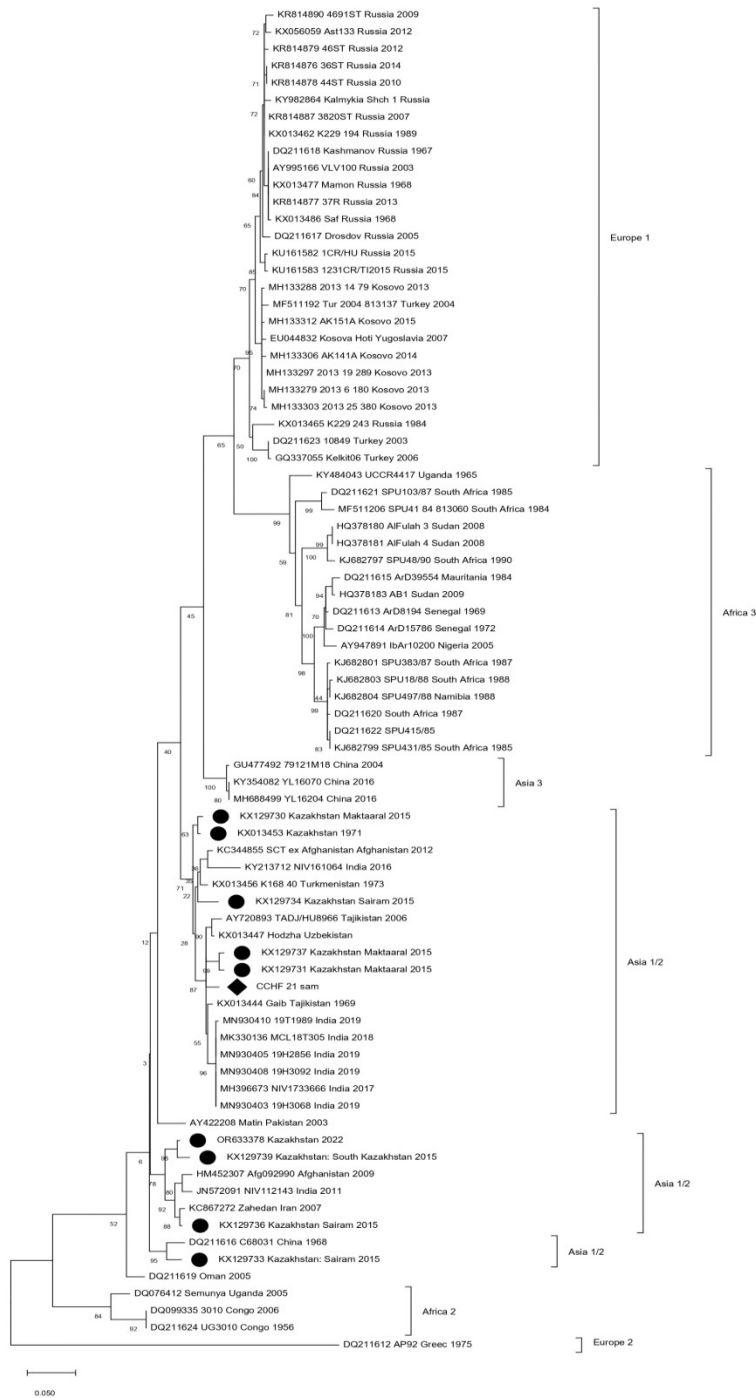
**Таблица 2.** Характеристика изолятов вируса ККГЛ, выделенных из клещей *Hyalomma asiaticum* (Туркестанская область 2025 г.)

Название изолята	Место сбора (район)	Биологический хозяин	Секвенированный сегмент
ССHFV(20)/Turkestan/S1/2025	Созакский	<i>Hyalomma asiaticum</i>	S
ССHFV(21)/Turkestan/S2/2025	Созакский	<i>Hyalomma asiaticum</i>	S, L
ССHFV(22)/Turkestan/SL3/2025	Созакский	<i>Hyalomma asiaticum</i>	S

По результатам филогенетического анализа, три исследованных изолята из Туркестанской области № 20, 21, 22 вошли в состав одного кластера и отнесены к генотипу Asia 2. Построенные филогенетические деревья демонстрирует четкое разделение вируса ККГЛ на основные мировые генотипы. Все три изолята, выделенные из клещей *H. asiaticum* в Туркестанской области, кластеризуются в пределах линии Asia 2 (Рисунки 2, 3).



**Рисунок 2.** Дерево максимального правдоподобия штаммов вируса Крым – Конго геморрагической лихорадки на основе полных последовательностей S сегментов. Черные кружки представляют штаммы из Казахстана. Секвенированные в данном исследовании штаммы обозначены черными ромбами



**Рисунок 3.** Дерево максимального правдоподобия штаммов вируса Крым – Конго геморрагической лихорадки на основе полных последовательностей L сегментов. Черные кружки представляют штаммы из Казахстана. Секвенированный в данном исследовании штамм на филогенетическом дереве обозначен черным ромбом.

Анализ показал высокое генетическое сходство исследованных изолятов (97,9% по S–сегменту и 98,2% по L–сегменту) со штаммами, ранее выявленными в Центрально–Азиатском регионе. Полученные данные указывают на принадлежность

анализированных изолятов к генотипу Asia 2 и могут свидетельствовать о его продолжающейся циркуляции в природных очагах Туркестанской области.

В то же время, с учетом ограниченного числа секвенированных образцов, полученные результаты следует рассматривать как предварительные. Включение данных последовательностей в анализ расширяет представления о филогеографическом распределении вируса ККГЛ на юге Казахстана и демонстрирует значимость секвенирования для молекулярного мониторинга возбудителя.

#### *Филогенетический анализ S-фрагмента*

В соответствии с общепринятой классификацией, S-сегмент вируса Crimean–Congo hemorrhagic fever virus подразделяется на восемь генотипов: Asia 1–2, Africa 1–3 и Europe 1–3. Все изоляты, секвенированные в настоящем исследовании, кластеризовались в пределах генотипа Asia 2, формируя единую группу с ранее описанными штаммами из Казахстана и Таджикистана (рисунок 2). Анализ нуклеотидной гомологии показал, что исследованные изоляты демонстрируют высокую степень сходства (97,1–97,9%) с казахстанскими штаммами. Максимальная идентичность (до 97,9%) была выявлена со штаммами, циркулирующими в Таджикистане. Внутригрупповая дивергенция была низкой, что свидетельствует о генетической однородности циркулирующих вариантов S-сегмента в регионе.

#### *Филогенетический анализ L-фрагмента.*

Филогенетический анализ L-сегмента (Рисунок 3) показал, что исследованный изолят кластеризуется с ранее описанными штаммами из Казахстана (KX129730, KX013453), что указывает на его принадлежность к генотипу Asia 2. Наибольшая нуклеотидная идентичность (до 98,2%) отмечена со штаммом из Таджикистана (KX013447). Полученный результат подтверждает близкое филогенетическое родство исследованного изолята со штаммами, циркулирующими в странах Центральной Азии.

Нами был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей изолятов вируса ККГЛ с помощью программного обеспечения DNASTAR MegAlign. Построена матрица, отражающая степень генетического родства между изолятами № 20, 21, 22 и референтами, взятых из Международной базы данных GenBank (Рисунок 4).

**S segment**

		Percent Identity															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Divergence	1	■	98.1	97.5	97.5	94.9	99.4	99.4	98.1	93.6	99.4	99.4	99.4	97.5	98.7	1	HU8966_Tajikistan_1990
	2	1.9	■	96.8	96.8	94.3	97.5	97.5	96.2	94.3	97.5	97.5	97.5	96.8	99.4	2	AY223475_Hodzha_Uzbekistan_1967
	3	2.6	3.3	■	100.0	97.5	96.8	96.8	95.5	94.9	96.8	96.8	96.8	97.5	97.5	3	CCHF_20_sam
	4	2.6	3.3	0.0	■	97.5	96.8	96.8	95.5	94.9	96.8	96.8	96.8	97.5	97.5	4	CCHF_21_sam
	5	5.3	6.0	2.6	2.6	■	94.3	94.3	93.0	92.4	94.3	94.3	94.3	94.9	94.9	5	CCHF_22_sam
	6	0.6	2.6	3.3	3.3	6.0	■	100.0	97.5	93.0	100.0	100.0	100.0	96.8	98.1	6	JF922679_NIV_1040532_India_2011
	7	0.6	2.6	3.3	3.3	6.0	0.0	■	97.5	93.0	100.0	100.0	100.0	96.8	98.1	7	JF922681_NIV_10405051_India_2011
	8	1.9	4.0	4.6	4.6	7.4	2.6	2.6	■	91.7	97.5	97.5	97.5	95.5	96.8	8	JN086996_TAJUK_7_Tajikistan_2010
	9	6.8	6.1	5.4	5.4	8.2	7.5	7.5	8.9	■	93.0	93.0	93.0	94.9	93.6	9	JN108025_Dubai_616_United_Arab_Emirates
	10	0.6	2.6	3.3	3.3	6.0	0.0	0.0	2.6	7.5	■	100.0	100.0	96.8	98.1	10	JN572087_NIVA_118594_India_2011
	11	0.6	2.6	3.3	3.3	6.0	0.0	0.0	2.6	7.5	0.0	■	100.0	96.8	98.1	11	JN572089_NIV_112143_India_2011
	12	0.6	2.6	3.3	3.3	6.0	0.0	0.0	2.6	7.5	0.0	0.0	■	96.8	98.1	12	JX051650_HSADL_India_2011
	13	2.6	3.3	2.6	2.6	5.3	3.3	3.3	4.6	5.4	3.3	3.3	3.3	■	97.5	13	KX013446_Gaib_Tajikistan_1969
	14	1.3	0.6	2.6	2.6	5.3	1.9	1.9	3.3	6.8	1.9	1.9	1.9	2.6	■	14	KX013449_Hodzha_Uzbekistan_1967

**L segment**

		Percent Identity														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Divergence	1	■	99.0	96.1	96.1	97.7	97.4	96.6	96.6	96.6	96.6	96.4	96.6	96.6	1	KX129737_Kazakhstan_Maktaaraal_2015
	2	1.0	■	96.1	96.1	97.7	96.9	96.6	96.6	96.6	96.6	96.4	96.6	96.6	2	KX129731_Kazakhstan_Maktaaraal_2015
	3	3.8	3.7	■	96.4	97.4	97.2	96.9	96.9	96.9	96.9	96.6	96.9	96.9	3	CCHF_21_sam
	4	4.0	4.0	3.5	■	97.4	98.4	96.9	96.9	96.9	96.9	96.6	96.9	96.9	4	HU8966_Tajikistan_2006
	5	2.4	2.4	2.4	2.7	■	98.2	98.4	98.4	98.4	98.4	98.2	98.4	98.4	5	KX013444_Gaib_Tajikistan_1969
	6	2.7	3.2	2.7	1.6	1.9	■	97.7	97.7	97.7	97.7	97.4	97.7	97.7	6	KX013447_Hodzha_Uzbekistan_1967
	7	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	■	100.0	100.0	100.0	99.7	100.0	100.0	7	MK330136_MCL18T305_India_2018
	8	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	0.0	■	100.0	100.0	99.7	100.0	100.0	8	MN930403_19H3068_India_2019
	9	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	0.0	0.0	■	100.0	99.7	100.0	100.0	9	MN930405_19H2856_India_2019
	10	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	0.0	0.0	0.0	■	99.7	100.0	100.0	10	MN930408_19H3092_India_2019
	11	3.8	3.8	3.2	3.5	1.9	2.7	0.3	0.3	0.3	0.3	■	99.7	99.7	11	MN930410_19T1989_India_2019
	12	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	■	100.0	12	MN396673_NIV1733666_India_2017
	13	3.5	3.5	2.9	3.2	1.6	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	■	13	MN930403_19H3068_India_2019

**Рисунок 4.** Процент идентичности/расхождения последовательностей S сегментов (изоляты № 20, 21, 22) и L сегментов (изолят № 21) с ближайшими соседями

Изоляты от клещей № 20, № 21 согласно проведенному сравнению на матрице попарного сходства нуклеотидных последовательностей вируса ККГЛ образцы идентичны на 100% между собой (дивергенция 0,0). Эти изоляты наиболее близки к изолятам из Таджикистана (KX013446\_Gaib\_Tajikistan\_1969) и Узбекистана (KX013449\_Hodzha\_Uzbekistan\_1967) с процентом идентичности 97,5%. Изолят № 22 заметно отличается от № 20, № 21 сходство составляет 97,5% (дивергенция 2,6). Изолят № 22 также имеет родство со штаммами из Узбекистана и Таджикистана (сходство 94,9%) однако уровень отличия от всех остальных в таблице выше, чем у изолятов № 20, № 21

**Обсуждение.** Результаты филогенетического анализа (Рисунки 2, 3) демонстрируют, что все три исследованных изолята вируса Крым–Конго геморрагической лихорадки (№ 20, № 21 и № 22), выявленные на территории Туркестанской области, относятся к генетической линии Asia 2. Изоляты формируют выраженный кластер с высокой статистической поддержкой (95–98%), что свидетельствует об их тесном эволюционном родстве между собой. Высокая степень сходства наблюдается со штаммами, выделенными в 2024 г в Арыском районе Туркестанской области (номера Gen Bank: PV646618.1, PV646617.1), что указывает на относительную консервативность генофонда вируса ККГЛ в данном природном очаге.

Полученные последовательности дополняют имеющиеся данные о генетическом разнообразии вируса ККГЛ в Южном Казахстане и подтверждают, что циркулирующие в регионе варианты вируса относятся к среднеазиатской линии Asia 2. Включение новых последовательностей в филогенетический анализ позволяет уточнить положение

локальных изолятов внутри данного генотипа и расширяет представления о его пространственном распространении в пределах Центральной Азии.

Полученные данные могут указывать на циркуляцию вируса в пределах исследуемой территории и генетическую близость выявленных изолятов. В то же время, с учетом ограниченного числа образцов, а также получения последовательности L–сегмента только для одного из них, данные результаты не позволяют делать однозначные выводы о характере циркуляции вируса или отсутствии заносов других генотипов. Для подтверждения этих предположений необходимы дополнительные исследования с расширенной выборкой. Подобная стабильность филогенетической структуры характерна для устоявшихся природных очагов ККГЛ, где циркуляция вируса поддерживается устойчивыми связями между переносчиками и прокормителями.

Несмотря на то, что факт циркуляции вируса ККГЛ в Туркестанской области был установлен ранее [21], применение методов секвенирования позволило уточнить филогенетическую принадлежность выявленных изолятов и подтвердить их отнесение к линии Asia 2. Филогенетическая близость исследованных изолятов к штаммам из соседних регионов Центральной Азии может отражать исторически сложившиеся пути распространения вируса, связанные с миграцией клещей рода *Hyalomma* и перемещением их прокормителей.

Следует отметить, что амплификация фрагмента L–сегмента генома вируса оказалась успешной лишь для одного образца. Это, вероятно, связано с низкой вирусной нагрузкой в клещах или деградацией РНК в исследуемом материале, что ранее отмечалось и в других исследованиях при анализе полевых образцов [24].

Определенным ограничением настоящего исследования является относительно небольшое число успешно секвенированных образцов, что не позволяет в полной мере оценить генетическое разнообразие вируса ККГЛ в пределах исследуемой территории. Кроме того, при анализе фрагментов M–сегмента генома вируса положительных результатов в исследованных образцах получено не было, что не позволило провести его филогенетический анализ. Между тем изучение M–сегмента может предоставить дополнительную информацию о филогенетической структуре вируса и возможных событиях реассортации. В связи с этим дальнейшие исследования, включающие расширенный отбор образцов и секвенирование всех трех сегментов генома вируса, представляются важными для более полного понимания молекулярной эпидемиологии ККГЛ в регионе.

**Заключение.** Проведенное молекулярно–генетическое и филогенетическое исследование показало, что три изолята вируса Крым–Конго геморрагической лихорадки, выявленные в клещах *Hyalomma asiaticum* на территории Туркестанской области в 2025 году, формируют единый кластер и относятся к генотипу Asia 2. Высокий уровень нуклеотидной идентичности (97,9% по S–сегменту и 98,2% по L–сегменту) с ранее описанными штаммами, циркулирующими в Центрально–Азиатском регионе, указывает на их близкое генетическое родство и региональную принадлежность.

Полученные результаты подтверждают принадлежность анализированных изолятов к генотипу Asia 2 и согласуются с ранее опубликованными данными о его распространении в Центральной Азии. Проведенное исследование демонстрирует информативность методов секвенирования вирусной РНК для уточнения филогенетической принадлежности изолятов и их использования в молекулярном мониторинге вируса ККГЛ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Заявление о доступности данных.** Данные, подтверждающие результаты данного исследования, содержатся в статье.

**Вклад авторов.** Концепция, написание – подготовка первоначального варианта рукописи, Н.Т., Т.Н.; методология, Р.А., сбор полевого материала, А.Б., К.М., Б.Р.; рецензирование и редактирование, У.С., программное обеспечение, управление данными, Ш.А., К.Д. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи. Авторы заявляют, что данный материал ранее не публиковался и не находится на рассмотрении у других издателей.

**Финансирование.** Исследование было выполнено в рамках программно-целевого финансирования Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан НТП ИРН BR24992948 «Разработка новых диагностических тест-систем для особо опасных вирусных инфекций» на 2024–2026 гг.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность сотрудникам РГУ «Шымкентская противочумная станция» за содействие в организации сбора полевого материала.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol.* 1979;15:307–417.
2. Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res.* 2013;100(1):159–189. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.006>
3. Chumakov MP. A new tick-borne viral disease—Crimean hemorrhagic fever. In: *Crimean hemorrhagic fever. Stavropol;* 1945. p. 1–43.
4. Casals J. Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1969;131:233–236.
5. Chumakov MP, Butenko AM, Shalunova NV, Martynova LI, Smirnova SE, Bashkirtsev YuN, et al. New data on the viral agent of Crimean hemorrhagic fever. *Vopr Virusol.* 1968;13:377.
6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Virus taxonomy: 10th report of the ICTV [Internet]. 2022 [cited 2026 Feb 5]. Available from: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/)
7. Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. Report on selected infectious and parasitic diseases. 2025.
8. Wohl S, Schaffner SF, Sabeti PC. Genomic analysis of viral outbreaks. *Annu Rev Virol.* 2016;3(1):173–195. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-035747>
9. Abdiyeva K, Turebekov N, Dmitrovsky A, Tukhanova N, Shin A, Yeraliyeva L, et al. Seroepidemiological and molecular investigations of infections with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan. *Int J Infect Dis.* 2019;78:121–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.10.015>
10. Abuova GN, Polukchi TV, Berdalieva FA, Aliev DS, Sarypbekova LL, Kulemin MV. Genetic diversity of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus circulating worldwide: a review. *Vestn KazNMU.* 2021;(3). Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/geneticheskoe-raznoobrazie-virusov-kongo-krymskoy-gemorragicheskoy-lihoradki-tsirkuliruyuschih-v-mire-literaturnyy-obzor>
11. Sultankulova KT, Shynybekova GO, Kozhabergenov NS, Mukhami NN, Chervyakova OV, Burashev YD, et al. The prevalence and genetic variants of the CCHF virus circulating among ticks in the southern regions of Kazakhstan. *Pathogens.* 2022;11(8):841. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080841>
12. Walker AR, Matthews J, Preston PM. The development of electronic keys for the identification of ticks. *Int J Trop Insect Sci.* 2005;25:2–5.

13. Apanaskevich DA, Filippova NA, Horak IG. The genus *Hyalomma* Koch, 1844. X. Redescription of all parasitic stages of *H. scupense* and notes on its biology. *Folia Parasitol (Praha)*. 2010;57:69–78. <https://doi.org/10.14411/fp.2010.009>
14. Ngoc K, Stoikov I, Trifonova I, Panayotova E, Taseva E, Christova I. Molecular and clinical characterization of Crimean–Congo hemorrhagic fever in Bulgaria, 2015–2024. *Pathogens*. 2025;14(8):785. <https://doi.org/10.3390/pathogens14080785>
15. Gasparine M, Fokeng AN, Masse S, Lopez E, Charrel R, de Lamballerie X, et al. Widespread circulation of Crimean–Congo haemorrhagic fever virus in ticks, Corsica (France), 2024. *One Health*. 2026;22:101339. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2026.101339>
16. Ternovoy VA, Gladysheva AV, Sementsova AO, Zaikovskaya AV, Volynkina AS, Kotenev ES, et al. Detection of RNA of a novel multicomponent virus in patients with Crimean–Congo hemorrhagic fever in southern Russia. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2020;75(2):129–134.
17. Kuhn JH, Seregin SV, Morzunov SP, Petrova ID, Vyshemirskii OI, Lvov DK, et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus strains involved in recent outbreaks in Russia. *Arch Virol*. 2004;149(11):2199–2213.
18. Burt FJ, Leman PA, Smith JF, Swanepoel R. The use of reverse transcription–PCR for detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean–Congo haemorrhagic fever. *J Virol Methods*. 1998;70(2):129–137.
19. Lins TC, Nogueira LR, Lima RM, Gentil P, Oliveira RJ, Pereira RW. A multiplex single–base extension protocol for genotyping polymorphisms of the vitamin D receptor gene. *Genet Mol Res*. 2007;6(2):316–324.
20. Katoh K, Standley DM. A simple method to control over–alignment in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics*. 2016;32(13):1933–1942.
21. Kong Y, Zhang X, Wang Y, Li M, Chen H, et al. Phylogenetic analysis of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Inner Mongolia, China. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13(1):101856.
22. Nurmakanov T, Rysbekova A, Turebekov N, Tukhanova N, Aimakhanov B, et al. Distribution of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in ticks of the Turkestan region of Kazakhstan based on PCR surveillance data in 2025. *Caspian J Environ Sci*. 2025;23(5):1183–1191. <https://doi.org/10.22124/cjes.2025.9315>
23. Guo R, Shen S, Zhang Y, Shi J, Su Z, Liu D, et al. A new strain of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus isolated from Xinjiang, China. *Virol Sin*. 2017;32:80–88. <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3936-9>.
24. Bangura U, Davis C, Dahl A, Klemroth S, Thomson E, Magassouba N, et al. Whole–genome sequencing of Lassa virus from dry blood spots: a comparative evaluation. *Infect Dis Poverty*. 2025;14(1):102. <https://doi.org/10.1186/s40249-025-01362-0>

### Сведения об авторах

@Нурмаханов Талгат Ибраевич, заведующий лабораторией, ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева», Алматы, Казахстан, [nti0872@gmail.com](mailto:nti0872@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-6560-3174>.

Туребеков Н.А., PhD, ведущий научный сотрудник, ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева», Алматы, Казахстан, [nturebekov23@gmail.com](mailto:nturebekov23@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-6826-2611>.

Рысбекова Алтын Канатовна, PhD, ведущий научный сотрудник, ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева», Алматы, Казахстан, gysbekova23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>.

Умарова Сауле Кадырбековна, к.б.н., ученый секретарь, ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева», Алматы, Казахстан, umarova\_59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1750-8105>.

Аймаханов Батырбек Кушербаевич, заведующий лабораторией, ТОО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева», Алматы, Казахстан, batirbek\_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2311-3791>.

Кулемин Максим Владимирович, заведующий лабораторией, РГУ «Шымкентская противочумная станция», Шымкент, Казахстан, kmaxim/75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8839-9276>.

Боранбаева Раиса Медетовна, врач эпидемиолог, КГП на ПХВ «Кызылординская областная инфекционная больница» Управления здравоохранения Кызылординской области, Кызылорда, Казахстан, infect-06@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0722-7607>.

Камалова Динара Камаловна, научный сотрудник, РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8444-3305>.

Шевцов Александр Борисович, к.б.н., ассоциированный профессор, заведующий лабораторией, РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0307-1053>.

#### **Авторлар туралы мәліметтер**

@Нұрмаханов Талғат Ибраевич, зертхана меңгерушісі, «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан, nti0872@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6560-3174>.

Түребеков Н.А., PhD, жетекші ғылыми қызметкер, «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан, ntirebekov23@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6826-2611>.

Рысбекова Алтын Канатовна, PhD, жетекші ғылыми қызметкер, «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан, gysbekova23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>.

Умарова Сауле Кадырбековна, б.ғ.к, ғылыми хатшы, «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан, umarova\_59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1750-8105>.

Аймаханов Батырбек Кушербаевич, зертхана меңгерушісі, «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан, batirbek\_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2311-3791>.

Кулемин Максим Владимирович, зертхана меңгерушісі, «Шымкент обаға қарсы станциясы» РММ, Шымкент, Қазақстан, kmaxim75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8839-9276>.

Боранбаева Раиса Медетовна, эпидемиолог дәрігер, Қызылорда облысының Денсаулық сақтау басқармасының «Қызылорда облыстық инфекциялық ауруханасы» ШЖҚ КМК, Қызылорда, Қазақстан, infect-06@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0722-7607>.

Камалова Динара Камаловна, ғылыми қызметкер, «Ұлттық биотехнология орталығы» РМК, Астана, Қазақстан, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8444-3305>.

Шевцов Александр Борисович, б.ғ.к, қауымдастырылған профессор, зертхана меңгерушісі, «Ұлттық биотехнология орталығы» РМК, Астана, Қазақстан, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0307-1053>.

### Information about authors

@Nurmakhanov Talgat Ibraevich, Head of Laboratory, LLP «М. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan, nti0872@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6560-3174>.

Turebekov N.A., PhD, Leading Researcher, LLP «М. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan, ntirebekov23@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6826-2611>.

Rysbekova Altyn Kanatovna, PhD, Leading Researcher, LLP «М. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan, rysbekova23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>.

Umarova Saule Kadyrbekovna, can.biol.sc., Scientific Secretary, LLP «М. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan, umarova\_59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1750-8105>.

Aimakhanov Batyrbek Kuserbaevich, Head of Laboratory, LLP «М. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan, batirbek\_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2311-3791>.

Kulemin Maksim Vladimirovich, Head of Laboratory, RSE «Shymkent Anti-Plague Station», Shymkent, Kazakhstan, kmaxim75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8839-9276>

Boranbayeva Raisa Medetovna, Epidemiologist, ME on REM «Kyzylorda Regional Infectious Diseases Hospital», Kyzylorda, Kazakhstan, infect-06@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0722-7607>.

Kamalova Dinara Kamalovna, Researcher, RSE «National Center for Biotechnology», Astana, Kazakhstan, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8444-3305>

Shevtsov Alexander Borisovich, can.biol.sc., Head of Laboratory, PhD (Biology), Associate Professor, RSE «National Center for Biotechnology», Astana, Kazakhstan, ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0307-1053>.

## ҚЫРЫМ–КОНГО ГЕМОМРАГИЯЛЫҚ ҚЫЗБАСЫ ВИРУСЫНЫҢ ТҮРКІСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ ИКСОДТЫҚ КЕНЕЛЕР ПОПУЛЯЦИЯСЫНДАҒЫ S ЖӘНЕ L СЕГМЕНТТЕРДІ СЕКВЕНИРЛЕУ ДЕРЕКТЕРІ БОЙЫНША ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӘРТҮРЛІЛІГІ

Т.И. НҰРМАХАНОВ<sup>1</sup>, Н.А. ТҮРЕБЕКОВ<sup>1</sup>, А.К. РЫСБЕКОВА<sup>1</sup>, С.К. УМАРОВА<sup>1</sup>,  
Б.К. АЙМАХАНОВ<sup>1</sup>, М.В. КУЛЕМИН<sup>2</sup>, Р.М. БОРАНБАЕВА<sup>3</sup>, Д.К. КАМАЛОВА<sup>4</sup>,  
А.Б. ШЕВЦОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> «М. Айкимбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы» ЖШС, Алматы, Қазақстан

<sup>2</sup> ҚР ДСМ Санитариялық–эпидемиологиялық бақылау комитетінің «Шымкент обаға қарсы станциясы» РММ, Шымкент, Қазақстан

<sup>3</sup> Қызылорда облысының денсаулық сақтау басқармасының «Қызылорда облыстық инфекциялық ауруханасы» ШЖК КМК, Қызылорда, Қазақстан

<sup>4</sup> ҚР ҒЖБМ Ғылым комитетінің «Ұлттық биотехнология орталығы» РМК, Астана, Қазақстан

### Түйіндеме

**Кіріспе.** Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының жіктемесіне сәйкес, Қырым–Конго геморрагиялық қызбасының (ККГҚ) вирусы жоғары өлім–жітімге, лицензияланған вакциналардың және спецификалық вирусқа қарсы терапияның болмауына байланысты жоғары басымдықтағы патогендерге жатады. Қазақстан Республикасында ККГҚ табиғи ошақтары Қызылорда, Жамбыл және Түркістан облыстарында орналасқан, мұнда жыл сайын ауру жағдайлары тіркеледі.

**Мақсаты.** 2025 жылы Түркістан облысы аумағында *Hyalomma asiaticum* кенелерінде анықталған ККГҚ вирусы РНҚ изоляттарының генетикалық сипаттамасын жүргізу және олардың филогенетикалық орнын анықтау.

**Материалдар мен әдістер.** ККГҚ вирусы РНҚ–сының төрт үлгісіне секвенирлеу жүргізіліп, кейін нуклеотидтік тізбектерге GenBank дерекқоры және филогенетикалық талдау әдістері қолданылды.

**Нәтижелер.** Зерттелген төрт үлгінің үшеуінде амплификация байқалды. ККГҚ вирусының геномының S және L фрагменттерінің филогенетикалық талдауы Түркістан облысында анықталған барлық изоляттардың Asia 2 генотипіне жататынын көрсетті. S–фрагментті талдау Қазақстан мен Тәжікстанда айналымда жүрген штамдармен жоғары нуклеотидтік гомологияны (97,9%–ға дейін) анықтады. L–фрагменттің филогенетикалық ағашы изоляттардың бірінің Қазақстандық штамдармен кластерленуін көрсетті, бұл ретте ең жоғары сәйкестік (98,2%–ға дейін) Тәжікстан штаммымен байқалды. Жұптық салыстырмалы талдау №20 және №21 изоляттары арасында 100% сәйкестікті көрсетті, ал №22 изолят үлкен дивергенциямен (2,6%–ға дейін) және басқа үлгілерден салыстырмалы генетикалық алшақтығымен сипатталды. Зерттелген изоляттар кластеры жоғары статистикалық қолдауға ие болды (95–98%).

**Қорытынды.** Алынған нәтижелер зерттелген изоляттардың ККГҚ вирусының Asia 2 ортаазиялық желісіне жататынын растайды және осы генотиптің Түркістан облысының табиғи ошағында айналымда екенін көрсетеді. Зерттелген үлгілер арасында вирустың басқа генотиптерінің болу белгілері анықталған жоқ. Алынған деректер Орталық Азия өңірінде Asia 2 генотипінің басым екендігі туралы бұрын жарияланған нәтижелермен сәйкес келеді. Жүргізілген зерттеу вирустың филогенетикалық тиесілігін нақтылау және оның табиғи ошақтардағы генетикалық әртүрлілігін мониторингтеу үшін молекулалық–генетикалық әдістер мен секвенирлеудің маңыздылығын көрсетеді.

**Түйінді сөздер:** Қырым–Конго геморрагиялық қызбасы, Orthonairovirus, Hyalomma, филогения, нуклеотидтік тізбек, генотип, Қазақстан.

## GENETIC VARIABILITY OF CRIMEAN–CONGO HEMORRHAGIC FEVER VIRUS IN THE POPULATION OF IXODID TICKS IN THE TURKESTAN REGION BASED ON S AND L SEGMENT SEQUENCING DATA

T.I. NURMAKHANOV <sup>1</sup>, N.A. TUREBEKOV <sup>1</sup>, A.K. RYSBEKOVA <sup>1</sup>, S.K. UMAROVA <sup>1</sup>,  
B.K. AIMAХANOV <sup>1</sup>, M.V. KULEMIN <sup>2</sup>, R.M. BORANBAYEVA <sup>3</sup>,  
D.K. KAMALOVA <sup>4</sup>, A.B. SHEVTSOV <sup>4</sup>

<sup>1</sup> LLP «M. Aikimbayev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections», Almaty, Kazakhstan

<sup>2</sup> RSE «Shymkent Anti–Plague Station» of the Committee for Sanitary and Epidemiological Control of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, Shymkent, Kazakhstan

<sup>3</sup> ME on REM «Kyzylorda Regional Infectious Diseases Hospital» of the Health Department of Kyzylorda Region, Kyzylorda, Kazakhstan

<sup>4</sup> RSE «National Center for Biotechnology» of the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, Astana, Kazakhstan

## Abstract

**Introduction.** According to the classification of the World Health Organization, the Crimean–Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus is classified as a high–priority pathogen due to its high mortality rate, the absence of licensed vaccines, and the lack of specific antiviral therapy. In the Republic of Kazakhstan, natural foci of CCHF are located in the Kyzylorda, Zhambyl, and Turkestan regions, where cases are reported annually.

**Aim.** To conduct a genetic characterization of CCHF virus RNA isolates detected in *Hyalomma asiaticum* ticks in the Turkestan region in 2025 and to determine their phylogenetic position.

**Materials and Methods.** Sequencing of four CCHF virus RNA samples was performed, followed by nucleotide sequence analysis using the GenBank (NCBI) database and phylogenetic analysis methods.

**Results.** Of the four samples studied, amplification was observed in three. Phylogenetic analysis of the S and L genome segments of the CCHF virus showed that all isolates identified in the Turkestan region belong to the Asia 2 genotype. Analysis of the S segment revealed a high degree of nucleotide homology (up to 97.9%) with strains circulating in Kazakhstan and Tajikistan. The phylogenetic tree of the L segment demonstrated clustering of one isolate with Kazakh strains, with the highest identity (up to 98.2%) observed with a strain from Tajikistan. Pairwise comparative analysis showed 100% identity between isolates No. 20 and No. 21, whereas isolate No. 22 was characterized by greater divergence (up to 2.6%) and relative genetic distance from the other samples. The cluster of the studied isolates had high statistical support (95–98%).

**Conclusion.** The obtained results confirm that the studied isolates belong to the Central Asian lineage Asia 2 of the CCHF virus and indicate the circulation of this genotype in the natural focus of the Turkestan region. No evidence of the presence of other viral genotypes was detected among the studied samples. The findings are consistent with previously published data on the predominance of the Asia 2 genotype in the Central Asian region. The study highlights the importance of molecular genetic methods and sequencing for clarifying the phylogenetic affiliation of the virus and monitoring its genetic diversity in natural foci.

**Key words:** Crimean–Congo hemorrhagic fever, Orthonairovirus, *Hyalomma*, phylogeny, nucleotide sequence, genotype, Kazakhstan.