

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017. К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

СОТИМОВ ҒАЙРАТ БАХТИЁРОВИЧ

***THERMOPSIS ALTERNIFLORA* ЎСИМЛИГИНИ КОМПЛЕКС
ҚАЙТА ИШЛАШДА АЛКАЛОИДЛАР ВА ФЛАВОНОИДЛАР
АСОСИДА ДОРИ ВОСИТАЛАРИНИНГ СУБСТАНЦИЯЛАРИНИ
ОЛИШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**ТЕХНИКА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)
Contents of the abstract of doctoral dissertation (DSc)

Сотимов Ғайрат Бахтиёрович

Thermopsis alterniflora ўсимлигини комплекс қайта ишлашда алкалоидлар ва флавоноидлар асосида дори воситаларининг субстанцияларини олиш технологиясини ишлаб чиқиш 3

Сотимов Ғайрат Бахтиёрович

Разработка технологий производства субстанций препаратов на основе алкалоидов и флавоноидов при комплексной переработке *Thermopsis alterniflora* 27

Sotimov Gayrat Baxtiyorovich

Development of technologies for manufacture of drug substances based on alkaloids and flavonoids at complex processing of *Thermopsis alterniflora* 51

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works 54

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017. К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

СОТИМОВ ҒАЙРАТ БАХТИЁРОВИЧ

***THERMOPSIS ALTERNIFLORA* ЎСИМЛИГИНИ КОМПЛЕКС ҚАЙТА
ИШЛАШДА АЛКАЛОИДЛАР ВА ФЛАВОНОИДЛАР АСОСИДА ДОРИ
ВОСИТАЛАРИНИНГ СУБСТАНЦИЯЛАРИНИ ОЛИШ
ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**ТЕХНИКА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2017

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.3.DSc/T134 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация ўсимлик моддалари кимёси институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.biochem.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:

Маматханов Ахматхон Умарханович
техника фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Арипова Салимахон Ғозиловна
кимё фанлари доктори, профессор

Камилов Хусан Маъсудович
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Сагдуллаев Баходир Тохирович
техника фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Тошкент фармацевтика институти

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 рақамли Илмий кенгашининг 2017 йил «__» _____ соат ____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100125, Тошкент ш, Мирзо Улуғбек кўч., 83, Тел. (99871) 262-35-40, факс (99871) 262-70-63.

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел. 262-35-40, факс (99871) 262-70-63, e-mail: asrarov54@mail.ru.

Диссертация автореферат 2017 йил «__» _____ куни тарқатилди
(2017 йил «__» _____даги рақами реестр баённомаси).

Ш.И. Салихов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
раиси, б.ф.д., академик

М.И. Асраров

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.д., профессор

А.А. Ахунов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси б.ф.д., профессор

КИРИШ (Фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бугунги кунда дунё миқёсида доривор ўсимликлардан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш ва ишлаб чиқишда янги технологиялардан фойдаланиш ҳамда уларни амалиётга тадбиқ этиш бўйича кўплаб тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Чунки, ўсимлик хом ашёсидан олинган биологик фаол моддалар синтетик дори воситаларига нисбатан инсон организмига зарарли таъсири камлиги, аллергия чақирмаслиги ва энг муҳими табиийлиги учун халқ табobatiда ва тиббиётда турли касалликларни даволашда кенг фойдаланилмоқда.

Ҳозирги кунда жаҳонда доривор ўсимликлардан биологик фаол моддаларни индивидуал ҳолда ажратиш, дори воситалари субстанцияларини олиш, олинган субстанцияларни технологик жараёнларини босқичли назоратини амалга ошириш, биологик фаоллигини аниқлаш ва технологияларини ишлаб чиқиш долзарбдир. Алкалоидлар ва флавоноидлар сақлаган маҳаллий ўсимлик манбалари асосида субстанцияларни ажратиб олишни саноат технологиясини ишлаб чиқиш ҳамда стандартлаш долзарб мавзулардан ҳисобланади.

Ўзбекистон мустақилликка эришгандан сўнг мамлакат аҳолисини маҳаллий доривор ўсимликлар асосида ишлаб чиқилган, сифатли дори-дармон билан таъминлаш мақсадида кенг камровли чора тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижалар амалга оширилди, жумладан, маҳаллий доривор ўсимликлар асосида юқори самарадор, импорт ўрнини босувчи препаратларни олиш ва уларни ишлаб чиқаришга жорий қилишга эришилди. Таъкидлаш керакки, *Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг етарлича захирага эга бўлишига қарамай, чекишга қарши ва гиполипидемик ҳамда антиатеросклеротик таъсирга дори воситаларини ҳориждан олиб келиниши бугунги кун талабига етарлича жавоб бермайди. Ўзбекистон Республикасини ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4 йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминлашни яхшилаш» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу борада *Thermopsis alterniflora* ўсимлигидан олинган тамаки чекишга қарши «Никотинабс» препаратини аналоги «Табекс» ўрнига ҳамда гиполипидемик ва антиатеросклеротик таъсирга эга «Флатерон» препаратини аналоги «Симгал» дори воситаларининг ҳориждан келтирилишини инобатга олиб, ушбу препаратларни олиш ва ишлаб чиқишдаги чиқиндиларидан самарали фойдаланиш, фармацевтика бозорини янги дори турлари билан тўлдиришда муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2010 йил 15 декабрдаги ПҚ-1442-сон «GMP талабларига жавоб берадиган ўсимлик хом ашёларидан оригинал дори воситалари субстанциялари ва ниҳоятда зарур бўлган генерик дори воситалари субстанцияларини яратиш, ишлаб чиқиш ва ишлаб чиқиш учун акад. С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб чиқариш корхонасини модернизация ва реконструкция қилиш» тўғрисидаги ҳамда 2016 йил 16 сентябрдаги ПҚ-2595 сон «2016-2020 йилларда

республикада фармацевтика саноатини янада ривожлантиришни чора тадбирлари дастури тўғрисида» ги Қарорлари ва 2017 йил 7 февралда ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистонни ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожлантиришнинг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи¹. Алкалоидлар ва флавоноидлар кимёси соҳасидаги изланишлар, уларнинг биологик фаоллигини аниқлаш ҳамда улар асосида янги препаратларни фармацевтика саноатида ишлаб чиқаришни ташкиллаштириш, тиббиёт амалиётига тадбиқ қилишга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Xinjiang technical institute of physics and chemistry, Urumqi (Хитой), University of Porto (Португалия), Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University (АҚШ), Умумроссия доривор ва ароматик ўсимликлар институти (Россия), Биоорганик кимё ва Ўсимлик моддалари кимёси институтларида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Ўсимликлар таркибидан алкалоидлар ва флавоноидларни ажратиб олиш, уларни физик-кимёвий таҳлили ва биологик фаоллигини аниқлашга ҳамда улар асосида дори препаратлари яратиш соҳасига оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: ўсимликлардан турли алкалоидлар ажратилган ва структуралари исботланган (Xinjiang technical institute of physics and chemistry, Хитой); флавоноидларни кимёвий тузилиши, биологик фаоллиги ва безарарлиги аниқланган (University of Porto, Португалия); доривор ўсимликларни етиштириш ташкиллаштирилган ҳамда улар асосида самарали дори препаратлари ишлаб чиқилган (Умумроссия доривор ва ароматик ўсимликлар институти, Россия); флавоноид сақловчи гипоазотемик таъсирга эга «Цинарозид» субстанциясининг олиш технологияси ишлаб чиқилган (Ўсимлик моддалари кимёси институти, Ўзбекистон).

Дунёда доривор ўсимликлардан биологик фаол бирикмаларни ажратиш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: турли доривор ўсимликлар алкалоидлари ва флавоноидларини ажратиб олиш; янги табиий бирикмаларнинг структурасини ва биологик фаоллигини аниқлаш; самарали дори воситаларини олиш технологияларини ишлаб чиқиш; дори препаратларини стандартлаш ва ишлаб чиқариш.

¹Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи <http://omicsonline.org/scholarly/alkaloids-journals-articles-ppts-list.php>, <http://vilarnii.ru/present/progress> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. *Thermopsis* турига мансуб ўсимликлардан микдор жихатидан кўп алкалоид ва флавоноид сақлаган ҳамда хом ашё захираси саноат миқёсида ишлаб чиқаришга етадиган ҳамда маҳаллий турларидан *Thermopsis alterniflora* ер устки қисмидан алкалоидлар ва флавоноидлар асосида субстанцияларни олиш технологиясини ишлаб чиқиш, технологияни чиқиндисиз ва самарали усуллари топиш бўйича илмий тадқиқот ишлари олиб борилган.

Хорижлик олимлар J. Schmidt, G. Adam, K. Merzweiler., W.Brandt, C. Wagner, A. Cordell, P. Begley, F.Roberts, D.Witing, J. Harborne, T. Mabry, K. Markham, M. Thomasлар томонидан ўсимлик хом ашё манбаларидан алкалоидларни ва флавоноидларни ажратиб олиш усуллари ишлаб чиқилган ва биологик фаоллиги аниқлаган.

МДХ мамлакатларида ўсимликлар таркибидан алкалоидларни ва флавоноидларни ажратиб олиш ва биологик фаоллигини ўрганиш бўйича илмий тадқиқот ишларини А.П. Орехов, А.Н. Шацкий, А.Е.Чичибабин, Г.П. Меньшиков, Р.А. Коновалова, М.Н. Запрометов, В.И. Литвиненко, Д.Ю. Корулькин., Г.А Толстиковлар томонидан амалга оширилган. Хинолизидин алкалоидларини систематик ўрганишда А.П. Орехов мактаби олимлари чуқур изланишларни амалга оширган.

Ўзбекистонда алкалоид сақловчи ўсимлик турларини излаб топиш, индивидуал бирикмаларни ажратиб олиш, кимёвий тузилишини исботлаш ва биологик фаоллигини аниқлашда С.Ю.Юнусов, А.С. Садыков, С.И. Искандаров, Т.Т. Шакиров, К.А.Сабиров, Г.П. Сидякин, Х.А. Асланов, В.И.Виноградоваларнинг хизматлари катта. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини таркибидаги флавоноидларни кимёвий тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлашда Ўсимлик моддалари кимёси институти олимлари: Г.К. Никонов ва Н.Ш. Каттаев, М.П. Юлдашев, Э.Х. Батиров, В.Н. Сыров ва З.А.Хушбактовалар ўз ҳиссасаларини қўшган.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Ўсимлик моддалари кимёси институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ИФА-2012-6-5 «Цитизин субстанциясини ишлаб чиқаришни ташкиллаштириш» (2012-2013), И6-ФА-Т008 «Флатерон субстанциясини ишлаб чиқаришни ташкиллаштириш» (2016-2017) мавзусида инновация лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқот мақсади *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини ер устки қисмидан цитизин, N-метилцитизин, термопсин алкалоидлари ва флатерон, формонетин флавоноидларини кетма-кетликда ажратиб олишнинг рационал технологиясни яратиш ҳамда *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини стандартлаш ва ишлаб чиқариш чиқиндиларини қайта ишлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Thermopsis alterniflora ўсимлигидан алкалоидлар ва флавоноидлар ажратиб олишда сувли-спиртли экстракция жараёнининг мўътадил шароитларини аниқлаш;

экстракция ҳамда тозалаш жараёнларини Бокс-Уилсон ва лотин квадраталари усулларида мўътадил шароитларини аниқлаш;

цитизин алкалоидини олиш технологиясини такомиллаштириш;

Thermopsis alterniflora ўсимлигининг ер устки қисмини комплекс қайта ишлашда цитизин, N-метилцитизин, термопсин ва флатеронларни кетма-кетликда ажратиб олиш мақсадида рационал технологияни ишлаб чиқиш ҳамда ишлаб чиқаришдаги чиқиндиларни қайта ишлаш;

цитизин ва флатерон субстанцияларни ишлаб чиқаришнинг босқичма босқич назорати услубларини ишлаб чиқиш;

флатерон препаратини стандартлаш учун формононетин стандарти намунасини олиш технологиясини ишлаб чиқиш;

цитизин ва флатерон препаратлари учун меъёрий техник ҳужжатларни ишлаб чиқиш ва тиббиёт амалиётига тадбиқ қилиш;

олинган натижалар асосида Ўсимлик моддалари кимёси институти қошидаги Тажриба ишлаб чиқариш корхонасида *Thermopsis alterniflora* ўсимлигидан субстанцияларни олиш технологик тизимини ўрнатиш;

тамаки чекишга қарши «Никотинабс» препарати асоси бўлган цитизин субстанциясини ва гипополидемик ҳамда антиатеросклеротик таъсирга эга флатерон препаратини саноат миқёсида ишлаб чиқариш.

Тадқиқот объекти сифатида Ўзбекистонда ўсадиган *Thermopsis alterniflora* доривор ўсимлигидан ажратилган алкалоидлар ва флавоноидлар олинган.

Тадқиқот предмети алкалоидлар ва флавоноидларни физик-кимёвий хоссалари, биологик фаоллиги, хом ашё, субстанция ва дори шакллари стандартлаштириш, субстанциялар олиш технологиясини ишлаб чиқиш ҳисобланади.

Тадқиқот усуллари. Диссертацияда алкалоидлар ва флавоноидларни ажратиб олиш ва тозалаш учун қаттиқ жисм-суюқлик, суюқлик-суюқлик экстракциялаш, колонкали хроматография ва кристаллаш усулларидан фойдаланилди. Олинган субстанцияларни кимёвий хоссаларини аниқлаш учун физик-кимёвий тадқиқот усуллари: юқори самарадор суюқлик хроматографияси, ультрабинафша ва инфрақизил спектроскопия қўлланилди. Технологик жараёнларни оптималлаш учун Бокс-Уилсоннинг тажрибаларни математик режалаштириш усули ва лотин квадратлар усулнинг 3x3 режаси қўлланилди. Дори воситаларини сифатини ва миқдорини назорат қилиш ва стандартлаштириш учун амалий фармакопея усулларидан фойдаланилди.

Диссертация тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

Thermopsis alterniflora ўсимлигининг ер устки қисми стандартланган ҳамда фармацевтика саноатида доривор ўсимлик хом ашёси сифатида фойдаланиш мумкинлиги асосланган;

Thermopsis alterniflora алкалоидларини муҳити рН ни ўзгариши ҳисобига ажратиб олиш усули ишлаб чиқилган, бунда рН 5 гача термопсин, рН 5-7 да N-метилцитизин, рН 10-12 да эса цитизин алкалоидлари ажралиб чиқиши аниқланган ва алкалоидлар йиғиндисидан цитизин олиш технологияси такомиллаштирилган;

цитизин ва флатерон субстанцияларини олишда босқичли назоратни амалга ошириш имконини берадиган юқори самарадор суюқлик хроматография ҳамда спектрофотометрия услублари ишлаб чиқилган;

Thermopsis alterniflora флавоноидлари йиғиндисидан формононетин стандарти ажратиб олиш технологияси ишлаб чиқилган ва флатерон препаратини ушбу стандарт асосида стандартланган;

Thermopsis alterniflora ер устки қисмидан ягона технологик тизимда термопсин, N-метилцитизин, цитизин ва флатерон субстанцияларини олишни рационал технологияси ишлаб чиқилган ҳамда жараён чиқиндиси шротдан пектин моддалари ва ферментли гидролиз маҳсулоти (биоёқилғи) олинган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари куйидагилардан иборат:

цитизин ва флатерон субстанцияларини саноат миқёсида ишлаб чиқариш технологиялари яратилган;

Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб чиқариш корхонасида цитизин ва флатерон препаратларини олишни технологик линияси ташкиллаштирилган ва серияли ишлаб чиқариш йўлга қўйилган;

ишлаб чиқилган тегишли барча меъёрий техник хужжатларни Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизацияси давлат маркази томонидан тасдиқланган: ВФМ 42 Ўз-2725-2015 «Ketma-ket gulli *Thermopsis oti*»; ВФМ 42 Ўз-2728-2015 «Flateron tabletkalar 0,1g»; ВФМ 42 Ўз-2726-2015 «Formononetin - standart namuna»; ПР 42 Ўз-03873/03535440-1148-2010 «Цитизин субстанцияси ишлаб чиқаришни саноат регламенти».

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги уларнинг замонавий физик-кимёвий ва технологик усулларни қўллаш орқали олинганлиги билан тасдиқланади. Олинган натижаларнинг исботи мутахассисларнинг эксперт баҳолари, тадқиқот натижалари амалга оширилиши, уларнинг республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижалар рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши ва патентлар олиниши ҳамда таклиф қилинаётган технологияни ишлаб чиқаришга тадбиқ қилиниши ва уларнинг меъёрий техник хужжатларини тегишли Давлат ташкилотларидан тасдиқлатишда апробациядан ўтганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, алкалоидлар йиғиндисидан рН муҳитини ўзгариши ҳисобига термопсин, N-метилцитизин ҳамда цитизин алкалоидларини ажратиб олиш усули ишлаб чиқилди ва цитизин олиш технологияси такомиллаштирилди. Бунинг натижасида *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини ер устки қисмини комплекс қайта ишлашда унинг алкалоидлари ва флавоноидлари асосида препаратлар субстанцияларини ишлаб чиқаришни рационал технологияси яратилди. Диссертация иши натижалари Ўзбекистон Республикаси олий таълим муассасаларида ўсимликлардан алкалоидлар ва флавоноидлар ажратиб олиш технологияси соҳасидаги янги изланишларни такомиллаштиришда фойдаланиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундаки, цитизин субстанцияси асосида тамаки чекишга қарши «Никотинабс» препарати ва

гиполипидемик ҳамда антиатеросклеротик таъсирга эга флатерон препарати яратилган, ўсимликдан ушбу препаратларни субстанцияларини олиш технологияси ишлаб чиқилган, республика аҳолисини маҳаллий хом ашёдан олинган дори воситаларига бўлган эҳтиёжини қондириш учун хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг таркибидаги биологик фаол моддалардан дори воситалари субстанцияларини ажратиб олиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

цитизин олиш усулига Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (22.07.2008, № IAP 04187). Илмий тадқиқот натижаси фармацевтикада тамаки чекишга қарши препарат ишлаб чиқиш имконини берган;

«Цитизин» субстанцияси учун Фармакопоя мақоласи ишлаб чиқилган ҳамда Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизацияси давлат маркази томонидан тасдиқланган (ФМ 42 Ўз-1403-2017, 09/158/3 – сон гувоҳномаси). Натижада ушбу субстанциянинг саноат миқёсида ишлаб чиқарилиши нафас аналептиги дори воситаларини локализация қилиш имконини берган;

«Флатерон» субстанциясига Вақтинчалик Фармакопоя мақоласи ишлаб чиқилган ҳамда Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизацияси давлат маркази томонидан тасдиқланган (ВФМ 42 Ўз-2727-2015, 00199/07/15-сон гувоҳномаси). Натижада яратилган препаратнинг республикада шу турдаги дори воситаларининг импорт ўрнини босиш имконини берган;

тамаки чекишга қарши «Никотинабс» таблеткалари ишлаб чиқаришда «Nobel Pharmsanoat» корхонасига жорий этилган («Ўзфармсаноат» АЖнинг 2017 йил 3 ноябрдаги МД-06/3074-сон маълумотномаси). Натижада ушбу препаратнинг ишлаб чиқарилиши «Табекс» («Софарма», Болгария) дори воситасини республикамизга импортини камайтириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Диссертация иши тадқиқот натижалари 11 та халқаро ва 9 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 40 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 10 та мақола, жумладан, 9 таси республика журналларда нашр этилган ва 2 та патент олинган ҳамда 1 та патент учун ариза берилган. Тегишли меъёрий техник ҳужжатлар тасдиқланган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, олтита боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловадан иборат. Диссертация ҳажми 173 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожлантиришининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Алкалоидлар ва флавоноидларни ўсимликлар таркибидан ажратиш олиш усуллари ва уларнинг биологик хоссалари**» деб номланган биринчи бобида *Thermopsis* турига мансуб ўсимликларнинг тарқалиши ва таркиби адабиётларда келтирилган маълумотлар асосида тавсифлаб берилган. Ўсимликлар дунёсида тарқалган алкалоидлар ва флавоноидларни классификацияси, уларнинг биологик фаоллиги ва олиниш усуллари тавсифланади. Шунингдек алкалоидлар ва флавоноидларни тузилиши ва улар асосидаги препаратлар тўғрисидаги маълумотлар келтирилган. Ишнинг асосий мазмуни ва танланган объектлар қисқача изоҳланган.

Диссертациянинг «***Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг тарқалиши ва хом ашё захираси**» деб номланган иккинчи бобда объектнинг умумий характеристикаси ва тадқиқот материаллари келтирилган. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг тарқалиши, хом ашё захираси, кимёвий таркиби ва табиббӣётда қўлланилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «***Thermopsis alterniflora* ўсимлигини ер устки қисмидан алкалоидлар йиғиндисини ажратиш олиш технологиясини ишлаб чиқиш**» деб номланган учинчи бобида амалга оширилган ишлар натижалари муҳокама қилинган.

Thermopsis alterniflora ўсимлигининг ер устки қисмидан цитизин, N-метилцитизин, термопсин алкалоидлари ва флатерон, формонетин флавоноидлари асосидаги субстанциялари ажратиш олишнинг иқтисодий самарали технологиясини ишлаб чиқиш мақсадида, иккала синф бирикмаларини биргаликда экстракция қилиб, кейинчалик чўктириш усули орқали бир-биридан ажратишни амалга оширдик. Бунда юқори тозалikka эга маҳсулот олиш учун алкалоидлар ва флавоноидларни тозалашнинг анъанавий усулларида ҳам фойдаландик. Алкалоидлар ва флавоноидларни ажратиш олишнинг технологик жараёнини ишлаб чиқишда қуйидаги йўналишларда илмий изланишлар олиб борилди:

1. Хом ашёдаги иккала синф бирикмаларини алоҳида экстракция қилиш:
 - а) алкалоидлар йиғиндисини; б) флавоноидлар йиғиндисини.
2. Хом ашёдаги иккала синф бирикмаларини биргаликда экстракция қилиш ҳамда экстрактдан алкалоидларни ва флавоноидларни алоҳида ажратиш олиш.
3. Формонетин стандарти наъмунасини ажратиш олиш ва флатерон препаратини стандартлаш.

Цитизин субстанцияси ($C_{11}H_{14}N_2O$), суюқланиш ҳарорати $155^{\circ}C$ га эга алкалоид бўлиб, 99,0% дан кам бўлмаган тозалikka эга индивидуал кристалл модда, тиббиёт амалиётида нафас анализига сифатида қўлланилади. Цитизин ЎЗР ССВ нинг 2009 йил 25 майдаги №158 буйруғи асосида тиббиёт амалиётида фойдаланишга рухсат берилган ҳамда 26.04.2014 йилдаги 09/158/3 сонли қайд этиш гувоҳномасига эга. ФС 42 Ўз - 1403 - 2017 талабларига мос равишда ишлаб чиқарилади ва уни ажратиш олиш технологияси Ўзбекистон Республикасини патенти (№ IAP 04187) билан ҳимояланган.

Thermopsis alterniflora ўсимлигининг ер устки қисмидан алкалоидлар йиғиндисини самарали ажратиш олиш мақсадида эритувчини концентрацияси, хом ашёнинг майдалик даражаси, жараёни олиб бориш ҳарорати ва динамикаси каби омилларнинг кўрсаткичлари ўрганилди (1-жадвал).

1-жадвал

Thermopsis alterniflora ўсимлигидан алкалоидлар йиғиндисини экстракциясига таъсир қилувчи омилларнинг кўрсаткичлари

Омиллар	Бирли- ги	Ўрганилган омилларни даражаси	Мўътадил шароитда
Майдалик даражаси	мм	майдаланмаган, 0,5-1; 1-3; 3-5; 5-7; 8-10	5-7
Этил спиртининг концентрацияси	%	60, 70, 80, 90, 95	80
Ҳарорат	$^{\circ}C$	20, 30, 50, 70	20
Ажратмалар сони		1, 2, 3, 4, 5, 6	5
Экстракция вақти	Соат		
1		1 - 6	5
2		1 - 4	3
3		1 - 3	2
4		1 - 2	1
5		1 - 1	1

1-жадвалда келтирилган натижалар асосида белгиландики, *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини ер устки қисмидан алкалоидлар йиғиндисини самарали ажратиш олиш учун экстракцияни майдалик даражаси 5-7 мм бўлган хом ашёни 80% ли этил спиртида, $20^{\circ}C$ ҳарорат остида олиб бориш лозим.

Экстракция жараёнининг оптимал шароитини аниқлаш мақсадида Бокс-Уилсон усулида математик режалаштириш амалга оширилди.

Тўлақонли ахборот олиш мақсадида танланган омиллар белгилаб олинди:

X_1 – этил спиртининг концентрацияси; X_2 – хом ашёнинг майдалик даражаси; X_3 – жараёнинг бориш вақти; X_4 – жараёнинг бориш ҳарорати. Режалаштириш кўрсаткичи (Y) сифатида алкалоидлар йиғиндисининг фазалар биринчи таъсири вақтидаги унуми олинди.

Тажриба натижаларининг математик таҳлилидан кейинги регрессия тенгламаси қуйидагича кўриниш олди:

$$Y = 4,38 + 7,35 X_1 + 0,76 X_2 + 4,46 X_3 + 2,42 X_4$$

Омиллар таъсир кучи бўйича қуйидагича кўриниш олади: $X_1 > X_3 > X_4 > X_2$.

Экстракция жараёни динамикасини ўрганиш шуни кўрсатдики, биринчи экстракт қуйиб олиш муддати 5 соат, иккинчиси – 3, учинчиси – 2, тўртинчи ва бешинчиси – 1 соатдан кам бўлмаслиги керак. Тўрт марта экстракция қилинганда экстракция йиғиндиси 97,1% ни ташкил қилди. Юқоридагиларни инобатга олиб, *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмидан алкалоидлар йиғиндисининг экстракциясини беш марта амалга ошириш кераклиги аниқланди.

Тажрибалар натижалари асосида *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмидан цитизин субстанцияси олиш технологияси ишлаб чиқилди (1-расм). Мазкур технология Институтнинг тажриба ишлаб чиқариш қорхонасида амалиётга тадбиқ этилди.

Цитизин субстанциясини олиш учун хавода қуритилган, таркибида 8% намлик сақлаган 52,5 кг хом ашё тарози (КП-2) да тортилади ва болғачали майдалагич (РМ-1) да майдаланади. Майдалик даражаси 5 мм бўлган, таркибида 0,7% цитизин сақлаган, 50 кг *Thermopsis alterniflora* ер устки қисми экстрактор (Р-3) га жойланади ва ўлчагич (М-7) дан 302,0 л 80% ли этил спирти қуйилади. Алкалоидлар йиғиндисини ажратиб олиш хона шароитида, 6-8 соат тиндирилган ҳолда беш марта олиб борилади. Жараённинг гидромодули 1:6. Олинган ажратмалар нутч-фильтр (Ф-9) орқали ўтказилди ва йиғувчи идиш (Сб-10) га солинди.

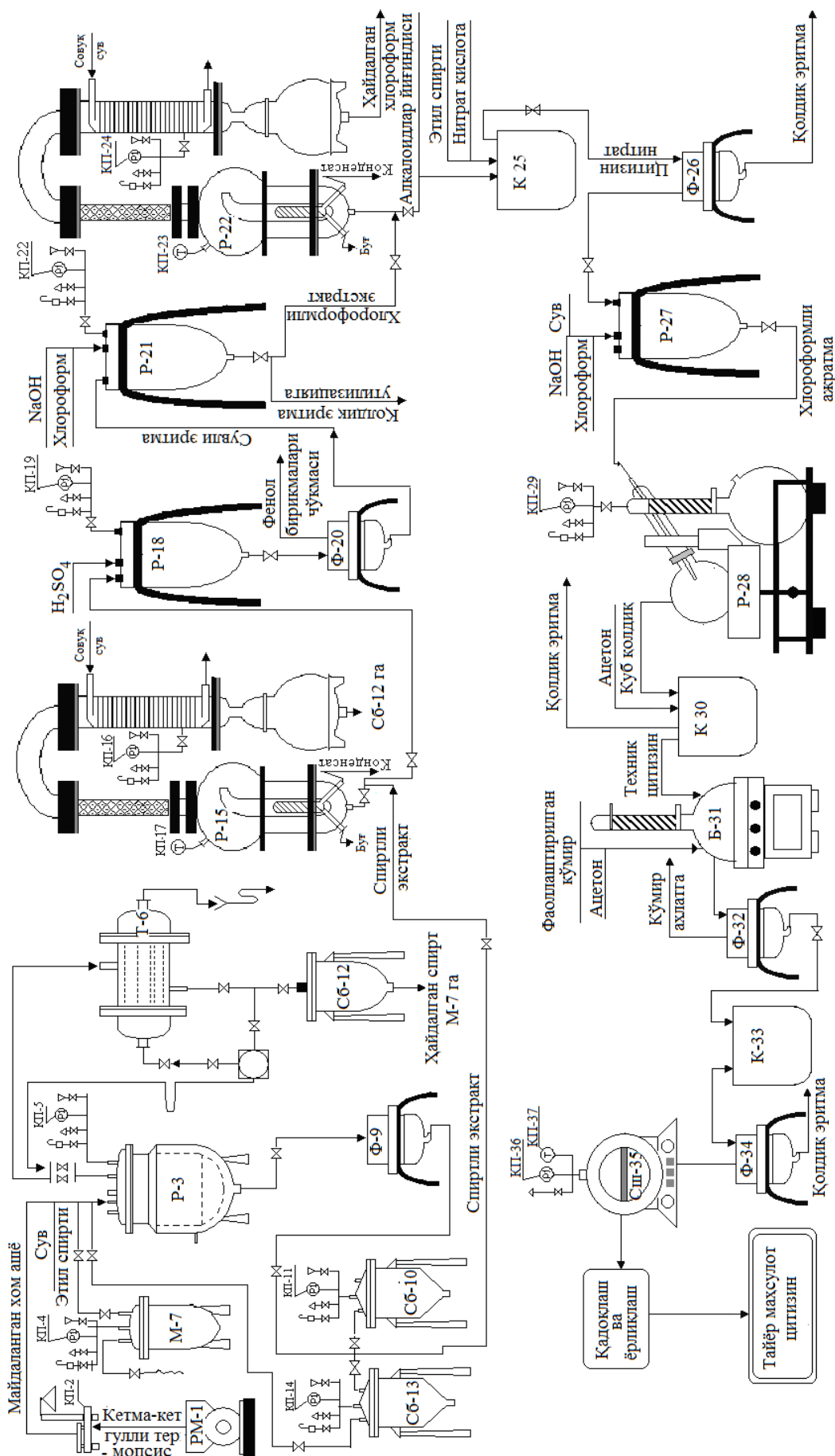
Қўшимча тарзда олтинчи экстракт олинади ва у йиғувчи идиш (Сб-13) орқали кейинги янги экстракция жараёнини бошлаш учун ишлатилади. 1175,0 л миқдордаги йиғилган барча экстрактлар 20-25 л дан вакуумли буғлатиш жихозига (Р-15) юборилади ва 0,04-0,08 МПа вакуум остида, 45-55⁰С ҳароратда буғлатилади. Ҳайдалган спирт йиғич идишга (Сб-12) йиғилади, қайта ишлатиш учун ўлчагичга (М-7) юборилади.

Қуюлтирилган экстракт сув билан 20,0 л гача суюлтирилади ва реактор (Р-18) да 1,073 л 5% ли сульфат кислотаси билан кислотали муҳитга келтирилади. Бунда фенол бирикмалари чўкмага тушади.

Таркибида 3,08% цитизин сақлаган 20,19 л миқдоридаги алкалоидлар йиғиндиси сувли эритмаси алкалоидларни ажратиб олиш учун ажратгич идиш (Р-21) га юборилади. Алкалоидларни сувли эритмаси (Р-21) да хлороформли экстракция қилинади.

Хлороформли экстрактни вакуум-буғлатиш жихози (Р-22) да таркибидаги хлороформи ҳайдалади ва 1 кг миқдоридаги алкалоидлар йиғиндиси олинади.

1 кг миқдоридаги таркибида 0,31% цитизин сақлаган алкалоидлар йиғиндиси 6 л спиртда эритилади ва кристаллизатор (К-25) га қуйилади.



РМ-1 – майдалагич, КП-2 – тарози, М-7 – ўлчагич, Р-3 – экстрактор, С6-10, С6-12, С6-13 – йиғувчи идиш, Р1-5, Р-22 – вакуум - буғлатиш жихози, Р-18, Р-21, Р-27 – ажратиш идиши, К-25 – кристаллизатор, Ф-9, Ф-20, Ф-26, Ф-32, Ф-34 – нутч-фильтр, Р-28 – роторли буғлатгич, К-30; К-33 – йиғувчи идиш, Б-31 – сув ҳаммоми, СШ-35 – куригиш шкафи.

1-расм. Цитизин субстанцииясини ишлаб чиқариш технологик тизимининг жихозли чизмаси.

Унга секин аралаштириб турган ҳолда рН кўрсаткичи 4-5 гача 0,5 л нитрат кислотаси қуйилади ва цитизин нитрат тўлиқ чўкиши учун 10-12 соатга қолдирилади. Чўккан цитизин нитрат нутч-фильтр (Ф-26) да ажратилади, ҳавода қуригилади ва тортилади. Бунда таркибида 42,8% асосий модда сақлаган 0,7 кг цитизин нитрат олинади ва техник цитизин олишга юборилади.

Олинган 0,7 кг цитизин нитрат 1,3 л сувда эритилади ва реактор (Р-27) га солинади ҳамда 100 гр NaOH эритмаси билан рН кўрсаткичи 10-12 гача ишқорланади. 2 л ҳажмдаги ишқорли эритма эса (Р-27) да 1,5 л миқдоридаги хлороформ билан 8-10 марта экстракция қилинади. Олинган хлороформли эритмани роторли буғлатгич (Р-28) жихозида 50-60°C ҳароратда 0,04-0,08 МПа вакуум остида буғлатилади. Ҳайдалган 12,2л хлороформ қайта ишлатиш учун юборилади. Хлороформ ҳайдалгандан кейинги қолган куб қолдиқ 0,5л ацетонда эритилади ва кристаллизатор (К-30) га қуйилади.

Цитизин кристаллари тўлиқ чўккандан кейин нутч-фильтр (Ф-32) да ажратилади ва ҳавода қуригилади. 0,52 л (0,49 кг) миқдоридаги фильтратдан эса ацетон ажратиб олинади. Таркибида 90% цитизин сақлаган 0,31 кг техник цитизинни тоза цитизин олишга юборилади.

Қуритилган техник цитизин тез бузилмайдиган ярим тайёр маҳсулот бўлиб, ёпиқ идишда ёруғли нуридан ҳимояланган жойда уч ойгача ўз сифатини йўқотмаган ҳолда сақланиш мумкин.

0,31 кг техник цитизин 4,5 л ацетонда эритилади ҳамда сув ҳаммоми (Б-31) да цитизин тўлиқ эригунча қайнатилади, кейин 0,02 кг фаоллаштирилган кўмир кўшиб яна 10-15 минут қайнатилди.

Эритмани иссиқ ҳолатда нутч-фильтр (Ф-32) да фильтрланади, фильтрат кристаллизатор (К-33) га қуйилади. Цитизин кристаллари тўлиқ чўккандан кейин нутч-фильтр (Ф-34) ёрдамида ажратилади ва қуриштиш шкафи (СШ-35) да 60-70°C ҳароратда қуригилади.

Қуритилган тайёр маҳсулот элакдан ўтказилиб, ФМ 1403-2017 Фармакопёя мақоласи талабларига мослигини текшириш учун таҳлил қилишга берилади. Натижада таркибида 99,39% цитизин сақлаган оқ сарғиш рангли, 0,27 кг миқдоридаги кукун ҳолидаги тайёр маҳсулот олинади.

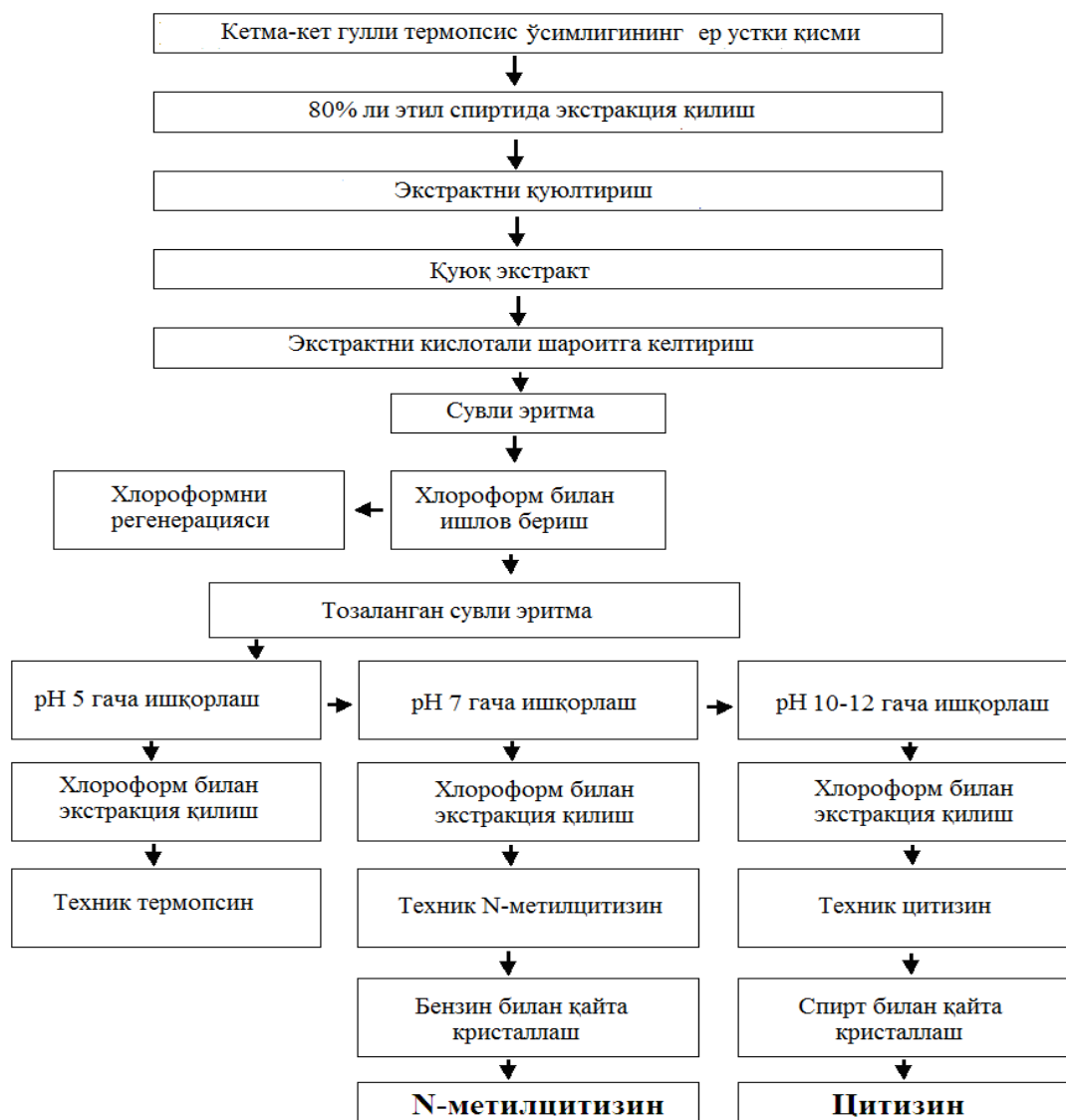
Цитизин субстанцияси асосида «Nobel Pharmsanoat» чет эл фармацевтика корхонаси билан ҳамкорликда чекишга қарши «Никотинабс» (1,5мг қобик билан ўралган таблетка ҳолида) дори воситаси ишлаб чиқилган.

«Никотинабс» препаратини ўткир заҳарлилиги ва никотинга қарши таъсирини «Табекс» (Софарма, Болгария) препарати билан биоэквивалент таққослаганда бир хилда эканлиги аниқланган.

Цитизин ишлаб чиқариш жараёнини босқичма-босқич назорати ЮССХ усулида М.Р.Якубова билан ҳамкорликда олиб борилди. Бунда Zorbax Eclipse – C18, 3x150мм, 3,5 мкм (Agilent Technologies) маркали колонкага эга, тўрт элюент насосли Agilent LC 1100 маркали хроматографдан фойдаланилди. УБ детекторининг 308 нм тўлқин узунлигида цитизин аниқланди.

Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб чиқариш корхонасида ушбу технология асосида цитизин ишлаб чиқариш учун йилига ўн тонналаб *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги қайта ишланади. Алкалоидлар

N-метилцитизин юқори биологик фаолликни намоён қилади, шунинг учун бу алкалоид тиббиёт амалиёти учун самарали ҳисобланади. Шуни назарда тутган ҳолда ушбу ўсимлик хом ашёсидан цитизин билан биргаликда N-метилцитизин алкалоидини ягона технологияда олишнинг саноат технологиясини ишлаб чиқиш мақсадга мувофиқдир. Ушбу технологик жараён қуйидагича такомиллаштирилди (2-расм).



Аввлги таклиф қилинган технологияда ёт моддаларни хлороформли
тмадан тозаланган бўлса, ушбу технологияда эса кислотали шароитга
тирилган сувли ажралмада олиб борилди. Цитизинни алкалоидлар
гиндисидан нитрат тузига ўтказиб олиш босқичи ўрнига, уни алкалоидлар
гиндисидан асослилиқ кучига қараб, рН 5,0 гача термопсин, рН 7,0 гача N-

метилцитизин ва рН 10-12 да цитизинли фракцияларга тенг бўлиш усулида ажратиб олиш таклиф қилинди. Технологияни кейинги босқичлари юқорида келтирилган технологик жараён бўйича олиб борилади.

Бунинг учун *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмини 80% ли этил спиртида экстракция қилиниб, қуюлтирилади. Қуюлтирилган экстрактни сувли қисмида тенг миқдорда цитизин ва N-метилцитизин ҳамда бошқа алкалоидлар бўлади, флавоноидлар йиғиндиси эса чўкма ҳолида бўлади. Биз кўрсатилган алкалоидларни асослилиқ даражаси бўйича рН 5 дан 12 гача оралиқда суюқлик-суюқлик экстракцияси усулида ажратишни ўргандик. Натижалар шуни кўрсатдики, асослилиқ даражаси рН 5 гача термопсин алкалоиди ажратилди; асослилиқ даражаси рН 5 дан 7 гача N-метилцитизин алкалоиди ажратилди; асослилиқ даражаси рН 10 дан 12 гача цитизин ажратилди. Олинган ушбу маълумотлар асосида алкалоидларни асослилиқ даражаси рН ўзгариши бўйича ажратиш усули ишлаб чиқилди. Бу усулдан фойдаланиш натижасида алкалоидлар ажратишнинг технологик жараёнида цитизин нитратни олиш босқичи камайди.

N-метилцитизин алкалоидини ажратиб олиш учун 25 кг майдаланган *Thermopsis alterniflora* ер устки қисмидан (намлиги 8%, 6 мм майдалиқдаги) тортиб олиниб, экстракторга солинади. Экстракторга олдинги экстракциялашда олинган 121,4 л олтинчи экстрактни ва 80% ли спиртдан солинади ва бир кунга қолдирилади. Олинган сув-спиртли экстракт филтрланади ва йиғичга йиғилади. Кейин экстракторга яна 80% ли спиртдан қуйилади ва бештагача экстракция давом эттирилади. Бунда алкалоидлар йиғиндисининг 588,5 л сув-спиртли экстракти олинади, филтрланади ва кейинги босқичга берилади.

80% этил спиртида хом ашёдан алкалоидлар йиғиндисини ажратишни олтинчи экстракти олдинги бешта экстракт олиш сингари олиб борилади. 121,4 л ҳажмдаги олинган олтинчи экстракт йиғичга йиғилади ва кейинги экстракция жараёни учун ишлатилади.

Олтинчи экстрактдан кейин шрот таркибидаги спиртни ҳайдаш мақсадида экстракторга буғ берилади ва 80-85⁰С ҳароратга етказилади, бунда 25,6 л 80% ли спирт олинади ҳамда такрор ишлатиш учун ўлчагичга йўналтирилади.

Қуруқ хом ашёга ҳисоблаганда таркибида 0,01% дан цитизин ва N-метилцитизин сақлаган 6% намликка эга 20,5 кг миқдордаги шрот спирти ҳайдалгандан кейин, экстракторнинг пастки қисмидан аравачага туширилади.

588,5 л миқдоридаги алкалоидларни спиртли экстракти йиғичдан 10-15 л дан вакуум циркуляцион аппаратга берилади.

Спиртни ҳайдаш 40-50⁰С ҳароратда, 0,04-0,08 МПа вакуум шароитида олиб борилиб, бунда 80% ли 568,5 л миқдоридаги ҳайдалган спирт йиғичга йиғилди ва хом ашёни экстракциясига ишлатилади. 5,2 л ҳажмдаги олинган сувли экстракт муҳити рН-4 гача 5% сульфат кислота билан кислотали шароитга келтирилади ва бир суткага қолдирилади. Бунда чўкмага тушган 2,1 кг миқдоридаги фенол бирикмалари декантация йўли билан сувли қисмдан ажратилади.

Шундан кейин олинган сувли қисм хлороформ билан экстракция қилинади ва таркибида термопсин, пахикарпин ҳамда бошқа алкалоидлар аралашмаси сақлаган эритма олинади.

Кейин эса тозаланган сувли қисм муҳитини NaOH билан pH-5 гача келтирилади ва хлороформ билан экстракция қилганда техник термопсин ҳамда кам миқдорда пахикарпин сақлаган эритма олинади, бу эритмани ацетонда қайта кристаллаб термопсин алкалоиди олинади.

Термопсин алкалоиди ажратиб олингандан кейин сувли экстракт яна NaOH билан pH-7 гача келтирилади ва хлороформ билан экстракция қилганда техник N-метилцитизин сақлаган эритма олинади, бу эритмани бензинда қайта кристаллаб N-метилцитизин алкалоиди олинади.

N-метилцитизин алкалоиди ажратиб олингандан кейин сувли экстракт яна NaOH билан pH 10-12 гача келтирилади ва хлороформ билан экстракция қилганда техник цитизин сақлаган эритма олинади, бу эритмани этил спиртида қайта кристаллаб цитизин алкалоиди олинади.

Ушбу таклиф қилинган усули Ўсимлик моддалари кимёси институтининг Тажриба ишлаб чиқариш бўлимидаги жихозларда синовдан ўтказилди.

Фармакологик ва токсикологик изланишлар учун етарли миқдордаги N-метилцитизин ушбу усулда ажратиб олинди.

Диссертациянинг «*Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг ер устки қисмидан флавоноидлар йиғиндисини олиш технологиясини ишлаб чиқиш» деб номланган тўртинчи бобда *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмидан флавоноидлар йиғиндисини ажратиб олиш технологиясини ишлаб чиқишда олинган натижалар муҳокама қилинган.

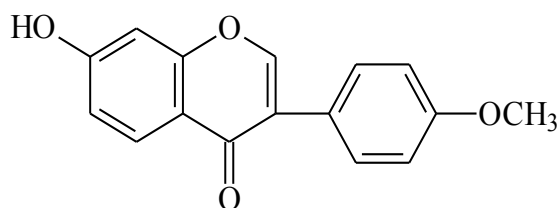
Экстракция жараёнини мўътадил муҳитини аниқлаш мақсадида *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини ер устки қисмидан олинган флавоноидлар йиғиндисининг кимёвий таркибини ўрганилди. Бунда флавоноидлар йиғиндисини 83-85% ни ташкил этиб, шундан флавоноидлар йиғиндисини лютеолин (стандарти) га нисбатан $45,25 \pm 1,02\%$ ва изофлавоноидлар формонетин (стандарти) га нисбатан $39,87 \pm 0,76\%$ ни ташкил этади.

Формонетин

Эмпирик формуласи - $C_{16}H_{12}O_4$

Молекуляр массаси - 268,88

Структура формуласи:

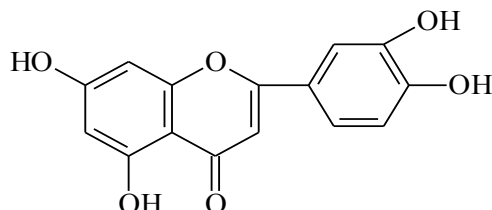


Лютеолин

Эмпирик формуласи - $C_{15}H_{10}O_6$

Молекуляр массаси - 286,65

Структура формуласи:



Thermopsis altherniflora ўсимлигининг ер устки қисмидан флавоноидлар йиғиндисини самарали ажратиб олишда экстракция жараёнига таъсир қилувчи омиллар ўрганилди. Бунинг учун 0,1 кг дан хом ашёни ҳар хил

майдаликда (0,5-1; 1-3; 3-5; 5-7 ва 8-10 мм) ва турлича ҳароратда (20 °С, 40 °С, 60°С) экстракция амалага оширилди ва майдалик даражаси 5-7 мм бўлган хом ашёни 80% ли этил спиртида, 20±5°С ҳароратда олиб бориш лозимлиги аниқланди.

Thermopsis altherniflora ўсимлигидан флавоноидлар йиғиндисини олишда экстракция жараёнини Бокс-Уилсон усулида математик режалаштириш амалга оширилди.

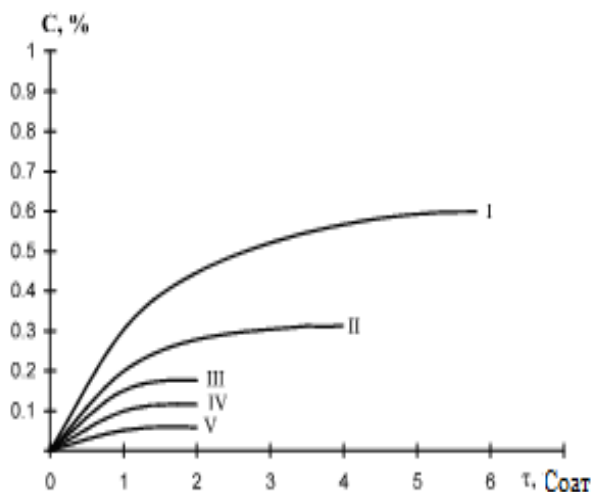
Тўлақонли ахборот олиш мақсадида танлангин омиллар белгилаб олинди:

X_1 – этил спиртининг концентрацияси; X_2 – хом ашёнинг майдалик даражаси; X_3 – жараённинг бориш вақти; X_4 – жараён ҳарорати. Режалаштириш кўрсаткичи (Y) сифатида флавоноидлар йиғиндисини биринчи фазалар таъсири вақтидаги йиғиндии олинди. Тажриба натижаларининг математик таҳлилидан кейинги регрессия тенгламаси қуйидагича кўриниш олди:

$$Y = 32,83X_0 + 3,63X_1 + 2,52X_2 + 2,57X_3 + 0,11X_4 - 2,51X_5$$

Омиллар таъсир кучи бўйича қуйидагича кўриниш олди: этил спиртининг концентрацияси > жараённинг бориш вақти > жараён ҳарорати > хом ашёнинг майдалик даражаси.

Экстракция жараёнининг динамикасини ўрганиш шуни кўрсатдики (3-расм), биринчи экстракт қуйиб олиш муддати 5 соат, иккинчиси – 3, учинчиси ва бешинчилари – 1 соатдан кам бўлмаслиги керак. Беш марта экстракция қилинганда экстракция йиғиндии 93% ни ташкил қилди. Юқоридагиларни инобатга олиб, *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмидан флавоноидлар йиғиндисининг экстракциясини беш марта амалга ошириш кераклиги аниқланди.



3-расм. Флавоноидлар йиғиндисининг концентрациясининг вақт бўйича ўзгариши

Олиб борилган изланишлар натижасида *Thermopsis altherniflora* ўсимлигини ер устки қисмидан флавоноидлар йиғиндисидан иборат «Флатерон» субстанциясини олиш технологияси ишлаб чиқилди.

Ушбу технология асосида Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб чиқариш бўлимида «Флатерон» субстанциясини серияли ишлаб чиқариш ташкиллаштирилди ва субстанция «Nikafarm» фармацевтика корхонасига етказиб берилди. Республика ихтисослаштирилган кардиология марказида «Флатерон» препаратидан статинларни кўтара олмайдиган ностабил стенокардияни даволашда фойдаланилди ва Ўзбекистон Республикасини патенти (№ IAP 05419) олинди.

Диссертациянинг «**Формононетин стандарти ажратиб олиш технологиясини ишлаб чиқиш**» деб номланган бешинчи бобда формононетин стандарти олиш технологиясини ишлаб чиқишдаги натижалар келтирилган.

Формононетинни нур ютиш кўрсаткичи ($E_1^{1\% \text{ см}}$) 858 га тенг бўлиб, бу эса уни стандарт намуна сифатида фойдаланиш мумкинлигини кўрсатади. «Флатерон» субстанцияси таркибидаги флавоноидлар йиғиндиси формононетин стандартига нисбатан 70% дан кам бўлмаслиги керак. Формононетин флавоноиди суммада асосий (доминанти) ҳисобланади, шунинг учун уни стандарт намуна сифатида танланди ва ажратиб олишни технологияси ишлаб чиқилди.

Формононетин (7-гидрокси-4'-метоксигидрофлаван) - *Thermopsis altherniflora* ўсимлигидан олинган флавоноид бўлиб, флатерон препаратини микдорий таҳлилида стандарт намуна сифатида кулланилади.

Унинг ПМР-спектрида (100 МГц, C_5D_5N , м.у, J/гц) протон сигналлари 3,56 да (3H, с, OCH_3), 6,98 (2H, д, $J=9.0$, H-3', H-5'), 7,06 (1H. уш. с, H-8), 7,15 (1H. дд, $J=9.0$ и $J=2.0$, H-6), 7,70 (2H, д, $J=9.0$, H-2', H-6'), 8,12 (1H, с, H-2), 8,42 (1H, д, $J=9.0$, H-5).

Олиб борилган изланишлар натижасида *Thermopsis altherniflora* ўсимлиги ер устки қисмидан формононетин олиш технологияси ишлаб чиқилди.

Технологик жараён қуйидаги босқичларни ўз ичига олади:

Thermopsis altherniflora ўсимлигини ер устки қисмини майдалаш;

хом ашёни сув билан экстракция қилиш;

экстрактни қуритиш;

хлороформ билан экстракция қилиш;

хлороформли экстрактни қуритиш;

формононетинни хроматографик тозалаш;

элюатни қуюлтириш;

техник формононетинни метанолда кристаллаш;

филтрлаш ва қуритиш.

Формононетин стандартини олиниши қуйидагича бўлади: *Thermopsis altherniflora* ўсимлигини ер устки қисми (3,5кг) аввал сув билан 5 марта экстракция қилинади ва хом ашё қуритилгандан кейин эса хлороформ билан 8 марта экстракция қилинади. Олинган барча хлороформли экстрактлар қуюлтирилади, бунда 130 г. куруқ қолдиқ олинади.

Хлороформли экстрактга флавоноидлар билан биргаликда ёт моддалар - органик кислоталар, хлорофиллар ва бошқа қўшимча моддалар ўтиши мумкин. Шунинг учун флавоноидлар йиғиндисидан формонетинни ажратиш олиш учун силикагелда моддалар ажратишнинг хроматография усули қўлланилди.

Бунинг учун куруқ қолдиқ (130,0 г) ўлчами (6смх120см) бўлган силикагелли (700,0 г) колонкада ажратилди. Бунда заррачаларини ўлчами 0,1-0,25 мм бўлган КСК маркали силикагелдан фойдаланилди. Колонкадаги липофил ва смоласимон моддалар ҳар хил нисбатдаги қуйидаги эритувчилар аралашмаси қўлланилди:

1. бензин-хлороформ 65:35
2. бензин-хлороформ 60:40
3. бензин-хлороформ 80:20
4. хлороформ.

Тажрибалар қуйидагича олиб борилди: силикагелли колонкага куруқ қолдиқ (130,0 г) солинди ва бензин-хлороформнинг турли нисбатидаги аралашмаси билан ювилди. Элюат фракциялари 500 мл дан йиғилди ва ҳар бирини алоҳида «Silufol» плстинкасида хлороформ - бензол - метанол (9:1:1) системасида юпқа қаватли хроматография усулида сифати текширилди. Бунда платинкага яхши кўриниш учун аммиак буғи пуркалди. Формонетин сақлаган фракциялар йиғилди ва бирлаштирилиб, қурилди. Натижалар 2-жадвалда келтирилган.

№36-85 рақамли фракциялар хлороформ билан ювилди, бунда 3,17 г техник формонетин, 2,33 г формонетин ва хризоеиол аралашмаси олинди.

2-жадвал

Элюатнинг фракцион таркиби

Фракция-лар №	Таркиби	Олинди, хом ашё оғирлигига нисбатан, %
1-6	Пигментлар, рангли моддалар	-
7-20	Липофил и смоласимон моддалар	1,43
21-35	Техник лютеолин	1,83
36-70	Формонетин ва хризоеиол аралашмаси	2,33
71-85	Техник формонетин	3,17

Меъёрий техник ҳужжатлар талабларига жавоб берадиган формонетин стандарт намунасини олиш мақсадида техник флатеронни кристаллизация усулида тозалаш жараёни ишлаб чиқилди.

Бунинг учун формонетинни тўлиқ кристаллизациялаш учун зарур вақт тажрибалар орқали топилди. Техник формонетиндан 3 г дан олиб, уни 30 мл метанолда сув ҳаммомида қиздириш орқали тўлиқ эритилди ҳамда 0,2 г микдорида фаоллаштирилган кўмир қўшилди. Олинган эритмалар филтрланди ва қуюлтирилди ҳамда кристаллизаторга алоҳида 4, 8, 12, 24 соатга қолдирилди.

Барча чўкмалар ажратилди, қурилди ва таҳлил қилинди (3-жадвал).

**Формононетин чиқиши унумида кристаллизацияси
жараёнига вақтнинг таъсири**

Кристаллизация вақти, соат	Формононетиннинг чиқиш йиғиндиси, хом ашё оғирлигига нисбатан, %	Формононетиннинг тозалиги, %
4	0,06	98,80
8	0,07	99,12
12	0,05	98,80
24	0,05	98,80

3-жадвалдаги маълумотлар бўйича формононетинни тўлиқ кристалланиш учун 8 соатдан кам бўлмаган вақт сарфланиши керак бўлади.

Олиб борилган тажрибалар натижалари асосида кристаллизация шароитлари аниқланди ва булар қуйидагилар: техник формононетинни аввал метанолда эритилиб, унга фаоллаштирилган кўмир қўшилиб, кейин филтрланади ва ҳайдалгандан сўнг 8 соат давомида кристаллизаторда қўйилади.

Бунда техник формононетин ва уни хризоеприол билан аралашмасини метанолда қайта кристаллаганда 2,57 г миқдорида формононетин стандарт намунаси олинди, бу хом ашё оғирлигига нисбатан 0,07% ни ташкил этади.

Флавоноидлар йиғиндисидан формононетинни ажратиб олиш жараёнига таъсир қилувчи омилларни лотин квадратлари 3x3 усулида математик режалаштириш ўтказилди.

Бунинг учун жараёнга таъсир этувчи қуйидаги омиллар танланди:
 A – сорбцион қатламни колонка диаметрига нисбати $A_1=12:1$; $A_2=8:1$; $A_3=4:1$.
 B – элюат тушиш тезлиги, л/соат м² : $B_1=30$ л/соат м²; $B_2=45$ л/соат м²; $B_3=60$ л/соат м².
 C – колонкага солинган флавоноидлар йиғиндии ва сорбент нисбати: $C_1=1:5$; $C_2=1:10$; $C_3=1:15$.

Формононетинни энг юқори чиқиши $A_2B_1C_2$, яъни элюатни тушиш тезлиги 30 л/соат м², сорбцион қатламнинг колонка диаметрига нисбати 8:1 ва колонкага солинган флавоноидлар йиғиндии ва сорбент нисбати 1:10 бўлганда 20,4% ни ташкил қилди. Олинган формононетин стандарти флатерон препарати сифат таҳлилида қўлланилади.

Тажрибалар натижасида *Thermopsis altherniflora* ўсимлиги ер устки қимидан олинган флавоноидлар йиғиндисини стандартлаш учун формононетин стандарти намунасини олиш технологияси ишлаб чиқилди.

Диссертациянинг «*Thermopsis altherniflora* ўсимлигини комплекс қайта ишлаб субстанцияларини ажратиб олиш технологиясини ишлаб чиқариш» деб номланган олтинчи бобида *Thermopsis altherniflora* ўсимлигини комплекс қайта ишлашда олинадиган препаратлар субстанциялари технологиясини ишлаб чиқишдаги тадқиқот натижалари баён қилинган. Ушбу ўсимликдан термопсин, N-метилцитизин, цитизин ва флатеронларни олиш технологияси ишлаб чиқилди ҳамда цитизин ва флатерон ишлаб чиқариш усулининг иқтисодий самарадорлиги келтирилган, ишлаб чиқаришдаги чиқиндиларни қайта ишлашда пектин моддалари ҳамда

биогаз олиш технологиясини ишлаб чиқиш борасида олиб борилган изланишлар натижалари келтирилган. Олиб борилган илмий изланишлар натижасида *Thermopsis alterniflora* ўсимлигини комплекс қайта ишлашда унинг алкалоидлари ва флавоноидлари асосида субстанциялар олишнинг ягона технологияси ишлаб чиқилди.

Олинган барча илмий изланишлар натижасида *Thermopsis altherniflora* ўсимлиги ер устки қисмини комплекс қайта ишлашда термопсин, цитизин, N - метилцитизин ва флатерон субстанцияларини ягона технологик тизимда ажратиб олишнинг саноат технологияси ишлаб чиқилди (4-расм).

Қуритилган *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисми (намлиги 6-8%) майдалагич (Х-1) да 5-7 мм гача майдаланади. Майдаланган 50 кг миқдордаги (таркибида 0,51% цитизин ва 2,5% флавоноидлар йиғиндиси сақлаган), хом ашё тарози (Х-2) да тортилади ва экстрактор (Х-5) га жойланади. Ўлчагич (М-3) дан экстрактор (Х-5) га 300 л 80% ли этил спирти қуйилади. Экстракция 5 соат давом этади.

Биринчи 242,0 л миқдордаги спиртли экстракт йиғич (С-7) га йиғилади, кейин экстракторга иккинчи экстракцияни олиб бориш учун 242,0 л 80% ли спирт қуйилади. Олинган экстракт йиғич (С-7) га йиғилади. Худди шу тарзда экстракция жараёни беш марта олиб борилиб, йиғилган барча экстрактлар 1175,0 л таркибидаги спирти ҳайдаш босқичига юборилади. Олтинчи 242,0 л миқдордаги экстракт эса йиғич (С-8) га йиғилади ва кейинги экстракция жараёнидаги биринчи экстракциялаш учун қўлланилади.

Йиғич (С-7) даги спиртли экстрактлар таркибидаги спиртни ҳайдаш учун вакуумли-ҳайдаш жихози (Х-9) га 20-25 л дан юборилади. Спиртни ҳайдаш жараёни 40-50°C ҳароратда ва 0,04 - 0,06 МПа вакуумда олиб борилади. Олинган спирт йиғич (С-11) га йиғилади ва хом ашёни экстракция қилишда ишлатилади. 75 л миқдордаги қуюлтирилган экстракт эса йиғич (С-18) га йиғилади ва сульфат кислота билан (рН 4 гача) кислотали шароитга келтирилади. Бунда фенол бирикмалари чўкмага тушади, чўкмани филтрлаб ажратилади ва флавоноидлар йиғиндисини олиш учун (Р-28) га юборилади. Йиғич (С-18) даги 75 л миқдордаги сувли қисми колонка (А-9) да 3 марта 15 л дан хлороформ билан экстракция қилинади. Олинган хлороформли экстракт йиғич (С-26) га йиғилади ва хлороформи ҳайдаб олиш учун 20 л дан вакуумли - ҳайдаш жихози (Х-12) га юборилади. Ҳайдалган 27 л миқдоридаги хлороформ йиғич (С-28) га йиғилади ва алкалоидлар йиғиндисини олишда (А-9) фойдаланилади. 10,5 л миқдоридаги қуюқ эритма таркибида термопсин, пахикарпин ва бошқа қўшимча алкалоидлар сақлайди (А-9).

Термопсин субстанциясининг олиниши. 10,5 л миқдордаги алкалоидлар йиғиндисининг сувли қисмидан (А-9) ишқорий шароитда (NaOH билан рН-5) 5,0 л хлороформ билан экстракция қилинади ва қуюлтирилади (С-26) ҳамда ацетон билан қайта кристалланади (К-1). Бунда хом ашё оғирлигига нисбатан 0,28% термопсин субстанцияси олинади.

N-метилцитизин субстанциясининг олиниши. Алкалоидлар йиғиндисининг сувли қисмидан (А-9), термопсин алкалоиди олингандан кейин, ишқорий шароитда (NaOH билан рН-7 гача) 5,0 л хлороформ билан

экстракция қилинади ва қуюлтирилади, бунда техник N-метилцитизин олинади ва экстракцион бензин билан қайта кристалланади (К-2). Бунда хом ашё оғирлигига нисбатан 0,38% N-метилцитизин субстанцияси олинади.

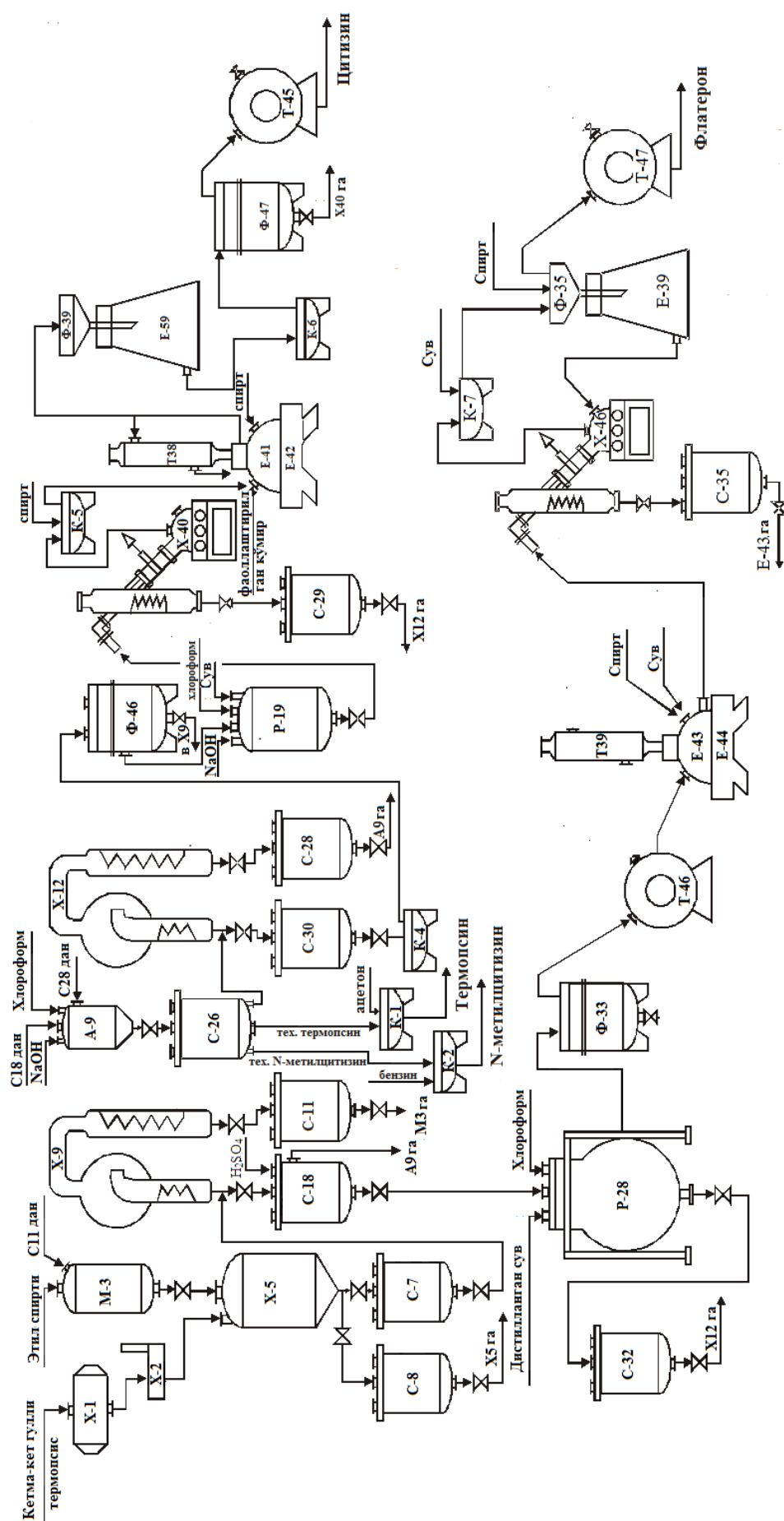
Цитизин субстанциясининг олиниши. Алкалоидлар йиғиндисининг сувли қисмидан (А-9), термопсин ва N-метилцитизин алкалоидлари олингандан кейин, ишқорий шароитда (NaOH билан муҳит рН 10-12 га келтирилгач) 10,0 л хлороформ билан экстракция қилинади.

Олинган хлороформли ажралма вакуумли ҳайдаш жихози (Х-40) да қуюлтирилади ва кристаллизатор (К-5) га солиниб, унга ацетон қўшилади. Бунда техник цитизин чўкади, уни ажратиб олиб, ҳавода 12-14 соат давомида қурилади. Техник цитизинни йиғгич (Е-41) га солинади ва спиртда сув ҳаммоми (Е-42) да қиздирган ҳолда эритилади. Спиртли эритмага 0,5% фаоллаштирилган кўмир қўшилади ва яна 15-20 минут давомида қайнатилади. Иссиқ ҳолда эритма филтрланади ва кристаллизатор (К-6) га солинади ҳамда 3-4°С ҳароратда 24 соатга қолдирилади. Чўккан цитизин кристаллари нутч-филтр (Ф-47) да филтрланади ва қуритиш шкафи (Т-45) да қурилади. Филтрат эса 1/3 ҳажмгача қуюлтирилади (Х-40) ва кристаллизатор (К-5) га солинади. Цитизин кристаллари филтрланади (Ф-39) ва қуритиш шкафи (Т-45) да қурилади. Кейин яна бир марта ацетонда қайта кристалланади ва ацетони ҳайдалади (Х-40).

Бунда 0,21 кг цитизин субстанцияси олинади, унинг чиқиш унуми хом ашё оғирлигига нисбатан 0,42% ёки хом ашёдаги сақланганига нисбатан 82,3% ни ташкил этди.

Флатерон субстанциясининг олиниши. Чўккан фенол бирикмаларини (Р-28) аввал сув билан аралаштириб, кейин эса (10л дан 3 марта) хлороформда ювилади. Хлороформли қисми 25 л миқдорда йиғгич (С-32) га йиғилади ва хлороформи ажратиб олишга (Х-12) юборилади. Бунда тушган чўкма нутч-филтр (Ф-33) да ажратилади ва қуритиш шкафи (Т-46) да қурилади. Бунда 1,05 кг миқдорда (2,1% хом ашё массасига нисбатан) техник флатерон олинади. 5 л ҳажмдаги шиша йиғгич (Е-43) га техник флатерон, 0,5 л дистилланган сув ҳамда 1,5 л 96% ли этил спирти солинади ва сув ҳаммоми (Е-44) да қиздирган ҳолда эритилади. Олинган спиртли эритма эса вакуум - ҳайдаш жихози (Х-46) да қуюлтирилади ва кристаллизатор (К-7) га солинади ҳамда устидан 1 л дистилланган сув солиб, 24 соатга қолдирилади. Чўккан флатерон филтрланади ҳамда 96% ли этил спиртида қайта кристалланиб, қуритиш шкафи (Т-47) да қурилади. Таркибида 0,25% флатерон сақлаган 1л ҳажмдаги қолган сувли-спиртли эритма қуюлтириш учун (Х-46) га жўнатилади. Бунда 0,898 кг миқдорда флатерон субстанцияси олинади, бу эса хом ашё оғирлигига нисбатан 1,79% ни ёки хом ашёда сақланганига нисбатан 71,6% ни ташкил этади. Тайёр маҳсулот флатерон - кўкимтир-сарик рангли ўзига хос ҳидга эга кукун ҳисобланади.

Ушбу технология асосида Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб чиқариш корхонасида технологик линия ташкиллаштириди.



Х-1 – тегирмон, Х-2 – тарози, М-3 – ўлчагич, Х-5 – экстрактор, С-7, С-8, С-11, С-18, С-26, С-28, С-29, С-30, С-32, С-35 – йиғтич, Х-9, Х-12 – вакуум – ҳайдаш жихози, А-9 – колонкали жихоз, К-1; К-2; К-4, К-5, К-6, К-7 – кристаллизатор, Ф-33, Ф-46, Ф-47 – нутуч-фильтр, Р-19, Р-28 – реактор, Х-40, Х-46 – ҳайдаш жихози, Т-38, Т-39 – совуттич, Е-41, Е-43 – йиғтич, Е-42, Е-44 – сув ҳаммоми, Ф-35, Ф-39 – Бюхнер воронкаси, Е-39, Е-59 – Бунзен колбаси, Т-45, Т-46, Т-47 – куриштиш шкафи.

4-расм. *Thermopsis alterniflora* ўсимлиги ер устки қисмини комплекс қайта ишлаш технологияси (жихозли схемаси)

ХУЛОСАЛАР

1. *Thermopsis alterniflora* алкалоидларини рН муҳитни ўзгариши ҳисобига ажратиб олиш усули ишлаб чиқилди, бунда рН 5 гача термопсин, рН 5-7 да N-метилцитизин, рН 10-12 да эса цитизин ажралиб чиқиши аниқланди ҳамда алкалоидлар йиғиндисидан цитизин алкалоидини ажратиб олиш жараёни такомиллаштирилди ва технология ишлаб чиқаришга тадбиқ қилинди.
2. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигидан алкалоидларни ва флавоноидларни ажратиб олиш учун таъсир қилувчи мўътадил кўрсаткичлар аниқланди, ушбу натижаларидан хом ашёни экстракция жараёнида фойдаланилди.
3. Цитизин ва флатерон субстанцияларини олиш технологияларининг назоратини амалга ошириш имконини берадиган юқори самарали суюқлик хроматографияси ва спектрофотометрик стандартлаш усуллари ишлаб чиқилди ва ушбу препаратлар субстанцияларини ишлаб чиқаришни босқичли назоратида тавсия қилинди.
4. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг флавоноидларини йиғиндисидан формонетин стандарти ажратиб олиш технологияси ишлаб чиқилди ва янги гиполипидемик ва антиатеросклеротик фаоликка эга флатерон препаратини стандартизациясида фойдаланишга тавсия қилинди.
5. Илк бор *Thermopsis alterniflora* ўсимлигининг ер устки қисмини комплекс қайта ишлаб, ягона технологик тизимда термопсин, N-метилцитизин, цитизин ва флатерон субстанцияларини олишни рационал технологияси ишлаб чиқилди ҳамда жараён чиқиндиси шротдан пектин моддалари ва биоёқилғи олиш усуллари тавсия қилинди.
6. Ишлаб чиқилган технологияга мувофиқ тегишли меъёрий техник хужжатлар асосида цитизин ва флатерон субстанцияларини серияли ишлаб чиқаришга тадбиқ этилди.
7. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигидан олинган цитизин субстанцияси асосида тамаки чекишга қарши «Никотинабс» дори воситасини тиббиёт амалиётига жорий қилинди.
8. Ўсимлик моддалари кимёси институтнинг Тажриба ишлаб чиқариш корхонасида цитизин ва флатерон субстанцияларини ишлаб чиқариш учун технологик тизими ташкиллаштирилди ва ушбу тизимда 16 кг цитизин ва 1 кг флатерон ишлаб чиқарилиб истемолчиларга етказиб берилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ, НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА,
ИНСТИТУТЕ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

ИНСТИТУТ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

СОТИМОВ ГАЙРАТ БАХТИЁРОВИЧ

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА СУБСТАНЦИЙ
ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АЛКАЛОИДОВ И ФЛАВОНОИДОВ ПРИ
КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКЕ *THERMOPSIS ALTERNIFLORA***

02.00.10 – Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА ТЕХНИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

Ташкент – 2017

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.3.DSc/T134.

Диссертация выполнена в Институте химии растительных веществ.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице научного совета по адресу (www.biochem.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» по адресу (www.ziyo.net).

Научный консультант:	Маматханов Ахматхон Умарханович доктор технических наук, профессор
Официальные оппоненты:	Арипова Салимахон Фозиловна доктор химических наук, профессор Камилов Хусан Маъсудович доктор фармацевтических наук, профессор Сагдуллаев Баходир Тохирович доктор технических наук
Ведущая организация:	Ташкентский фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «____» _____ 2017 г. в ____ часов на заседании Научного совета DSc 27.06.2017.К/В/Т.37.01 при Институте биоорганической химии, Национальном Университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262 35 40, факс (99871) 262 70 63).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (регистрационный номер № ____). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262 35 40, факс (99871) 262 70 63, e-mail: asrarov54@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан «____» _____ 2017 г.
(реестр протокола рассылки № ____ от _____ 2017 г.)

Ш.И.Салихов

Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., академик

М.И.Асраров

Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор

А.А.Ахунов

Председатель Научного семинара при Научном Совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день во всем мире проводятся многочисленные исследования в области использования новых технологий для выделения и производства биологически активных соединений из лекарственных растений, а также внедрения их в практику. Это связано с тем, что биологически активные вещества в сравнении с синтетическими препаратами обладают меньшим токсичным действием на организм, не вызывают аллергии и, самое главное, натуральны, благодаря чему широко используются при лечении различных заболеваний в народной и официальной медицине.

На сегодняшний день в мире выделение индивидуальных биологически активных веществ, получение субстанций препаратов из лекарственных растений, постадийный контроль технологических процессов полученных субстанций, установление биологической активности и разработка технологий производства является актуальным. Разработка промышленной технологии получения субстанций на основе источников местного сырья, содержащего алкалоиды и флавоноиды, а также методов стандартизации являются актуальными вопросами.

После обретения независимости Узбекистана были приняты широкие меры по обеспечению населения страны высококачественными лекарственными средствами и достигнуты значительные результаты, в том числе, такие как получение и внедрение в производство высокоэффективных импортозамещающих препаратов на основе местного растительного сырья. Необходимо отметить, что несмотря на достаточный сырьевой запас растения *Thermopsis alterniflora*, импорт препаратов против курения, а также гиполипидемического и антиатеросклеротического действия на сегодняшний день недостаточно покрывает спрос населения. В 4-м направлении Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важнейшие задачи по дальнейшему развитию «фармацевтической промышленности и улучшению обеспечения населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными препаратами и медицинскими изделиями». Препарат «Табекс» - аналог препарата против курения «Никотинабс», и «Симгал» - аналог гиполипидемического и антиатеросклеротического препарата «Флатерон», полученных из *Thermopsis alterniflora* ввозятся из-за рубежа. В этой связи, получение данных препаратов и эффективное использование отходов их производства имеет важное значение для восполнения фармацевтического рынка новыми видами препаратов.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Постановлениях Президента Республики Узбекистан ПП-1442 от 15 декабря 2010 года «Модернизация и реконструкция Опытного производства Института химии растительных веществ имени акад. С.Ю. Юнусова для создания, разработки и производства оригинальных субстанций из растительного сырья и наиболее востребованных генериков по требованиям GMP», ПП-2595 от 16 сентября

2016 года «О программе мер по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности республики на 2016-2020гг.», Указе Президента УП- 4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017-2021 годах», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в Республике Узбекистан. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан VI. «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных исследований по теме диссертации¹.

Научные исследования, направленные на изучение химии алкалоидов и флавоноидов, их биологической активности, а также организация производства новых лекарственных препаратов на их основе в фармацевтической промышленности, внедрение в медицинскую практику проводятся в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе, Xinjiang technical institute of physics and chemistry, Urumqi (Китай), University of Porto, (Португалия), Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University (США), Всероссийском институте лекарственных и ароматических растений (Россия), Институтах биоорганической химии и химии растительных веществ (Узбекистан).

В результате проведенных по всему миру исследований в области выделения алкалоидов и флавоноидов из растений, их физико-химического анализа и определения биологической активности, а также создания лекарственных препаратов на их основе получены следующие научные результаты, в том числе: из растений выделены различные алкалоиды и доказана их структура (Xinjiang technical institute of physics and chemistry, Китай), выявлено химическое строение, биологическая активность и безопасность флавоноидов (University of Porto, Португалия); организовано выращивание лекарственных растений и разработаны эффективные лекарственные препараты на их основе (Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, Россия); разработана технология получения субстанции флавоноид-содержащего гипозотемического препарата «Цинарозид» (Институт химии растительных веществ, Узбекистан).

В мире работы по выделению биологически активных соединений из лекарственных растений проводятся по ряду приоритетных направлений, в том числе: выделение алкалоидов и флавоноидов из различных лекарственных растений; определение структуры и биологической активности новых природных соединений; разработка технологии получения эффективных лекарственных средств; стандартизация и производство лекарственных препаратов.

¹Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации <http://omicsonline.org/scholarly/alkaloids-journals-articles-ppts-list.php>, <http://vilarnii.ru/present/progress> разработаны на основании других источников.

Степень изученности проблемы.

Научным исследованиям по поиску местного вида, принадлежащего к роду *Thermopsis*, с высоким содержанием алкалоидов и флавоноидов, сырьевой запас которого позволит обеспечить промышленное производство, а также разработке технологии получения субстанций на основе алкалоидов и флавоноидов из надземной части *Thermopsis alterniflora*, поиску безотходных и эффективных способов технологии были посвящены научно-исследовательские работы.

Зарубежными учеными J. Schmidt, G. Adam, K. Merzweiler., W.Brandt, C. Wagner, A. Cordell, P. Begley, F.Roberts, D.Witing, J. Harborne, T. Mabry, K. Markham, M. Thomas разработаны методы выделения алкалоидов и флавоноидов из растительного сырья и определена биологическая активность.

В странах СНГ исследования, посвященные выделению из растений алкалоидов и флавоноидов и изучению их биологической активности, проведены учеными: А.П. Ореховым, А.Н. Шацким, А.Е.Чичибабиным, Г.П. Меньшиковым, Р.А. Коноваловой, М.Н. Запрометовым, В.И. Литвиненко, Д.Ю. Корулькиным, Г.А. Толстиковым. Представителями научной школы А.П. Орехова проведены углубленные исследования по систематическому изучению хинолозидиновых алкалоидов.

В Узбекистане в выявлении видов алкалоидсодержащих растений, выделении индивидуальных соединений, доказательстве их структуры и биологической активности большая заслуга С.Ю. Юнусова, А.С. Садыкова, С.И. Искандарова, Т.Т. Шакирова, К.А.Сабирова, Г.П. Сидякина, Х.А. Асланова, В.И.Виноградовой. Свой вклад в определение химической структуры и биологической активности флавоноидов из *Thermopsis alterniflora* внесли ученые Института химии растительных веществ: Г.К. Никонов, Н.Ш. Каттаев, М.П. Юлдашев, Э.Х. Батиров, В.Н. Сыров, З.А.Хушбактова.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами исследовательского учреждения, где выполнена работа.

Диссертационное исследование выполнено в рамках инновационных проектов Института химии растительных веществ ИФА-2012-6-5 «Организация производства субстанции Цитизин» (2012-2013), И6-ФА-Т008 «Организация производства субстанции Флатерон» (2016-2017).

Целью исследования является создание рациональной технологии переработки надземной части *Thermopsis alterniflora* с последовательным выделением субстанций на основе алкалоидов цитизина, N-метилцитизина, термопсина и флавоноидов – флатерона и формонетина, а также стандартизация сырья и утилизация отходов производства.

Задачи исследования:

определить оптимальные условия водно-спиртовой экстракции при выделении алкалоидов и флавоноидов из *Thermopsis alterniflora*;

выявить оптимальные условия проведения процессов экстракции и очистки с использованием метода Бокса-Уилсона и латинского квадрата;

усовершенствовать технологию получения алкалоида цитизин;

разработать рациональную технологию комплексной переработки надземной части *Thermopsis alterniflora* с целью последовательного получения цитизина, N-метилцитизина, термопсина и флатерона с утилизацией отходов их производства;

разработать методы постадийного контроля производства субстанций цитизина и флатерона;

разработать технологию получения стандартного образца формонетина для стандартизации субстанции препарата флатерон;

разработать нормативно-техническую документацию на субстанции цитизин и флатерон и внедрить их в медицинскую практику;

на основе полученных результатов смонтирована технологическая линия производства субстанций из *Thermopsis alterniflora* на опытном производстве Института химии растительных веществ;

производство субстанций цитизина, являющегося основой препарата против курения «Никотинабс», и флатерона гиполипидемического и антиатеросклеротического действия.

Объектами исследования являются алкалоиды и флавоноиды, выделенные из лекарственного растения *Thermopsis alterniflora*, произрастающего в Узбекистане.

Предмет исследования составляют физико-химические свойства алкалоидов и флавоноидов, биологическая активность, стандартизация сырья, субстанций и лекарственных форм, разработка технологии получения субстанции.

Методы исследования. В диссертации для выделения и очистки алкалоидов и флавоноидов применены методы экстракции в системе твердое фаза-жидкость и жидкостно-жидкостная, колоночной хроматографии и кристаллизации. Для определения химических свойств полученных субстанций применены физико-химические методы исследований: высокоэффективная жидкостная хроматография, ультрафиолетовая и инфракрасная спектроскопия. Для оптимизации технологических процессов применены методы математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону и латинских квадратов типа 3х3. Для контроля качества и стандартизации лекарственных средств использованы фармакопейные методы.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

стандартизована надземная часть растения *Thermopsis alterniflora* и обоснована возможность ее использования в фармацевтической промышленности в качестве лекарственного растительного сырья;

разработан способ разделения алкалоидов *Thermopsis alterniflora* на основе изменения значений pH, при этом установлено, что при pH до 5 извлекается термопсин, при pH 5-7 –N-метилцитизин, при pH 10-12 – цитизин и усовершенствована технология получения цитизина из суммы алкалоидов;

разработаны методы высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрии, позволяющие осуществлять постадийный контроль производства субстанций цитизина и флатерона;

разработана технология выделения формонетина-стандарта из суммы флавоноидов *Thermopsis alterniflora* для стандартизации препарата флатерон и сумма флавоноидов стандартизована на основе этого стандарта;

разработана рациональная технология получения субстанций термопсина, N-метилцитизина, цитизина и флатерона из надземной части *Thermopsis alterniflora* по единой технологической схеме, а также из отхода производства шрота получены пектиновые вещества и продукт ферментативного гидролиза (биотопливо).

Практические результаты исследования состоят в следующем:

разработаны промышленные технологии производства субстанций цитизина и флатерона;

на опытном производстве Института химии растительных веществ смонтирована технологическая линия производства субстанций цитизина и флатерона и налажен их серийный выпуск;

разработанная необходимая научно-техническая документация: ВФС 42 Уз-2725-2015 «Трава термопсиса очередноцветкового»; ВФС 42 Уз-2728-2015 «Флатерон таблетки 0,1г»; ВФС 42 Уз-2726-2015 «Формонетин - стандартный образец»; ПР 42 Уз-03873/03535440-1148-2010 «Промышленный регламент на производство субстанции цитизина» утверждена Государственным центром экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что они получены с применением современных физико-химических и технологических методов исследований. Подтверждением полученных результатов служат экспертные оценки специалистов, практическая реализация результатов исследований, обсуждение результатов исследований на республиканских и международных научных конференциях, публикация результатов исследований в рецензируемых научных изданиях и получение патентов. Полученные результаты апробированы при внедрении технологий в производство и утверждены нормативно-технической документацией в государственных учреждениях.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость полученных результатов исследований заключается в том, что на основе изменения значений pH среды разработан метод разделения алкалоидов термопсина, N-метилцитизина и цитизина из суммы алкалоидов и усовершенствована технология получения цитизина. В результате этого при комплексной переработке надземной части *Thermopsis alterniflora* создана рациональная технология получения субстанций препаратов на основе алкалоидов и флавоноидов, содержащихся в данном растении. Результаты диссертационной работы также используются для проведения новых изысканий в области технологии выделения алкалоидов и флавоноидов из растений в высших учебных учреждениях Республики Узбекистан.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том, что созданы препараты против курения «Никотинабс» на основе субстанции цитизин и флатерон гиполипидемического и антиатеросклеротического действия, разработана технология получения субстанций этих препаратов из растения, что позволит удовлетворить потребность населения республики препаратами из местного растительного сырья.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов по получению субстанций препаратов биологически активных веществ из *Thermopsis alterniflora*:

способ получения цитизина защищен патентом Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан (№ IAP 04187 от 22.07.2008). Результаты научных исследований позволили разработать в фармацевтике препарат против курения;

для субстанции «Цитизин» разработана фармакопейная статья и утверждена Государственным центром экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники (ФС 42 Уз-1403-2017, регистрационное удостоверение № 09/158/3). Промышленное производство данной субстанции дает возможность локализации препаратов дыхательных analeptиков;

для субстанции «Флатерон» разработана временная фармакопейная статья и утверждена Государственным центром экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники (ВФМ 42 Уз-2727-2015, регистрационное удостоверение № 00199/07/15). Разработанный препарат антиатеросклеротического действия способствует импортозамещению препаратов данного типа в республике;

производство таблеток препарата против курения «Никотинабс» внедрено в «Nobel Pharmsanoat» (справка АК «Узфармсаноат» № МД-06/3074 от 3 ноября 2017 года). Производство данного препарата позволило сократить импорт «Табекса» («Софарма», Болгария) в республику.

Апробация результатов работы. Результаты данного исследования были обсуждены на 11 международных и 9 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 40 научных работ. Из них 10 научных статей, в том числе 9 в республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций. Получено 2 патента и подана 1 заявка на изобретение. Утверждены соответствующие нормативно-технические документы.

Структура и объём диссертации. Структура диссертации состоит из введения, шести глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объём диссертации составляет 173 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

Первая глава диссертации «**Способы выделения алкалоидов и флавоноидов из растительного сырья и их биологические свойства**» изложена на основе литературных сведений о распространении и составе растений рода *Thermopsis*. Дана классификация алкалоидов и флавоноидов, биологическая активность основных веществ и способы получения. Приведены данные о строении алкалоидов и препаратов на их основе. На основе обзора сделан вывод о выборе объектов для данной работы.

Во второй главе диссертации «**Распространение и сырьевые запасы растения *Thermopsis alterniflora***» представлена общая характеристика объектов и материалов исследований. Приведена информация о распространении *Thermopsis alterniflora*, сырьевом запасе данного растения, химическом составе и применении в медицине.

В третьей главе «**Разработка технологии выделения суммы алкалоидов из надземной части *Thermopsis alterniflora***» обсуждаются результаты проведенной работы.

С целью разработки экономически выгодной технологии получения алкалоидов цитизина, N-метилцитизина, термопсина и флавоноидов – флатерона, формононетина мы решили экстрагировать одновременно оба класса соединений с дальнейшим разделением их методами осаждения. Причем для получения продуктов высокой чистоты использовали также традиционные подходы очистки алкалоидов и флавоноидов. Технологические процессы выделения алкалоидов и флавоноидов исследовали в следующих направлениях:

1. Раздельная экстракция из сырья:
 - а) сумма алкалоидов; б) сумма флавоноидов.
2. Одновременная экстракция с последующим выделением из общего экстракта суммы алкалоидов и флавоноидов.
3. Получение стандартного образца формононетина и стандартизация препарата флатерон.

Субстанция цитизина ($C_{11}H_{14}N_2O$), т.пл. $155^{\circ}C$, представляет собой алкалоид – индивидуальное кристаллическое вещество с чистотой не менее 99,0%, используется в медицине как дыхательный analeptik. Цитизин разрешен к применению в медицинской практике приказом МЗ РУз № 158 от 25.05.2009 г. Номер регистрационного удостоверения 09/158/3 от 26.09.2014г. Выпускают цитизин в соответствии с требованиями ФС 42 Уз-1403-2017г. Технология получения цитизина защищена патентом РУз (№ IAP 04187).

С целью проведения эффективной экстракции были изучены параметры, влияющие на выход суммы алкалоидов из надземной части *Thermopsis alterniflora*, такие как тип селективного экстрагента, степень измельченности сырья, температура и динамика процесса (табл. 1).

Таблица 1

Параметры экстракции суммы алкалоидов из *Thermopsis alterniflora*

Факторы	Ед. изм.	Изученные уровни факторов	Оптимальные условия
Степень измельчения	мм	Неизм.; 0,5-1; 1-3; 3-5; 5-7; 8-10	5-7
Концентрация этилового спирта	%	70, 80, 90, 95	80
Температура	°С	20, 30, 50, 70	20
Количество сливов		1, 2, 3, 4, 5, 6	5
Время экстрагирования	ч		
1		1 - 6	5
2		1 - 4	3
3		1 - 3	2
4		1 - 2	1
5		1 - 1	1

Исходя из результатов приведенных в табл. 1, установлено, что экстракцию суммы алкалоидов из надземной части *Thermopsis alterniflora* необходимо проводить 80% - ным этиловым спиртом при температуре 20°С и степенью помола сырья 5-7 мм.

Дальнейший поиск оптимальных условий ведения процесса проводили методом математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону.

При этом варьировали следующими факторами: X_1 – концентрация спирта в экстрагенте; X_2 – степень измельчения сырья; X_3 – продолжительность экстракции; X_4 – температура экстракции. Параметром оптимизации (Y) выбрали выход суммы алкалоидов при первом контакте фаз. После обработки экспериментальных данных, получено следующее уравнение регрессии первого порядка:

$$Y = 4,38 + 7,35 X_1 + 0,76 X_2 + 4,46 X_3 + 2,42 X_4$$

По количественному вкладу факторы располагаются так: $X_1 > X_3 > X_4 > X_2$.

При определении длительности экстрагирования установлено, что необходимое время настаивания при первом контакте фаз 5 часов, при втором – 3 часа, при третьем – 2 часа, при четвертом и пятом – 1 час. За четыре слива степень извлечения составила 97,1 %, что вполне приемлемо для стадии экстракции. Исходя из этого, рекомендуем пятикратную экстракцию.

Результаты проведенных исследований позволили разработать рациональную технологию получения цитизина из надземной части *Thermopsis alterniflora* (рис. 1).

Данный способ был отработан на установках Опытного производства Института химии растительных веществ.

Для получения цитизина воздушно-сухое сырье взвешивают на весах КП-2 в количестве 52,5 кг с содержанием влаги 8%, измельчают на молотковой мельнице типа ДДК (РМ-1). Степень измельчения сырья – 5 мм. Получают 50 кг измельченной надземной части *Thermopsis alterniflora* с содержанием цитизина 0,7%.

В экстрактор (Р-3) заливают из мерника (М-7) 302,0 л 80%-ного этилового спирта. Извлечение суммы алкалоидов из сырья проводят пятикратно, настаивая 6-8 часов при комнатной температуре, гидромодуль процесса 1:6. Экстракты фильтруют через нутч-фильтр (Ф-9) и собирают в сборнике (Сб-10).

Предварительно проводят шестую экстракцию, экстракт собирают в сборник (Сб-13) и используют для проведения первой экстракции последующей загрузки.

Объединенный экстракт в количестве 1175,0 л порциями по 20-25 л подают в вакуум-циркуляционный аппарат (Р-15), где сгущают при температуре 45–55°C и вакууме 0,04-0,08 МПа. Отгон спирта сливают в сборник (Сб-12) и передают в мерник (М-7) для повторного использования.

Сгущенный экстракт разбавляют водой до 20,0 л и сливают в реактор (Р-18), подкисляют 1,073 л 5%-ной серной кислоты. При этом фенольные соединения выпадают в осадок.

Водный раствор суммы алкалоидов в количестве 20,0 л с содержанием цитизина 3,08 % направляют для извлечения алкалоидов в колоночный аппарат (Р-21). Водный раствор алкалоидов экстрагируют хлороформом в щелочных условиях. Хлороформный экстракт сгущают (Р-22) и получают 1 кг суммы алкалоидов с содержанием цитизина 0,31%, который растворяют в 6,0 л этилового спирта и заливают в кристаллизатор (К-25). Туда же медленно при перемешивании заливают 0,5 л азотной кислоты до значения рН 4-5 и оставляют на 10-12 часов до полного выпадения нитрата цитизина. Нитрат цитизина отделяют на нутч-фильтре (Ф-26), сушат на воздухе и взвешивают. Получают 0,7 кг нитрата цитизина с содержанием основного вещества 42,8%, который направляют для получения технического цитизина.

Нитрат цитизина в количестве 0,7 кг растворяют в 1,3 л воды и сливают в реактор (Р-27), подщелачивают раствором (100 г NaOH) до рН 10-12. 2 л щелочного раствора экстрагируют в колоночном аппарате (Р-27) хлороформом 8-10 раз по 1,5 л. Хлороформное извлечение упаривают в роторном испарителе (Р-28) при температуре воды 50-60°C и вакууме 0,04-0,08 МПа. Отгон хлороформа 12,2 л направляют для повторного использования. Кубовый остаток после отгонки хлороформа растворяют в 0,5л ацетона и сливают в кристаллизатор (К-30).

После полного выпадения кристаллов, последние отделяют на нутч-фильтре (Ф-32), сушат на воздухе. Маточный раствор 0,52 л направляют для регенерации ацетона. Технический цитизин 0,31 кг с содержанием цитизина 90% направляют для получения фармакопейного цитизина.

Высушенный технический цитизин не является скоропортящимся полупродуктом и может храниться в закрытой ёмкости в защищённом от света месте более 3-х месяцев без потери качества.

Технический цитизин в количестве 0,31 кг с содержанием основного вещества 90% растворяют в 4,5 л ацетона, сливают в колбу (Б-31) и кипятят до полного растворения цитизина, затем добавляют 0,02 кг активированного угля и кипятят еще 10-15 минут.

Горячий раствор фильтруют на нутч-филт্রে (Ф-32). Фильтрат сливают в кристаллизатор (К- 33).

После полного выпадения кристаллов, последние отделяют на нутч-филт্রে (Ф-34), сушат в сушильном шкафу (Сш-35) при температуре 60-70⁰С. Высушенный продукт протирают через шелковое сито и сдают на анализ для проверки его соответствия ФС-1403-2017.

Получают 0,27 кг продукта с содержанием цитизина 99,39%, который представляет собой порошок белого цвета с желтоватым оттенком.

На основе субстанции цитизина совместно с фирмой ИП ООО «Nobel Pharmsanoat» разработан препарат для отвыкания от курения «Никотинабс», представляющий собой таблетки по 1,5 мг, покрытые оболочкой.

Проведенные исследования по изучению сравнительной биоэквивалентности препаратов «Табекс» (Софарма, Болгария) и «Никотинабс» показали, что по острой токсичности и антеникотиновой активности «Никотинабс» соответствует препарату «Табекс»

Постадийный контроль производства цитизина из надземной части *Thermopsis alterniflora* проводили совместно со с.н.с. Якубовой М.Р. Количественное определение цитизина проводили методом ВЭЖХ на колонке Zorbax Eclipse – C18, 3x150мм, 3,5 мкм (Agilent Technologies) с использованием хроматографа Agilent LC 1100 с четырехэлементным насосом, дегазатором и УФ-детектором переменной длины волны. УФ-детектирование проводили при рабочей длине волны 308 нм.

На базе Опытного производства Института химии растительных веществ ежегодно перерабатываются десятки тонн *Thermopsis alterniflora* для получения цитизина. В сумме алкалоидов наряду с цитизином присутствует пахикарпин, N-метилцитизин, альтерамин, термопсин, аргентамин, диметамин, аргентин и другие алкалоиды, при этом содержание N-метилцитизина в растворе, по нашим данным, достигает 60%.

N-метилцитизин обладает высокой биологической активностью, поэтому этот алкалоид является перспективным для медицинской практики. Поэтому, целесообразно было разработать промышленную технологию получения N-метилцитизина и, наряду с цитизином можно получать N-метилцитизин по единой технологической схеме. Данная технологическая схема усовершенствована нами следующим образом (рис. 2).

Удаление примесей осуществляется не из хлороформного раствора, а из кислого водного извлечения. Цитизин выделяется из суммы алкалоидов не через стадию получения его азотнокислой соли, а путем дробного фракционирования суммы алкалоидов при разных значениях рН. Так при рН

до 5,0 извлечен технический термопсин, при рН до 7,0 технический N-метилцитизин, при рН 10-12 получили технический цитизин.



Рис. 2. Блок-схема получения субстанций цитизина и N-метилцитизина

После сгущения 80%-ного спиртового экстракта надземной части *Thermopsis alterniflora* и отделения суммы флавоноидов в кубовом остатке остаются цитизин и N-метилцитизин, которые содержатся в равных количествах, а также другие алкалоиды. Мы исследовали влияние значений рН в пределах от 5 до 12 на степень извлечения указанных алкалоидов методом жидкостно-жидкостной экстракции. Результаты показали, что при рН до 5 извлекается алкалоид термопсин; при рН 5-7,0 - извлекается N-метилцитизин; при рН 10-12 - цитизин.

На основе этих данных разработали способ разделения алкалоидов, изменяя значения рН. Использование данного способа позволило сократить технологический цикл за счет исключения стадии получения нитрата цитизина.

Для получения N-метилцитизина в экстрактор загружают 25 кг измельченной надземной части *Thermopsis alterniflora* (размером частиц не

более 6 мм и влагой не более 8%), взвешенной на весах. В экстрактор добавляют шестой водно-спиртовой экстракт в количестве 121,4 л от предыдущей загрузки и подают 80% - этиловый спирт до образования «зеркала». Настаивают в течение суток. Водно-спиртовой экстракт отфильтровывают через нутч-фильтр и сливают в сборник.

В экстрактор заливают из мерника 80%-ный этиловый спирт и проводят вторую, третью, четвертую и пятую экстракции аналогично первым экстракциям. Получают 588,5 л отфильтрованного водно-спиртового раствора суммы алкалоидов, который передают на следующую стадию.

Шестую экстракцию суммы алкалоидов из сырья проводят 80%-ным этиловым спиртом аналогично первым пяти экстракциям. Шестой экстракт в количестве 121,4 л собирают в сборник и используют для проведения первой экстракции следующей загрузки.

После шестикратной экстракции в экстракторе включают теплообменник как обратный. В рубашку экстрактора пускают пар, нагревают массу до температуры 80-85°C, отгоняют спирт из шрота и собирают отгон в сборнике. Получают 25,6 л 80%-ного спирта, который направляют в мерник для повторного использования.

Шрот после отгонки спирта в количестве 20,5 кг с содержанием цитизина и N-метилцитизина по 0,01%, в пересчете на абсолютно сухое вещество, вручную через нижний люк выгружают из экстрактора в тележку и отправляют в отвал.

Спиртовые экстракты алкалоидов, полученные в количестве 588,5 л, из сборника порциями по 10-15 л подают в вакуум-циркуляционный аппарат. Упарку ведут при температуре 40-50°C и вакууме 0,04-0,08 МПа. Отгон спирта в количестве 568,5 л с содержанием спирта 80% собирают в сборник, передают в мерник и используют для экстракции алкалоидов из сырья.

Полученный водный экстракт в количестве 5,2 л подкисляют серной кислотой до pH-4 и оставляют на ночь. Кислый водный раствор декантируют, выпавший осадок фенольных соединений в количестве 2,1 кг направляют на стадию получения препарата флатерон.

После этого водную часть экстрагируют хлороформом, хлороформ отгоняют и получают смесь термопсина, пахикарпина и других сопутствующих алкалоидов.

Кислый водный раствор после промывания хлороформом подщелачивают NaOH до pH-5, экстрагируют хлороформом, полученный технический термопсин кристаллизуют из ацетона и выделяют алкалоид термопсин.

Кислый водный раствор после выделения термопсина подщелачивают NaOH до pH-7, экстрагируют хлороформом, полученный технический N-метилцитизин кристаллизуют из экстракционного бензина и выделяют алкалоид N-метилцитизин.

Водно-щелочной раствор после выделения N-метилцитизина подщелачивают NaOH до pH-10, экстрагируют хлороформом, полученный технический цитизин кристаллизуют из этилового спирта и выделяют алкалоид цитизин.

Данный способ был отработан на установках Опытного производства Института химии растительных веществ. Для обеспечения фармакологических и токсикологических испытаний этим способом наработано достаточное количество субстанции N-метилцитизина.

В четвертой главе «Разработка технологии получения суммы флавоноидов из надземной части *Thermopsis alterniflora*» обсуждаются результаты по разработке технологии получения суммы флавоноидов из надземной части *Thermopsis alterniflora*.

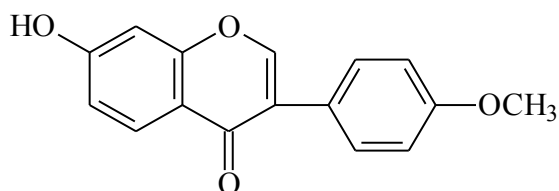
Для определения оптимальных условий экстракции изучен химический состав суммы флавоноидов из надземной части *Thermopsis alterniflora*

Формонетин

Эмпирическая формула - $C_{16}H_{12}O_4$

Молекулярная масса – 268,88

Структурная формула:

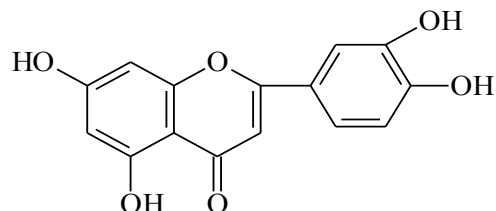


Лютеолин

Эмпирическая формула - $C_{15}H_{10}O_6$

Молекулярная масса – 286,65

Структурная формула:



В процессе экстракции воздушно-сухой надземной части *Thermopsis altherniflora* изучали влияние степени измельчения сырья на выход суммы флавоноидов. Сырье измельчали до размера частиц 0,5-1; 1-3; 3-5; 5-7 и 8-10 мм. По 0,1 кг сырья экстрагировали 80%-ным этиловым спиртом при соотношении сырья и экстрагента 1:6.

При экстрагировании неизмельченного и крупноизмельченного сырья поверхность соприкосновения частиц с растворителем мала, процесс протекает медленно, требуется большой расход растворителя. При очень мелком помоле сырья – менее 3 мм, процесс ускоряется, однако процесс экстракции замедляется за счет плотности загруженного сырья. Оптимальная степень помола – 5-7 мм достаточна для нормального проведения экстракции.

Мы изучили также влияние температуры в интервале 20 ± 5 - $60 \pm 5^\circ\text{C}$ на процесс экстракции суммы флавоноидов. При этом 20 ± 5 - $40 \pm 5^\circ\text{C}$ оптимальная температура экстрагирования, так как выход конечного продукта высокий и не требует лишних энергозатрат.

Для оценки степени влияния на процесс экстракции суммы флавоноидов из *Thermopsis altherniflora* применили метод математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону.

На основе априорной информации (в данном случае результатов однофакторных экспериментов) и данных литературы выбрали факторы, в наибольшей степени влияющие на процесс экстракции:

X_1 - концентрация экстрагента, %;

X_2 - степень измельчения сырья, мм;

X_3 - продолжительность экстракции, ч.;

X_4 - температура экстракции, °С.

Параметром оптимизации служил выход суммы флавоноидов. После проведения эксперимента типа 2^{5-2} с генерирующими соотношениями $X_4=X_1X_2$ и $X_5=X_1X_2X_3$ получили математическую модель процесса, представляющую собой уравнение регрессии первого порядка:

$$Y = 32,83X_0 + 3,63X_1 + 2,52X_2 + 2,57X_3 + 0,11X_4 - 2,51X_5$$

Из коэффициентов регрессии уравнения после расчета доверительного интервала ($\Delta b_i = 2,33$) установили, что к основным факторам, влияющим на процесс, относятся степень помола сырья, концентрация спирта и продолжительность экстракции. Статистический анализ ($F_{\text{экс}}=4,2 < F_{\text{таб}}=4,5$) показал, что математическая модель адекватна. По количественному вкладу факторы располагаются в следующем порядке: $X_1 > X_3 > X_2 > X_4 > X_5$. Получен выход 44,8% (от содержания в сырье), что вполне приемлемо при первом контакте фаз.

Для отработки рационального режима извлечения суммы флавоноидов из сырья, исследовали кинетику экстракции из надземной части *Thermopsis alterniflora*. При экстракции 80%-ным спиртом определяли изменение концентрации суммы флавоноидов во времени по массе сухого остатка.

Результаты опытов приведены на рис. 3, из которого видно, что кривые экстракций представляют типичные изотермы, стремящиеся к равновесию, причем необходимое время настаивания при первом контакте фаз составляет 5 ч., при втором контакте – 3 ч. и при третьем – пятом контактах – 1 ч., т.е. характер изменения скорости экстракции зависит от степени истощения сырья. За 5 сливов степень извлечения составила 93%, что вполне приемлемо для этой стадии.

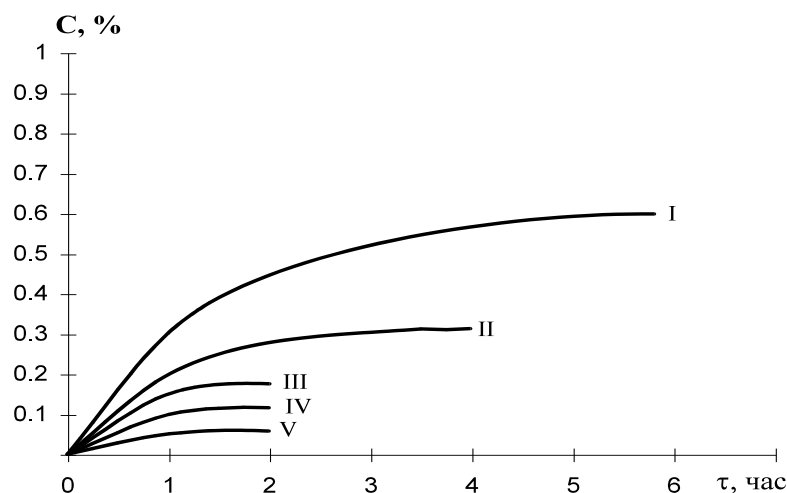


Рис. 3. Изменение концентрации суммы флавоноидов во времени.

В результате проведенных исследований разработана технология получения препарата «Флатерон» на основе суммы флавоноидов из надземной части *Thermopsis altherniflora*.

На основе субстанции флатерона организовано производство готовой лекарственной формы препарата «Флатерон» фармацевтической фирмой «Nikafarm». Республиканским Специализированным центром кардиологии было изучено применение препарата «Флатерон» при лечении нестабильной

стенокардии при непереносимости статинов и получен патент Республики Узбекистан (№ IAP 05419).

В пятой главе под названием «**Разработка технологии выделения формонетина - стандарта**» приведены результаты разработки технологии выделения формонетина – стандарта.

Удельный показатель поглощения ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$) формонетина равен 858. Это дает возможность использовать его в качестве стандартного образца. Содержание суммы флавоноидов флатерона в пересчете на формонетин-стандарт составило около 70%. Этот флавоноид доминирует и в препарате флатерон, поэтому мы выбрали его в качестве стандартного образца и разработали технологию его получения.

Формонетин (7-гидрокси-4'-метоксигидрофлаван) – флавоноид, получаемый из *Thermopsis alterniflora* и применяемый в качестве стандартного образца при количественном определении флавоноидов в указанном растении, а также в лекарственных препаратах.

В ПМР-спектре (100 МГц, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, м.д, J/Гц) проявляются сигналы протонов при 3.56 (3H,с, OCH_3), 6.98 (2H,д, J=9.0, H-3', H-5'), 7.06 (1H. уш. с, H-8), 7.15 (1H. дд, J= 9.0 и J= 2.0 , H-6), 7.70 (2H, д, J=9.0, H-2', H-6'), 8.12 (1H,с,H-2), 8.42 (1H, д, J=9.0, H-5).

Чистоту формонетина контролировали по величине удельного показателя поглощения в метиловом спирте ($E_{1\text{ см}}^{1\%}=850-890$), что согласуется с данными литературы. Проведенные исследования позволили разработать технологию получения формонетина из надземной части *Thermopsis alterniflora*.

Технологический процесс включает следующие стадии:

Измельчение сырья;

Экстракция сырья водой;

Сушка сырья;

Экстракция сырья хлороформом;

Сгущение хлороформного экстракта;

Хроматографическая очистка формонетина;

Сгущение элюата;

Кристаллизация технического формонетина из метанола;

Фильтрация и сушка формонетина.

Получение формонетин–стандарта осуществляют следующим образом. Надземную часть *Thermopsis altherniflora* (3,5 кг) экстрагируют пятикратно водой, высушивают, затем 8-кратно экстрагируют хлорформом. Объединенные хлороформные извлечения сгущают до сухого остатка. Выход хлороформного извлечения составил 130 г.

В хлороформном экстракте помимо флавоноидов содержатся сопутствующие вещества, представляющие собой органические кислоты, хлорофиллы и другие примеси. Поэтому для выделения формонетина из суммы флавоноидов целесообразно использовать хроматографический метод разделения на силикагеле.

Хлороформное извлечение (130,0 г) хроматографируют на колонке

(6x120см) с силикагелем (700,0 г). Используют силикагель марки КСК с размерами частиц 0,1-0,25 мм. Для очистки от липофильных и смолистых веществ колонку последовательно промывают следующими смесями растворителей:

- 1). бензин – хлороформ в соотношении 65: 35;
- 2). бензин – хлороформ, 60:40;
- 3). бензин – хлороформ, 80:20 ;
- 4). хлороформ.

Опыты проводили следующим образом: в колонку с силикагелем загружали сгущенный хлороформный экстракт и элюировали смесью бензин – хлороформ в различных соотношениях. Фракции элюата по 500 мл проверяли качественно методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» в системе растворителей хлороформ - бензол - метанол (9:1:1). Проявитель – пары аммиака. Фракции, содержащие формонетин, объединяли и сушили в вакууме. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Фракционный состав элюата

№ фракций	Состав	Получено, от массы в сырья, в %
1-6	Пигменты, красящие вещества	-
7-20	Липофильные и смолистые вещества	1,43
21-35	Технический лютеолин	1,83
36-70	Смесь формонетина с хризозериолом	2,33
71-85	Технический формонетин	3,17

Фракции №36-85 обрабатывают хлороформом, при этом получают технический формонетин (3,17 г) и смесь формонетина с хризозериолом (2,33 г).

С целью получения стандартного образца формонетина, соответствующего требованиям нормативно технических документов, был разработан способ очистки технического формонетина методом кристаллизации.

Для этого были проведены эксперименты по выявлению необходимого времени для полной кристаллизации формонетина. По 3 г технического формонетина растворяют при нагревании на водяной бане в 30 мл метанола до полного растворения, одновременно добавляют активированный уголь в количестве по 0,2 г. Полученные растворы фильтруют, сгущают до половины от первоначального объема и оставляют в кристаллизаторах на 4, 8, 12 и 24 часа. Выпавший во всех случаях осадок отделяют, сушат и анализируют (табл. 3).

По результатам исследований определены условия процесса кристаллизации, заключающиеся в следующем: кристаллизацию технического формонетина следует проводить из метанола с одновременным добавлением активированного угля, фильтрации раствора, сгущении до половины от первоначального объема с последующим выдерживанием в кристаллизаторе не менее 8 часов.

Таблица 3

Влияние времени кристаллизации на выход формононетина

Время кристаллизации, ч	Выход формононетина к массе сырья, в %	Содержание формононетина, в %
4	0,06	98,80
8	0,07	99,12
12	0,05	98,80
24	0,05	98,80

Как видно из табл. 3, для полной кристаллизации формононетина необходимо не менее 8 часов.

При этом выделили формононетин – стандарт (2,57 г), выход которого составил 0,07% от массы сырья.

Используя литературные данные и получив априорную информацию, влияющую на процесс, оптимизировали условия получения формононетина из суммы флавоноидов с помощью плана типа латинский квадрат 3х3.

Для этого исследовали влияние на процесс следующих факторов:

A - соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки на уровнях: $A_1=12:1$; $A_2=8:1$; $A_3=4:1$.

B - скорость элюирования, л/час·м² на уровнях: $B_1=30$ л/час·м²; $B_2=45$ л/час·м²; $B_3=60$ л/час·м².

C - соотношение суммы флавоноидов, вносимой в колонку, и сорбента на уровнях: $C_1=1:5$; $C_2=1:10$; $C_3=1:15$.

Наибольший выход формононетина 20,4% получен при условиях $A_2B_1C_2$, т.е. скорость элюирования - 30 л/час·м², соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки - 8:1 и соотношении суммы флавоноидов к сорбенту - 1:10.

Полученный нами стандарт формононетина использовали для определения качества флатерона.

В результате проведенных исследований разработана технология получения формононетина-стандарта для стандартизации суммы флавоноидов из надземной части *Thermopsis altherniflora*.

Шестая глава «Технология производства субстанций препаратов при комплексной переработке *Thermopsis altherniflora*» посвящена разработке технологии производства субстанций препаратов при комплексной переработке *Thermopsis altherniflora*. Приведены результаты разработки технологии получения субстанций термопсина, N-метилцитизина, цитизина и флатерона из этого растения, утилизация отходов производства с получением пектиновых веществ и биотоплива, дано экономическое обоснование предложенного способа производства цитизина и флатерона.

В результате исследований надземной части *Thermopsis altherniflora* нами разработана промышленная технология комплексной переработки сырья с получением по единой схеме субстанций лекарственных препаратов термопсина, цитизина, N - метилцитизина и флатерона (рис. 4).

Высушенную надземную часть *Thermopsis altherniflora* (влажность 6-8%)

измельчают на мельнице (Х-1) с размером частиц в среднем 5-7 мм.

Измельченное сырье 50 кг с содержанием цитизина 0,51% и суммы флавоноидов 2,5% (от массы сырья) взвешивают на весах (Х-2) и загружают в экстрактор (Х-5). Из мерника (М-3) в экстрактор (Х-5) заливают 300 л 80%-ного этилового спирта. Экстракцию проводят в течение 5 ч.

Первый спиртовой экстракт 242,0 л с помощью давления инертного газа сливают в сборник (С-7), далее в экстрактор из мерника приливают 242,0 л 80%-ный спирт и проводят вторую экстракцию, аналогично первой. Вторым спиртовой экстракт (242,0 л) сливают в сборник (С-7) и осуществляют 3-ю экстракцию, аналогично первым двум. Спиртовые экстракты собирают в сборник, получают 1175,0 л экстракта, который передают на стадию упарки. Шестой экстракт в количестве 242,0 л собирают в сборник (С-8) и используют для проведения первой экстракции следующей загрузки. По окончании шестой экстракции шрот направляют на стадию регенерации спирта.

Спиртовой экстракт из сборника (С-7) порциями по 20–25 л подают в вакуум-выпарной аппарат (Х-9). Упарку ведут при температуре 40–50°C и вакууме 0,04 – 0,06 МПа. Отгон спирта собирают (С-11) и используют для экстрагирования сырья. Упаренный густой экстракт (75 л) сливают из вакуум-выпарного аппарата в сборник (С-18) и подкисляют серной кислотой до рН 4. При этом выпадает осадок фенольных соединений, который отделяют на фильтре и направляют для получения суммы флавоноидов (Р-28).

Кислый водный раствор 75 л из сборника (С-18) с помощью инертного газа перекачивают в стеклянную колонку (А-9), экстрагируют трехкратно по 15 л хлороформом. Хлороформное извлечение собирают в сборник (С-26) и порциями по 20 л подают в вакуум-выпарной аппарат (Х-12). Отгон 27 л хлороформа собирают в сборник (С-28) и используют для получения суммы алкалоидов (А-9).

Из сгущенного хлороформного извлечения 10,5 л получают смесь термопсина, пахикарпина и других сопутствующих алкалоидов (А-9).

Получение субстанции термопсина. Кислый водный раствор суммы алкалоидов (А-9) 10,5 л подщелачивают NaOH до рН-5, экстрагируют 5,0 л хлороформа, хлороформное извлечение сгущают (С-26), кристаллизуют (К-1) из ацетона и выделяют 0,28% субстанции термопсина от массы сырья.

Получение субстанции N-метилцитизина. Кислый водный раствор (А-9) после выделения термопсина подщелачивают NaOH до рН-7, экстрагируют 5,0 л хлороформа, полученный технический N-метилцитизин кристаллизуют (К-2) из экстракционного бензина и выделяют 0,38% субстанции N-метилцитизина от массы сырья.

Получение субстанции цитизина. Водный раствор после выделения N-метилцитизина подщелачивают NaOH до рН 10, цитизин извлекают порциями хлороформа (по 10 л) до истощения (реактив Драгендорфа).

Хлороформное извлечение концентрируют в вакуум-выпарном аппарате (Х-40), кубовый остаток сливают в кристаллизатор (К-5) и добавляют спирт. При этом выпадает технический цитизин, который сушат на воздухе в течение 12-14 ч.

В стеклянную колбу (Е-41) засыпают технический цитизин и растворяют в спирте при нагревании. После полного растворения добавляют 0,5% активированного угля и кипятят еще 15–20 мин. Горячий раствор спирта фильтруют через воронку Бюхнера (Ф-39), заправленную бязью и фильтровальной бумагой, в колбу Бунзена (Е-59). Фильтрат сливают в кристаллизатор (К-6) и оставляют при температуре 3–5°С на 24 ч. Выпавшие кристаллы отделяют на нутч-филтре (Ф-47) и сушат в сушильном шкафу (Т-45). Фильтрат сгущают (Х-40) на 1/3 объема и сливают в кристаллизатор (К-5). Выпавшие кристаллы цитизина отделяют (Ф-39) и сушат в сушильном шкафу (Т-45), затем перекристаллизовывают еще раз из спирта (Е-41), спиртовые маточники упаривают (Х-40).

Получают 0,21 кг продукта, что составляет 0,42% от массы сырья, или 82,3 % от содержания в сырье.

Получение субстанции флатерона. Осадок фенольных соединений разбавляют водой (Р-28) и промывают хлороформом по 10 л. После отстаивания хлороформный слой сливают в сборник (С-32). Промывку повторяют еще 2 раза. Хлороформные извлечения в количестве 25 л направляют на стадию регенерации (Х-12).

Очищенный от гидрофобных примесей водный раствор флавоноидов 20–22 л оставляют в стеклянном баллоне на 24 ч. Выпавший осадок отделяют на нутч-филтре (Ф-33) и сушат в сушильном шкафу (Т-46). Получают 1,05 кг (2,1% от массы сырья) технический флатерон.

В стеклянную колбу емкостью 5 л (Е-43) заливают 0,5 л дистиллированной воды, засыпают технический флатерон, добавляют 1,5 л 96%-ного этилового спирта и нагревают на водяной бане (Е-44) с обратным холодильником (Т-39) до полного растворения флатерона. Спиртовый раствор суммы флавоноидов сгущают в вакуум-выпарном аппарате (Х-46), в который затем добавляют 1 л дистиллированной воды и сливают в кристаллизатор (К-7) на 10–20 ч.

Выпавший осадок флатерона фильтруют через бязь (Ф-35) и фильтровальную бумагу на воронке Бюхнера (Е-39), осадок на филтре промывают 2 раза по 50 мл дистиллированной водой. Полученный флатерон перекристаллизовывают из 96% спирта и сушат (Т-47).

Маточный водно-спиртовой раствор в количестве 1 л с содержанием флатерона 0,25% направляют на стадию его выделения (Х-46).

Получают 0,898 кг продукта, что составляет 1,79% от массы сырья, или 71,6% от содержания в сырье. Флатерон представляет собой порошок от зеленовато-желтого до зеленовато-коричневого цвета со специфическим запахом.

Данный способ был отработан на установках Опытного производства Института химии растительных веществ.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ разделения алкалоидов *Thermopsis alterniflora* на основе изменения значений pH, при этом установлено, что при pH до 5 извлекается термопсин, при pH 5-7 – N-метилцитизин, при pH 10-12 – цитизин, а также усовершенствован процесс получения цитизина из суммы алкалоидов и технология внедрена в производство.
2. Выявлены оптимальные параметры, влияющие на выход суммы алкалоидов и флавоноидов из *Thermopsis alterniflora*, которые использованы на стадии экстракции сырья.
3. Разработаны методы стандартизации цитизина и флатерона на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрического анализа, которые рекомендованы для проведения постадийного контроля производства субстанций данных препаратов.
4. Разработана технология выделения формононетина – стандарта из суммы флавоноидов *Thermopsis alterniflora* и рекомендована к использованию в стандартизации нового гиполипидемического и антиатеросклеротического препарата флатерон.
5. Впервые разработана рациональная технология комплексной переработки надземной части *Thermopsis alterniflora* с получением по единой технологической схеме субстанций термопсина, N-метилцитизина, цитизина и флатерона, а также из отхода производства – шрота рекомендованы способы получения пектиновых веществ и биотоплива.
6. На основе разработанных технологий и необходимой нормативно-технической документации внедрен в производство серийный выпуск субстанций цитизина и флатерона.
7. На основе субстанции цитизин из надземной части *Thermopsis alterniflora* в медицинскую практику внедрен препарат против курения «Никотинабс».
8. На базе опытного производства Института химии растительных веществ создана технологическая линия для производства субстанций цитизина и флатерона, на этой линии произведено и реализовано 16 кг субстанции цитизина и 1 кг субстанции флатерона.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AND
THE INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES**

INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES

SOTIMOV G'AYRAT BAXTIYOROVICH

**DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES FOR MANUFACTURE OF DRUG
SUBSTANCES BASED ON ALKALOIDS AND FLAVONOIDS AT
COMPLEX PROCESSING OF *THERMOPSIS ALTERNIFLORA***

02.00.10 - Bioorganic chemistry

**DISSERTATION ABSTRACT
FOR THE DOCTOR OF TECHNICAL SCIENCES (DSc)**

Tashkent – 2017

The title of the doctoral dissertation (DSc) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2017.3.DSc/T134

The dissertation has been prepared at the Institute of Chemistry of Plant Substances.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.biochem.uz) and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific consultant: **Mamatkhanov Akhmatkhon Umar khanovich**
doctor of science in technical, professor

Official opponents: **Aripova Salimakhon Fozilovna**
doctor of science in chemistry, professor

Kamilov Husan Masudovich
doctor of science in pharmacy, professor

Sagdullaev Bahodir Tohirovich
doctor of science in technical

Leading organization: **Tashkent Pharmaceutical Institute**

Defence will take place on ____ 2017 year ____ at the meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan and the Institute of Chemistry of Plant Substances at the following address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

Dissertation is registered at the Information Resource Centre at the Institute of Bioorganic Chemistry (registration number D-) (Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63), e-mail: asrarov54@mail.ru).

Abstract of dissertation is distributed on ____ 2017 year.
(Protocol at the register ____ on ____ 2017 year).

Sh.I.Salikhov

Chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., academician

M.I.Asrarov

Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., professor

A.A. Akhunov

Chairman of scientific seminar under scientific council
on award of scientific degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of DSc thesis)

The aim of the research work is to create a rational technology for *Thermopsis alterniflora* herb processing with sequential release of the drug substances based on cytosine, N-methylcytosine, thermopsine alkaloids and flateron and formononetin flavonoids, and also, the standardization of raw materials, and the utilization of industrial wastes.

The objects of the research work is the alkaloids and flavonoids isolated from medicinal plant *Thermopsis alterniflora* growing in Uzbekistan.

The scientific novelty of the work is as follows:

the aerial part of *Thermopsis alterniflora* plant was standardized and its application in pharmaceuticals as a plant raw material was proved;

the method of alkaloids separation from *Thermopsis alterniflora* is developed on the basis of pH values changes; it has been established that at pH up to 5 the thermopsine alkaloid, at pH 5-7 - N-methylcytosine, and at pH 10-12 - cytosine is extracted and the technology of cytosine obtaining from the alkaloid sum was improved;

the methods for cytosine and flateron standardizing by high-performance liquid chromatography and spectrophotometry have been developed, which allow the stage-by-stage control of the drug substances production;

the technology for isolation of formononetine - standard from the flavonoid sum of *Thermopsis alterniflora* used in the standardization of flateron drug was developed;

a rational technology according to a single technological scheme for obtaining of substances of thermopsine, N-methylcytosine, cytosine and flateron from the aerial part of the *Thermopsis alterniflora*, as well as pectic substances and the product of enzymatic hydrolysis (biofuel) from the wastes of cake developed.

Implementation of research results. Based on the results of studies on the biologically active substances obtaining from *Thermopsis alterniflora*:

The method for obtaining of cytosine was protected by a patent of the Agency for intellectual property of the republic of Uzbekistan (No. IAP 04187 dated 22.07.2008). The results allowed develop a preparation against smoking for pharmaceuticals;

for the "Cytizine" substance a pharmacopoeial article has been developed and approved by the State Center for Expertise and Standardization of Medicines, Medical Devices and Medical Equipment (FA 42 Uz-1403-2017, registration certificate No. 09/158/3). The industrial production of this substance makes it possible to localize the respiratory analeptic preparations;

for the "Flateron" substance a temporary pharmacopoeial article was developed and approved by the State Center for Expertise and Standardization of Medicines, Medical Devices and Medical Equipment (TFA 42 Uz-2727-2015, registration certificate No. 00199/07/15). The developed drug of antiatherosclerotic action promotes the import substitution of drugs of this type in the republic;

for the production of tablets of the drug against smoking "Nicotinabs" the "Nobel Farmsanoat" sold the cytosine substance (certificate of Uzfarm sanoat No. MD-06/3074 dated November 3, 2017). Production of this drug allowed reduce the import of "Tabex" ("Sopharma", Bulgaria) to the republic.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of an introduction, six chapters, conclusions, references and appendices. The volume of the thesis is 173 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Сотимов Г.Б., Якубова М.Р., Маматханова М. А., Виноградова В.И., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Изучение процесса экстракции алкалоидов из *Thermopsis alterniflora* // Узбекский химический журнал – Ташкент. - 2013. - №2. - С. 42-45 (02.00.00. №6).

2. Сотимов Г.Б., Маматханов А.У., Абдурахманов Б.А., Сагдуллаев Ш.Ш. Изучение процесса получения формононетина-стандарта// Узбекский химический журнал - Ташкент. -2015. - № 3. - С. 38-41(02.00.00. №6).

3. Котенко Л.Д., Маматханова М. А., Сотимов Г.Б., Маматханов А.У. Разработка метода определения флавоноидов в траве термопсиса очередноцветкового // Фармацевтический вестник Узбекистана. - Ташкент. - 2015. - №1. - С. 27-29 (02.00.00. №5).

4. Сотимов Г.Б., Нигматуллаев Б.А., Шамсувалиева Л.А., Абдурахманов Б.А., Маматханов А.У. Анатомо-морфологическое строение надземных органов *Thermopsis alterniflora* Rgl. et. Schmalh. // Узбекский биологический журнал. - Ташкент. - 2016. - №2. - С. 37-41 (03.00.00. №5).

5. Сотимов Г.Б., Маматханова М. А., Шамсиев Ш.Ш., Маматханов А.У. Оптимизация процесса экстракции при получении цитизина// Фармацевтический журнал. - Ташкент. - 2016. - №3. - С. 82-85. (02.00.00. №2).

6. Сотимов Г.Б., Рахманбердыева Р.К., Маматханова М. А., Маматханов А.У. Изучение пектиновых полисахаридов *Thermopsis alterniflora*// Фармацевтический вестник Узбекистана. - Ташкент. - 2016. - №3. - С. 76-78. (02.00.00. №5).

7. Сотимов Г.Б., Маматханова М. А., Виноградова В.И., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Разработка технологии получения цитизина и флатерона из надземной части *Thermopsis alterniflora* // Химия и химическая технология. – Ташкент. - 2016. - № 4. - С. 40-44. (02.00.00. №3).

8. Сотимов Г.Б., Маматханова М.А., Ш.Ш. Шамсиев Сушка водного экстракта надземной части термопсиса очередноцветкового// Фармацевтический журнал. - Ташкент. - 2017. - №3. - С. 82-86 (02.00.00. №2).

9. Йулдашев Ш.У., Сотимов Г.Б., Маматханов А.У., Пайзиев И.Б., Сагдуллаев Ш.Ш. Ферментативный гидролиз шрота *Thermopsis alterniflora*// Химия и химическая технология. – Ташкент. - 2017. - № 4. - С. 74-76. (02.00.00. №3).

10. Курбанов Р.Д., Хушбакова З.А., Сагдуллаев Ш.Ш., Шек А.Б., Сотимов Г.Б., Кан Л.Э., Ахмедова Ш.С., Хошимов Ш.У. Способ лечения нестабильной стенокардии при непереносимости статинов. Патент на изобретение № IAP 05419 от 29.05.2014.

II бўлим (II часть; II part)

11. Маматханов А.У., Виноградова В.И., Сагдуллаев Ш.Ш., Якубова М.Р., Сотимов Г.Б., Халилов Р.М., Маматханова М.А., Нигматуллаев А.М., Пулатов А.А., Нуриддинов Х.Р. Способ получения цитизина. Патент на изобретение № IAP 04187 от 22.07.2008.

12. Маматханов А.У., Сотимов Г.Б., Сагдуллаев Ш.Ш., Хушбакова З.А., Котенко Л.Д., Сыров В.Н., Юсупова С.М., Ахмедов В.Н. Способ получения средства, обладающего гипополипидемическим и антиатеросклеротическим действием. Заявка на Патент Республики Узбекистан № IAP 20150187 от 25.05.2015.

13. Сайфиддинова Н.Б., Муллабаева Г.У., Зияева А.В., Сотимов Г.Б. Влияние флатерона на показатели липидного спектра и перекисного окисления липидов крови у больных, перенесших Q волновой инфаркт миокарда // Кардиология Узбекистана. - Ташкент. - 2015. - №1 (35). - С. 33-37 (14.00.00. №10).

14. Промышленный регламент ПР 42 Уз-03873/03535440-1148-2010 на производство субстанции цитизина / Сагдуллаев Ш.Ш., Маматханов А.У., Якубова М.Р., Сотимов Г.Б. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2009. – 82 с.

15. ВФС 42 Уз-1403-2009. Цитизин / Сагдуллаев Ш.Ш., Маматханов А.У., Виноградова В.И., Якубова М.Р., Сотимов Г.Б. Маматханова М.А. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2009. – 5 с.

16. ВФС 42 Уз-2725-2015. Трава термопсиса очередноцветкового// Сагдуллаев Ш.Ш., Садиков А.З., Маматханов А.У., Котенко Л.Д., Сотимов Г.Б. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2015. – 11 с.

17. ВФС 42 Уз-2726-2015. Формононетин-стандартный образец / Сагдуллаев Ш.Ш., Садиков А.З., Маматханов А.У., Котенко Л.Д., Сотимов Г.Б. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2015. – 5 с.

18. ВФС 42 Уз-2727-2015. Флатерон / Сагдуллаев Ш.Ш., Садиков А.З., Маматханов А.У., Котенко Л.Д., Сотимов Г.Б. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2015. – 7 с.

19. ВФС 42 Уз-2728-2015. Флатерон таблетки 0,1г / Сагдуллаев Ш.Ш., Садиков А.З., Маматханов А.У., Котенко Л.Д., Ш.Н.Мадрахимов., Сотимов Г.Б. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2015. – 7 с.

20. ФС 42 Уз-1403-2017. Цитизин / Маматханов А.У., Виноградова В.И., Якубова М.Р., Сотимов Г.Б. Маматханова М.А. Утв. ГУККЛСМТ МЗ РУз, - Т.: 2017. – 6 с.

21. Сотимов Г.Б., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Очистка флатерона// Доклады конференции молодых ученых, посвященной памяти акад. С.Ю. Юнусова. Ташкент, 2005. С.44.

22. Sotimov G.B., Mamatkhanov A.U. Mathematical planning of flaterone extraction process from raw material // Abstracts of the 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, Tashkent, 2007. P.111.

23. Sotimov G.B. Optimization of the process for flaterone purification by the method of ultrafiltration // Abstracts of the 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, Tashkent, 2007. P.115.

24. Сотимов Г.Б., Маматханов А.У. Технология получения флатерона из

надземной части *Thermopsis alterniflora*// Материалы III Республиканской научно-практической конференции «Создание сырьевых лекарственных ресурсов, субстанций, диагностических, лечебно-профилактических средств и их применение в медицине и ветеринарии». Самарканд, 2008. С. 113-114.

25. Сотимов Г.Б., Маматханов А.У., Маматханова М.А. Изучение влияния растворителя и степени измельчения сырья на процесс экстракции цитизина// Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации». Ташкент, 2008. С. 308-309.

26. Сотимов Г.Б., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Стандартизация травы термописа очередноцветкового// Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации». Ташкент, 2008. С. 307-308.

27. Сотимов Г.Б., Маматханов А.У. Исследование процесса очистки флатерон при экстракции надземной части *Thermopsis alterniflora*// Тезисы докладов V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ», Уфа, 2008. С.262.

28. Сотимов Г.Б., Якубова М.Р., Маматхонова М.А., Халилов Р.М., Маматханов А.У. Изучение кинетики экстракции цитизина// Сборник тезисов конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений» Ташкент, 2009. С. 79.

29. Якубова М.Р., Сотимов Г.Б., Маматханов А.У. Количественное определение цитизина в траве *Thermopsis alterniflora* // Материалы IV всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья», Барнаул, 2009. С.50.

30. Sotimov G.B., Mamatkhanova M.A., Khalilov R.M., Mamatkhanov A.U. Investigation of the process of cytizine extraction from aerial part of *Thermopsis alterniflora*// Abstracts of the 8th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (8th SCNC), Anadolu University, Eskişehir, Turkey, 2009. P. 166.

31. Сотимов Г.Б., Халилов Р.М., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Постатийный контроль производства препарата флатерон // Тезисы докладов VII Всероссийской научной конференции «Химия и медицина, Орхимед – 2009» Уфа, 2009. С.273.

32. Сотимов Г.Б., Маматханова М.А., Якубова М.Р., Виноградова В.И., Маматханов А.У. Утилизация отходов производства цитизина // Тезисы докладов VII Всероссийской научной конференции «Химия и медицина, Орхимед – 2009» Уфа, 2009. С.272.

33. Сотимов Г.Б., Ботиров Р.А., Рахимов Ш.Б., Виноградова В.И., Сагдуллаев Ш.Ш. Выделение N-метилцитизина из отходов производства цитизина // Сборник тезисов VI Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ», Орхимед: «Разработка лекарственных и физиологически активных соединений на основе природных веществ». Санкт-Петербург, 2010. С. 287.

34. Отаева Ш.А., Ботиров Р.А., Сотимов Г.Б., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. Спектрофотометрический метод количественного определения N-

метилцитизина в субстанции // Сборник тезисов конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений» Ташкент, 2010. С. 128.

35. Мадрахимов Ш.Н., Сотимов Г.Б., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Исследование стабильности таблеток Флатерона в процессе хранения методом «ускоренного старения» // Тезисы докладов конференции молодых ученых, посвященных памяти академика С.Ю. Юнусова. Ташкент, 2011. С. 82.

36. Botirov R.A., Sotimov G.B., Mamatkhanov A.U., Vinogradova V.I., Sadykov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Azamatov A.A., Tursunkhodjaeva F.M. Purification of N-methylcytisine from wastes of cytisine manufacture// Abstracts of the 9th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, China, Urumqi, 2011. P. 232.

37. Сотимов Г.Б., Маматханова М.А., Набиев А.Н., Шарипов Ш., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Разработка препарата «Никотинабс» на основе субстанции цитизина // Сборник тезисов докладов Республиканской научно-практической конференции молодых ученых. Ташкент, 2013. С.88-89.

38. Набиев А.Н., Сотимов Г.Б., Шарипов Ш., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Антиникотиновое действие отечественного препарата «Никотинабс» в сравнении с препаратом «Табекс» // Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы фармации и медицины» г.Чимкент, 2015. С. 9-11.

39. Мадрахимов Ш.Н., Мадрахимова М.И., Котенко Л.Д., Сотимов Г.Б. Флатерон таблеткасини чинлиги ва микдори // Сборник тезисов Республиканской научной конференции молодых ученых «Высокотехнологические разработки в производстве», Ташкент, 2016. С.74-75.

40. Yuldashev Sh.U. Mamatkhanova M.A., Sotimov G.B., Payziev I.B. Utilization of plant raw material with biofuel obtaining // Abstracts of the 12th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, Tashkent, Uzbekistan, 2017. P. 122.

В приложении приведены копии ВФС и ФС, промышленных регламентов, акт внедрения, заключения клинических испытаний.

Автореферат «Kimyo va kimyo texnologiyasi» журнали таҳарирятида таҳрирдан ўтказилди (04.12.2017 йил).

Муаллиф диссертация ишини шакллантиришда илмий ва амалий ёрдам бергани учун техника фанлари доктори, профессор Ш.Ш. Сагдуллаевга ва кимё фанлари доктори, профессор С.Д. Гусаковаларга ўз миннатдорчилигини билдиради.

Босишга рухсат этилди _____ 2017 й.
Қоғоз бичими 60x84 1/16. Адади 100 нусха.
Буюртма №28/17. ЎзР ФА ЎМКИ
матбаа бўлимида чоп этилди.
Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўчаси, 77 уй.

