

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 16.07.2013 К.В.Т.13.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

САДИКОВ АЛИМДЖАН ЗАИРОВИЧ

**АЛКАЛОИДЛАРНИ ЎСИМЛИК ХОМ АШЁСИДАН ИШЛАБ ЧИҚАРИШ
ТЕХНОЛОГИЯЛАРИНИ МАҚБУЛЛАШТИРИШ**

(Дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид
синфларига оид алкалоидлар мисолида)

**02.00.10 – Биоорганик кимё
(техника фанлари)**

ИЛМИЙ МАЪРУЗА ШАКЛИДАГИ ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ

Тошкент - 2015

Илмий маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси мундарижаси
Оглавление докторской диссертации в виде научного доклада
Content of doctoral dissertation in form of scientific report

Садиков Алимджан Заирович Алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан ишлаб чиқариш технологияларини мақбуллаштириш (Дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид алкалоидлар мисолида).....	3
Садиков Алимджан Заирович Оптимизация технологий производства алкалоидов из растительного сырья (на примере алкалоидов дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых и стероидных классов).....	47
Sadikov Alimdjan Zairovich Optimization of the production technology of alkaloids from plant raw materials (on the example of diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids).....	89
Эълон қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	129

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 16.07.2013 К.В.Т.13.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

САДИКОВ АЛИМДЖАН ЗАИРОВИЧ

**АЛКАЛОИДЛАРНИ ЎСИМЛИК ХОМ АШЁСИДАН ИШЛАБ ЧИҚАРИШ
ТЕХНОЛОГИЯЛАРИНИ МАҚБУЛЛАШТИРИШ**

(Дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид
синфларига оид алкалоидлар мисолида)

**02.00.10 – Биоорганик кимё
(техника фанлари)**

ИЛМИЙ МАЪРУЗА ШАКЛИДАГИ ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ

Тошкент - 2015

Маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида 30.09.2014/В2014.5.Т278 рақам билан рўйхатга олинган.

Илмий маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси Ўсимлик моддалари кимёси институтида бажарилган.

Илмий маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси уч тилда (ўзбек, рус, инглиз) илмий кенгаш веб-саҳифаси (<http://ss.biochem.uz>) ва «ZiyoNet» таълим ахборот тармоғида (www.ziyo.net) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:

Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович
техника фанлари доктори

Расмий оппонентлар:

Глушенкова Анна Ивановна
техника фанлари доктори, академик

Урманова Флюра Фаридовна
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Сагдуллаев Баходир Тахирович
техника фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Тошкент кимё-технология институти

Илмий маъруза шаклидаги диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти ҳамда Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги 16.07.2013 К.В.Т.13.01 рақамли Илмий кенгашнинг «___» _____ 2015 йил соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўчаси, 83. Тел.: 262-35-40, факс (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

Илмий маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси 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).

Илмий маъруза шаклидаги диссертация 2015 йил «___» _____ да тарқатилди.
(2015 йил «___» _____ даги __ рақамли реестр баённомаси).

А.С. Тўраев,
Фан доктори илмий даражасини берувчи
Илмий кенгаш раиси, к.ф.д., профессор

Б.Н. Бабаев,
Фан доктори илмий даражасини берувчи
Илмий кенгаш илмий котиби, к.ф.д.

А.А. Ахунов,
Фан доктори илмий даражасини берувчи
Илмий кенгаш ҳузуридаги илмий семинар
раиси, б.ф.д., профессор

Кириш

(Илмий маъруза шаклидаги докторлик диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда ишлаб чиқарилаётган ва тиббиёт амалиётида қўлланилаётган дори воситаларининг 40% дан ортиғини ўсимлик хом ашёсидан олинадиган дори воситалари ташкил қилади. Табиий бирикмалар асосида яратилаётган дори воситаларининг асосий қисми ўсимликдан ажратиб олинган биологик фаол моддалар—алкалоидлар, флаваноидлар, экдистероидлар, оксиллар, гликозидлар, эфир мойлари, юқори молекулали углеводлар ва бошқалар асосида ишлаб чиқарилмоқда. Фармацевтика саноатида ўсимлик хом ашёсидан олинаётган алкалоид таркибли дори воситалари таъсир қилувчи моддаларининг физик ва кимёвий хусусиятларига монанд яратилган технологиялар асосида ишлаб чиқариш амалга ошириб келинмоқда. Бу ҳолат субстанция ишлаб чиқариш корхоналарида бир қатор ноқулайликларни келтириб чиқаради, яъни фармацевтика заводларидаги маълум бир субстанция учун ишлаётган технологик тизимнинг бошқа субстанцияни олишга мос тушмаслиги йил давомида маълум вақт тўхтаб туришига олиб келади. Хусусан, Чимкент Кимё-фармацевтика заводида глауцин субстанциясини йилига 3–4 ой, цитизин субстанциясини эса йилига 5–6 ой мобайнида, Тошкент Кимё-фармацевтика заводида галантамин гидробромиди субстанциясини суюқлик–суюқлик технологияси асосида йилига 3–4 ой, Ўсимлик моддалари кимёси институтида дезоксипеганин гидрохлориди субстанциясини суюқлик–суюқлик технологияси усулида йилига 5–6 ой давомида ишлаб чиқарилган, қолган вақт мобайнида технологик тизим тўхтаб турган. Табиийки, бу ҳолат технологик тизимларнинг самарадорлигини тушириб юборади. Тўхтаб турган даврда технологик тизимда бошқа бир маҳсулот ишлаб чиқариладиган бўлса, жиҳозларнинг фойдали иш бирлиги ортади. Бунинг учун мавжуд ёки яратилаётган янги дори воситалар субстанцияларининг бир нечтасини ягона технологик тизимга олиб келиш лозим.

Мамалакатимизда фармацевтика саноатида ечилиши лозим бўлган муҳим муаммолардан бири маҳаллий хом ашёлардан олинадиган ва самарадорлиги жиҳатидан импорт маҳсулотлардан қолишмайдиган янги дори воситаларини яратиш, уларни тиббиёт амалиётига жорий қилиш ҳисобланади. Чунки Республикамизда фармацевтика саноати катта ютуқларга эришганлиги билан бир қаторда ҳали ҳам тайёр дори шакллари ишлаб чиқарувчи корхоналар, асосан, импорт орқали келаётган субстанция ва ёрдамчи ярим маҳсулотлар ҳисобига ишламоқда.

Юқорида келтирилган муаммолардан кўриниб турибдики, замонавий фармацевтика саноатида ўсимлик хом ашёсидан алкалоидлар асосида янги дори воситаларини ишлаб чиқиш, уларнинг субстанцияларини ишлаб чиқариш технологияларини яратиш, мавжуд технологияларни такомиллаштириш ва маълум бир гуруҳ маҳсулотларни ишлаб чиқариш технологияларини умумлаштириш долзарб вазифалардан биридир.

Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 1996 йил 14

августдаги 283–сон «Ўзбекистон Республикасида тиббиёт ва фармацевтика саноатини ривожлантиришни давлат томонидан қўллаб – қувватлаш чора тадбирлари» тўғрисидаги ва Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2007 йил 19 ноябрдаги ПҚ–731–сон «2011 йилгача бўлган даврда фармацевтика тармоғи корхоналарини модернизация қилиш, техникавий ва технологик қайта жиҳозлаш дастури, ...» тўғрисидаги қарорларидан келиб чиқиб, мазкур диссертация тадқиқоти ўсимлик хом ашёсидан биологик фаол субстанцияларни ажратиб олиш технологияларини ишлаб чиққан ҳолда республикада фармацевтика соҳасини ривожлантиришга қаратилган.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг асосий устувор йўналишларига боғлиқлиги. Диссертация иши Ўзбекистон Республикаси саноатини ривожлантиришнинг устувор йўналишлари тўғрисидаги Ўзбекистон Республикаси Президентининг 15.12.2010 йил №ПП–1442 сонли қарорига кирган «GMP талабларига жавоб берадиган ўсимлик хом ашёларидан оригинал дори воситалари субстанциялари ва ниҳоятда зарур бўлган генерик дори воситалари субстанцияларини яратиш, ишлаб чиқиш ва ишлаб чиқариш учун акад. С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти Тажриба ишлаб-чиқариш корхонасини модернизация ва реконструкция қилиш» ҳамда фан ва технологиялар тараққиётининг устувор йўналишларига мос ҳолда ИТД–11 «Маҳаллий, табиий ва синтетик хом ашёлар асосида янги дори воситалари технологияларини ишлаб чиқиш» дастури асосида бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий–тадқиқотлар шарҳи. Ўсимлик хом ашёсидан алкалоид сақлаган дори воситаларини яратиш билан боғлиқ бўлган назарий ва амалий изланишлар – алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан ажратиб олиш, уларни кимёвий тадқиқ қилиш, олинган моддаларнинг фармакологик ва токсикологик хусусиятларини ўрганиш, биологик фаоллиги юқори бўлган моддалар асосида фармацевтика ва тиббиёт соҳасидаги талабларга мос равишда янги дори воситаларини яратиш, уларни сифат ва миқдорий таҳлил қилиш ҳамда ишлаб чиқариш технологияларини яратиш устида Шимолий Каролина ва Орегон давлат университети (АҚШ), IHN Shanghai фармацевтика компанияси (Канада), Шарқий Пьемонт университети (Италия), «KRKA» фармацевтика компанияси (Словения), «Скопье алкалоидлари» компанияси (Македония), Адана университети (Туркия), Синцзян физика ва кимё техника университети, Анъанавий Хитой тиббиёти университети, Макао университети (Хитой), Осака университети (Япония) ва бошқалар томонидан илмий изланишлар изчил олиб борилмоқда.

Алкалоидлар асосида бир қатор илмий марказлар ва компаниялар дори воситаларини яратишда муҳим натижаларга эришганлар. Жунғор парписи ўсимлигидан олинган аконитин алкалоиди асосида шамоллашга қарши ва тана ҳароратини пасайтирувчи гомеопатик «Афлубин» («MEDICE Arzneimittel Pütter GmbH», Германия) ва «Сандра» («Фармцентр ВИЛАР» Ёлиқ акциядорлик жамияти, Россия), кодеин алкалоиди асосида оғриқ қолдирувчи «Коделмикст», «Седал–М», «Седалгин НЕО» («Rusan Pharma», «Sopharma», «Balkanpharma», Болгария), «Кодарин» («Фармстандарт», Россия), «Солпадеин» («Boots

Healthcare International», Буюк Британия), атропин алкалоиди асосида спазмга қарши «Bromatropin» («Sopharma», Болгария), белладонна ўсимлиги алкалоидлари асосида тинчлантирувчи ва спазмга қарши «Colutan», «Bellaspone» («Galena», «Lechiva», Чехия), «Tremoforat» («Klein», Германия), папаверин алкалоиди асосида қон босимиغا қарши «Папазол» («Медисорб», Россия), берберин алкалоиди асосида микробларга қарши «Sedacollyre» («The Cooper Companies», АҚШ), лаппаконитин алкалоиди асосида оғриқ қолдирувчи воситаларини («BOC Sdances», АҚШ, «Chemos GmbH», Германия, «Haihang Industry», Хитой), пилокарпин алкалоиди асосида аллергияга қарши «Piladren» («Alcon Pharma GmbH», Германия), аймалин алкалоиди асосида аритмияга қарши «Gilyrytma» («Carinopharm GmbH», Германия), эзерин алкалоиди асосида антихолинэстераз хусусиятли «Anticholium» («DR Franz Konler Chemic GmbH», Германия), галантамин алкалоиди асосида инсулт касали асоратларига қарши «Nivolina» («Sopharma», Болгария), гидрастин алкалоиди асосида қон таркибида калий моддасини кўпайтирувчи «Kollyr» («Camillo Corvi Farmacia», Италия), морфин алкалоиди асосида оғриқ қолдирувчи «Duramorph» («West Ward pharmaceuticals», АҚШ), лобелин ва никотин алкалоидлари асосида чекишга қарши «Lobatox», «Nicoderm» («GlaxoSmithKline», Буюк Британия, «Alza Corporation», АҚШ) дори воситаларининг тиббиёт амалиётига муваффақиятли жорий этилганлиги диққатга сазовордир.

Халқаро илмий нашрларда эълон қилинган тадқиқотларда дори воситаси сифатида алкалоидлар асосида яратилган ва тиббиёт амалиётида қўлланиб келинаётган ҳар бир дори воситаси субстанцияси учун ўзига хос ишлаб чиқариш технологиясини яратишга бағишланган ишларнинг зарурлиги ва долзарблигига эътибор қаратилган. Дори воситаларининг умумлаштирилган ва иқтисодий самарадор технологияларини ишлаб чиқиш ҳамда мавжуд технологик тизимларни такомиллаштириш етакчи илмий-тадқиқот марказларининг диққат марказида турибди.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Француз фармацевти Дерон кўкнор ширасидан биринчи марта алкалоидлар аралашмасини (1803), немис олими Сертюрнер эса морфин алкалоидини (1806) ажратиб олган, унинг таркибида азот атоми борлигини ҳамда унинг асосий биологик хоссаларини (уйқу келтириш, оғриқ қолдириш ва бошқалар) аниқлаган. Кейинчалик француз кимёгарлари Пельтье ва Кавенту чилибуха ўсимлиги уруғидан стрихнин ва бруцин (1818), хин дарахти пўстлоғидан хинин ва цинхонин (1820) алкалоидларини ажратиб олишган. Хинин алкалоидининг мутлақ тузилишини аниқлаганликлари учун америкалик кимёгар олимлар Вудворд ва Деринг Нобель мукофотига сазовор бўлишган (1944). Рус кимёгар олими А.А. Воскресенский биринчи бўлиб какао донларидан теобромин алкалоидини ажратиб олиб, кимёвий структураси ва физик-кимёвий хусусиятларини аниқлаган.

Алкалоидлар кимёси ва ишлаб чиқариш технологияси ривожланишида чет эл олимлари Emeritus Geoffrey A. Cordell, Robert Francis Raffauf, Tadhg P. Begley (АҚШ), Micheal Wink (Германия), Margaret F. Roberts (Англия), Shinji Funayama (Япония), Gui-Qiu Han, Ya-Yan Chen, Jin-Jiun Lu (Хитой), D.S.

Bhakuni (Хиндистон), Peter R. Cheeke (Канада), Tadeusz Aniszewski (Финландия) ва А.М. Бутлеров, А.Н. Шацкий, А.Е. Чичибабин, А.П. Орехов, Г.П. Меньшиков, Р.А. Коновалова, Н.А. Преображенский, Н.А. Измайлов, В.А. Быков, М.С. Юнусов, С.А. Минина каби рус кимёгар олимларининг ҳиссаси катта.

Академик С.Ю. Юнусов Ўзбекистонда биринчилардан бўлиб алкалоидларни тадқиқ қилиш бўйича илмий изланишларни бошлаб, О.С. Содиқов, С.И. Искандеров, М.С. Юнусов, Г.П. Сидякин, П.Х. Юлдашев, Х.А. Асланов, Р.Ш. Шакиров, С.Ф. Арипова, А.А. Ибрагимов каби ҳамкасблари ва шогирдлари билан ҳамкорликда республикамиз ҳудудида ўсадиган юзлаб ўсимликлардан минглаб алкалоидлар ажратиб олган ва уларнинг кимёвий тузилишларини аниқлаган. Алкалоидларнинг антиаритмик, бронхолитик, жигарни ҳимояловчи, яллиғланиш, вирусларга қарши ва бошқа хусусиятларини ўрганишда М.Б. Султанов, Ф.С. Садриддинов, Н.Т. Тўлаганов, Х.А. Алиев, Ф.Н. Джахангиров каби олимлар ўз ҳиссасини кўшган.

Алкалоидлар асосида дори воситаларини ишлаб чиқариш технологияларини яратиш ишлари Германия, Франция, Буюк Британия, АҚШ, Хитой каби давлатларда бошланган. Алкалоидларни саноат миқёсида ишлаб чиқариш XIX аср охирида Россия давлатида ҳам йўлга қўйилган. Москва шаҳрида алкалоидларни ишлаб чиқарувчи завод очилган. Кейинчалик Москва кимё-фармацевтика илмий-текшириш институти, Харьков Кимё-фармацевтика институти, Бутуниттифоқ доривор ва ароматик ўсимликлар илмий-текшириш институти ташкил қилинган. Ўсимлик хом ашёсидан, шу жумладан, алкалоидлар асосида дори воситалари субстанцияларини ишлаб чиқарувчи Чимкент, Батумск, Тошкент кимё-фармацевтика заводлари ишга туширилган.

Ўсимлик моддалари кимёси институти Фармакология ва токсикология бўлимининг бир гуруҳ олимлари томонидан диссертацияга кирган ва ишлаб чиқариш технологиялари яратилган алкалоидларнинг биологик фаолликлари аниқланган.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация иши 2.29 «Биоорганик кимё», «Синтетик ва ўсимлик хом ашёсидан олинган биологик фаол моддаларнинг ишлаб чиқариш технологик жараёнларининг қонуниятларини ўрганиш» (Давлат рўйхатига олиш рақами №0197000561) (1971–1991 йй.); ЎзР–ДИТД–10 «Синтетик йўл билан ва ўсимлик хом ашёси асосида олинган янги дори воситаларини яратиш ва уларнинг иқтисодий самарадор ишлаб чиқариш технологияларини ишлаб чиқиш» (1994–1996 йй.); ЎзР–ДИТД–15 «Аксаритмин, фланорин ва алтей қуруқ экстракти дори воситаларини яратиш ва тиббиётга татбиқ этиш учун тайёрлаш» (2003–2005 йй.); ЎзР–ДИТД. Грант №А–10–131 «Экспортга йўналтирилган икки янги антиаритмик хусусиятга эга бўлган N-дезацетиллапаконитин ва неоаллапинин дори воситаларини яратиш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш» (2006–2008 йй.); ЎзР–ИД. Грант №ИДФ–8 «Экспортга йўналтирилган галантамин гидробромиди дори воситаси субстанциясини ишлаб чиқаришни янги саноат технологиясини ўзлаштириш ва 5 кг препаратни ишлаб чиқариш»

(2007–2008 йй); ЎзР–ИД. Грант №ФА–ИЗ–Т10 «Антиаритмик хусусиятли аллапинин дори воситаси субстанциясини янги, иқтисодий самарадор ва экологик тоза ишлаб чиқариш технологиясини яратиш ва ишлаб чиқаришга татбиқ этиш» (2011–2012 йй.); ЎзР–ИД. Грант №И–2012–33 «Юрак қон-томир касалликларини даволашда қўлланиладиган маҳаллий оригинал импорт ўрнини босувчи препаратларнинг плейотроп хусусиятларини экспериментал-клиник ишлаб чиқиш» (2012–2013 йй.); ЎзР–ИД. Грант №ИБ–ФА–0–11621 «Янги импорт ўрнини босувчи антиаритмик таъсирга эга бўлган аксаритмин ва антиаритмин дори воситаларини тиббиёт амалиётига татбиқ этиш» (2013–2014 йй.) каби илмий-техник ва инновацион дастурлар режалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади турли асослик кучига эга бўлган алкалоидлар (дистерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид), асосида дори воситалари ҳамда биореактивларининг субстанцияларини ишлаб чиқаришнинг умумлаштирилган технологияларини яратиш.

Мақсадга эришиш учун қуйидаги **тадқиқот вазифалари** қўйилди:

дистерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига мансуб бўлган 11 алкалоиднинг асослик кучини ($pH_{6.0}$) ўрганиб чиқиш;

сув–спирт эритмасининг ҳар хил концентрацияларида алкалоидларнинг эрувчанлигини ўрганиш;

протопин гидрохлориди *Fumaria vaillantii* – шотара ўсимлигидан, ликорин гидрохлориди *Ungernia Sewertzovii*–Северцов омонқораси ўсимлиги баргларидан, аллапинин *Aconitum leucostomum* – парпи ўсимлиги ер устки қисми, илдизи ва илдизпояларидан ҳамда *Aconitum septentrionale* – шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан, аклезин *Aconitum leucostomum* – парпи ўсимлиги ер устки қисмидан, аксаритмин *Aconitum septentrionale* – шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан, антиаритмин – аллапинин дори воситаси субстанциясини ишлаб чиқариш чиқиндисидан, галантамин гидробромиди *Ungernia Victoris* – Виктор омонқораси ўсимлиги баргларидан дори воситалари субстанциялари, гелиотрин *Heliotropium dasycarpium* – ғичмола кўкмарази ўсимлиги ер устки қисмидан, бикукулин ва d-β-гидрастин *Corydalis pseudoadunca* – бурмақора ўсимлиги ер устки қисмидан, аконитин *Aconitum soongaricum* – жунғур парписи илдизмевасидан, империалин *Petillium eduardii* – холмон исирғагули ўсимлиги ер устки қисмидан биореактивларининг асоси бўлган алкалоидларни сув–спирт ва кислоталар эритмалари ёрдамида экстракция қилиш усули билан саноат технологияларини ишлаб чиқиш;

аллапинин дори воситаси субстанциясининг иқтисодий самарадор ва экологик хавфсиз ишлаб чиқариш технологиясини яратиш;

ўсимлик хом ашёсини экстракция қилиш жараёнини Бокс-Уильсоннинг тажрибаларни математик режалаштириш усули ёрдамида оптималлаштириш;

тозаланмаган экстрактлар, техник маҳсулот олиш, уларни тозалаш жараёнлари оптимал шароитларини ишлаб чиқиш;

босқичма-босқич ишлаб чиқариш жараёнларини назорат қилиш усулини, хом ашё, субстанция ва тайёр дори шаклларига меъёрий-техник

хужжатларни ишлаб чиқиш;

институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида ўсимлик хом ашёсидан сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқарувчи саноат қурилмасини яратиш;

яратилган дори воситалари ҳамда биореактивлар субстанциялари меъёрий-техник хужжатларини ва саноат ишлаб чиқариш регламентларини ишлаб чиқиш ҳамда саноат миқёсида ишлаб чиқарилишини йўлга қўйиш.

Тадқиқотнинг объекти – шотара, Северцов омонқораси, Виктор омонқораси, парпи, шимол парписи, ғичмола кўкмаразии, бурмақора, жунғур парписи, камишсимон савағич, холмон исирғағули ўсимликлари ва аллапинин дори воситасини ишлаб чиқариш чиқиндиси.

Тадқиқотнинг предмети – дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид тузилишидаги алкалоидлар.

Тадқиқотнинг усуллари. Ишни бажариш жараёнида технологик (қаттиқ жисм–суяқлик, суяқлик–суяқлик тизимларидаги экстракция, чўктириш, қайта кристаллаш, қуритиш жараёнлари, хроматографик бўлиш, ультрафилтрация), физик-кимёвий (УВ-, ИҚ-, ЯМР- спектроскопия) ва аналитик (юпқа қатламли хроматография, сувсиз титрлаш, спектрофотометрик, фотоколориметрик, юқори самарали суяқлик хроматография) усуллари қўлланилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

биринчи марта дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид 11 та ўсимлик алкалоидларини ишлаб чиқаришдаги кўп фазали жараёнларни ўрганишда фойдаланиш учун уларнинг асослик кучи (гелиотрин $pH_{6.м.}=7,3$; d-β-гидрастин $pH_{6.м.}=2,2$; бикукулин $pH_{6.м.}=3,2$; ликорин $pH_{6.м.}=7,5$; империалин $pH_{6.м.}=4,8$; протопин $pH_{6.м.}=3,6$; лаппаконитин $pH_{6.м.}=3,4$; донаксин $pH_{6.м.}=6,2$; галантамин $pH_{6.м.}=5,8$; N-дезацетиллаппаконитин $pH_{6.м.}=3,7$; аконитин $pH_{6.м.}=3,6$) аниқланган;

илк бор туз ҳолатида барча 11 та алкалоид, уларнинг асослик кучи ҳар хил бўлишидан қатъи назар, спиртнинг 75–85% ли эритмасида яхши эриши ва 55% ли эритмада эрувчанлиги энг юқори эканлиги топилган ва ушбу омил алкалоидларни ишлаб чиқаришнинг умумлаштирилган технологияси яратилишига асос бўлиши исботланган;

тажрибаларда кимёвий тузилишидан қатъи назар, жуда кам миқдорда бошқа экстрактив моддалар сақловчи алкалоидларни юқори унум билан ўсимлик хом ашёсидан 75–85% ли спирт эритмаси ёрдамида селектив ажратиб олиш яхши натижалар бериши ишлаб чиқилган;

тажрибаларни математик режалаштириш усули ёрдамида ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни экстракция қилиш жараёнларининг оптимал шароитлари аниқланган;

илк бор экстрагент сифатида 75–85% ли спирт эритмаси қўлланилиб, дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин, стероид тузилишидаги алкалоидлар асосида 7 та дори воситаси ва 6 та биореактивлар субстанцияларининг умумлаштирилган саноат ишлаб чиқариш технологиялари ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси қуйидагилардан иборат:

Ўсимлик хом ашёсидан дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид алкалоидларни ажратиш олишнинг сув-спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули асосида саноат ишлаб чиқариш технологияси яратилган. Биринчи марта ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни уларнинг асослик кучидан қатъи назар, 75–85% ли спирт эритмаси билан экстракция қилиб олиш мумкинлиги топилган. Этил спиртининг ушбу концентрациясида алкалоидларни селектив ажратиш олиш мумкинлиги ҳамда қўшимча экстрактив моддалар кам бўлиши аниқланган;

ишлаб чиқилган технология бўйича алкалоидларни ишлаб чиқариш учун Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида саноат ишлаб чиқариш технологик тизими қуриб битказилган;

аллапинин дори воситасини ишлаб чиқаришнинг такомиллаштирилган технологиясини амалиётга татбиқ этиш натижасида технологик жараёндан сульфат кислотаси, хлороформ ва метил спирти каби заҳарли реактивлар умуман чиқариб ташланган. Бунинг натижасида маҳсулот таннархи сезиларли пасайган;

яратилган барча дори воситалари ва биореактивлар учун зарур бўлган вақтинчалик фармакопея мақолалари, тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламентлари ёки саноат ишлаб чиқариш регламентлари ишлаб чиқилган, рўйхатга олиш гувоҳномалари ҳамда дори воситалари ва биореактивлар субстанцияларини ишлаб чиқариш усулларига Давлат патентлари олинган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Янги дори воситалари ва биореактивларни умумлаштирилган технология ёрдамида ишлаб чиқаришда қўлланилган замонавий технологик (қаттиқ жисм-суюқлик, суюқлик-суюқлик тизимларидаги экстракция, чўктириш, кристаллаш, қуриштириш жараёнлари, хроматографик бўлиш, ультрафилтрация) ва аналитик (УБ-, ИҚ-, ЯМР-спектроскопия, юпқа қатламли хроматография, сувсиз титрлаш, спектрофотометрик, фотоколориметрик, юқори самарали суюқлик хроматография) усулларнинг ишончлилиги меъёрий-техник ҳужжатларнинг Давлат идоралари томонидан тасдиқланиши вақтида апробациядан ўтган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Олиб борилган тадқиқотлар натижасида дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид алкалоидлар асосидаги дори воситалари ва биореактивларининг субстанцияларини сув-спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан ишлаб чиқаришнинг умумлаштирилган технологик қурилмаси яратилган. Ушбу қурилмага баъзи бир кичик ўзгартиришлар киритиб қайд этилган синфларга мансуб бошқа алкалоидларни ҳам ишлаб чиқариш имконияти яратилган.

Саноат миқёсида ишлаб чиқарилаётган аллапинин дори воситаси субстанцияси ишлаб чиқариш чиқиндисидан янги антиаритмин дори воситаси субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси яратилган.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан ишлаб чиқариш технологияларини мақбуллаштириш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Аллапинин», «Протопин гидрохлориди», «Аксаритмин», «Галантамин гидробромид», «Аклезин» дори воситаларини ишлаб чиқариш учун зарур бўлган меъёрий-техник хужжатлар Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги (22.11.2010 й., 00/523/3; 22.03.2001 й., 004–01; 30.01.2015 й., 00008/01/15; 19.01.2015 й., 04/415/6 сонли гувоҳномалар) ва Россия Федерацияси Соғлиқни сақлаш вазирлиги («Аллапинин», «Галантамин гидробромид», «Аклезин») (27.12.2011 й., П№014369/01; 22.11.2011 й., ФС–000243) ваколатли идоралари томонидан тасдиқланган;

«Аконитин» (тоза) биореактиви техникавий шарти (Ts 0353440–017:2014) 24.06.2014 йил 112/001641 рақам билан «Ўзстандарт» агентлиги томонидан Давлат рўйхатига олинган;

«Аллапинин» дори воситаси субстанциясининг лицензион шартномаси (22.06.2000 й., № 90295) «Фармцентр ВИЛАР» ОАЖ (Россия Федерацияси) билан имзоланган. Лицензион шартнома асосида 2011–2014 йилларда 1369 кг (6,4 млн АҚШ доллари) маҳсулот ишлаб чиқарилган;

«Галантамин гидробромид» дори воситаси субстанциясининг лицензион шартномаси (9.08.2012 й., №1/08) «ВИФИТЕХ» ЁАЖ (Россия Федерацияси) билан имзоланган ва шартнома асосида 2011–2014 йилларда 3 кг (54,0 минг АҚШ доллари) маҳсулот истеъмолчига етказиб берилган;

«Аконитин» биореактиви «LATOXAN» фирмаси (Франция) билан имзоланган шартнома (27.04.2011 й., №4–L/01) асосида 2011–2014 йилларда 1389 г (90,4 минг евро) миқдорида экспорт қилинган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Диссертация ишининг натижалари «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 1993), «International Symposium on the Chemistry of Natural compound» (Bukhara, 1994; Eskicehir, Turkey, 1996, 2001, 2009; Ankara, Turkey, 2005; Tashkent, 2003, 2007; Urumchi, China, 2011), «Создание лекарственных ресурсов, лечебно-профилактических средств и использование в медицинской практике» (Самарканд, 1996, 2000), «Medicinal Raw Material and Phytopreparation for Medicine and Agricultur» (Karaganda, 1999), «Интеграция образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2002), «1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients» (Urumqi, China, 2008), «Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины» (Караганда. 2008) ва бошқа халқаро ҳамда республика миқёсидаги илмий анжуманларда эълон қилиб борилган.

Диссертация ишининг «Янги антиаритмик таъсирга эга бўлган аллапинин доривор препаратининг асосларини ишлаб чиқиш ва яратиш, тиббиёт амалиётига татбиқ этиш ҳамда йирик ҳажмларда ишлаб чиқаришни ташкил этиш»га доир илмий изланишларининг натижалари Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2007 йил 23 августдаги ПФ–3912 сонли фармониға мувофиқ Ўзбекистон Республикасининг фан ва техника соҳасидаги I даражали Давлат мукофоти билан тақдирланган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертациянинг асосий илмий натижалари бўйича 10 та илмий мақола ва 36 та маъруза тезислари чоп

этилган, 21 та Ўзбекистон Республикаси ва Россия Федерацияси патентлари ҳамда муаллифлик гувоҳномалари олинган, 14 та фармакопея мақоласи, 9 та саноат ишлаб чиқариш регламентлари ишлаб чиқилган ва ваколатли идораларда тасдиқланган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Маъруза шаклидаги диссертация иши тўрт бўлим, хулосалар, мавзу бўйича чоп этилган 90 номдан иборат илмий ишлар рўйхатидан иборат. Иш материаллари 136 бетда, асосий матн уч тилда (ўзбек, рус, инглиз) 129 бетда ёзилган бўлиб, таркибида 1 та жадвал ва 13 та расм мавжуд.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

1- бўлим. Дитерпен, изохинолин, индол, пирролизидин ва стероид синфларига оид алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан ишлаб чиқариш технологияларини мақбуллаштиришнинг асосий меъзонлари

1.1. Ўсимлик хом ашёсидан алкалоидлар ишлаб чиқариш саноат усулларининг ҳозирги ҳолати

Ўсимликлар таркибида алкалоидлар кўпинча органик (шовул, олма, сирка, қаҳрабо ва бошқ.), ора-сира минерал (сульфат, фосфат, хлорид) кислоталари тузлари ҳолатида бўлади. Алкалоид тузлари кўпинча сувда яхши эрийди, спиртларда ёмон эрийди, хлороформ, дихлорэтан ва бошқа органик эритувчиларда эримайди.

Ўсимликдан алкалоидларни туз ҳолатида ёки асос ҳолатида экстракция қилиб олиш мумкин. Ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни ажратиб олиш жараёнлари кўп ҳолларда уч асосий қисмга бўлинади:

1. Ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни экстракция қилиб олиш.
2. Ажратиб олинган экстрактни кўшимча моддалардан тозалаш.
3. Алкалоидлар йиғиндисини тозалаш ва бўлиш.

Алкалоидларни ажратиб олишнинг уч усули маълум: 1) экстракция қилиб олиш; 2) ион алмашиниш; 3) электрокимёвий (электролиз) усуллари. Ушбу усуллар ичида кўпинча экстракция қилиб олиш усули ишлатилади. Бу усулда алкалоидларни кўп маротаба турли эритувчилар билан суюқлик–суюқлик усулида экстракция қилиш орқали ажратиб олинади. Барча ҳолларда алкалоидлар билан бир қаторда ажратиб олинган экстрактга биргалашиб турли моддалар (сапонинлар, смолалар, липидлар, флавоноидлар ва бошқ.) ўтади, бу эса асосий маҳсулотни кейинчалик яна тозалашни талаб этади.

Ўсимлик хом ашёларидан алкалоидларни ажратиб олиш саноат технологиясини ишлаб чиқишда асосий ва ҳал қилувчи омил бўлиб, асосий маҳсулотни юқори унум билан ажратиб олишга ёрдам берадиган иқтисодий самарадор, танлаб таъсир этувчи экстрагентни аниқлаш ҳисобланади. Танланган экстрагентни белгилаб олиш учун олдиндан ажратиб олинувчи алкалоидларни ҳар хил органик эритувчиларда, уларнинг аралашмасида, сувда, минерал ва органик кислоталар эритмаларида турли температура шароитларида

эрувчанлиги ўрганиб чиқилади. Олинган натижалар асосида эритувчи ёки эритувчилар аралашмаси экстрагент сифатида танлаб олинади.

Академик Х.Н.Арипов томонидан олиб борилган илмий изланишлар натижасида алкалоидларнинг эрувчанлиги уларнинг асослик кучига боғлиқ эканлиги аниқланган. Олим томонидан алкалоидларнинг қуйидаги классификацияси таклиф этилган:

асослиги кучли алкалоидлар ($pH_{6.м.} \geq 9$) – сувда, минерал ва органик кислоталарнинг эритмаларида, спиртларда яхши эрийди, шу сабабли ўсимлик хом ашёсидан юқорида санаб ўтилган эритувчилар билан яхши ажралиб чиқади, лекин органик эритувчиларда ёмон эрийди. Бундай алкалоидларнинг сорбентларда сорбция жараёни яхши кетади, лекин ёмон десорбция бўлади. Улар сув ёки $pH < 8$ бўлган кислоталар эритмаларига хлороформ эритмасидан яхши ажралиб чиқади;

асослиги ўртача кучли алкалоидлар ($1,5 \leq pH_{6.м.} \leq 9$) органик эритувчилар, минерал ҳамда органик кислоталарнинг эритмаларида яхши эрийди. Сув, минерал ва органик кислоталар эритмалари ёрдамида ўсимлик хом ашёсидан юқори унум билан ажралиб чиқади. Хлороформ эритмасидан буфер эритмага осон ажралиб ўтади, сув эритмасидан ёки кислотали эритмалардан ишқорлангандан сўнг органик эритувчилар ёрдамида яхши экстракция қилиб олинади. Ўртача асослик кучига эга алкалоидлар ион алмашилиш сорбентларида яхши сорбция ва десорбция бўлади;

асослиги кучсиз алкалоидлар ($pH_{6.м.} \leq 1,5$) – органик эритувчиларда яхши эрийди, минерал ва органик кислоталар эритмаларида ёмон эрийди. Ўсимлик хом ашёсидан кучсиз асослик алкалоидлар фақат олдиндан ишқор агентлар эритмалари билан ивигилгандан сўнг органик эритувчилар ёрдамида осон ажралиб чиқади. Баъзи кучсиз асослик алкалоидлар ишқор эритмалари билан ивигилмаса ҳам яхши ажралиб чиқиши мумкин. Кучсиз асослик алкалоидлар хлороформ эритмасидан буфер эритмаларига ва 5–10% ли минерал ёки органик кислоталар эритмаларига умуман ажралиб ўтмайди ёки ёмон ажралиб ўтади. Улар сорбентларга жуда қийин сорбция бўлади ва сорбентлардан осон десорбция бўлади.

Шундай қилиб, у ёки бу алкалоидни самарали ишлаб чиқариш технологиясини ишлаб чиқиш учун олдиндан ажратиб олинувчи алкалоиднинг асослик кучини ўрганиб чиқиш ва алкалоидларни ажратиб олишнинг классификациясига асосан экстрагент танлаш ҳамда ишлаб чиқариш технологиясининг бўлимларини ишлаб чиқиш лозим.

Академик Х.Н.Ариповнинг классификацияси кучсиз асослик алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан иссиқ сув ёки органик эритувчилар ёрдамида ажратиб олишни, кучли асослик алкалоидларни эса ўсимлик хом ашёсини спиртлар ёки кислоталар эритмалари билан ажратиб олишни таклиф этади. Лекин кучли ишқорлар, кислоталар, куёш нури, ҳарорат ва шунга ўхшаш бошқа таъсирлар сабабли бузилувчи баъзи алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан ажратиб олиш академик Х.Н.Ариповнинг технологик классификациясидан келиб чиқадиган қонуниятларга бўйсунмайди. Шу сабабли алкалоидлар ишлаб чиқариш технологияларини ишлаб чиқишда

уларнинг асослик кучидан ташқари моддаларнинг физик-кимёвий хусусиятлари ва кимёвий тузилишини ҳам ҳисобга олиш лозим.

Юқорида кўрсатиб ўтилганларга асосан алкалоидларнинг самарали ажратиб олиш технологияларини ишлаб чиқиш учун хом ашёда бўлган алкалоидларнинг асослик кучларини, уларнинг хусусиятларини, кимёвий тузилишини ўрганиб, ҳар бир ўсимлик учун принципал ишлаб чиқариш схемасини танлаб, сўнгра технологик жараёнларнинг ҳар бир қисмининг оптимал шароитларини ўрганиб чиқиш лозим.

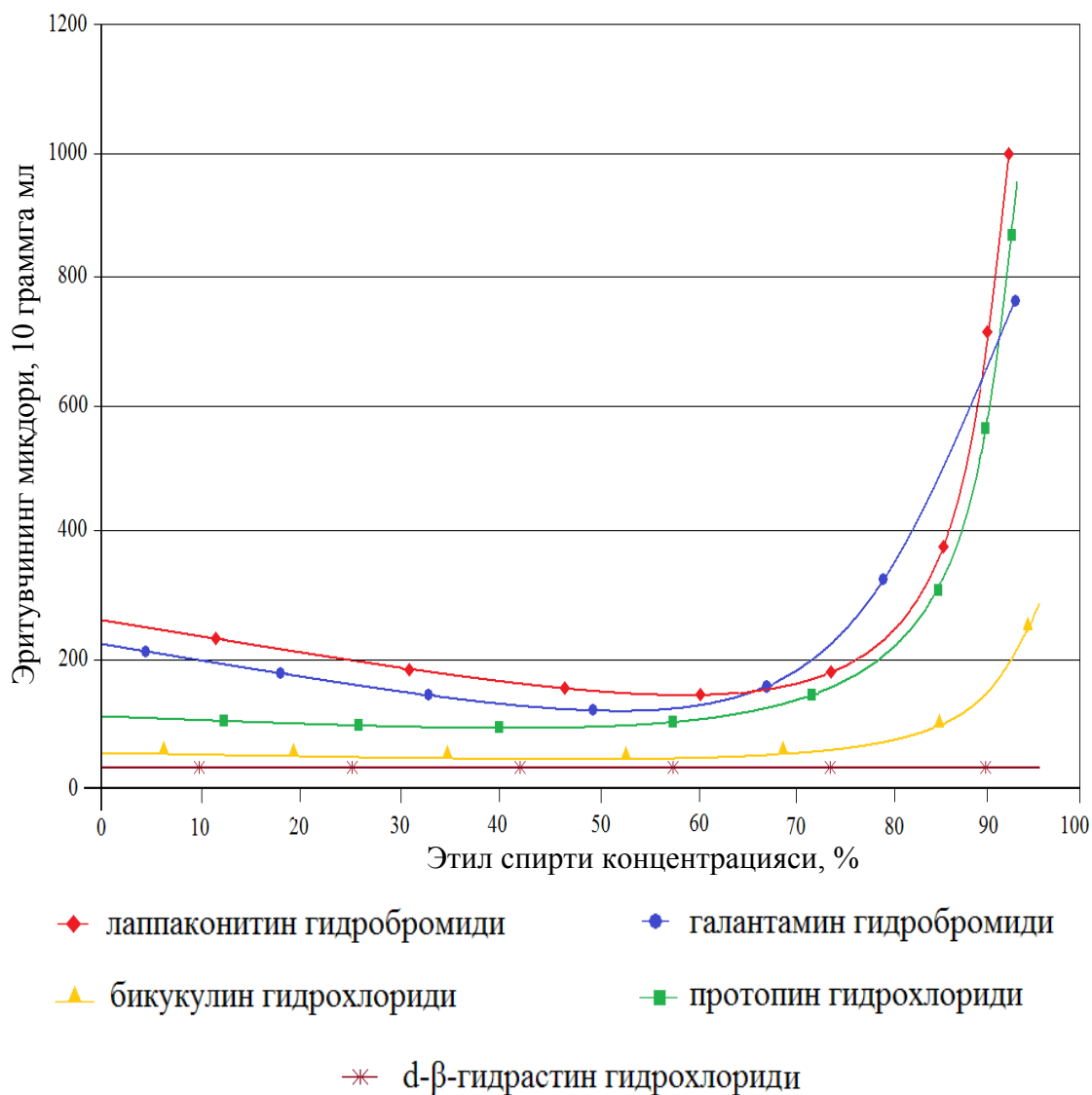
1.2. Алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан ишлаб чиқариш технологияси

Алкалоидлар асосидаги дори воситалари ва биореактивлар миқдори кўпайиши, уларнинг маълум бўлган ишлаб чиқариш технологияларини такомиллаштириш ва уларнинг самарадорлигини ошириш учун янги умумлаштирилган технологияларини яратиш тадқиқотчилар олдига янги вазифалар қўймоқда.

Маълумки, ўсимлик хом ашёси таркибида алкалоидлар кам миқдорда – 0,1–1% атрофида бўлади, лекин шундай ўсимликлар борки, уларнинг ҳужайралари таркибида очиқ ҳавода куритилган массасига нисбатан 5–10% гача алкалоидлар бўлиши аниқланган. Алкалоид сақловчи кўплаб ўсимликларнинг захираси чегараланган ва кўп миқдорда хом ашё сифатида тайёрлашга имкон бермайди. Шу сабабли алкалоидлар асосида ишлаб чиқарилаётган дори воситаларининг миқдори кўп эмас, алкалоидлар бир неча килограммдан 100–500 килограммгача миқдорда ишлаб чиқарилади. Баъзи бир хом ашё етарли бўлган ҳолатларда ишлаб чиқариш миқдори йилига бир неча тоннагача бориши мумкин.

Агар ҳар бир алкалоидни ажратиб олишнинг ўзига хос технологияси бўлишини ҳисобга олсак, фармацевтика заводларидаги кўпгина цехлар ишлаб чиқарилаётган алкалоиддан бошқа алкалоидни ишлаб чиқаришга ўтказиш қийин бўлганлиги сабабли тўхтаб туради ёки бор кучи билан ишламайди. Мисол сифатида глауцин субстанциясини (Чимкент Кимё-фармацевтика заводи, йилига 3–4 ой ишлаган), галантамин гидробромид субстанциясини (суюқлик–суюқлик технологияси, Тошкент Кимё-фармацевтика заводи, йилига 3 ой ишлаган), дезоксипеганин гидрохлориди субстанциясини (суюқлик–суюқлик технологияси, Ўсимлик моддалари кимё- си институти тажриба ишлаб чиқариш корхонаси, йилига 5–6 ой ишлаган), цитизин субстанциясини (ион алмашилиш технологияси, Чимкент Кимё-фармацевтика заводи, йилига 6 ой ишлаган) ва бошқа ишлаб чиқарувчи технологик тизимларни олиш мумкин. Ушбу дори воситаларини ишлаб чиқарувчи цехлар қолган вақтларда ишламай туради.

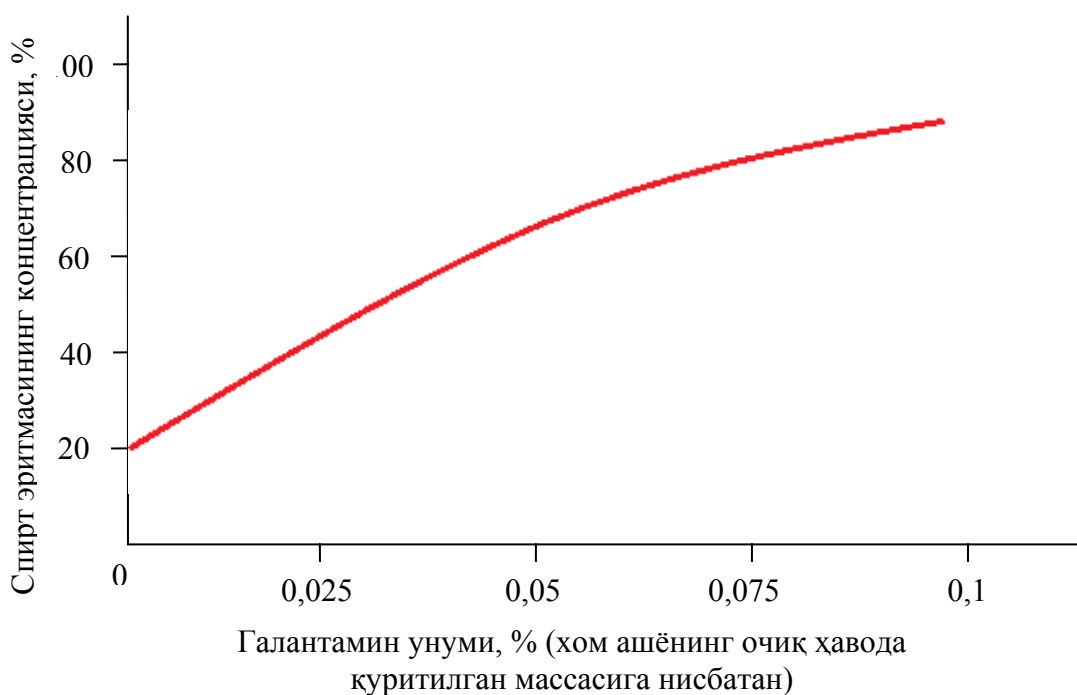
11 та алкалоидларни асослик кучларини ўрганиш натижасида, гелиотрин $pH_{6.м.}=7,3$; d-β-гидрастин $pH_{6.м.}=2,2$; бикукулин $pH_{6.м.}=3,2$; ликорин $pH_{6.м.}=7,5$; империалин $pH_{6.м.}=4,8$; протопин $pH_{6.м.}=3,6$; лаппаконитин $pH_{6.м.}=3,4$; донаксин $pH_{6.м.}=6,2$; галантамин $pH_{6.м.}=5,8$; N-дезацетиллаппаконитин $pH_{6.м.}=3,7$; аконитин $pH_{6.м.}=3,6$ асослик кучларига эга эканлигини аниқланди (1-расм).



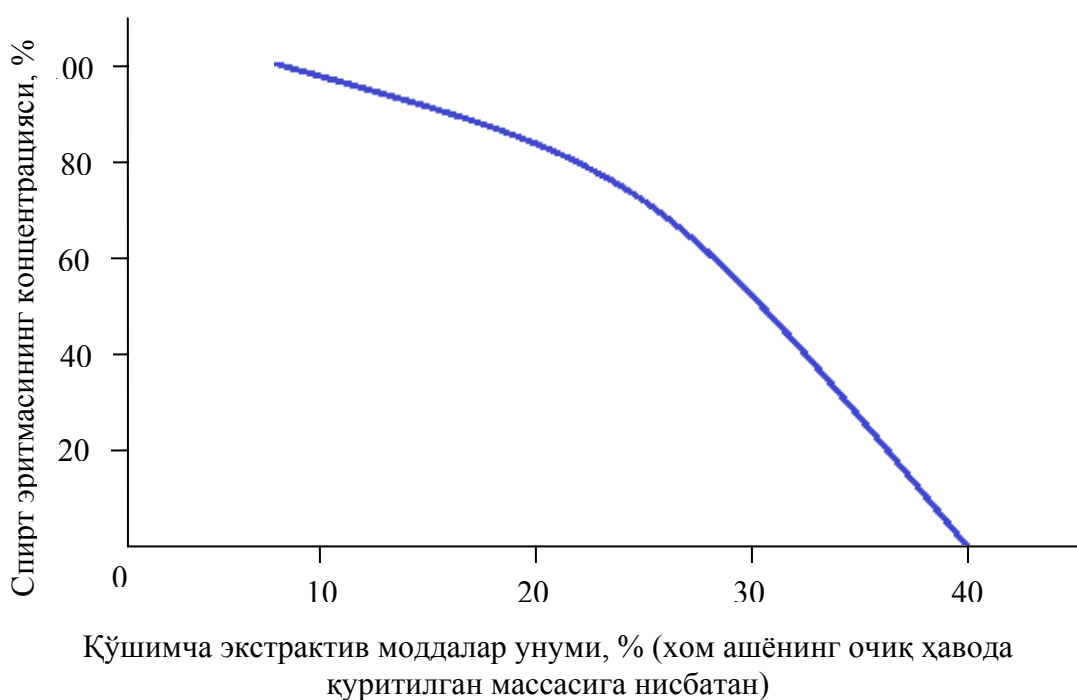
1-расм. Баъзи бир алкалоидларнинг сув-спирт эритмасида эрувчанлиги.

Кўпгина биологик фаол алкалоидларнинг ҳар хил тузлари, шу жумладан, юқорида кўрсатилган 11 та алкалоидларнинг сув-спирт эритмасидаги эрувчанлигини тадқиқ қилиш натижаси шуни кўрсатдики, жуда кўп алкалоидлар асослик кучи турлича бўлишига қарамай, этил спирти эритмаларида яхши эрийди. Алкалоидларнинг эрувчанлиги сув-спирт эритмасининг қайнаш ҳароратида ўрганиб чиқилганда энг юқори эрувчанлиги 55% ли спирт эритмасида эканлиги кузатилди.

Ўсимлик хом ашёсини 55% ли спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилинганида алкалоидлардан ташқари кўп миқдорда экстрактив моддалар ҳам ажралиб чиқади. Мисол тариқасида Виктор омонқораси ўсимлиги баргларида галантамин алкалоиди ва қўшимча моддалар, асосий модда унумининг экстрактив моддалар унумига нисбати ва ушбу моддаларнинг ўсимлик хом ашёсидан экстракция бўлиш жараёни динамикаси 2- ва 3- расмларда кўрсатилган.



2-расм. Галантамин унумининг спирт эритмаси концентрациясига боғлиқлиги.



3-расм. Қўшимча экстрактив моддалар унумининг спирт эритмаси концентрациясига боғлиқлиги.

2- ва 3-расмлардан кўриниб турибдики, хон ашёни 20% ли спирт эритмаси билан экстракция қилинганида галантамин алкалоидининг унуми жуда кам. Бунга сабаб шундаки, экстрактнинг ишқорланган сувли қолдиғидан алкалоидларни органик эритувчи (хлороформ) билан экстракция қилиш жараёнида ажралмайдиган турғун эмульсия ҳосил бўлади. Хон ашёни

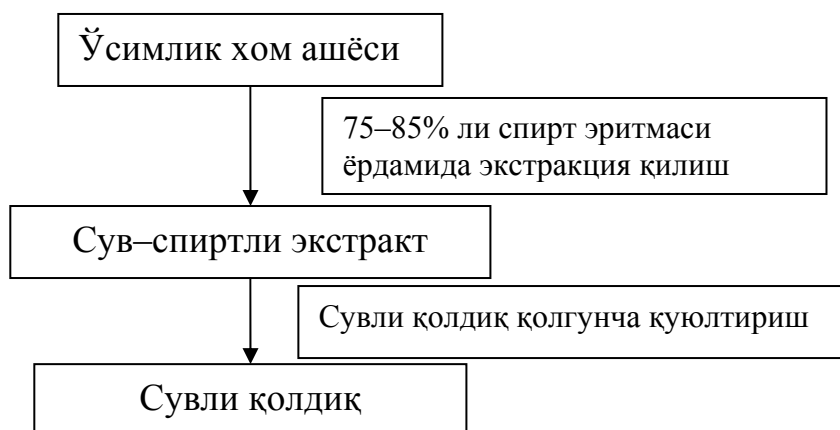
экстракция қилиш учун этил спирти эритмасининг оптимал концентрацияси 75–85% (ҳажмда). Бу шароитда алкалоидлар билан бирга ажралиб чиқадиган қўшимча экстрактив моддалар энг кам миқдорда бўлади. Шунга ўхшаш маълумотлар юқорида кўрсатиб ўтилган бошқа алкалоидлар учун ҳам олинди.

Тадқиқотларимиз шуни кўрсатдики, ҳар хил алкалоид сакловчи ўсимликларни экстракция қилиш жараёнида сув–спирт эритмаси экстрагент сифатида қўлланилганида турли асослик кучига эга бўлган алкалоидларни экстракция қилиб олиш мумкин. Олинган маълумотлар ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни экстракция қилиб олиш усулини, уни тозалаш йўллари умуллаштиришга имконият яратди.

Ўсимлик хом ашёсини сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиб олиш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқаришнинг асосий жараёнлари қуйидаги қисмлардан иборат:

1. Майдаланган ўсимлик хом ашёсидан алкалоидлар йиғиндисини 75–85% ли этил спирти эритмаси ёрдамида экстракция қилиш.
2. Экстрактни сувли қолдиқ ҳолатига келгунча қуюлтириш.
3. Ажратиб олинаётган алкалоиднинг асослик кучи ва физик-кимёвий хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда техник маҳсулотни олиш ва уни тозалаш.

Шундай қилиб, ўсимлик хом ашёсини сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқаришнинг асосий технологик жараёни блок-схемаси қуйидаги кўринишга эга:



Яратилган ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни сув–спирт ёрдамида экстракция қилиш ва асосий маҳсулотни ажратиб олиш усули, саноат шароитида битта технологик тизим ёрдамида катта бўлмаган ўзгаришлар (модификация) киритиб, ҳар хил асослик кучига эга бўлган турли алкалоидларни ишлаб чиқаришга имконият яратади. Ўтказилган тадқиқотлар натижаларидан фойдаланиб Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан ишлаб чиқарувчи саноат тизими яратилди.

Қуйида 7 та дори воситасига ва 6 та биореактивларга асос бўлган, алкалоидларни ўсимлик хом ашёсини сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиб олиш усулини ишлаб чиқиш ва уларнинг ишлаб чиқариш технологияларини саноатга татбиқ қилиш ишлари билан боғлиқ бўлган тадқиқотлар натижалари келтирилган.

2-бўлим. Протопин гидрохлориди, ликорин гидрохлориди, галантамин гидробромиди, аллапинин, аклезин, аксаритмин, антиаритмин дори воситалари субстанцияларининг муқобиллашган ишлаб чиқариш технологиялари

2.1. Шотара ўсимлигидан протопин гидрохлориди дори воситаси субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [19, 32, 45, 46, 63]

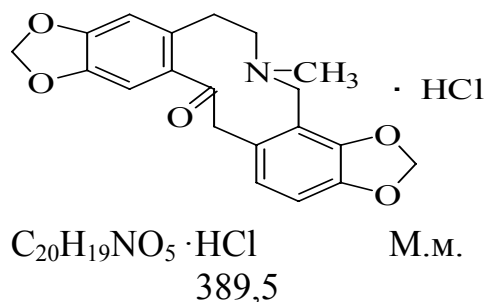
16 кг шотара ўсимлигини 5–10 мм ли қилиб майдалангач, олти марта 80% ли этил спирти билан экстракция қилинади (4-расм). Дастлаб 40 л экстрагент солиниб, 12 соат давомида бўктирилади, сўнгра 16 л экстракт ажратиб олинади. 2-экстракцияга 16 л экстрагент солиниб, 9 соат давомида бўктирилгандан сўнг 16 л экстракт ажратиб олинади. Кейин 3-, 4-, 5- ва 6-экстракциялар нечанчи бўлишига қараб 8, 6, 4, 3 соат экстракция қилиниб, экстрактлар ажратиб олинади. Экстрактларни бирлаштириб, олдинги ҳажмига нисбатан 10% қолгунча, яъни сувли қолдиқ қолгунича қуюлтирилади. Сувли қолдиқ филтрланади, натрий карбонат эритмаси ёрдамида муҳити рН 9–10 бўлгунича ишқорланади ва хлороформ билан 4 марта (6 л дан) экстракция қилинади. Хлороформли экстрактдан алкалоидларни 5 марта 10% ли сульфат кислотаси (1 л дан) ёрдамида экстракция қилиб олинади. Кислотали экстрактлар бирлаштирилиб, 2 марта хлороформ (2 л дан) билан ювилади. Сўнгра кислотали экстракт муҳити рН 9–10 гача ишқорланади, 3 марта хлороформ (3 л дан) билан экстракция қилинади ва бирлаштирилган хлороформли экстракт буғлатиб, сўнгра қурилади. Қуруқ қолдиққа метил спирти билан ишлов берилиб, техник протопин ажратиб олинади, сўнгра унга ҳисоблаб олинган 5% ли хлорид кислотаси билан ишлов берилади ва чўкмага тушган протопин гидрохлориди 1:8 нисбатда дистилланган сув ёрдамида қайта кристалланади. 16,2 г ёки хом ашёнинг ҳавода қуритилган массасига нисбатан 0,16% унум билан протопин гидрохлориди субстанцияси олинади.

Дори воситасини тиббиёт амалиётига татбиқ қилиш учун барча керакли меъёрий-техник ҳужжатлар йиғиндиси (ўсимлик хом ашёсига, субстанцияга, тайёр дори шаклига вақтинчалик фармакопея мақолалари, субстанция ва тайёр дори шаклини ишлаб чиқариш учун тажриба-саноат регламентлари, дори воситасини қўллаш учун кўрсатмалар ва бошқ.) ишлаб чиқилган [32, 45, 46].

Дори воситасининг унуми хом ашёда сақланишига нисбатан 76% ни ташкил этади.

Тиббиёт амалиётида қўллашга оид кўрсатмалар. Протопин гидрохлориди дори воситаси тиббиёт амалиётида ўт ҳайдашни кучайтирувчи ва жигарни ҳимоя қилувчи восита сифатида қўлланилади.

Протопин гидрохлоридининг тuzилиш формуласи:





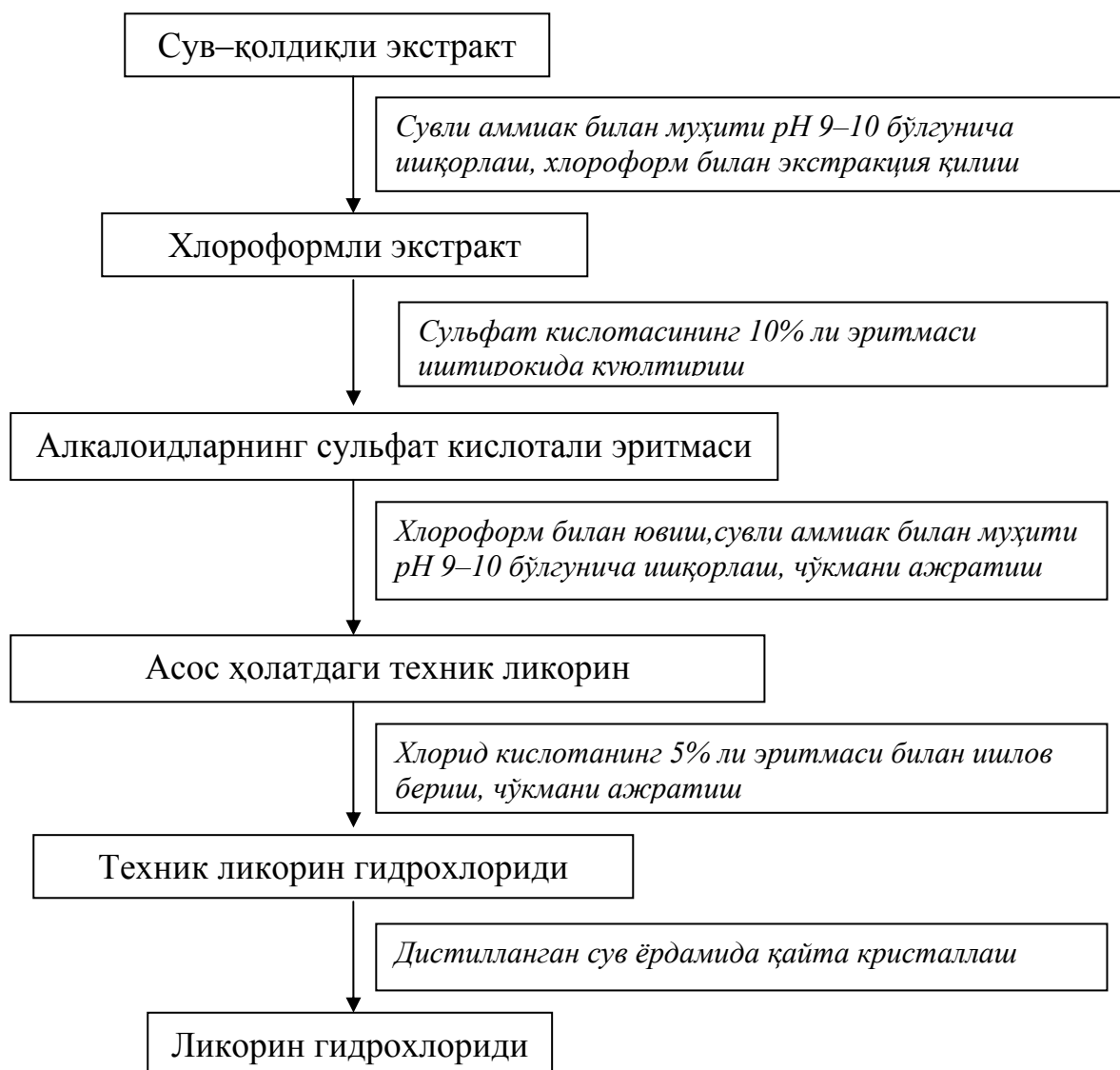
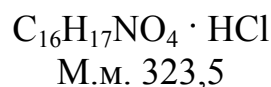
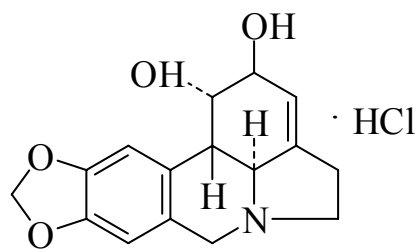
4-расм. Шотара ўсимлигидан протопин гидрохлориди субстанциясини ишлаб чиқариш технологиясининг блок-схемаси.

2.2. Северцов омонқораси ўсимлиги баргларида ликорин гидрохлориди субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [6, 13, 30, 36, 67, 69]

100 кг Северцов омонқораси ўсимлиги барглари 10–20 мм катталиқда майдаланилгач, экстракторга жойланади ва 300 л этил спиртининг 80% ли эритмаси куйилиб (1:3), 10 соат давомида бўктирилгач, экстракт ажратиб олинади (5-расм). Олинган 160 л экстракт қуюлтирилади. Иккинчи марта 80% ли спиртининг 160 л эритмаси куйилади. Шунга ўхшаш 7, 5, 3 ва 3 соат давомида бўктириш йўли билан яна 4 марта экстракция қилиб олинади.

Экстрактлар бирлаштирилади ва сувли қолдиқ қолгунча (олдинги ҳажмига нисбатан 9–10%) қуюлтирилади. 96 л атрофидаги экстракт олинади, филтрланади, 50 л хлороформ куйилиб, аммиак эритмаси ёрдамида муҳити рН 9–10 бўлгунига қадар ишқорланади. Ишқорланган алкалоидлар эритмасидан алкалоидлар 4–5 марта хлороформ (50 л дан) билан экстракция қилиб олинади. Бирлаштирилган хлороформли экстрактга 50 л 10% ли сульфат кислотаси эритмаси қўшилади ва хлороформ қуюлтириш йўли билан чиқариб ташланади. Сульфат кислотали алкалоидлар эритмасини 2 марта хлороформ (30 л дан) билан ювилади. Сульфат кислотали

Ликорин гидрохлоридининг тузилиш формуласи:



5-расм. Северцов омонқораси ўсимлиги баргларида ликорин гидрохлориди ишлаб чиқариш блок-схемаси.

алкалоидлар эритмасига 500 г (1%) активлангилган кўмир кукуни солинади ва аралаштириб турган ҳолатда 15–20 минут давомида 85–100°C ҳароратгача қиздирилади. Эритма филтраланади, совитилади ва аммиакнинг 25% ли эритмаси ёрдамида асос ҳолатида техник ликорин чўктирилади. Ҳосил бўлган техник ликорин чўкмасини филтрлаш ва қуриштириш натижасида 250 г техник ликорин олинади.

Фармакопея талабларига жавоб берадиган ликорин гидрохлоридини олиш учун техник маҳсулотга (250 г) 5% ли хлорид кислотаси билан аралашма муҳити рН 1,0–1,5 бўлгунча ишлов берилади. Олинган техник ликорин гидрохлориди дистилланган сув ёрдамида қайта кристалланади ва 180 г ликорин гидрохлориди олинади.

Маҳсулотнинг унуми хом ашёда сақланишига нисбатан 73–75% ни ташкил этади.

Ликорин гидрохлоридини ишлаб чиқариш технологияси Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси ярим саноат қурилмаларида қайта ишлаб чиқилди. Тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламенти ишлаб чиқилиб, тажриба-ишлаб чиқариш корхонасида 1984 йилда татбиқ қилинди ва серияли равишда ликорин гидрохлоридининг субстанциясини ишлаб чиқариш йўлга қўйилди.

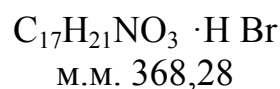
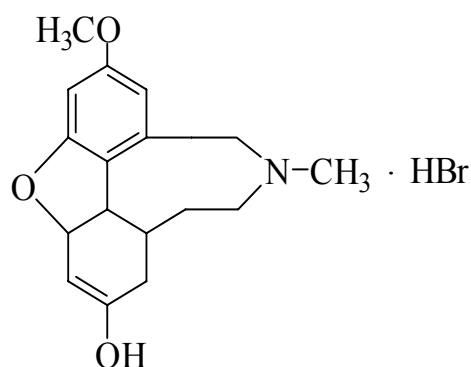
Тиббиёт амалиётида қўллашга оид кўрсатмалар. Тиббиёт амалиётида ликорин гидрохлориди 0,002 г ли таблетка ҳолатида балғам кўчирувчи восита сифатида ҳамда бронхит ва бронхиал астма касалликларининг ўткир шаклларида қўлланилади.

Ликорин гидрохлориди дори воситасини ишлаб чиқариш усули муаллифлик гувоҳномаси [30] ва Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимояланган [13].

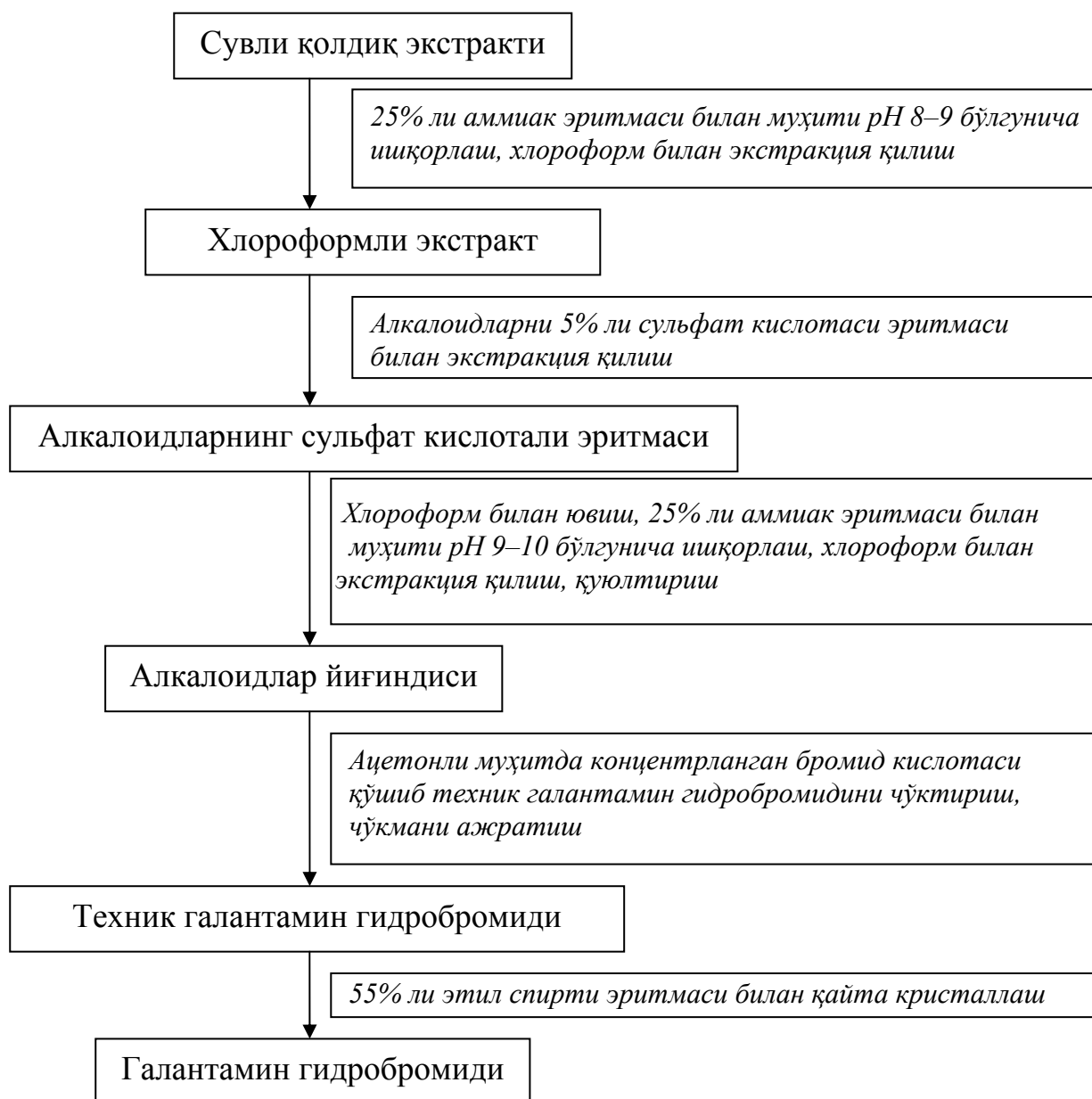
2.3. Виктор омонқораси ўсимлиги баргларида галантамин гидробромиди субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [23, 39, 51, 52, 73, 77]

80 кг Виктор омонқораси ўсимлиги барглари 10–20 мм катталиқда майдалаб, экстракторга солинади, олдинги экстракция қилиш жараёнида олинган охириги 6-экстрактдан 140 л ва 80% ли этил спиртининг 160 л эритмаси (1:3,7 нисбатда) қуйилиб, 10 соат давомида бўктирилади. Сўнгра 140 л экстракт ажратиб олинади. Шунга ўхшаш 2–6-экстрактларни ажратиб олиш ишлари бажарилади. 5 марта олинган экстрактлар бирлаштирилиб, вакуум-буғлатгич қурилмасида дастлабки ҳажмига нисбатан 8–11% қолгунча қуюлтирилгач, 70 л атрофида қуюлтирилган сувли қолдиқ

Галантамин гидробромидининг тузилиш формуласи:



экстракти олинади. Ушбу экстракт филтрланади ёки смоласимон моддалардан декантация усули билан тозаланади, 25% ли аммиак эритмаси билан муҳити рН 8–10 бўлгунича ишқорланади ва алкалоидлар хлороформ билан 4 марта (20 л дан) экстракция қилинади. Хлороформли экстрактлар бирлаштирилиб, алкалоидлар 5% ли сульфат кислотаси билан 5 марта (10 л дан) экстракция қилинади. Асос характериға эға бўлмаган моддалардан тозалаш учун кислотали эритма хлороформ билан 2 марта (15 л дан) ювилади. Тозаланган сульфат кислотали алкалоидлар эритмаси (45 л) 25% ли аммиак эритмаси ёрдамида муҳити рН 8–10 бўлгунича ишқорланади ва алкалоидлар хлороформ билан 4 марта (20 л дан) экстракция қилинади. Олинган ва бирлаштирилган алкалоидларнинг хлороформли эритмаси сувсиз натрий сульфат билан сувсизлантирилади ва қуюлтирилади (6-расм).



6-расм. Виктор омонқораси ўсимлиги баргларида галантамин гидробромиди субстанциясини ишлаб чиқариш блок-схемаси.

Алкалоидлар йиғиндиси (115 г) 0,230 л ацетонда эритилади ва 5–10°C гача совитилиб, аралаштириб турилган ҳолатда концентрланган бромид кислотаси (муҳити рН 1 бўлгунича) қўшилади. Ҳосил бўлган галантамин гидробромиди чўкмаси ажратиб олинади, ацетон билан ювилади ва 40,9 г техник маҳсулот олинади. 40,9 г миқдордаги техник галантамин гидробромиди 55% ли этил спирти эритмаси билан (1:10 нисбатда) қайта кристалланади ва таркибида 98–102% асосий модда бўлган 38,4 г галантамин гидробромиди олинади.

Тоза галантамин гидробромидининг унуми ўсимлик хом ашёсида сақланишига нисбатан 80% ни ташкил этади.

Галантамин гидробромиди ишлаб чиқариш технологияси Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида қайта ишлаб чиқилди. Тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламенти ишлаб чиқилиб, 2005 йилда Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида татбиқ қилинди ва дори воситасининг серияли равишда ишлаб чиқарилиши йўлга қўйилди.

Галантамин гидробромиди дори воситаси субстанциясини экспорт қилиш мақсадида Россия Федерацияси ҳудудида рўйхатдан ўтказилди. «ВИФИТЕХ» ЁАЖ (Москва ш., РФ) билан экспорт қилинадиган галантамин гидробромиди субстанциясидан тайёр дори шаклини тайёрлаб, Россия фармацевтика бозорига чиқарилиши келишиб олинди. Ҳозирги вақтда 1-партия галантамин гидробромиди субстанцияси (2 кг) экспорт қилинди.

Галантамин гидробромиди дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [23].

Тиббиёт амалиётида қўллашга оид кўрсатмалар: тиббиёт амалиётида галантамин гидробромиди эритма ҳолатида (1мл ли 1% ли ампула) ва таблетка (0,01 г; 0,02 г) ҳолатида миастенияда, прогрессивлашувчи мушаклар дистрофиясида, сезиш ва ҳаракатланиш бузилишларида, неврит, полиневрит, радикулит, радикулоневрит билан боғлиқ бўлган, бош мия қон айланиши бузилиши натижасида пайдо бўладиган ҳолатларда, психик эркак ожизлиги ва бошқа патологияларда қўлланилади.

2.4. Парпи ва шимол парписи ўсимликлари ер устки қисми, илдизи ҳамда илдизпояларидан аллапинин субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [2–4, 14, 15, 24, 29, 38, 40, 43, 44]

Лютиковлар оиласига мансуб бўлган парпи ва шимол парписи ўтларга ўхшаш кўп йиллик (габитуси ва кимёвий тузилиши бўйича кам фарқ қиладиган) ўсимликлардир. Ушбу турлар ғарбий ва шимолий Сибирнинг ўрмон ва ўрмон-тундра, Ўрта Осиёнинг ўрмон ҳудудлари, Хитой, Япония, Канада ва бошқа жойларда жуда кенг тарқалган. «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений (РФ, Москва, ВИЛАР)» ботаникларининг маълумотларига асосан парпи ва шимол парписи ўсимликларининг ер устки ва илдизи ҳамда илдизпояларини уларнинг табиий захираларига зарар келтирмай, ҳар йили 100 тонналаб териш мумкин. Парпи ўсимлиги ер устки қисмида қаерда ўсишига, об-ҳаво ва тупроқ шароитига, ўсиш вақтига қараб алкалоидлар йиғиндиси миқдори ўсимлик қуруқ массасига нисбатан 0,8–1,0% гача бўлиши мумкин.

Яратилган технологияга асосан (7-расм) қуритилган хом ашё – парпи ўсимлиги ер устки қисми тегирмонда майдаланади (1), 80% ли этил спирти билан экстракция қилинади (2), қуюлтирилади (5), экстрактнинг сувли қолдиғи олинади (6). Сувли қолдиқ юзасига чиқиб қолган оксил: липидлар ва бошқа моддалар комплекси филтрлаш ёки декантация йўли орқали ажратиб олинади ва натрий карбонат эритмаси ёрдамида муҳити рН 10–11 гача ишқорланиб, алкалоидларни хлороформ ёрдамида экстракция қилинади (7). Олинган хлороформли экстракт реакторга (8)

солинади ва алкалоидлар 5% ли сульфат кислотаси эритмаси билан ажратиб олинади. Алкалоид бўлмаган қўшимча моддалардан тозалаш учун кислотали эритма 2 марта хлороформ билан ювиб ташланади. Кислотали эритмага хлороформ солган ҳолда натрий карбонат эритмаси ёрдамида муҳити рН 10–11 гача ишқорланади ва алкалоидларни хлороформ билан ажратиб олинади. Хлороформли эритмани қуюлтириш, сўнгра қуритиш (10) натижасида хом ашёнинг қуруқ массасига нисбатан 0,8–1,0% гача алкалоидлар йиғиндиси олинади.

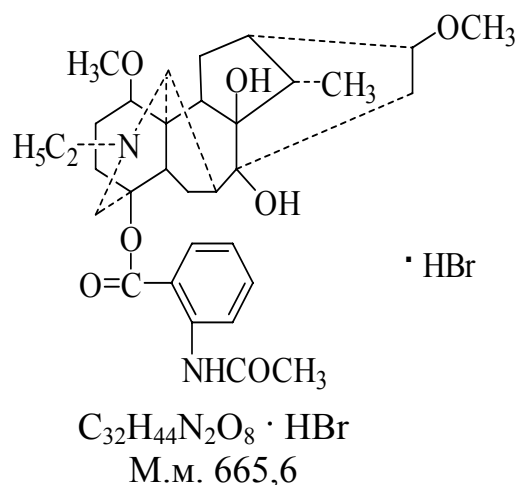
Қуритилган алкалоидлар йиғиндисига этил спирти билан (11) ишлов берилади, қўшимча алкалоидлар билан бирга чўкмага тушган лаппаконитин ажратиб олинади, спирт билан ювилади ва қуритилгач, қўшимча алкалоидлар билан бирга техник лаппаконитин олинади.

Қўшимча алкалоидлари бўлган лаппаконитиннинг бромгидратли тузини (аллапинин субстанцияси) спиртли муҳитда эритмага бромид кислотасининг спиртдаги 5% ли эритмаси муҳити рН 1 гача (13) қўшиб олинади. Ҳосил бўлган техник маҳсулот филтрлаб олинади (14), метил спирти ёрдамида қайта кристалланади (17). Аллапинин субстанцияси ўсимликда сақланишига нисбатан 72% миқдорда олинади.

Ишлаб чиқилган технология асосида Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида яратилган қурилмада дори воситасини фармакологик, токсикологик ва клиник синовларини ўтказиш учун етарли миқдорда ишлаб чиқарилди.

Ўсимлик хом ашёсига, субстанцияга ва дори воситасининг тайёр дори шаклига фармакопоя мақолалари, саноат ишлаб чиқариш регламентлари ишлаб чиқилди [38, 40, 44, 47-50]. 1986 йилдан бошлаб Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида аллапинин дори воситаси субстанцияси мунтазам серияли равишда ишлаб чиқарилмоқда. Ишлаб чиқариш усули муаллифлик гувоҳномаси билан ҳимоя қилинган [29].

Аллапинин субстанциясининг асосий алкалоиди – лаппаконитин гидробромидининг тузилиш формуласи:



Тадқиқотларимиз шуни кўрсатдики, об-ҳаво, тупроқ шароити ва қаерда ўсишига қараб парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдиз ва илдизпоялари хом ашёнинг қуруқ массасига нисбатан 2% гача лаппаконитин сақлайди.

Парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан аллапинин субстанциясини ажратиб олиш технологиясини ўрганиш шуни кўрсатдики, аллапинин субстанциясини парпи ўсимлиги ер устки қисмидан ишлаб чиқариш технологиясига баъзи бир ўзгаришлар киритиб, ушбу технология бўйича аллапинин дори воситасини парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдизи ҳамда илдизпояларидан муваффақиятли равишда ишлаб чиқариш мумкин.

Ушбу янги хом ашёлардан аллапинин дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси ва Россия Федерацияси патентлари билан ҳимоя қилинган [14, 15, 22].

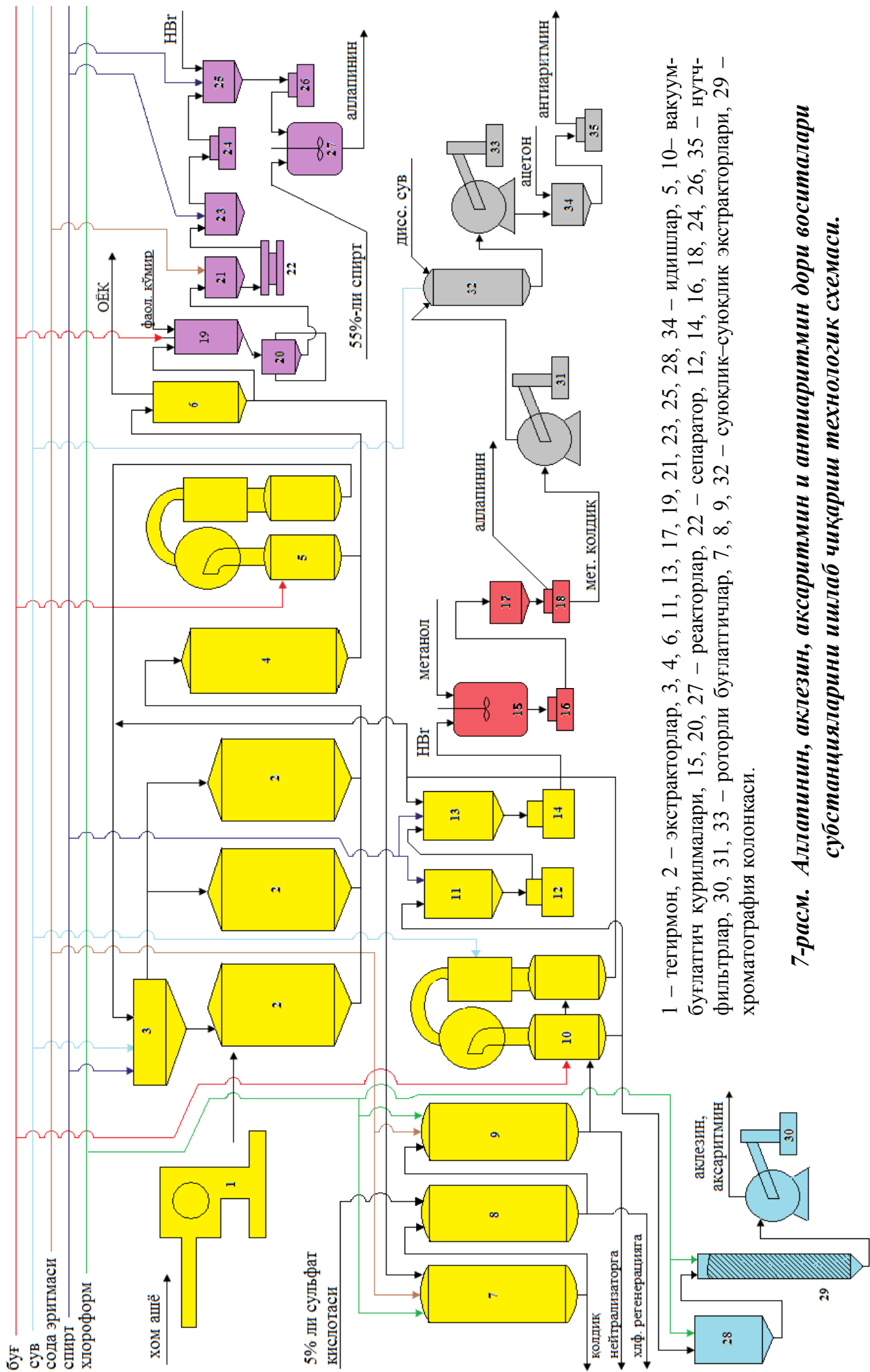
Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси ҳозирги вақтда парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан ўсимликда сақланишига нисбатан 70–75% унум билан серияли равишда аллапинин субстанциясини ишлаб чиқармоқда. 2013–2014 йилларда аллапинин субстанциясини ишлаб чиқариш ҳажми 1000 кг дан ортиқни ташкил этди.

2.5. Парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдизи ҳамда илдизпояларидан аллапинин субстанциясини иқтисодий самарадор ва экологик тоза ишлаб чиқариш технологияси [25]

Ҳозирги вақтда аллапинин субстанцияси ишлаб чиқарилишида катта миқдорда сульфат кислотаси, хлороформ ва метил спирти каби органик эритувчилар ишлатилади.

Илмий изланишлар натижасида ўсимлик хом ашёсидан аллапинин субстанциясини иқтисодий самарадор ва экологик хавфсиз ишлаб чиқариш технологияси яратилди. Ушбу усул бўйича ишлаб чиқариш жараёнларидан организм учун зарарли бўлган, осон учувчи хлороформ, метил спирти каби эритувчилар ва сульфат кислотаси бутунлай олиб ташланди.

Такомиллаштирилган усул бўйича (7-расм) майдаланган хом ашё юқорида кўрсатиб ўтилганидек, 80% ли этил спирти билан экстракция қилинади (2) ва сувли қолдиқ олинади (6). Смоласимон моддалар сувли қолдиқдан декантация усули билан олиб ташланади, 0,5% (сувли қолдиқ массасига нисбатан) «А» маркали фаоллаштирилган нейтрал кўмир кукуни солиб 10–15 минут давомида қайнатилади (19) ва филтрланади (20). Тозаланган алкалоид сақловчи сувли экстракт (21) натрий карбонатнинг тўйинтирилган эритмаси билан ишқорланади (рН 9–10) ва 1 суткага қолдирилади. Чўкмага тушган алкалоидлар йиғиндиси ажратиб олинади (22). Алкалоидлар йиғиндисига 1:3-1:5 нисбатда этил спирти (23) билан ишлов берилганда лаппаконитин алкалоиди қўшимча алкалоидлар билан биргаликда чўкмага тушади. Чўкма ажратиб олинади (24), спирт билан ювилади, қуритилади.



1 – тегирмон, 2 – экстракторлар, 3, 4, 6, 11, 13, 17, 19, 21, 23, 25, 28, 34 – идишлар, 5, 10 – вакуум-буғлатгич курималари, 15, 20, 27 – реакторлар, 22 – сепаратор, 12, 14, 16, 18, 24, 26, 35 – нутч-фильтрлар, 30, 31, 33 – роторли буғлатгичлар, 7, 8, 9, 32 – суюклик-суюклик экстракторлари, 29 – хроматография колонкаси.

7-расм. Аллапинин, аклезин, аксаритмин и антиаритмин дори воситалари субстанцияларини ишлаб чиқариш технологик схемаси.

Қурук қолдиқни спиртли шароитда 5% ли бромид кислотасининг спиртдаги эритмаси билан аралаштирилади (25), 1 суткадан сўнг чўкмага тушган лапаконитин ва унга қўшимча алкалоидларнинг гидробромидли тузлари (техник аллапинин) ажратиб олинади (26).

Техник аллапинин 0,5% (техник аллапинин массасига нисбатан) «А» маркали фаоллаштирилган кўмир қўшилган ҳолда 55% ли этил спирти (27) ёрдамида (1:10 нисбатда) қайта кристалланади. Ушбу технология бўйича аллапинин субстанциясининг унуми ўсимлик хом ашёсида сақланишига нисбатан 70–75% ни ташкил этади.

Таклиф қилинаётган ишлаб чиқариш усулининг иқтисодий самарадорлигини кўрсатиш учун қуйида жадвал кўринишида маълум бўлган технология ва янги иқтисодий самарадор ва экологик тоза аллапинин субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси бўйича олинган иқтисодий кўрсаткичлар келтирилди.

1-жадвал

Аллапинин дори воситаси субстанциясининг маълум бўлган технология ва янги ишлаб чиқариш технологияси бўйича ишлаб чиқарилишида хом ашё ва материалларнинг сарф бўлиш нормалари

Т/р	Хом ашё ва материалларнинг номи ва меъёрий-техник ҳужжатлари (МТХ)	Регламент нормаси бўйича сарфланиши (1 кг субстанция учун)	
		Маълум технология бўйича	Янги технология бўйича
1.	Шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпоялари, ВФМ 42–2420–95. Қурук хом ашё массасига нисбатан аллапинин миқдори – 0,81%	181 кг	181 кг
2.	Этил спирти ГОСТ 18300–72 шу жумладан сарф бўлган қисми	2818 л 189 л	2818 л 195 л
3.	Сульфат кислота ГОСТ 4204–68	12 кг	–
4.	Натрий карбонат ГОСТ 94–76	48 кг	13,5 кг
5.	Метил спирти ГОСТ 6995–67	9,4 кг	–
6.	Хлороформ ГОСТ 3160–51 шу жумладан сарф бўлган қисми	1487 кг 241 кг	– –
7.	Натрий сульфат ГОСТ 4166–76	17,2 кг	–
8.	Бромид кислота ГОСТ 2413–80	0,6 кг	0,6 кг

1 кг аллапинин субстанциясини янги технология билан ишлаб чиқарилишида этил спиртининг сарф бўлиши бор-йўғи 2–4% га ошади, натрий карбонатнинг сарфи 3 мартадан кўпроқ камаяди, технологик жараёнлардан сульфат кислотаси, метил спирти, хлороформ ва натрий сульфат тузини ишлатиш умуман олиб ташланган.

Ҳозирги вақтда Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида яратилган пилот қурилмада янги технология бўйича аллапинин

субстанциясининг биринчи саноат намуналари олинган ҳамда саноат ишлаб чиқариш регламенти ишлаб чиқилган. Тайёр маҳсулот унуми хом ашёда сақланишига нисбатан 70–75% ни ташкил этади. Дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан химоя қилинган [25].

Янги технология бўйича олинган аллапинин дори воситаси субстанциясининг физик-кимёвий хусусиятлари ва фармакологик фаоллиги ўрганилганда, аввалги технология ёрдамида олинган дори воситасидан мутлақо фарқ қилмаслиги аниқланди.

Аллапинин дори воситасининг тиббиётда қўлланилишига оид кўрсатмалар. Институт фармакология бўлимида дори воситасининг фармако-токсикологик тадқиқотлари ўтказилди ва аллапининни ишлатиш бўйича кўрсатмалар ишлаб чиқилди.

Тиббиёт амалиётида аллапинин юрак қоринчаси ва қоринча устки ритми бузилган ҳолларда, тебранувчан аритмия, тахиаритмик ва пароксизмал шаклдаги юқори кўзғалиш вақтида, Вольф–Паркинсон–Уайт синдроми пайтида қўлланилади. Миокард инфарктининг бошланғич пайтида касални тузатаётган вақтда пайдо бўлган юрак ритмининг бузилишини даволашда ҳам дори воситаси сифатида қўлланилади.

Аллапинин 0,025 г №30 таблетка ва 0,5% ли эритма, 2 мл ли ампула ҳолатида ишлаб чиқарилмоқда.

2.6. Парпи ўсимлиги ер устки қисмидан аклезин субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [8, 18, 37, 41, 42, 44, 59, 61]

Парпи ўсимлиги ер устки қисми 10 дан ортиқ лаппаконитин, лейконин, сепаконитин, ацетилсепаконитин, N-дезацетиллаппаконитин, лаппаконидин, аксин, аксинатин, лейконидин ва бошқа алкалоидлар йиғиндисини (хом ашё массасига нисбатан 0,5–0,8% атрофида) сақлайди.

Асосан, юқорида қайд этилган тозаланган алкалоидлар йиғиндисини (аклезин) юқори антиаритмик фаоллик ва антиаритмик хусусиятга эга бўлган дори воситаси сифатида тиббиёт амалиётида қўлланишга рухсат берилган.

Яратилган технология асосида техник аклезинни (алкалоидлар йиғиндисини) парпи ўсимлиги ер устки қисмидан сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан аллапинин ажратиб олиш технологияси асосида ишлаб чиқариш мумкин (7-расм). Техник аклезинни тозалаш учун у хлороформда эритилади (28) ва Брокман бўйича фаоллиги V даража бўлган алюминий оксидидан ўтказиб олинади (29). Элюат қуюлтирилади (30) сўнгра қурилади ва ўсимликда сақланишига нисбатан 82–85% унум билан аклезин субстанцияси ажратиб олинади.

Аклезин субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида яратилган алкалоидларни сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиб олиш қурилмасида қайта ишлаб чиқилди. Аклезиннинг тажриба саноат ишлаб чиқариш регламенти, субстанция ва тайёр дори шаклига (қобикланган таблеткалар, 0,025г №10) вақтинчалик фармакопоя мақолалари ишлаб чиқилган [41, 42, 44].

Тайёр маҳсулотнинг унуми хом ашёда сақланишига нисбатан 85% ни

ташқил этади.

Дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [18].

Аклезиннинг тиббиёт амалиётида қўлланишига оид кўрсатмалар. Институт фармакология бўлимида дори воситасининг фармако-токсикологик тадқиқотлари ўтказилган ва аклезинни ишлатиш бўйича кўрсатмалар ишлаб чиқилган.

Юракнинг юрак олди ва юрак қоринчаси ритмлари бузилишида аклезин аритмияга қарши таъсир қилади. Анастезик, оғриқ қолдирувчи, шамоллашга қарши ва седатив хусусиятларини намоён қилади.

Ҳозирги вақтда бор бўлган аритмияга қарши таъсирга эга бўлган дори воситалари билан солиштирилганда, уларга нисбатан сурункали ва ҳаёт учун хавфли бўлган юрак қоринчаси тахикардияси бўлган касалларни даволашда аклезин ўзининг юқори самарали дори воситаси эканлигини кўрсатди. Бошқа аритмияга қарши дори воситаларидан шундай яхши томони билан фарқ қиладики, аклезин юрак етишмаслиги касаллиги билан оғриган беморларда, умуман, миокард функциясида қисқарувчан ўзгаришлар чақирмайди.

2.7. Шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан аксаритмин субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [24, 71, 78, 87, 88]

Шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояси ҳам массасига нисбатан 2–3% атрофида алкалоидлар йиғиндисини сақлайди ва таркибида лаппаконитиндан ташқари яна 10 дан ортиқ алкалоидлар (лейконин, N-дезацетиллаппаконитин, сепоконитин, ацетилсепокитин, раноконитин, лейконидин, лаппаконин ва бошқалар) бор. Фармако-токсикологик ва клиник тадқиқотлар натижаларига кўра аксаритмин (тозаланган алкалоидлар йиғиндиси) аритмияга қарши юқори фаолликка эга бўлгани учун ЎзР ССВ ДВ ва ТТНҚББ Фармакология кўмитаси томонидан тиббиётда кенг қўлланилишига рухсат берилган.

Техник аксаритмин парпи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан аллапинин ишлаб чиқариш технологик схемасидан фойдаланиб олинади (7-расм). Техник аксаритминни тозалаш учун уни хлороформда эритилади (28) ва Брокман бўйича фаоллиги V даража бўлган алюминий оксидидан ўтказиб олинади (29). Элюат қуюлтирилади сўнгра куритилади (30), қуруқ хом ашёнинг массасига нисбатан 2,8% ёки ўсимлик хом ашёсида сақланишига нисбатан 82–85% миқдорда аксаритмин олинади.

Дори воситасининг технологияси Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида яратилган алкалоидларнинг сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули пилот қурилмасида қайта ишлаб чиқилган. Субстанцияга, тайёр дори шаклига (қобиқланган таблеткалар, 0,025 г, №30) вақтинчалик фармакопоя мақолалари ишлаб чиқилган. Клиник синовларини ўтказиш учун етарли миқдорда дори воситаси ишлаб чиқарилди. Дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [24].

2.8. Аллапинин дори воситасини ишлаб чиқариш чиқиндиларидан N-дезацетиллаппаконитин гидробромиди (антиаритмин) субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [26, 76, 81-86]

Аллапинин дори воситасини ишлаб чиқариш жараёнида чиқинди сифатида таркибида катта миқдорда (ҳавода куритилган чиқинди массасига нисбатан 50–80% гача) N-дезацетиллаппаконитин гидробромидини сақловчи дитерпен алкалоидлар аралашмаси (метил спиртли чиқинди) ҳосил бўлади.

Ундан натив ҳолатдаги N-дезацетиллаппаконитин гидробромид-антиаритмин дори воситасини оригинал ишлаб чиқариш технологияси яратилди.

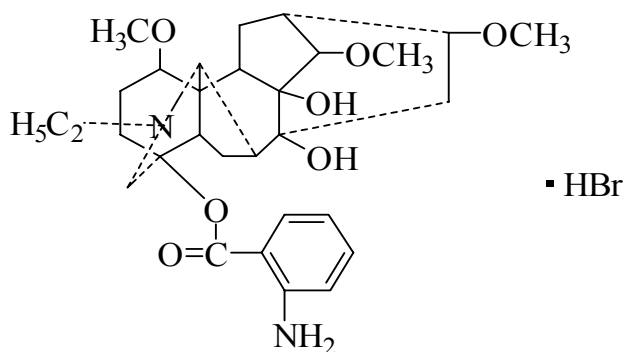
Куритилган чиқинди (7-расм) (31) 1:3 нисбатда (32) дистилланган сувда эритилди ва эритманинг муҳити рН 6,5 гача келтирилди. Чунки муҳит кучли асослик бўлса, экстрактга катта миқдорда чиқиндида бор бўлган кераксиз бошқа алкалоидлар аралашмаси ҳам ўтади, муҳит кучли кислотали бўлса, N-дезацетиллаппаконитин гидробромиди қийин экстракция бўлади, бу эса асосий маҳсулотнинг унуми камайишига олиб келади.

Муҳити рН 6,5 бўлган сувли эритмадан алкалоидлар 3 маротаба хлороформ билан экстракция қилинади (32). Хлороформли ажратма филтрланади, қуюлтирилади, сўнгра куритилади (33), ацетон билан ишлов берилади (34) ва вақтинчалик фармакопея мақоласи талабларига жавоб берадиган антиаритмин дори воситаси субстанцияси олинади. Унуми ҳавода куритилган чиқиндининг массасига нисбатан 50% ни ташкил этди. Зарур бўлган меъёрий техник хужжатлар йиғиндиси (субстанция ва тайёр дори шаклига вақтинчалик фармакопея мақоласи ва тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламенти лойиҳалари) ишлаб чиқилган. Меъёрий техник хужжатлар йиғиндиси ЎзР ССВ ДВ ва ТТСНҚББ га кенг клиник синовлар ўтказишга рухсат олиш учун топширилган ва ушбу дори воситасининг клиник синовлари учун рухсат олинган.

Дори воситасини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [26].

Антиаритмин дори воситасининг фармакологик фаоллиги. Институт фармакология ва токсикология бўлимида ўтказилган тадқиқотлар N-дезацетиллаппаконитин алкалоиди ҳам юқори антиаритмик хусусиятга эга эканлигини кўрсатди. N-дезацетиллаппаконитин гидробромидини (антиаритмин) венага юборилганида антиаритмик фаоллиги бўйича аллапинин дори воситасидан қолишмаслигини кўрсатди. Бундан ташқари N-дезацетил-

N-дезацетиллаппаконитин гидробромидининг тузлилиш формуласи



М.м. 623

лаппаконитин гидробромиди аллапинин дори воситасига нисбатан захарсизроқ, катта терапевтик кенгликка эга, аритмияга қарши таъсири аллапинин дори воситаси таъсиридан тезроқ ривожланади, фармакологик таъсирининг давомийлиги юқорида кўрсатилган дори воситасиникидан қолишмайди.

Юракнинг юрак олди ва юрак қоринчаси ритмлари бузилишида N-дезацетиллаппаконитиннинг аритмияга қарши таъсири кўринади ва бу ҳар хил механизмда кечади. Терапевтик дозалар ичида дори воситаси манфий инотроп таъсирга эга эмас, артериал қон босимини оширмайди, холинолитик ва адренолитик самара кўрсатмайди.

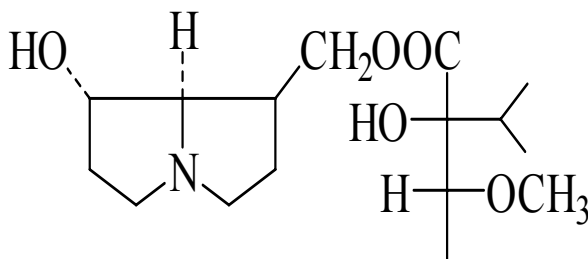
N-дезацетиллаппаконитин гидробромиди (антиаритмин) дори воситасини ампулада 0,5% ли 1 мл ли инъекцион эритма сифатида қўллаш таклиф этилган.

3-бўлим. Гелиотрин, бикучулин, d-β-гидрастин, аконитин, донаксин гидрохлориди ва импералин биореактивларини муқобиллашган ишлаб чиқариш технологиялари.

3.1. Ғичмола кўкмарази ўсимлиги ер устки қисмидан гелиотрин биореактивини ишлаб чиқариш технологияси [1, 11, 28, 33, 70]

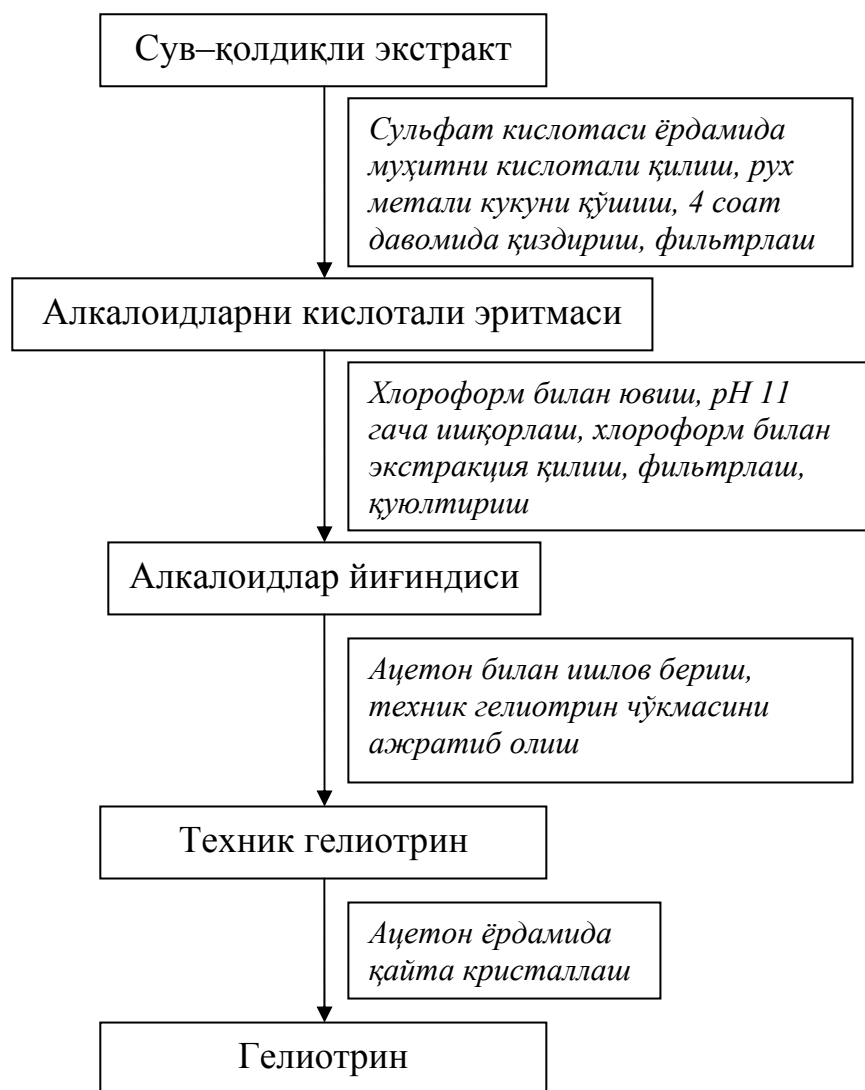
70 кг ғичмола кўкмарази ўсимлиги ер устки қисмини 5–20 мм гача майдаланганидан сўнг экстракторга солиб, 300 л 80% ли этил спиртида (гидромодул 1:4,2) 8 соат давомида бўктирилгач 160 л экстракт ажратиб олинади. Яна 5 марта 80% ли этил спирти (ҳар гал 160 л дан) билан экстракция қилинади. Олинган экстракт вакуум - буғлатгич қурилмасида дастлабки ҳажмига нисбатан 8–10% қолгунича буғлатиш натижасида 60 л қуюлтирилган сувли экстракт олинади. Олинган экстрактни реакторга солиб, муҳити рН 1 бўлгунига қадар 2,5 кг сульфат кислотаси билан ишлов берилади, сўнгра N-оксид формасидаги гелиотринни қайтарилиши учун аралаштириб турилган ҳолатда 4 кг рух метали кукуни қўшилади. Аралашма муҳитининг ҳарорати 70°C бўлгунича 4 соат давомида қиздирилади. Филтрлаш йўли билан ортиқча рух метали кукуни ажратиб ташланади. Алкалоид характериға эга бўлмаган моддаларни ажратиб олиш учун кислотали эритма 2 марта хлороформ (20 л дан) билан ювилади. Тозаланган кислотали эритма (64 л) 25% ли аммиак эритмаси ёрдамида муҳити рН 11 бўлгунича ишқорланади ва ҳар бир ҳажми 10 л бўлган хлороформ билан 4 марта экстракция қилиб олинади. Хлороформли экстрактлар вакуум-буғлатгич қурилмаси ёрдамида қуюлтирилиб, сўнгра қурилади (8-расм).

Гелиотрин алкалоидининг тузилиш формуласи:



$C_{16}H_{27}NO_5$

М.м.233



8-расм. *Ғичмола кўкмаразии ўсимлиги ер устки қисмидан гелиотрин биореактиви субстанциясини ишлаб чиқариш блок-схемаси.*

Алкалоидлар йиғиндиси (560 г) 3 л ацетонда эритилади ва 12 соатга қолдирилади, чўкмага тушган гелиотрин филтрлаб олинади, ацетон билан ювиб, қуритилади. Олинган техник гелиотринга (490 г) 1,6 л ацетон қўшиб алкалоидлар тўлиқ эригунича қиздирилади. Ацетонли эритмадан 8–10 соат давомида хона ҳароратида гелиотрин алкалоиди кристалланади. Гелиотрин кристаллари ажратиб олинади ва ацетон билан ювилади (425 г). Филтрат қуюлтирилиб, қўшимча 45 г гелиотрин олинади. Тайёр маҳсулотнинг унуми 470 г ёки хом ашё массасига нисбатан 0,67% ни ташкил этади.

Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида яратилган қурилмада гелиотрин ишлаб чиқариш технологияси қайта ишлаб чиқилди, тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламенти тузилиб, 1982 йилда ишлаб чиқаришга татбиқ этилган. Ишлаб чиқарилаётган гелиотрин биореактиви ҳажми Республика тиббиёт муассасаларини ушбу биореактивга бўлган талабини тўлиқ қондириб, Франция давлатига ҳам экспорт қилинмоқда.

Гелиотрин биореактивини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон

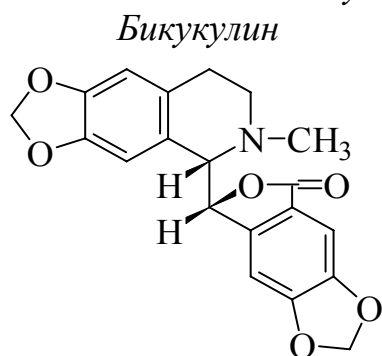
Республикаси муаллифлик гувоҳномаси билан ҳимоя қилинган [28].

Гелиотрин алкалоиди тиббиёт амалиётида биореактив сифатида жигардаги сариқ ва бошқа оғир касалликларни самарали даволаш усулларини ишлаб чиқиш учун лаборатория ҳайвонлари жигарида сариқ ва цирроз касалликларининг тажриба моделларини олиш учун ишлатилади.

Асосий маҳсулот унуми хом ашёдаги миқдорига нисбатан 70–72% ни ташкил этади.

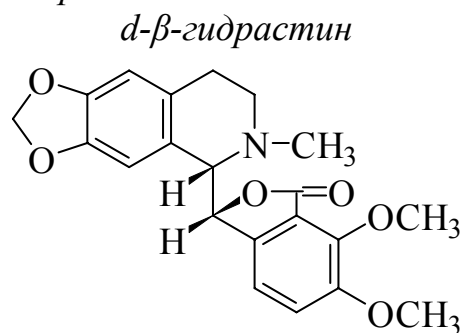
3.2. Бурмақора ўсимлиги ер устки қисмидан бикукулин ва d-β-гидрастин биореактивларини ишлаб чиқариш технологияси [17, 35, 72]

Тузилиш формулалари:



$C_{20}H_{17}NO_6$

М.м. 367



$C_{21}H_{21}NO_6$

М.м. 383

Ҳавода қуритилган бурмақора ўсимлиги ер устки қисми (10 кг) 5–10 мм ли қилиб майдаланади ва экстракторга жойланади ва 25 л 80% ли этил спирти эритмаси солиб, тунги бўктиришга қолдирилади (9-расм). 15 л экстракт олинади. Шунга ўхшаш яна 5 марта экстракция қилиш ишлари амалга оширилади. Экстрактлар вакуум-буғлатгич қурилмаларида олдинги ҳажмига нисбатан 8–11% қолгунича қуюлтирилади ва 7,8 л сув қолдиқли экстракт олинади. Сув қолдиқли экстракт шиша пахта орқали филтрланиб ёки юқорига сузиб чиққан смоласимон моддаларни декантация усули ёрдамида ажратиб олиниб, 25% ли аммиак эритмаси ёрдамида муҳити рН 8,0–9,5 бўлгунича ишқорланади ва алкалоидлар хлороформ билан экстракция қилиб олинади (5 марта ҳар бири 4 л дан). Хлороформли экстрактдан алкалоидлар 10% ли сульфат кислотаси ёрдамида экстракция қилинади (5 марта ҳар бири 4 л дан). Алкалоид характериға эға бўлмаган моддалардан тозалаш учун кислотали алкалоидлар эритмаси 2 марта хлороформ (5 л дан) билан ювилади. Тозаланган 19 л миқдордаги алкалоидларнинг кислотали экстракти муҳити рН 9–10 бўлгунича 25% ли аммиак эритмаси ёрдамида ишқорланади. Ишқорланган экстракт 12 соат давомида тургач, алкалоидлар чўкмага тушади. 145 г миқдордаги қуритилган алкалоидлар йиғиндиси 0,5 л хлороформда эритилади ва алюминий оксиди (Брокман бўйича фаоллик даражаси V) дан ўтказиб олинади (модда ва алюминий оксиди нисбати 1:2). Ювиш учун элюат сифатида хлороформдан фойдаланилади. Тозаланган алкалоидларнинг хлороформли эритмаси қуюлтирилади, сўнгра қуритилади.



9-расм. Бурмақора ўсимлиги ер устки қисмидан бидукулин ва d-β-гидрастин биореактивлари субстанцияларини ишлаб чиқариш блок-схемаси.

105 г алкалоидлар йиғиндиси олинади, у 0,32 л метил спиртида эритилиб, тунга қолдирилади. Ҳосил бўлган чўкма филтрлаб олинади. Метил спирти билан ювилиб, қуритилади. Бидукулин ва d-β-гидрастин алкалоидларининг 60 г техник аралашмаси олинади. Метил спирти ва хлороформ аралашмаси

ёрдамида техник маҳсулот қайта кристалланиб, тоза ҳолатда бикукулин ва d-β-гидрастин олинади. Маҳсулотларнинг техник шарти талабларига жавоб берадиган биореактив бикукулиннинг унуми 13,2 г ёки хом ашёда сақланишига нисбатан 72% ни ташкил этади, d-β-гидрастинни унуми 39,6 г ёки хом ашёда сақланишига нисбатан 75% ни ташкил этади.

Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида бикукулин ҳамда d-β-гидрастин биореактивларини ишлаб чиқариш технологиялари қайта ишлаб чиқилди. Тажриба саноат ишлаб чиқариш регламентлари ишлаб чиқилиб, 1992 йилда саноатга татбиқ этилди. Бикукулин ва d-β-гидрастин ишлаб чиқариш ҳажмлари ватанимиз тиббиёт муассасаларининг ушбу биореактивларга бўлган талабини қондириб келмоқда ҳамда ушбу биореактивлар Францияга экспорт қилинмоқда.

Бикукулин ва d-β-гидрастин алкалоидлари биореактив сифатида биологик, фармакологик ва токсикологик тадқиқотларда гамма-амино ёғ кислотасига антогонист сифатида ишлатилади.

Бикукулин биореактивини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан химоя қилинган [17].

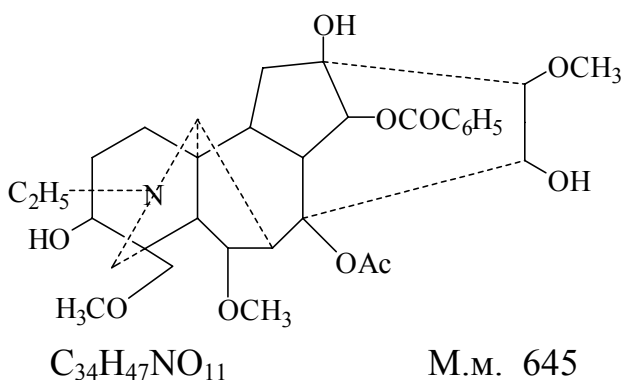
3.3. Жунғур парписи ўсимлиги илдизмеваларидан аконитин биореактиви субстанциясини ишлаб чиқариш технологияси [5, 12, 31, 34, 56]

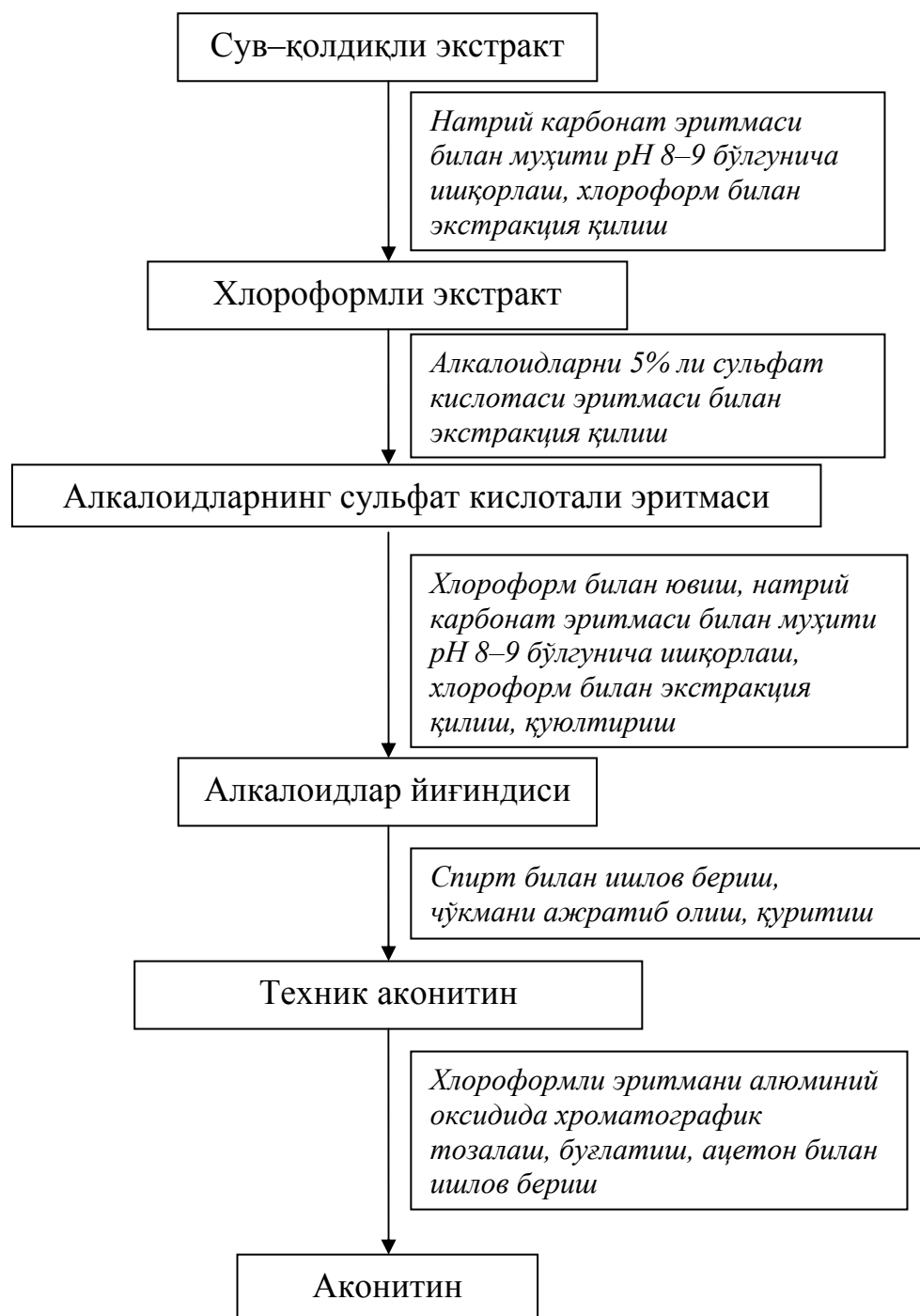
Ўлчами 3–10 мм қилиб майдаланган ва экстракторга жойланган 50 кг жунғур парписи илдиз мевалари 150 л 80% ли спирт эритмаси куйилиб, 12 соатга қолдирилади. Сўнгра 80 л спиртли экстракт ажратиб олинади. Иккинчи марта 80 л экстрагент куйилади. Шунга ўхшаш хом ашё яна 6 марта экстракция қилинади. Экстрактларни бирлаштириб, олдинги ҳажмига нисбатан

7–10% қолгунича вакуум-буғлатгич қурилмаси ёрдамида қуюлтириш натижасида 64 л сув қолдиқли экстракт олинади. Сув қолдиқли экстракт филтрлангач, натрий карбонат эритмаси билан муҳити рН 8–9 бўлгунича ишқорланади ва 4 марта (15 л дан) хлороформ билан экстракция қилинади. Алкалоидларнинг хлороформли экстрактига 3 л 5% ли сульфат кислотаси билан ишлов берилади. Фазалар ажралганидан сўнг сульфат кислотали экстракт ажратиб олинади (10-расм).

Шунга ўхшаш сульфат кислотасининг 5 % ли эритмаси билан (2 л дан) яна 5 марта экстракция қилиб олинади. Қўшимча моддалардан тозалаш учун алкалоидларнинг кислотали эритмаси (5 л дан) 2 марта хлороформ билан ювилади. 13 л миқдордаги ювилган алкалоидларнинг кислотали эритмаси натрий карбонат эритмаси билан муҳити рН 8–9 бўлгунича ишқорланади

Аконитиннинг тузилиш формуласи:





10-расм. Жунгур нарписи илдиз мевасидан аконитин биореактивини субстанциясини ишлаб чиқариш блок-схемаси.

ва алкалоидлар 15 л хлороформ билан экстракция қилинади. Шунга ўхшаш яна 4 марта хлороформ (10 л дан) билан экстракция қилинади. Бирлаштирилган хлороформли экстракт вакуум остида қуюлтирилади, сўнгра қуритилади. 300 г алкалоидлар йиғиндисига 570 мл этил спирти билан ишлов берилади ва 12 соатга қолдирилади. Ҳосил бўлган чўкма филтрлаб олинади ва қуритилади. 100 г техник аконитин олинади. Техник аконитин 100 мл хлороформда эритилади ва колонкага (аконитин:алюминий оксиди 1–30:40 нисбатда) солинган Брокман бўйича фаоллик даражаси V бўлган алюминий оксидидан

ўтказилади. Акони́тинни хлороформ билан ювиб олинади. Тозаланган хлороформли элюатни 50°C дан юқори бўлмаган ҳароратда қуюлтирилади, сўнгра қурилади. Қуруқ қолдиққа 100 мл ацетон билан ишлов берилади ва 12 соатга қолдирилади. Ҳосил бўлган чўкма ажратиб олинади ва қурилади. Акони́тиннинг унуми 56 г ёки хом ашёда сақланишига нисбатан 55% ни ташкил этади.

Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида яратилган саноат қурилмасида биореактив акони́тинни ишлаб чиқариш технологияси қайта ишлаб чиқилган. Тажриба-саноат ишлаб чиқариш регламенти ишлаб чиқилиб, 1985 йилда саноат миқёсида ишлаб чиқаришга татбиқ этилган. Акони́тин биореактивининг ишлаб чиқариш ҳажми республиканинг илмий текшириш муассасалари талабини тўлиқ қондириб келмоқда. Биореактив Франция мамлакатига ҳам экспорт қилинмоқда.

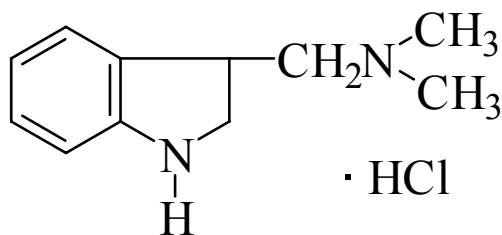
Қўлланилиши. Тиббиёт амалиётида ва экспериментал биологияда акони́тин биореактиви юқори самарали антиаритмик дори воситаларини излаш ва яратишда юрак фаолияти патологияларини, бирламчи импульсларнинг генерацияси асосида ётувчи молекуляр жараёнлар моделларини яратишда ишлатилади.

Акони́тин биореактивини ишлаб чиқариш усули муаллифлик гувоҳномаси [31] ва Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [12].

3.4. Қамишсимон савағич ўсимлиги баргларидан донаксин гидрохлориди биореактивини ишлаб чиқариш технологияси [20]

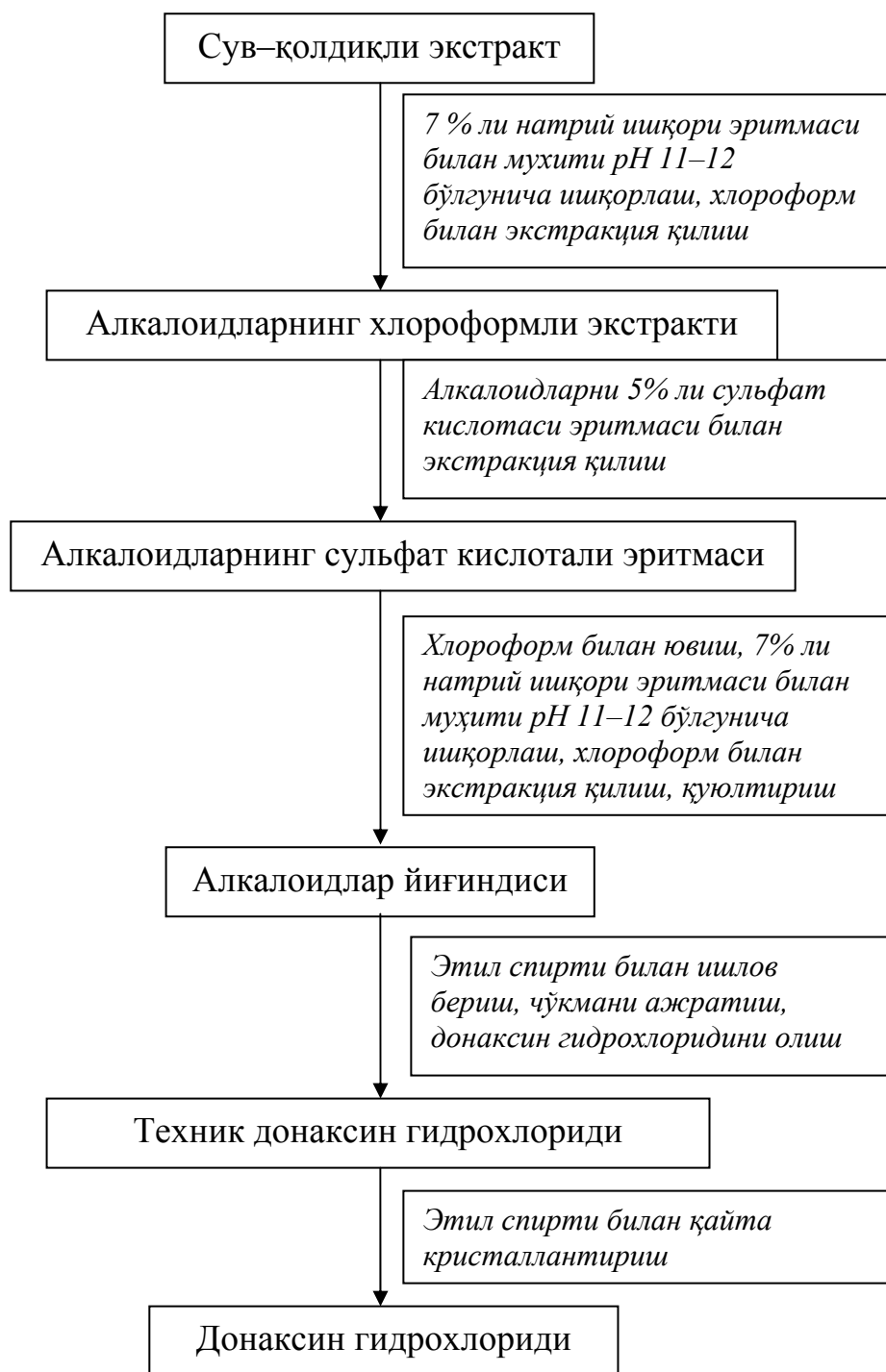
2 кг ўлчама 10–20 мм гача майдаланган ўсимлик хом ашёси 80% ли этил спирти эритмаси билан 6 марта экстракция қилинади. Биринчи экстракция учун 6 л экстрагент қуйилиб, 10 соат давомида бўктирилади ва 3 л экстракт ажратиб олинади. Иккинчи марта 3 л экстрагент қуйилади. Худди шундай учинчи-олтинчи алкалоидли экстрактлар 8, 8, 6 ва 6 соат давомида бўктирилиб ажратиб олинади. Экстрактлар бирлаштирилади ва вакуум остида 50–60°C хароратда олдинги хажмига нисбатан 10% қолгунича (1,8 л) қуюлтирилади. Қолдиқ филтрланади, 7% ли натрий ишқори эритмаси билан муҳити рН 10–12 бўлгунича ишқорланади, алкалоидлар 4 марта хлороформ билан (1 л дан) экстракция қилинади. Хлороформли экстрактдан алкалоидлар сульфат кислотасининг 5% ли эритмаси билан (0,5 л дан) 4 марта экстракция қилинади. Сульфат кислотали алкалоидлар эритмаси 2 марта хлороформ билан (0,5 л дан) ювилади ва 7% ли натрий ишқори эритмаси билан муҳити рН 10–12 бўлгунича ишқорланади, алкалоидлар хлороформ билан (1 л дан) 3 марта экстракция қилинади, қуюлтирилади, сўнгра қурилади (11-расм).

Донаксин гидрохлориди тузилиш формуласи:



$C_{11}H_{14}N_2 \cdot HCl$

М.м. 210,5



11-расм. Қамишсимон савагич ўсимлиги баргларидадан донаксин гидрохлориди биореактивини ишлаб чиқариш блок-схемаси.

Алкалоидлар йиғиндисига (10 г) донаксин алкалоидини чўктириш учун 20 мл этил спирти билан ишлов бериледи, чўкмага тушган донаксин (5,2 г) филтрлаш йўли билан ажратиб олинади. Донаксин гидрохлоридини олиш учун чўкмага (5,2 г) спиртли шароитда хлорид кислотаси билан тўйин-тирилган спирт эритмаси ёрдамида мухити рН 3–4 бўлгунича ишлов бериледи. Чўкмага тушган донаксин гидрохлориди ажратиб олинади, спирт билан ювиледи ва спирт билан қайта кристаллантирилади. Унуми 2,1 г ёки ўсимликда сақланишига нисбатан 75% ни ташкил этади.

Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида донаксин гидрохлоридини ишлаб чиқариш технологияси қайта ишлаб чиқилган.

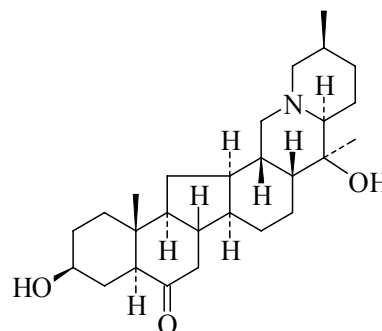
Институт фармакология ва токсикология бўлимида ўтказилган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, донаксин гидрохлориди кам захарли, бачадоннинг самарали стимулятори ҳисобланади. Тажрибалар орқали мутлақ дозада пахикарпин дори воситасидан, фармакологик кенглиги билан бревинолмин-дан, окситоцинга ўхшаш таъсири билан эрготаминдан фаолроқ эканлиги аниқланди. Донаксиннинг 3 та модификация қилинган ҳосилалари (донаксин гидрохлориди, N-оксид донаксин, донаксин йодметилати) Франциянинг «Латоксан» фирмаси каталогига тиббий-биологик текширишлар учун биореактив сифатида киритилган.

Донаксин гидрохлориди биореактивини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан ҳимоя қилинган [20].

3.5. Холмон исирғагули ўсимлиги ер устки қисмидан империалин биореактивини ишлаб чиқариш технологияси [16]

2 кг хом ашёни ўлчами 5–10 мм гача майдалаб, 6 марта 80% ли этил спирти эритмаси билан экстракция қилинади. Биринчи экстракцияга 7,4 л экстрагент куйилиб, 8 соат давомида бўктирилади, сўнгра 3,1 л экстракт ажратиб олинади. Иккинчи марта 3,1 л экстрагент куйилади. Шундай қилиб кейинги (12-расм) учинчи-олтинчи экстракцияни 6, 6, 4 ва 4 соат давомида ўтказиб ажратиб олинади. Экстрактлар бирлаштирилади ва олдинги ҳажмига нисбатан 10% қолгунича, яъни сувли қолдиқ бўлгунича (1,9 л атрофида) қуюлтирилади. Сувли экстракт аммиак эритмаси билан муҳити рН 9–10 бўлгунича ишқорланади ва алкалоидларни хлороформ билан (1 л дан) 5 марта экстракция қилинади. Хлороформли экстрактдан алкалоидларни 5% ли сульфат кислотаси эритмаси билан (0,2 л дан) 5 марта экстракция қилинади. Кислотали экстрактлар бирлаштирилиб, икки марта хлороформ билан (0,5 л дан) ювилади. Сўнгра алкалоидларнинг кислотали экстракти аммиак эритмаси билан муҳити рН 9–10 бўлгунича ишқорланади, 4 марта хлороформ билан (1 л дан) экстракция қилинади, қуюлтирилади, сўнгра қуритилади ва ацетон билан ишлов берилиб, техник империалин ажратиб олинади. Техник империалин хлороформда эритилиб, «КСК» маркали силикагель билан тўлдирилган колонкага солинади. Империалин хлороформ:спирт:25% ли аммиак (100:40:10) эритмаси билан элюация қилинади, қуюлтирилади, сўнгра қуритилади ва хлороформ–метил спирти аралашмасида қайта кристаллантирилиб, 3,0 г тоза империалин олинади. Унуми хом ашёда сақланишига нисбатан 65% ни ташкил этади.

Империалиннинг тузилиш формуласи:



$C_{27}H_{43}NO_3$

м.м. 429,64



12-расм. Холмон исиргагули ўсимлиги ер устки қисмидан империалин биореактивини ишлаб чиқариш блок-схемаси.

Империалин биореактивини ишлаб чиқариш технологияси Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонаси базасида қайта ишлаб чиқилган. Биореактив империалин Франциянинг «Латоксан» фирмаси каталогига киритилган.

Империалин тиббиёт амалиётида М-2 холинблокатор сифатида ишлатилади. М-4 рецепторларга блокатор сифатида 20 марта, М-3 рецепторларга 300 марта кучсизроқ, М-2 типга қараганда фаоллиги жиҳатидан маълум бўлган М-2 блокатори – метокрамин ва АГ-ДХ II б. дан кучли ҳисобланади.

Империалин биореактивини ишлаб чиқариш усули Ўзбекистон Республикаси патенти билан [16].

4-бўлим. Ўсимлик хом ашёсини сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмасида экстракция қилиб, сўнгра ультрафилтрация ёрдамида тозалаш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқаришнинг муқобиллашган технологияси [9, 22, 25, 27]

Адабиётлардан маълумки, алкалоидларнинг асосий кўпчилиги ўсимлик хом ашёсида органик кислоталарнинг тузи ҳолатида бўлади, улар сув ёки органик ва минерал кислоталарнинг кучсиз эритмасида яхши эрийди. Ҳозирги вақтда ўсимлик хом ашёсини ҳар хил органик ёки минерал кислоталарнинг кучсиз эритмалари ёрдамида экстракция қилиб, сўнгра ишқорланган ушбу экстрактдан суюқлик–суюқлик экстракцияси ёрдамида алкалоидларни ишлаб чиқариш усули билан ишлаётган бир қатор алкалоидлар субстанциясини ишлаб чиқариш саноат қурилмалари мавжуд. Ушбу усулда суюқлик–суюқлик экстракцияси вақтида жуда турғун эмульсия пайдо бўлиши асосий камчилик ҳисобланади. Икки бир-бири билан аралашмайдиган суюқликлар билан экстракция жараёнида эмульсия ҳосил бўлишининг олдини олиш учун бир нечта усуллар таклиф этилган. Масалан, Чимкент кимё-фармацевтика заводида эфедрин, анабазин ва Тошкент кимё-фармацевтика заводида галантамин ишлаб чиқарилишида суюқлик–суюқлик экстракцияси жараёнида эмульсия ҳосил бўлишининг олдини олиш мақсадида қатор қурилмалар яратилган:

- а) Рашег ҳалқалари билан тўлдирилган колонкалар;
- б) аралаштириш–тиндириш типдаги суюқлик–суюқлик экстракторлари;
- с) эмульсия ҳосил бўлишини камайтирувчи ҳар хил типдаги деворчалар, тарелкалар билан жиҳозланган экстракция қилиш колонкалари.

Юқорида кўрсатиб ўтилган конструкцияларни суюқлик–суюқлик экстракцияси усули билан алкалоидларни ишлаб чиқариш жараёнида қўллаш эмульсия ҳосил бўлишининг олдини олиш муаммосини тўлиқ ҳал қилмайди. Қисман эмульсия ҳосил бўлиши ҳамда асосий маҳсулотни кўплаб йўқотишга олиб келади. Шу сабабли Чимкент ва Тошкент кимё-фармацевтика заводларида тайёр маҳсулотларнинг ўсимлик хом ашёсида сақланишига нисбатан унуми 60–65% дан ортиқ бўлмаган.

Ўтказилган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, алкалоидларни органик эритувчилар билан суюқлик–суюқлик экстракцияси ёрдамида ажратиб олиш жараёнида экстракт таркибида бўлган ва фазаларнинг ажралиш жараёнини қийинлаштирувчи сирт-фаол моддалар борлиги (оксиллар, пектинлар, полисахаридлар, липидлар ва бошқ.) эмульсия ҳосил бўлишига сабаб бўлади.

Экстракт таркибидаги юқори молекулали сирт-фаол моддаларни ажратиб ташлаш учун биз экстрактив моддаларни молекуляр массаси бўйича ажратишга имконият яратувчи ультрафилтрация усулидан фойдаландик.

Юқорида кўрсатилган сирт-фаол моддаларни экстракт таркибидан ажратиб ташлаш учун биз фильтр сифатида баъзи бир мембраналарни (тешиклари ўлчами 10 кДа, 50 кДа, 100 кДа, 150 кДа бўлган) ишлатиш мумкинлиги тўғрисида тадқиқотлар ўтказдик. Тажрибалар шуни кўрсатдики, мембраналарни тешикларини ўлчамига қараб, ҳар хил тозаликдаги экстрактлар олиш мумкин.

M5 рақамли мембрана (10 кДа) билан ўтказган тажрибалар жуда муваффақиятли чиқди ва алкалоидлар экстрактини сирт-фаол моддалардан тозалашга эришилди, эмульсия ҳосил бўлиши бутунлай йўқолди. Натижада ҳар хил асослик кучига эга бўлган алкалоидларнинг ўсимлик хом ашёсини сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмалари билан экстракция қилиш, сўнгра ультрафилтрлаш ва асосий маҳсулотни суюқлик–суюқлик экстракцияси технологик усули билан ишлаб чиқаришнинг принципиал технологияси ишлаб чиқилди. Ишлаб чиқилган технология куйидаги ишлаб чиқариш жараёнларини ўз ичига олади (13 расм):

1. Ўсимлик хом ашёсини сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмаси билан экстракция қилиш.

2. Ультрафилтрация усули билан экстракт таркибидаги юза-фаоллиги хусусиятига эга бўлган юқори молекулали моддаларни ажратиб ташлаш.

3. Тозаланган экстрактни ишқорлаш ва асосий маҳсулотни суюқлик–суюқлик усулида экстракция қилиш.

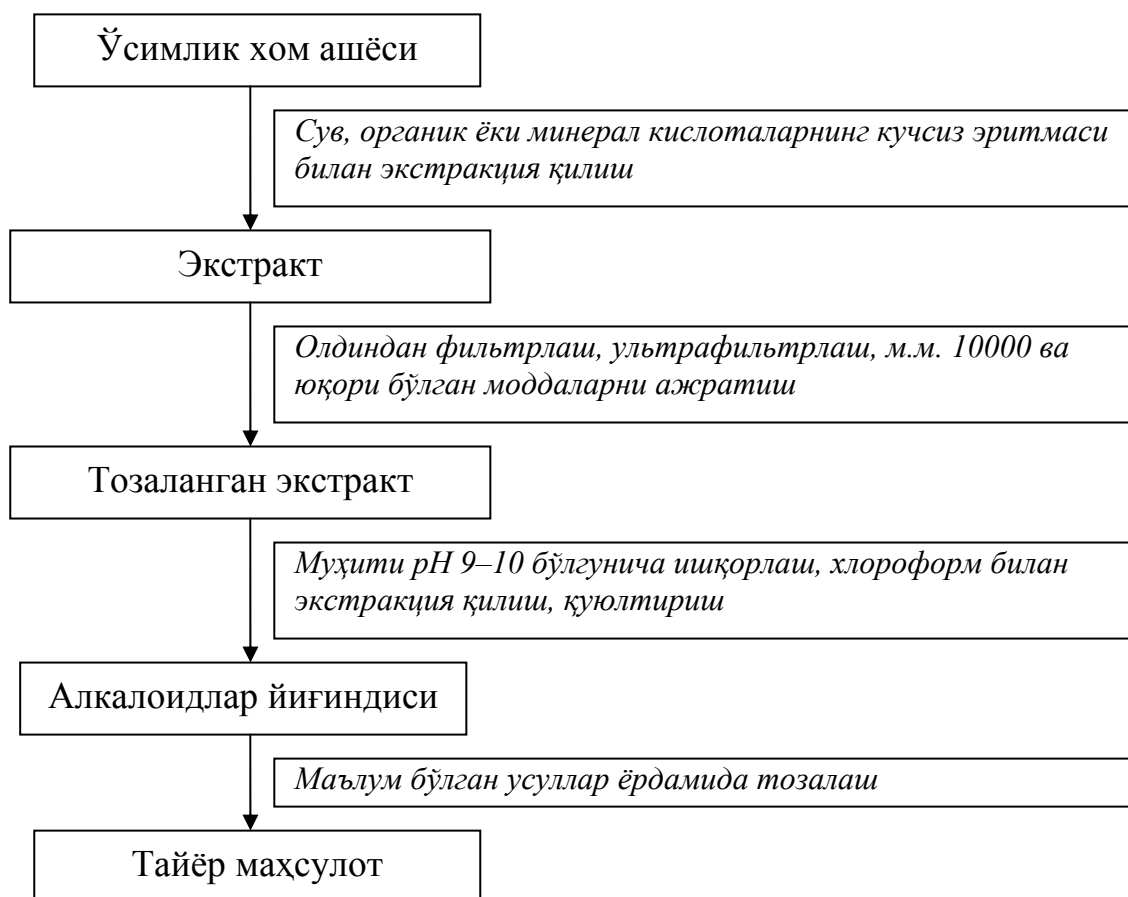
4. Техник маҳсулотни олиш ва ажратиб олинаётган алкалоидни асослик кучига ва бошқа физик-кимёвий хусусиятларига қараб тўғри келадиган усул ёрдамида тозалаш.

Алкалоид сақлайдиган ўсимлик хом ашёларини (парпи, шотара, Северцов омонқораси, Виктор омонқораси ва бошқа ўсимликлар) динамик шароитда кислоталарнинг кучсиз эритмалари (асосан сульфат, хлорид, сирка кислоталарининг 0,5–1,0% ли эритмалари) билан экстракция қилиш жараёнларини ўрганиш шунини кўрсатдики, жараёнларга асосан куйидаги омиллар таъсир кўрсатади: x_1 – хом ашёдан экстрагентни ўтиш тезлиги; x_2 – ўсимликни майдалик даражаси; x_3 – экстракция қилиш давомийлиги; x_4 – экстрагентдаги кислота миқдори; x_5 – экстракторга жойланган хом ашёнинг диаметри ва баландлигининг нисбати (l/d).

Ушбу омилларнинг алкалоидларни экстракция қилиш жараёнига (парпи, омонқора ва бошқа ўсимликлар) таъсирини ўрганиш ва экстракция жараёнини ўтказишнинг оптимал шароитларини аниқлаш учун жараённи тажрибаларни математик режалаштириш усули билан оптималлаштирдик. Оптималлаштиришнинг параметри сифатида алкалоидлар йиғиндисининг унуми (y) олинди. Барча ҳолатларда оптималлаштириш жараёнини ўтказиш учун $y=2^5$ типдаги тўла факторли экспериментни 1/4 репликасидан куйидаги ўзаро таъсирга эга бўлган омиллар нисбати билан фойдаланилди:

$$x_4 = x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 ; x_5 = x_1 \cdot x_3.$$

Асосан, омилларнинг куйидаги даражалари ва уларни ўзгартириш интерваллари танлаб олинди: (x_1 – 450 л/соат · м² ± 200; x_2 – 15 мм ± 10; x_3 – 4 соат ± 2; x_4 – 1,5% ± 1; x_5 – 3 ± 1). $y = 2^{5-2}$ типдаги тажрибалар ўтказилгач, жараённинг математик моделини олдик ва экстракция жараёнига асосий таъсир қилувчи омиллар бўлиб экстрагентнинг хом ашё орқали ўтиш тезлиги ва экстракция вақти эканлиги аниқланди.



13-расм. Ўсимлик хом ашёсини сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмасида экстракция қилиб, сўнгра ультрафилтрация ёрдамида тозалаш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқариш блок-схемаси.

Олинган экстрактларни М5 мембрана (10 кДа) дан фойдаланиб ультрафилтрация қилиш, эмульсия хосил қилувчи моддалардан асосий маҳсулотни йўқотмасдан туриб тозалаш имконияти яратилди.

Шундай қилиб, ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмаси билан экстракция қилиш, сўнгра ультрафилтрлаш йўли билан тозалаш усулининг асосий қисмлари бўлиб ўсимлик хом ашёсининг сув, минерал ёки органик кислоталар кучсиз эритмаси билан экстракция қилиш, экстрактни майда заррачалардан тозалаш учун олдиндан филтрлаш, молекуляр массаси 10000 ва ундан юқори бўлган юқори молекулали моддаларни ультрафилтрлаш усули билан ажратиш олиш, тозаланган экстрактни муҳити рН 9–12 бўлгунича ишқорлаш, алкалоидларни хлороформ билан экстракция қилиш, хлороформли экстрактни қуюлтириш, алкалоидлар йиғиндисини олиш ва охириги маҳсулотни тозалаш ҳисобланади.

Алкалоидларни ўсимлик хом ашёсидан сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмаси билан экстракция қилиб, сўнгра ультрафилтрация йўли билан тозалаш усули ёрдамида ишлаб чиқариш технологиясини татбиқ этиш учун Институт тажриба ишлаб чиқариш

корхонаси базасида ярим саноат қурилмаси яратилди.

Ушбу технология билан аллапинин, аклезин, аксаритмин, ликорин гидрохлориди, галантамин гидробромиди дори воситалари субстанциялари, аконитин биореактивнинг ярим саноат тоза намуналари ўсимликда сақланишига нисбатан 80–85% унум билан олинди.

Аллапинин [22], аклезин [21], аксаритмин [25] ва аконитин [27] дори воситаларини юқорида кўрсатилган ишлаб чиқариш усуллари Ўзбекистон Республикаси патентлари билан ҳимояланган.

ХУЛОСАЛАР

1. Биринчи марта 11 та алкалоид: лаппаконитин, N-дезацетил-лаппаконитин, гелиотрин, бикукулин, d-β-гидрастин, ликорин, галантамин, аконитин, протопин, донаксин, империалинларни кўп фазали технологик жараёнларини тадқиқот қилишда фойдаланиш учун уларнинг асослик кучлари (pH_{б.м.}) аниқланди ҳамда бикукулин ва d-β-гидрастин кучсиз асослар, лаппаконитин, N-дезацетиллаппаконитин, галантамин, аконитин, протопин, донаксин, империалин ўртача асослик кучига эга бўлган, гелиотрин ва ликорин кучли асослик кучига эга бўлган алкалоидлар эканлиги аниқланди.

2. Илк бор ўрганиб чиқилган алкалоидларнинг кўпчилиги, туз ҳолатида асослик кучидан қатъи назар, сув–спирт системасида яхши эрувчанлиги ҳамда 55% ли (ҳажмда) эритмада энг юқори эрувчанликка эга эканлиги аниқланди. Ўсимлик хом ашёсидан алкалоидларни селектив экстракция қилиб олишда экстрагент сифатида этил спиртининг 75–85% ли эритмасидан фойдаланиш самарали эканлиги тажрибаларда исботланди.

3. Экстрагент сифатида этил спиртининг 75–85% ли эритмасидан фойдаланиб протопин гидрохлориди, ликорин гидрохлориди, галантамин гидробромиди, аллапинин, аклезин, аксаритмин, антиаритмин, гелиотрин, бикукулин, d-β-гидрастин, аконитин, донаксин гидрохлориди, империалин каби дори воситалари ва биореактивлар субстанцияларининг саноат ишлаб чиқариш технологиялари ишлаб чиқилди.

4. Парпи ва шимол парписи ўсимлиги илдизи ва илдизпояларидан аллапинин субстанциясини иқтисодий самарадор ва экологик хавфсиз ишлаб чиқариш технологияси ишлаб чиқилди. Аллапинин субстанциясини ишлаб чиқариш технологик жараёнларидан сульфат кислотаси, хлороформ, метил спиртининг ишлатилишини чиқариб ташлашга эришилди.

5. Аллапинин субстанциясини саноат ишлаб чиқариш чиқиндисидан янги антиаритмик хусусиятга эга бўлган аксаритмин дори воситасини ажратиб олиш технологияси ишлаб чиқилди.

6. Яратилган дори воситалари ва биореактивларга керакли бўлган

меъёрий-техник ҳужжатлар – тажриба саноат ишлаб чиқариш регламентлари ёки саноат ишлаб чиқариш регламентлари, ўсимлик хом ашёсига, субстанцияга ва тайёр дори шаклига фармакопея мақолалари, техник шартлар (биореактивларга) ишлаб чиқилди.

7. Институт тажриба ишлаб чиқариш корхонасида ўсимлик хом ашёсини сув–спирт эритмаси ёрдамида экстракция қилиш усули билан алкалоидларни ишлаб чиқариш технологияси ишлаб чиқаришга татбиқ этилди ва ушбу усул билан 5 та дори воситаларини (протопин гидрохлориди, ликорин гидрохлориди, аллапинин, аклезин, галантамин гидробромиди) ва 6 та биореактивларни (гелиотрин, бикукулин, d-β-гидрастин, аконитин, донаксин ва империалин) серияли равишда ишлаб чиқарилиши йўлга қўйилди. Дори воситалари ва биореактивларни ишлаб чиқариш ҳажми Республика талабларини тўлиқ қондириб, уларни чет элларга (Россия Федерацияси, Франция) экспорт қилиш имконини яратди.

8. Институт тажриба-ишлаб чиқариш корхонаси базасида яратилган алкалоидларни ишлаб чиқариш технологик тизимида аксаритмин, антиаритмин дори воситалари субстанциялари фармакологик, токсикологик, клиник синовлар учун ва уларнинг дори шакллари ишлаб чиқиш учун етарли миқдорда ишлаб чиқарилди.

9. Алкалоидларнинг ўсимлик хом ашёсидан сув, минерал ёки органик кислоталарнинг кучсиз эритмаси билан экстракция қилиш, сўнгра ультрафилтрлаш усули билан ишлаб чиқариш технологияси ишлаб чиқилди. Технология аллапинин, галантамин гидробромиди, ликорин гидрохлориди дори воситалари ва аконитин биореактивини ишлаб чиқарилишида текшириб кўрилди. Ультрафилтрлаш йўли билан молекуляр массаси 10000 дан юқори (оксиллар, пектинлар, полисахаридлар, липидлар ва бошқ.) бўлган юқори молекулали сирт-фаол моддаларни экстрактдан ажратиб олиш мумкинлиги ва бунинг ёрдамида эмульсия ҳосил бўлишини олдини олиш ва керакли маҳсулотни унумини кўпайтириш мумкин эканлигини аниқланди. Юқорида кўрсатилган дори воситаларининг тоза намуналари олинди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ 16.07.2013 К.В.Т.13.01 ПРИ ИНСТИТУТЕ
БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ И НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
УЗБЕКИСТАНА ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК**

ИНСТИТУТ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

САДИКОВ АЛИМДЖАН ЗАИРОВИЧ

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА АЛКАЛОИДОВ ИЗ
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

(на примере алкалоидов дитерпеновых, изохинолиновых, индольных,
пирролизидиновых и стероидных классов)

**02.00.10 – Биоорганическая химия
(технические науки)**

ДОКТОРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ В ВИДЕ НАУЧНОГО ДОКЛАДА

Ташкент – 2015

Тема докторской диссертации в виде научного доклада зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером 30.09.2014/B2014.5.T278

Докторская диссертация в виде научного доклада выполнена в Институте химии растительных веществ.

Диссертация в виде научного доклада на трех языках (узбекский, русский, английский) размещена на веб-странице Научного совета по адресу: <http://ss.biochem.uz> и Информационно-образовательном портале "ZiyoNet" по адресу www.ziyo.net.

Научный консультант: Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович,
доктор технических наук

Официальные оппоненты: Глушенкова Анна Ивановна,
доктор технических наук, академик

Урманова Флюра Фаридовна,
доктор фармацевтических наук, профессор

Сагдуллаев Баходир Тахирович,
доктор технических наук

Ведущая организация: Ташкентский химико-технологический институт

Защита состоится «_____» _____ 2015 г. в _____ часов на заседании Научного совета 16.07.2013.К.В.Т.13.01 при Институте биоорганической химии и Национальном университете Узбекистана. (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел. 262-35-40, факс (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

С докторской диссертацией в виде научного доклада можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (Зарегистрирована под номером _____). (Адрес: г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83).

Диссертация в виде научного доклада разослана «_____» _____ 2015 г.
(протокол рассылки _____ от «_____» _____ 2015 г)

А.С. Тураев,
Председатель Научного совета по присуждению
учёной степени доктора наук, д. х. н, профессор

Б.Н.Бабаев,
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
учёной степени доктора наук, д. х. н.

А.А. Ахунов,
Председатель Научного семинара при Научном совете
по присуждению учёной степени доктора наук,
д. б. н, профессор

Введение

(Аннотация докторской диссертации в виде научного доклада)

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время доля лекарственных средств, получаемых из растительного сырья, составляет более 40% от количества лекарственных средств, используемых в медицинской практике. Основная часть лекарственных препаратов на основе природных соединений создается из биологически активных веществ, выделенных из растительного сырья – алкалоидов, флавоноидов, экидистероидов, белков, гликозидов, эфирных масел, высокомолекулярных углеводов и др. В фармацевтической промышленности основная часть лекарственных средств, получаемых из алкалоидсодержащего растительного сырья, производится по технологии, разработанной на основе изучения физико-химических свойств действующего вещества создаваемого лекарственного средства. Это приводит к некоторому неудобству для производителей субстанции. На фармацевтических заводах технологическая линия, производящая одну субстанцию в течение года, может простаивать некоторое время из-за невозможности переориентации технологической линии для производства другой субстанции. В частности, на Чимкентском химико-фармацевтическом заводе линия по производству глауцина работает 3-4 мес., цитизина 5-6 мес., Ташкентский химико-фармацевтический завод по жидкостно-жидкостной технологии производил субстанцию галантамина гидробромида 3-4 мес., в Институте химии растительных веществ по жидкостно-жидкостной технологии субстанция дезоксипеганина гидрохлорида выпускалась 5-6 мес., в остальное время эти технологические линии простаивали. Естественно, это снижало их производительность, которую можно было повысить при возможном производстве на этой технологической линии другой субстанции. Для этого необходимо было создать унифицированные технологии производства существующих и новых субстанций лекарственных средств.

Еще одной важной проблемой фармацевтической промышленности нашей страны, которую необходимо решить, является создание новых лекарственных препаратов на основе местного растительного сырья, не уступающих импортным, и внедрение их в медицинскую практику. Несмотря на большие достижения фармацевтической промышленности республики, до сих пор предприятия, производящие готовые лекарственные формы препаратов, работают с использованием импортных субстанций и полупродуктов.

Из изложенного выше следует, что актуальной задачей современной фармацевтической промышленности является создание из растительного сырья новых лекарственных средств на основе алкалоидов, разработка технологий производства их субстанций, усовершенствование существующих технологий и унифицирование технологий их производства.

Данная исследовательская работа по разработке технологии производства биологически активных субстанций из растительного сырья направлена на

развитие фармацевтической отрасли республики в соответствии с Постановлениями Кабинета Министров Республики Узбекистан №283 от 14 августа 1996 г. «О мерах по государственной поддержке развития медицинской и фармацевтической промышленности в Республике Узбекистан» и Президента Республики Узбекистан №ПП–731 от 19 ноября 2007 г. «О программе модернизации предприятий фармацевтической отрасли, техническом и технологическом переоснащении до 2011 года».

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Настоящая работа выполнена в соответствии с Постановлением Президента Республики Узбекистан №ПП-1442 от 15.12.2010 г. «О приоритетах развития промышленности Республики Узбекистан». В соответствии с этой программой выполняется инвестиционный проект «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, ... » и приоритетным направлением развития науки и технологий Республики Узбекистан ППИ-11 «Разработка технологий производства новых лекарственных средств на основе местного природного и синтетического сырья».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации. Теоретические и практические исследования, связанные с созданием из растительного сырья лекарственных средств на основе алкалоидов, – выделение алкалоидов из растительного сырья, их химический анализ, изучение фармакологических и токсикологических свойств полученных соединений, создание лекарственных средств на основе соединений высокой биологической активности в соответствии с требованиями фармацевтики и медицины, качественное и количественное их исследование, разработка технологий производства проводятся Государственными университетами Северной Каролины, Орегона (США), фармацевтической компанией INH Shanghai (Канада), университетом Восточного Пьемонта (Италия), фармацевтической компанией «KRKA» (Словения), компанией «Алкалоиды Скопье» (Македония), университетом Адана (Турция), Синьцзянским техническим университетом физики и химии, университетом традиционной китайской медицины, университетом Макао (Китай), Осакинским университетом (Япония) и др.

Некоторые научные центры и компании достигли серьезных результатов в области создания лекарственных средств на основе алкалоидов. Успешно внедрены в медицинскую практику такие лекарственные средства, как противовоспалительный и жаропонижающий гомеопатический препарат «Афлубин» («Medice Arzneimittel Putter GmbH», Германия) и «Сандра» (ЗАО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) на основе алкалоида аконитина, получаемый из клубней борца джунгарского, обезболивающий препарат «Коделмикст», «Седал–М», «Седалгин–НЕО» («Rusan Pharma», «Balkanpharma», Болгария), «Солпадеин» («Boots Healthcare International», Великобритания) на основе

алкалоида кодеина, против спазмов «Bromatropin» («Sopharma», Болгария) на основе алкалоида атропина, успокаивающий и против спазмов «Colutan», «Bellaspone» («Galena», «Lechiva», Чехия), «Tremoforat» («Klein», Германия) на основе алкалоидов растения белладонны, против повышения кровяного давления «Папазол» («Медисорб», Россия) на основе алкалоида папаверина, противомикробный препарат «Sedacollyre» («The Cooper Companies», США) на основе алкалоида берберина, обезболивающие препараты («BOC Sdances», США, «Chemos GmbH», Германия, «Haihang Industry», Китай) на основе алкалоида лаптаконитина, против аллергии «Piladren» («Alcon Pharma GmbH», Германия) на основе алкалоида пилокарпина, против аритмии «Gilyrytma» («Carinopharm GmbH», Германия) на основе алкалоида аймалина, антихолинэстеразный препарат «Anticholium» («DR Franz Konler Chemic GmbH», Германия) на основе алкалоида эзерина, для лечения остаточных явлений инсульта «Nivolina» («Sopharma», Болгария) на основе алкалоида галантамина, способствующий увеличению калия в крови «Kollyr» («Camillo Corvi Farmacia», Италия) на основе алкалоида гидрастина, обезболивающий препарат «Duramorph» («West Ward pharmaceuticals», США) на основе алкалоида морфина, против курения «Lobatox», «Nicoderm» («GlaxoSmithKline», Великобритания, «Alza Corporation», США) на основе алкалоидов лобелина и никотина.

В исследованиях, опубликованных в международных научных изданиях, ранее было актуальным и востребованным разрабатывать отдельные технологии производства на каждую субстанцию лекарственных препаратов на основе алкалоидов, используемых в медицинской практике. В настоящее время ведущие научно-исследовательские центры особое внимание уделяют исследованиям по созданию унифицированных и экономически выгодных технологий производства субстанций и усовершенствованию существующих технологических линий.

Степень изученности проблемы. Французский фармацевт Дерон впервые (1803) из опийного мака выделил смесь алкалоидов, немецкий ученый Сертюрнер (1806) из опийного мака выделил алкалоид морфин и установил в его составе атом азота, описал основные свойства (снотворное, обезболивающее и др.). Позже французские химики Пелетье и Ковенту выделили стрихнин и бруцин из семян чилибухи (1818), из коры хинного дерева выделили алкалоиды хинин и цинхонин (1820). За окончательное установление химической структуры хинина американские ученые-химики Вудворд и Деринг получили Нобелевскую премию (1944). Русский ученый-химик А.А.Воскресенский впервые выделил из бобов какао алкалоид теобромин, определил химическую структуру и его состав.

Большая заслуга в развитии химии и технологии производства алкалоидов принадлежит зарубежным ученым-химикам Emeritus Geoffrey A. Cordell, Robert Francis Raffauff, Tadhg P. Begley (США), Micheal Wink (Германия), Margaret F. Roberts (Англия), Shinji Funayama (Япония), Gui-Qiu Han, Ya-Yan Chen, Jin-Jiun Lu (Китай), D.S. Bhakuni (Индия), Peter R. Cheeke (Канада), Tadeusz Aniszewski

(Финландия) и русским ученым, таким как А.М. Бутлеров, А.Н. Шацкий, А.Е. Чичибабин, А.П. Орехов, Г.П. Меньшиков, Р.А. Коновалова, Н.А. Преображенский, Н.А. Измайлов, В.А. Быков, С.А. Минина.

В Узбекистане академик С.Ю. Юнусов впервые начал научные исследования по изучению алкалоидов совместно с коллегами и учениками (А.С. Садыков, С.И. Искандеров, М.С. Юнусов, Г.П. Сидякин, П.Х. Юлдашев, Х.А. Асланов, Р.Ш. Шакиров, С.Ф. Арипова, А.А. Ибрагимов). Из сотни произрастающих в нашей республике растений ими выделены тысячи алкалоидов и установлена их химическая структура. Следует отметить большую заслугу узбекских ученых М.Б. Султанова, Ф.С. Садриддинова, Н.Т. Туляганова, Х.А. Алиева, Ф.Н. Джахангирова в исследовании и определении антиаритмических, бронхолитических, гепатопротекторных, противовоспалительных, противовирусных и других свойств алкалоидов.

Работы по разработке технологии производства лекарственных препаратов на основе алкалоидов начались в Германии, Франции, Великобритании, США, Китае. В конце XIX века было организовано производство алкалоидов и на территории России. В Москве начал работу завод по производству алкалоидов, позже были созданы Московский химико-фармацевтический научно-исследовательский институт, Харьковский химико-фармацевтический институт, Всесоюзный научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. Построены и начали работу по производству субстанций из растительного сырья, в том числе по производству субстанций лекарственных препаратов на основе алкалоидов, Чимкентский, Батумский, Ташкентский химико-фармацевтические заводы.

Биологическая активность алкалоидов, описанных в данной диссертации разработана группой ученых отдела фармакологии и токсикологии Института химии растительных веществ.

Связь диссертационной работы с планом научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения. Диссертационная работа выполнена в соответствии с проблемно-тематическим планом ИХРВ АН РУз и грантами Государственных научно-технических и инновационных программ: 2.29 “Биоорганическая химия”, тема «Изучение технологических закономерностей процессов получения биологически активных соединений синтетического и растительного происхождения» (№ гос. рег. 0197000561) (1971–1991 гг.); РУз–ГНТП–10 «Создание новых лекарственных препаратов на основе местного сырья синтетического и растительного происхождения и разработка высокоэффективных технологий их производства» (1994–1996 гг.); РУз–ГНТП–15 «Разработка и подготовка к внедрению в медицинскую практику препаратов Аксаритмин, Фланорин и Сухой экстракт алтея» (2003–2005 гг.); РУз–ГНТП. Грант №А–10–131 «Создание и внедрение в медицинскую практику двух экспортоориентированных антиаритмических препаратов нового поколения –N-дезацетиллаптаконитина и неоаллапинина» (2006–2008 гг.); РУз–ИП. Грант №ИДФ–8 «Освоение новой промышленной технологии производства экспортоориентированной субстанции лекарственного препарата

галантамина гидробромида и выпуск 5 кг субстанции» (2007–2008 гг.); РУз-ИП. ФА–ИЗ–Т10 «Внедрение в производство новой экономически выгодной и экологически чистой технологии производства субстанции антиаритмического препарата аллапинина» (2011–2012); РУз-ИП. Грант №И–012–33 «Экспериментально-клиническая разработка плейотропных свойств оригинальных отечественных импортозамещающих препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний» (2012–2013 гг.); РУз-ИП. Грант №ИБ–ФА–0–11621 «Внедрение в медицинскую практику новых импортозамещающих антиаритмических препаратов аксаритмина и антиаритмина» (2013–2014 гг.).

Целью исследования является создание унифицированной технологии производства субстанции лекарственных препаратов и биореактивов на основе (дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых, и стероидных классов) алкалоидов различной силы основности.

Для выполнения поставленной цели решались следующие **задачи исследования**:

изучение силы основности ($pH_{\text{б.р.}}$) 11 алкалоидов – представителей классов дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых и стероидных алкалоидов;

изучение растворимости алкалоидов в смесях спирт–вода разной концентрации;

разработка технологии производства алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья – основы семи лекарственных препаратов и шести биореактивов, таких как протопин гидрохлорида из травы дымянки вайяны, ликорин гидрохлорида из листьев унгернии Северцова, аллапинин и аклезин из надземной части борца белоустого, аллапинин и аксаритмин из корневищ с корнями борца северного и борца белоустого, галантамин гидробромида из листьев унгернии Виктора, антиаритмин из отходов производства аллапинина, гелиотрина из надземной части гелиотропа волосистоплодного, бикукулин, d-β-гидрастин из надземной части хохлатки ложносогнутой, аконитин из клубней борца джунгарского, империалин из надземной части рябчика Эдуарда, донаксин гидрохлорида из листьев камыша;

разработка экономически выгодной и экологически безопасной технологии производства субстанции лекарственного средства аллапинин;

оптимизация процесса экстракции растительного сырья методом математического планирования экспериментов по Боксу–Уилсону;

разработка оптимальных условий очистки сырых экстрактов, процессов получения технических продуктов и методов их очистки;

разработка методов постадийного контроля производства, нормативно-технической документации на сырьё, субстанции и готовые лекарственные формы;

создание пилотной установки на базе Опытного производства Института для производства субстанции препаратов на основе алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья;

разработка нормативно-технических документаций и промышленных

регламентов производства и промышленное освоение технологии получения субстанций лекарственных препаратов и биореактивов.

Объектом исследования является алкалоидоносные растения дымянка вайяны, унгерния Северцова, унгерния Виктора, борец белоустый, борец северный, гелиотроп волосистоплодный, хохлатка ложносогнутая, борец джунгарский, листья камыша, рябчик Эдуарда, а также отходы производства лекарственного препарата аллапинина.

Предмет исследования – дитерпеновые, изохинолиновые, индольные, пирролизидиновые и стероидные алкалоиды.

Методы исследования. При выполнении работы использовались технологические (экстракция в системах твердое тело–жидкость, жидкость–жидкость, процессы осаждения, кристаллизации, сушки, хроматографическое разделение, ультрафильтрация), физико–химические (УФ–, ИК–, ЯМР–спектроскопия) и аналитические (тонкослойная хроматография, неводное титрование, спектрофотометрический, фотоколориметрический, ВЭЖХ) методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем.

Впервые определена сила основности ($pH_{б.р.}$) 11 дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых и стероидных алкалоидов (протопин $pH_{б.р.}=3,6$; ликорин $pH_{б.р.}=7,5$; галантамин $pH_{б.р.}=5,8$; гелиотрин $pH_{б.р.}=7,3$; бикукулин $pH_{б.р.}=3,2$; d-β-гидрастин $pH_{б.р.}=2,2$; аконитин $pH_{б.р.}=3,6$; донаксин $pH_{б.р.}=6,2$; империалин $pH_{б.р.}=4,8$; лаппаконитин $pH_{б.р.}=3,4$; N-дезацетиллаппаконитин $pH_{б.р.}=3,7$) для использования этого показателя при изучении гетерофазных процессов при их производстве;

Впервые установлено, что все 11 изученных алкалоидов в виде солей, независимо от их силы основности, хорошо растворяются в водном растворе спирта при концентрации 75-85% с максимальным растворением их в 55%-ном спирте и обосновано, что этот показатель может служить основой для создания унифицированной технологии производства алкалоидов.

Экспериментально установлено, что независимо от химического строения из растительного сырья можно селективно извлекать алкалоиды 75-85%-ным раствором этилового спирта с наименьшим содержанием других экстрактивных веществ.

Оптимизацией методом математического планирования экспериментов найдены оптимальные условия процесса экстракции растительного сырья.

Впервые, используя в качестве экстрагента 75–85%-ный раствор этилового спирта, разработана унифицированная промышленная технология производства семи лекарственных препаратов и шести биореактивов на основе дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых, стероидных алкалоидов.

Практические результаты исследования заключаются в следующем.

Создана промышленная технология производства субстанции препаратов на основе дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых, стероидных алкалоидов методом водно–спиртовой экстракции растительного

сырья. Впервые установлено, что независимо от силы основности алкалоидов их можно экстрагировать из сырья 75-85%-ным раствором этилового спирта. Установлено, что при этой концентрации этилового спирта алкалоиды извлекаются селективно и с наименьшим количеством побочных экстрактивных веществ.

На базе Опытного производства Института создана технологическая линия для промышленного производства алкалоидов по разработанной технологии.

В результате внедрения усовершенствованной технологии производства лекарственного средства аллапинина исключены из технологических циклов такие токсические вещества, как серная кислота, метанол и хлороформ. В результате ощутимо снизилась себестоимость продукта.

На созданные лекарственные препараты и биореактивы разработаны соответствующие фармакопейные или временные фармакопейные статьи, опытно-промышленные или промышленные регламенты, получены регистрационные удостоверения, запатентованы способы их производства.

Достоверность полученных результатов. При утверждении нормативно-технических документаций уполномоченными Государственными органами современные технологические (экстракция твердое тело–жидкость, жидкостно–жидкостная экстракция, осаждение, кристаллизация, сушка), аналитические (УФ–, ИК–, ЯМР– спектроскопия, спектроскопия, тонкослойная хроматография, безводное титрование, фотоколориметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография) прошли апробацию методы при производстве новых лекарственных препаратов и биореактивов способом унифицированной технологии.

Научная и практическая значимость результатов исследования. В результате проведенных исследований создана унифицированная установка по производству дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых и стероидных алкалоидов методом экстракции растительного сырья раствором этилового спирта. Созданы условия для производства алкалоидов перечисленных классов с введением незначительных изменений в данную установку.

Разработана технология получения субстанции нового лекарственного препарата антиаритмина из отходов промышленного производства субстанции лекарственного препарата аллапинина.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов при разработке унифицированной технологии производства алкалоидов из растительного сырья утверждена уполномоченными органами Министерства здравоохранения Республики Узбекистан вся нормативно-техническая документация для производства лекарственных препаратов «Аллапинин», «Протопина гидрохлорид», «Аксаритмин», «Галантамина гидробромид», «Аклезин» (регистрационные удостоверения 00/523/3 от 22.11.2010; 004–01 от 22.03.2001; 0008/01/15 от 30.01.2015; 04/415/6 от 19.01.2015) и Министерством здравоохранения Российской Федерации («Аллапинин», «Галантамин гидробромид», «Аклезин») (П № 014369/01 от

27.12.2011; ФС–000243 от 22.11.2011).

Агентством «Узстандарт» включен (112/001641 от 24.06.2014) в Государственный реестр биореактив «Аконитин» (чистый) (Ts 035–3440–017:2014).

На основании лицензионного контракта (№90295 от 22.06.2000, ОАО «Фармцентр ВИЛАР», Российская Федерация) за 2011-2014 гг. произведено 1369 кг (6,4 млн. долл. США) субстанции лекарственного препарата аллапинина.

На основании лицензионного контракта (№1/08 от 09.08.2012 г., ЗАО «ВИФИТЕХ», Российская Федерация) за 2011-2014 гг. произведено 3 кг (54,0 тыс. долл. США) субстанции лекарственного препарата галантамина гидробромида и доставлено заказчику.

На основании контракта (№4-L/01 от 27.04.2011 г. фирме «LATOXAN», Франция) за 2011-2014 гг. 1389 г (90,4 тыс. евро) экспортирован биореактив аконитин.

Апробация результатов исследования. Результаты диссертационной работы доложены на республиканских и международных форумах: «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 1993), «International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Bukhara, 1994; Eskishehir, Turkey, 1996, 2001, 2009; Ankara, Turkey, 2005; Tashkent, 2003, 2007; Urumchi, China, 2011), «Создание лекарственных ресурсов, лечебно-профилактических средств и использование в медицинской практике» (Самарканд, 1996, 2000), «Medicinal Raw Material and Phytopreparations for Medicine and Agriculture» (Karaganda, 1999), «Интеграция образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2002), «1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients» (Urumqi, China, 2008), «Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины» (Караганда, 2008) и др.

Указом Президента Республики Узбекистан (23 августа 2007 г.) часть диссертационной работы, посвященная «Разработке и созданию нового отечественного лекарственного препарата противоаритмического действия «Аллапинин», внедрению в клиническую практику и организацию его массового производства» удостоена Государственной премии I степени Республики Узбекистан в области науки и техники.

Опубликованность результатов исследования. На основе главных научных результатов диссертации опубликовано 10 научных статей и 36 тезисов докладов, получено 21 патента и авторских свидетельства Республики Узбекистан и Российской Федерации, разработано 14 фармакопейных статей, 9 промышленных регламентов и утверждено в уполномоченных органах.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа в виде научного доклада состоит из четырех разделов, заключения, списка из 90 опубликованных научных работ. Материал работы изложен на 136 страницах, основной текст на трех языках (узбекский, русский, английский) на 129 страницах включает 1 таблицу и 13 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

1-й раздел. Основные критерии разработки унифицированной технологии производства дитерпеновых, изохинолиновых, индольных, пирролизидиновых и стероидных алкалоидов из растительного сырья

1.1. Современное состояние промышленных способов производства алкалоидов из растительного сырья

В растительных тканях алкалоиды содержатся в виде солей чаще органических (щавелевой, яблочной, уксусной, янтарной и др.), реже минеральных (серной, фосфорной, роданистоводородной) кислот. Соли алкалоидов обычно хорошо растворимы в воде, хуже в спирте и не растворимы в таких органических растворителях, как хлороформ, дихлорэтан и др.

Из растений алкалоиды можно выделить экстракцией в виде солей или в виде оснований. В большинстве случаев процесс получения алкалоидов из растительного сырья подразделяют на три основных стадии: извлечение алкалоидов из растительного сырья; очистку полученных извлечений от балластных веществ; разделение и очистку суммы алкалоидов.

Способы извлечения алкалоидов подразделяются на три группы: экстракционные, ионообменные и электрохимические (электродиализ). Из них наиболее часто применяются экстракционные способы, основанные на процессе многократной жидкостно–жидкостной экстракции алкалоидов различными растворителями. Во всех случаях вместе с алкалоидами в извлечение переходят сопутствующие вещества (сапонины, смолы, липиды, флавоноиды и др.), что требует дальнейшей очистки целевого продукта.

Для разработки рациональной технологии промышленного производства алкалоидов из растительного сырья основным и решающим фактором является подбор селективного, экономически выгодного экстрагента, способствующего максимальному извлечению целевого алкалоида. Для подбора селективного экстрагента предварительно изучают растворимость выделяемого алкалоида в различных органических растворителях и их смесях, воде, растворах минеральных и органических кислот при разных температурных режимах. В зависимости от полученных результатов производят подбор растворителя или смеси растворителей в качестве экстрагента.

Исследуя силу основности некоторых алкалоидов и их растворимость, акад. Х.Н. Арипов установил зависимость растворимости алкалоида в разных растворителях от силы его основности и предложил нижеследующую классификацию алкалоидов.

Сильноосновные алкалоиды ($pH_{б.р.} \geq 9$) хорошо растворяются в воде, водных растворах минеральных и органических кислот, спиртах и, следовательно, хорошо извлекаются из растительного сырья перечисленными растворителями, но плохо растворяются в органических растворителях. Такие алкалоиды хорошо сорбируются на сорбентах, но плохо десорбируются. Из хлороформного раствора они хорошо извлекаются водой или растворами кислот с $pH < 8$.

Среднеосновные алкалоиды ($1,5 \leq \text{pH}_{\text{б.р.}} \leq 9$) хорошо растворяются в органических растворителях и в водных растворах различных минеральных и органических кислот, хорошо экстрагируются из растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных и органических кислот, легко извлекаются из хлороформа в буферный раствор, а из водного или кислого раствора после подщелачивания хорошо экстрагируются органическими растворителями. Среднеосновные алкалоиды хорошо сорбируются на ионообменных сорбентах и десорбируются.

Слабоосновные алкалоиды ($\text{pH}_{\text{б.р.}} \leq 1,5$) хорошо растворяются в органических растворителях, плохо в водных растворах различных минеральных и органических кислот. Из растительного сырья слабоосновные алкалоиды легко экстрагируются органическими растворителями только после предварительного его смачивания щелочными агентами. Некоторые слабые основания хорошо экстрагируются и без подщелачивания. Слабоосновные алкалоиды плохо или совсем не извлекаются из хлороформа буферными растворами и даже 5-10 %-ными растворами минеральных или органических кислот. Они очень трудно сорбируются на сорбентах но очень хорошо с них десорбируются. Таким образом, для разработки рациональной технологии выделения того или иного алкалоида необходимо предварительно изучить силу основности целевых алкалоидов и в соответствии с классификацией способов получения выбрать экстрагент и отработать технологию по стадиям производства.

По классификации способов получения алкалоидов из растительного сырья акад. Х.Н. Арипова рекомендуется выделять слабоосновные алкалоиды горячей водой или органическими растворителями, сильноосновные алкалоиды – экстракцией растительного сырья спиртом или водными растворами кислот. Однако некоторые алкалоиды, нестойкие к воздействию сильных щелочей, кислот, света, температуры и т.д., при выделении их из растительного сырья не подчиняются закономерностям, вытекающим из технологической классификации акад. Х.Н. Арипова. Поэтому при разработке технологии производства алкалоидов, кроме силы основности, нужно учитывать также их физико-химические свойства и структурные особенности.

Следовательно, для разработки рациональной технологии получения алкалоидов необходимо изучить основность алкалоидов, присутствующих в сырье, их свойства, химическое строение, выбрать принципиальную схему производства применительно к конкретному растению и подобрать оптимальные условия для каждой стадии технологического процесса.

1.2. Технология производства субстанции препаратов на основе алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья

Бурное развитие биоорганической химии, увеличение арсенала лекарственных препаратов и биореактивов алкалоидной природы ставят перед исследователями новые задачи по совершенствованию известных и разработке новых унифицированных схем их производства.

Алкалоиды в растительном сырье находятся, как правило, в небольших

количествах, в пределах 0,1-1,0%, хотя известны растения, в тканях которых содержание алкалоидов может достигать 5-10% от массы воздушно-сухого сырья. Ареалы распространения многих алкалоидоносных растений ограничены и не позволяют заготавливать сырье в больших объемах. В связи с этим объемы производства лекарственных препаратов на основе алкалоидов невелики, и алкалоиды производятся в пределах от нескольких килограммов до 100-500 кг. В исключительных случаях, если сырьевая база удовлетворяет, объем производства доходит до нескольких тонн в год.

Если также учесть, что каждый алкалоид выделяется по своей оригинальной технологии, то многие цеха на фармацевтических заводах из-за невозможности переориентации технологической линии с производства одного алкалоида на другой простаивают или работают не в полную силу. В качестве примера можно привести существующие технологические линии по производству субстанций глауцина (Чимкентский ХФЗ, работает 3–4 мес./год), галантамина гидробромида (жидкостно-жидкостная технология, Ташкентский ХФЗ, 3 мес./год), дезоксипеганина гидрохлорида (жидкостно-жидкостная технология, ОП ИХРВ АН РУз, 5–6 мес./год), цитизина (ионообменная технология, Чимкентский ХФЗ, 6 мес./год) и др. В остальное время линии по производству этих препаратов простаивают.

В результате изучения силы основности 11 алкалоидов мы установили, что гелиотрин имеет $pH_{б.р.} = 7,3$; d-β-гидрастин – $pH_{б.р.} = 2,2$; бикукуллин – $pH_{б.р.} = 3,2$; ликорин – $pH_{б.р.} = 7,5$; империалин – $pH_{б.р.} = 4,8$; протопин – $pH_{б.р.} = 3,6$; лаптаконитин – $pH_{б.р.} = 3,4$; донаксин – $pH_{б.р.} = 6,2$; галантамин – $pH_{б.р.} = 5,8$; N-дезацетиллаптаконитин – $pH_{б.р.} = 3,7$; аконитин – $pH_{б.р.} = 3,6$ (рис. 1).

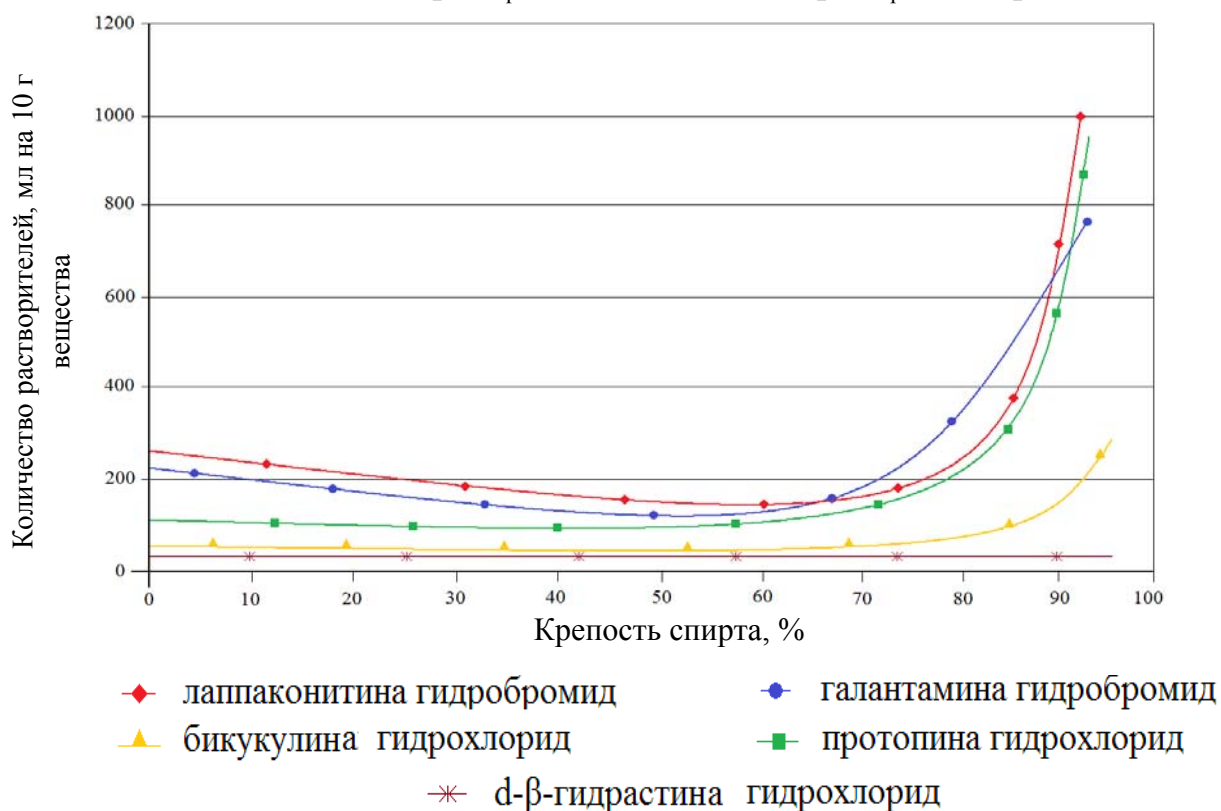


Рис. 1. Растворимость некоторых алкалоидов в смеси спирт-вода

Наши исследования растворимости различных солей ряда биологически активных алкалоидов, в том числе 11 перечисленных выше соединений, в системе спирт–вода показали, что подавляющее большинство алкалоидов независимо от силы основности хорошо растворяется в растворах этилового спирта. Растворимость алкалоидов определяли при температуре кипения смеси спирт–вода.

Как видно из рис. 1, максимальная растворимость указанных выше алкалоидов наблюдается при объемной крепости спирта 55 %.

При экстракции растительного сырья 55 %-ным этиловым спиртом кроме алкалоидов экстрагируется также большое количество экстрактивных веществ. Соотношение выходов целевого продукта и экстрактивных веществ, динамика экстрагирования комплекса веществ из растительного сырья в зависимости от концентрации спирта показаны на рис. 2 и 3 на примере экстракции галантамина и сопутствующих веществ из листьев унгернии Виктора.

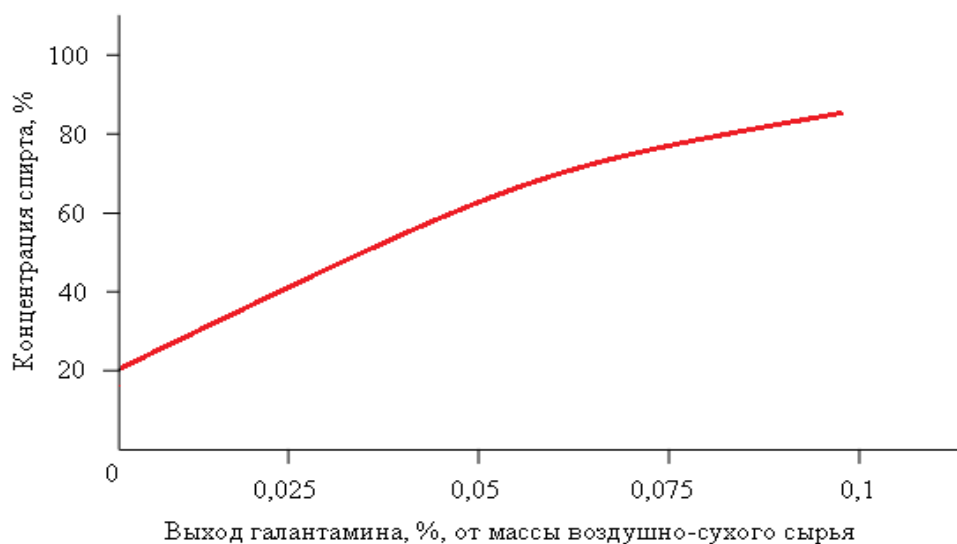


Рис. 2. Изменение выхода галантамина в зависимости от концентрации спирта

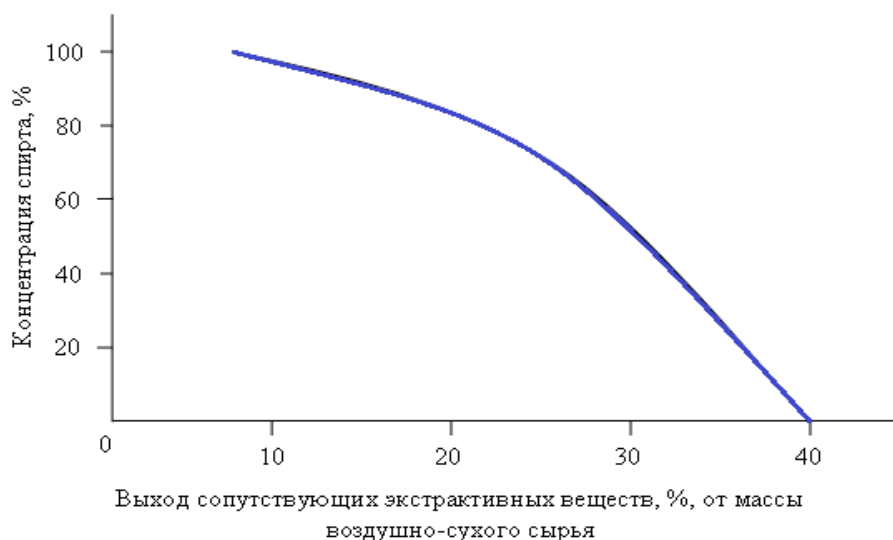


Рис. 3. Изменение выхода сопутствующих экстрактивных веществ в зависимости от концентрации спирта

Из рис. 2 видно, что при экстракции сырья спиртом крепостью ниже 20% выход галантамина очень низкий. Это объясняется тем фактом, что при извлечении алкалоидов из щелочного кубового раствора органическим растворителем (хлороформом) образуется стойкая эмульсия, которая практически не разделяется. Оптимальной концентрацией этилового спирта является его крепость 75-85%: в этом случае экстрагируется максимальное количество алкалоидов с минимальным количеством сопутствующих экстрактивных веществ. Аналогичные данные получены и для других перечисленных выше алкалоидов.

Таким образом, наши исследования показали, что смесь спирт–вода в качестве экстрагента позволяет извлекать из различных алкалоидоносных растений алкалоиды различной силы основности. Полученные данные позволили нам унифицировать способ экстракции алкалоидов из растительного сырья и его очистки.

Приводим основные стадии производства алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья:

1. экстракция суммы алкалоидов из измельченного растительного сырья раствором этилового спирта крепостью 75-85%;
2. упаривание экстракта до водно-кубового остатка;
3. получение технического продукта и его очистка в зависимости от силы основности и физико-химических свойств выделяемого алкалоида.

Таким образом, блок-схема ключевой стадии технологии производства алкалоидов из растительного сырья методом водно-спиртовой экстракции выглядит следующим образом:



Разработанный водно-спиртовой способ экстракции алкалоидов из растительного сырья с последующим получением основного вещества позволяет в промышленных условиях на одной технологической линии с небольшой модификацией производить несколько алкалоидов различной силы основности. Используя результаты исследований, нами на базе ОП ИХРВ АН РУз создана промышленная линия по производству алкалоидов из растительного сырья методом водно-спиртовой экстракции.

Ниже приведены результаты наших исследований по разработке и внедрению технологии производства алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья, являющихся основой семи лекарственных препаратов и шести биореактивов.

2-й раздел. Унифицированная технология производства субстанций лекарственных препаратов протопина гидрохлорида, ликорина гидрохлорида, галантамина гидробромида, аллапинина, аклезина, аксаритмина, антиаритмина

2.1. Технология производства субстанции препарата протопина гидрохлорида из травы дымянки вайяны [19, 32, 45, 46, 63]

10 кг измельченного до размера частиц 5-10 мм травы дымянки вайяны шестикратно экстрагируют методом настаивания с 80%-ным этиловым спиртом. На первую экстракцию подают 40 л экстрагента и настаивают в течение 12 часов, после чего сливают 16 л экстракта. Вторую экстракцию проводят заливая 16 л экстрагента и после настаивания в течение 9 часов сливают 16 л экстракта. Далее проводят 3-, 4-, 5- и 6-е извлечение алкалоидов с настаиванием в течение соответственно 8, 6, 4, 3 часов. Экстракты объединяют и сгущают до водного остатка, составляющего 10% (9,6 л) от первоначального объема экстракта. Водный остаток фильтруют, подщелачивают до pH 9-10 раствором карбоната натрия и алкалоиды извлекают хлороформом 4 раза по 6 л. Из хлороформного извлечения алкалоиды экстрагируют 5 раз по 1 л 10%-ного раствора серной кислоты. Кислые извлечения объединяют и промывают хлороформом 2 раза по 2 л. Затем сернокислотный экстракт подщелачивают до pH 9-10, алкалоиды извлекают 3 раза по 3 л хлороформом и объединенные хлороформные извлечения упаривают досуха. Обработкой метанолом из сухого остатка выделяют технический протопин, который далее обрабатывают рассчитанным количеством 5%-ного раствора соляной кислоты и отделяют выпавший осадок протопина гидрохлорида. Протопина гидрохлорид перекристаллизовывают из дистиллированной воды в соотношении 1:8, получают 16,2 г протопина гидрохлорида, или 0,16% от воздушно-сухой массы сырья. Выход конечного продукта 76% от содержания в сырье (рис. 4).

Разработан пакет необходимой НТД (временные фармакопейные статьи на растительное сырье, субстанцию, лекарственную форму, опытно-промышленные регламенты на производство субстанции и лекарственной формы, инструкция по применению препарата и др.) для внедрения препарата в медицинскую практику [32, 45, 46].

Показания к применению. Препарат протопина гидрохлорид применяется в медицинской практике в качестве желчестимулирующего и гепатозащитного средства.

Структурная формула протопина гидрохлорида:

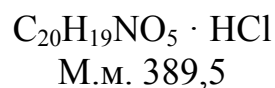
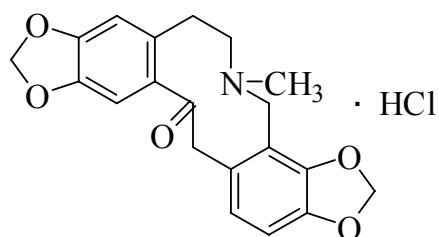




Рис.4. Блок-схема производства субстанции препарата протопина гидрохлорида из травы дьянки вайяны

2.2. Технология производства субстанции ликорина гидрохлорида из листьев унгернии Северцова [6, 13, 30, 36, 67, 69]

100 кг листьев унгернии Северцова после измельчения до размера частиц 10–20 мм загружают в экстрактор, заливают 300 л 80%-ного этилового спирта (соотношение 1:3) и настаивают 10 часов, затем сливают. Полученные 160 л экстракта сгущают. Второй раз заливают 160 л 80%-ного спирта. Аналогично проводят еще четыре извлечения способом настаивания соответственно 7, 5, 3 и 3 часа. Экстракты объединяют, сгущают до водного остатка (9–10% от первоначального объема).

Структурная формула ликорина гидрохлорида:

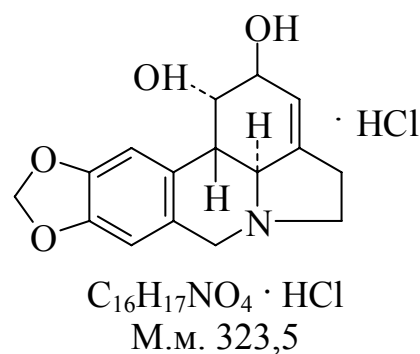




Рис.5. Блок-схема производства ликорина гидрохлорида из листьев унгернии Северцова

Получают около 96 л экстракта, который фильтруют, добавляют 50 л хлороформа и подщелачивают аммиаком до pH 9-10 (рис. 5).

Из щелочного раствора алкалоиды 4-5 раз извлекают хлороформом по 50 л. К объединенным хлороформным экстрактам добавляют 50 л 10%-ного раствора серной кислоты и хлороформ упаривают. Сернокислый экстракт алкалоидов 2 раза промывают хлороформом по 30 л.

В очищенный сернокислый раствор алкалоидов добавляют 500 г (1%) активированного угля и смесь при перемешивании нагревают до 85-100°C в течение 15-20 мин. Затем раствор фильтруют, охлаждают и осаждают технический ликорин в виде основания 25%-ным раствором аммиака при pH 9-10. Выпавший в осадок технический ликорин отфильтровывают и сушат, получают 250 г технического ликорина.

Для получения фармакопейного ликорина гидрохлорида технический продукт (250 г) обрабатывают 5%-ным раствором соляной кислоты до pH 1,0-

1,5. Технический ликорина гидрохлорид перекристаллизовывают из дистиллированной воды и получают 180 г ликорина гидрохлорида, удовлетворяющего требованиям ФС-Уз-1349-79. Выход целевого продукта 73-75% от его содержания в сырье. Данная технология производства ликорина гидрохлорида отработана на полузаводской установке Института. Составлен опытно-промышленный регламент, который внедрен на ОП ИХРВ в 1984 г., организовано серийное производство ликорина гидрохлорида.

Показания к применению. Ликорина гидрохлорид применяется в медицинской практике в виде таблеток по 0,002 г в качестве отхаркивающего средства, а также при острой форме бронхита и бронхиальной астмы.

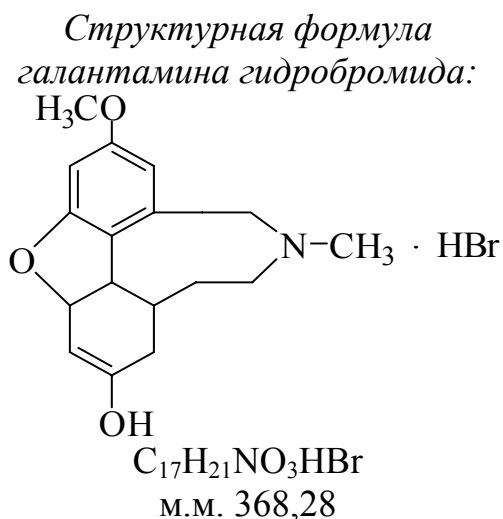
Способ производства препарата ликорина гидрохлорида защищен авторским свидетельством [30] и патентом РУз [13].

2.3. Технология производства субстанции галантамина гидробромида из листьев унгернии Виктора [23, 39, 51, 52, 73, 77]

Измельченные до размера частиц 10-20 мм 80 кг листьев унгернии Виктора загружают в экстрактор, заливают 140 л шестого водно-спиртового экстракта от предыдущей загрузки и 160 л 80%-ного раствора этилового спирта (соотношение 1:3,7), оставляют настаиваться 10 часов, затем сливают 140 л экстрагента. Аналогично проводят второе-шестое извлечения. Полученные из пяти извлечений экстракты алкалоидов объединяют, сгущают в вакуум-выпарной установке до остатка 8,0-11% от первоначального объема, получают около 70 л сгущенного водного экстракта. Последний фильтруют или декантируют от смолистых веществ, подщелачивают 25%-ным раствором аммиака до pH 8-10 и алкалоиды извлекают хлороформом четырехкратно по 20 л. Хлороформные извлечения объединяют и алкалоиды извлекают 5%-ным раствором серной кислоты пятикратно по 10 л. Для удаления примесей неосновного характера кислый раствор алкалоидов 2 раза промывают хлороформом по 15 л (рис. 6).

Очищенный сернокислый раствор алкалоидов (45 л) подщелачивают 25%-ным раствором аммиака до pH 8-10 и алкалоиды извлекают четырехкратно хлороформом по 20 л. Полученный объединенный хлороформный раствор алкалоидов обезвоживают безводным сульфатом натрия и упаривают. Выход 115 г суммы алкалоидов, или 0,145% от массы воздушно-сухого сырья.

Сумму алкалоидов (115 г) растворяют в 0,230 л ацетона и при охлаждении до температуры 5-10°C и перемешивании добавляют концентрированную бромистоводородную кислоту (до pH 1). Выпавший в осадок технический



галантамина гидробромид отделяют, промывают ацетоном, сушат и получают 40,9 г технического продукта.

Технический галантамина гидробромид в количестве 40,9 г перекристаллизовывают из 55%-ного раствора этилового спирта (в соотношении 1:10) и получают 38,4 г галантамина гидробромида с содержанием основного продукта 98-102%. Выход галантамина гидробромида-фабриката составляет 80% от содержания в растительном сырье.

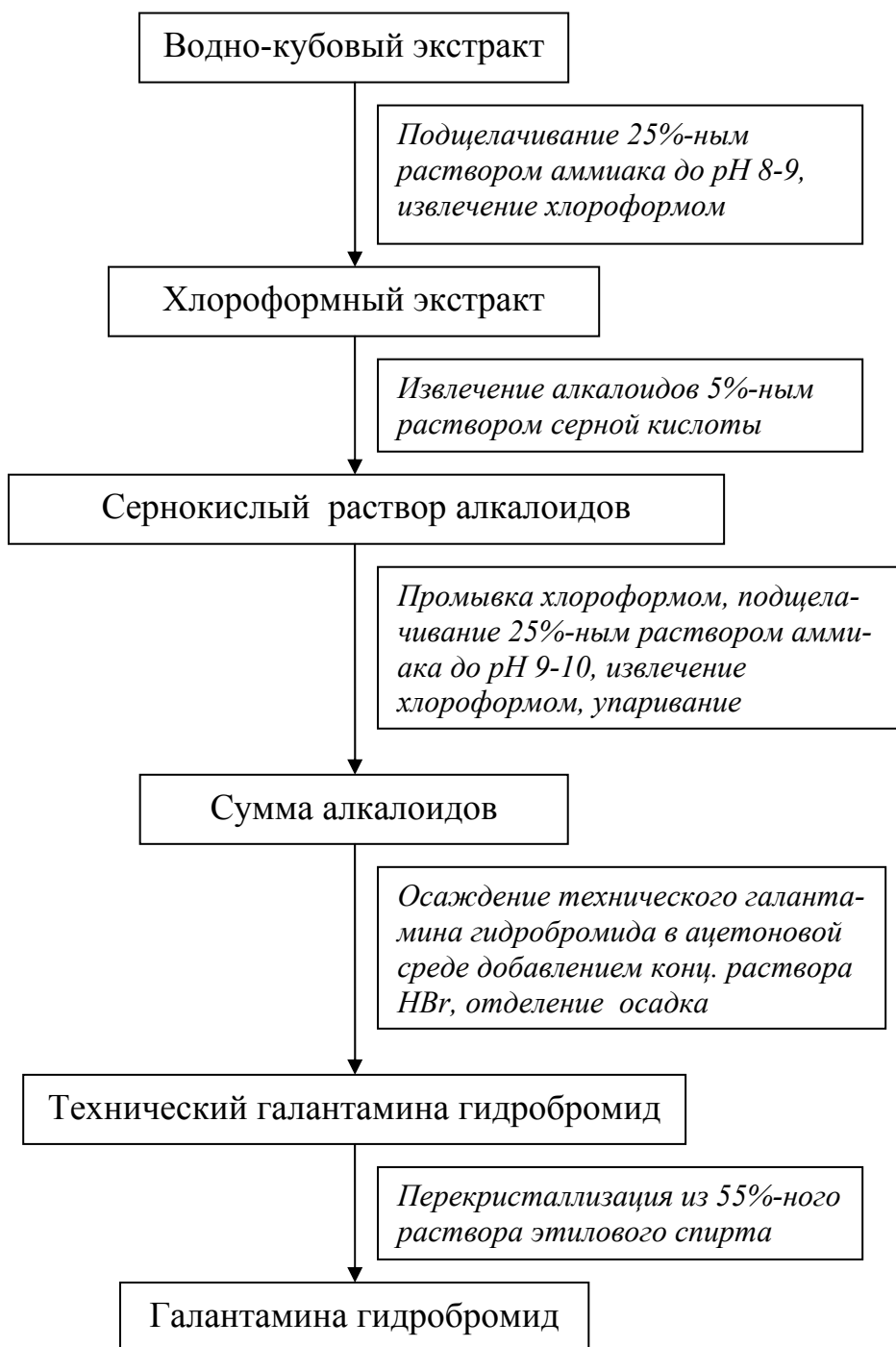


Рис. 6. Блок-схема производства субстанции галантамина гидробромида из листьев унгернии Виктора

Технология производства галантамина гидробромида из листьев унгергии Виктора отработана на базе ОП Института. Разработан промышленный регламент производства, который внедрен на ОП ИХРВ АН РУз в 2005 г., налажен серийный выпуск препарата.

Для осуществления экспорта субстанции галантамина гидробромида проведена большая работа, препарат зарегистрирован на территории Российской Федерации. Имеется договор с НПО «ВИФИТЕХ» (г. Москва, РФ), в соответствии с которым после регистрации НПО «ВИФИТЕХ» будет производить готовую лекарственную форму галантамина гидробромида для нужд Российского фармацевтического рынка из субстанции нашего производства. В настоящее время осуществлен экспорт первой партии субстанции галантамина гидробромида (2 кг).

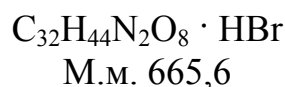
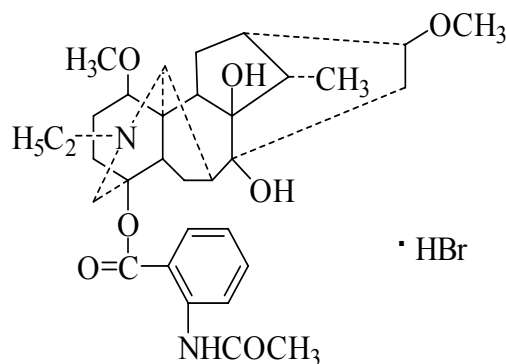
Способ производства препарата галантамина гидробромида защищен патентом РУз [23].

Показания к применению. Галантамина гидробромид в виде раствора (ампулы 1 мл – 1%) и таблеток по 0,01, 0,02 г в медицинской практике применяется при миастении, прогрессивной мышечной дистрофии, двигательных и чувствительных нарушениях, связанных с невритами, полиневритами, радикулитами, радикулоневритами, при остаточных явлениях после нарушения мозгового кровообращения, психогенной импотенции и другой патологии.

2.4. Технология производства субстанции аллапинина из надземной части и корневищ с корнями борца белоустого и борца северного [2–4, 14, 15, 24, 29, 38, 40, 43, 44]

Многолетние травянистые растения из семейства лютиковых борец белоустый и борец северный (по габитусу и химическому составу мало отличающиеся растения) – виды с широким ареалом произрастания, охватывающим территорию лесных и лесотундровых районов Западной и Восточной Сибири, лесных районов Средней Азии, Китая, Японии, Канады и др. (Флора СССР. М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1937, с.190-236; Тахтаджян А.Л. Система и филогения цветковых растений. М.-Л.: Издательство «Наука», 1966, 611 с.) По данным ботаников Всероссийского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), ежегодно возможна заготовка

Структурная формула бромистоводородной соли алкалоида лаппаконитина–основного действующего начала аллапинина:



сотен тонн надземной части и воздушно-сухих корневищ с корнями борца северного и борца белоустого без ущерба для их природных запасов. Содержание лаппаконитина в надземной части борца белоустого достигает 0,8-1,0% от массы воздушно-сухого сырья в зависимости от почвенно-климатических условий и места произрастания. В соответствии с разработанной технологией (рис. 7) воздушно-сухое сырье – надземную часть борца белоустого – измельчают на мельнице (1), экстрагируют 80%-ным этиловым спиртом (2), сгущают (5), получают водный кубовой остаток экстракта (6). Отделяют фильтрованием или декантированием всплывающий на поверхность белково-липидный комплекс и подщелачивают насыщенным раствором кальцинированной соды до рН 10–11, алкалоиды экстрагируют хлороформом (7). Полученный хлороформный экстракт загружают в реактор (8) и алкалоиды исчерпывающе извлекают 5%-ным раствором серной кислоты. Для удаления примесей неалкалоидного характера кислый раствор алкалоидов два раза промывают хлороформом. К очищенному кислому раствору добавляют хлороформ и подщелачивают насыщенным раствором кальцинированной соды до рН 10–11. Алкалоиды извлекают хлороформом (9) до отрицательной реакции на алкалоиды с раствором кремневольфрамовой кислоты. Хлороформное извлечение упаривают досуха (10) и получают сумму алкалоидов до 0,8–1,0% от воздушно-сухой массы сырья.

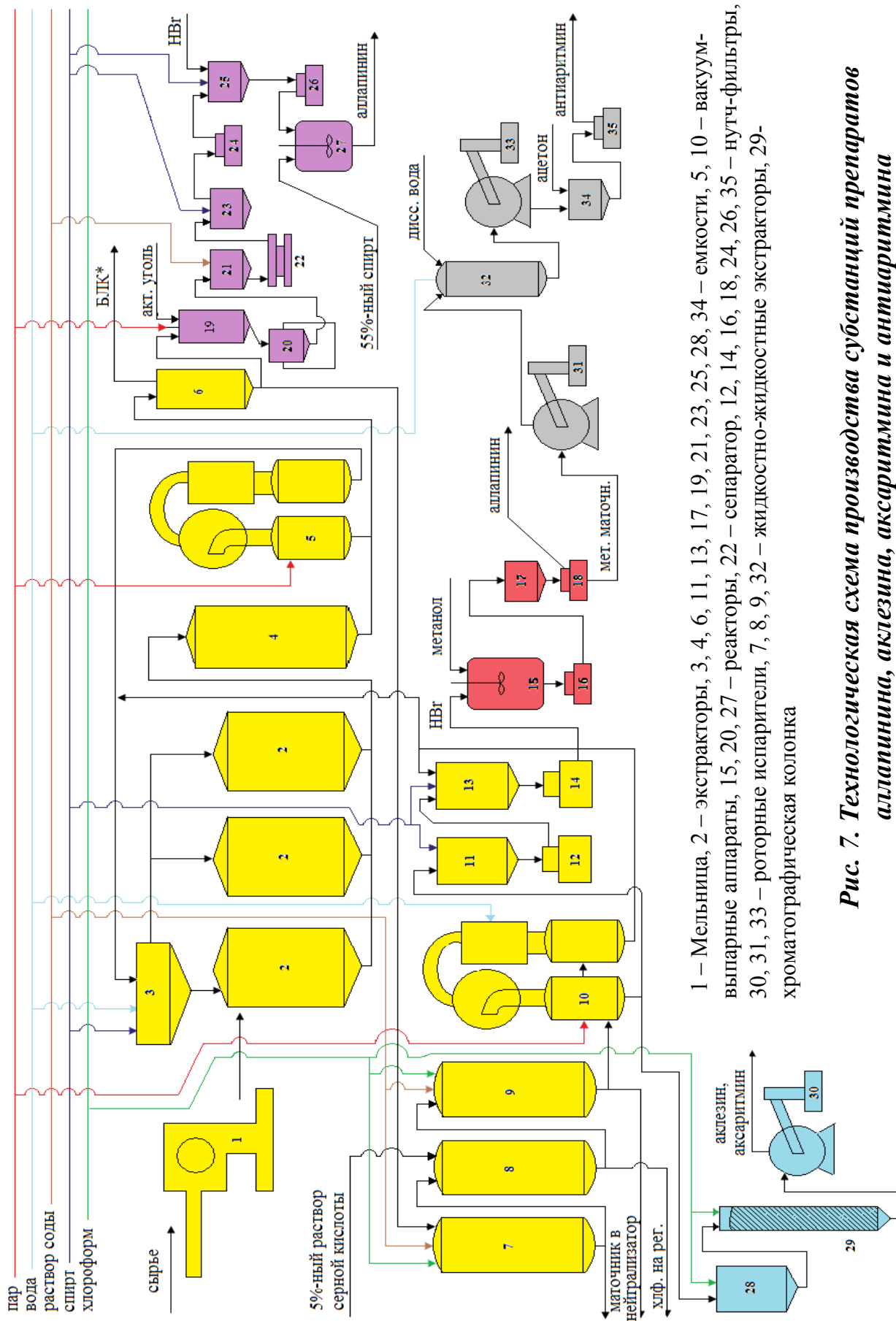
Высушенную сумму алкалоидов обрабатывают спиртом (11), отделяют выпавший в осадок лаппаконитин с примесями сопутствующих алкалоидов (12), который промывают спиртом, высушивают и получают технический лаппаконитин с примесями сопутствующих алкалоидов.

Бромистоводородную соль лаппаконитина с примесями сопутствующих алкалоидов (субстанция аллапинина) получают в спиртовой среде, добавляя к этому раствору спиртовой раствор бромистоводородной кислоты (5%) до рН 1 (13). Полученный технический продукт отделяют (14), перекристаллизуют из метанола (17), получают субстанцию аллапинина с выходом 72% от содержания в растительном сырье. В соответствии с разработанной технологией на базе ОП ИХРВ смонтирована пилотная установка, на которой наработано количество препарата, достаточное для обеспечения фармакологических, токсикологических и клинических испытаний препарата.

Разработаны Фармакопейные статьи на растительное сырье, субстанцию и лекарственные формы препарата [38, 40, 44, 47-50]. Разработан промышленный регламент на его производство, проведены пуско-наладочные работы, и с 1986 г. субстанция препарата аллапинин серийно выпускается на ОП ИХРВ.

Получено авторское свидетельство на разработанный способ [29].

Наши исследования показали, что содержание лаппаконитина в корневищах с корнями борца белоустого и борца северного достигает 2% и более от массы воздушно-сухого сырья в зависимости от почвенно-климатических условий и места произрастания. Изучение технологии получения субстанции аллапинина из корневищ с корнями борца белоустого и борца северного показало, что разработанная промышленная технология получения субстанции аллапинина из надземной части травы борца белоустого



1 – Мельница, 2 – экстракторы, 3, 4, 6, 11, 13, 17, 19, 21, 23, 25, 28, 34 – емкости, 5, 10 – вакуум-выпарные аппараты, 15, 20, 27 – реакторы, 22 – сепаратор, 12, 14, 16, 18, 24, 26, 35 – нутч-фильтры, 30, 31, 33 – роторные испарители, 7, 8, 9, 32 – жидкостно-жидкостные экстракторы, 29-хроматографическая колонка

Рис. 7. Технологическая схема производства субстанций препаратов аллапинина, аклезина, аксаритмина и антиаритмина

может с небольшими изменениями успешно применяться для производства аллапинина из корневища с корнями. Способ получения препарата из нового сырья защищен патентами РУз и РФ [14, 15, 22].

В настоящее время ОП ИХРВ серийно производит субстанцию аллапинина из корневищ с корнями борца белоустого с выходом основного продукта 72% от содержания в сырье. Объем производства субстанции аллапинина в 2013-2014 годах составил более 1000 кг.

2.5. Разработка экономически выгодной и экологически безопасной технологии производства субстанции аллапинина из корневищ с корнями борца северного и борца белоустого [25]

Для обеспечения населения нашей страны препаратом аллапинином, а также экономически выгодных экспортных поставок субстанции препарата и дальнейшего увеличения объемов его производства появилась необходимость в модернизации технологии производства субстанции аллапинина, приближенной к международным требованиям. В настоящее время в производстве субстанции аллапинина в больших количествах используются такие органические растворители, как хлороформ, метанол, серная кислота. Нам удалось разработать новую экономически выгодную технологию производства субстанции аллапинина, в соответствии с которой из технологических циклов полностью исключены вредные для организма легко летучие растворители хлороформ, метанол, а также серная кислота.

По этому способу (рис. 7) измельченное растительное сырье, как описано выше, экстрагируют 80%-ным этиловым спиртом (2) и получают водный кубовой остаток (6). Остаток декантируют от смолистых веществ, кипятят (19) в присутствии 0,5% (от массы остатка) нейтрального активированного угля марки "А" в течение 10-15 мин и фильтруют (20). Очищенный водный экстракт (21) алкалоидов подщелачивают насыщенным раствором кальцинированной соды до рН 10-12 и оставляют на сутки. Выпавшие в осадок алкалоиды отделяют методом фильтрации через фильтровальную бумагу или сепарированием (22). Осадок обрабатывают этиловым спиртом (23) в соотношении 1:3 – 1:5, при этом выпадает в осадок основание лаппаконитина с примесью сопутствующих алкалоидов. Затем осадок отделяют (24), промывают спиртом, высушивают. Сухой остаток в спиртовой среде обрабатывают 5%-ным раствором бромистоводородной кислоты (25), через сутки отделяют выпавшие в осадок гидробромиды лаппаконитина и сопутствующих алкалоидов (аллапинин) (26). Технический аллапинин перекристаллизовывают из 55%-ного этилового спирта (27) в присутствии 0,5% (от веса технического аллапинина) активированного угля марки "А". Выход субстанции аллапинина по этой технологии составляет 70-75% от содержания в сырье.

Изучение физико-химических и фармакологических свойств препарата показало, что субстанция аллапинина, полученная по новой технологии, не отличается от полученной по известной технологии.

Для характеристики экономического преимущества предлагаемого способа

производства ниже в виде таблицы приведены экономические показатели производства субстанции аллапинина по известной и новой экономически выгодной и экологически безопасной технологии производства (табл. 1).

Таблица 1

Нормы расхода сырья и материалов на конечный продукт по известной и новой технологии производства субстанции препарата аллапинина

№	Сырье и материалы, № НТД	Регламентные нормы расхода	
		по известной технологии	по новой технологии
1.	Корневища с корнями борца северного, ВФС 42-2420-95. Содержание 0,81% от массы воздушно-сухого сырья	181 кг	181 кг
2.	Спирт этиловый ГОСТ 18300-72, в том числе с учетом возврата	2818 л 189 л	2818 л 195 л
3.	Серная кислота ГОСТ 4204-68	12 кг	-
4.	Сода кальцинированная ГОСТ 94-76	48 кг	13,5 кг
5.	Метанол ГОСТ 6995-67	9,4 кг	-
6.	Хлороформ ГОСТ 3160-51, в том числе с учетом возврата	1487 кг 241 кг	- -
7.	Сернокислый натрий ГОСТ 4166-76	17,2 кг	-
8.	Бромистоводородная кислота ГОСТ 2413-80	0,6 кг	0,6 кг

Как видно из таблицы 1, расход этилового спирта для производства 1 кг субстанции аллапинина по новой технологии увеличивается всего на 2-4%, расход кальцинированной соды уменьшается более чем в три раза, из технологического цикла полностью исключено использование серной кислоты, метилового спирта, хлороформа и сернокислого натрия.

Таким образом, ожидаемый экономический эффект, который может быть получен в результате использования данного способа производства по сравнению известным способом, очевиден.

В настоящее время на базе ОП ИХРВ создана пилотная установка по производству субстанции аллапинина по новой технологии. Получены первые промышленные образцы препарата. Разрабатывается промышленный регламент производства субстанции аллапинина по новой технологии. Выход целевого продукта 70-75% от содержания алкалоида в сырье.

Способ производства препарата защищен патентом РУз [25].

Показания к медицинскому применению аллапинина. В отделе фармакологии Института проведены фармако-токсикологические исследования

препарата и разработаны рекомендации по применению аллапинина.

В медицинской практике аллапинин применяют в качестве противоаритмического средства при нарушениях ритма желудочкового и наджелудочкового происхождения, вызванных повышенной возбудимостью при тахиаритмической и пароксизмальной форме мерцательной аритмии, при синдроме Вольфа–Паркинсона–Уайта. Препарат показан также при нарушениях ритма сердца, возникших при лечении больных с инфарктом миокарда в начальной стадии.

Аллапинин выпускается в виде таблеток по 0,025 г №30 и в виде инъекционной формы – ампулы, 0,5%-ный водный раствор по 2 мл.

2.6. Технология производства субстанции аклезина из надземной части борца белоустого [8, 18, 37, 41, 42, 44, 59, 61]

Надземная часть травы борца белоустого кроме лаппаконитина содержит свыше 10 алкалоидов: лейконин, сепаконитин, ацетилсепаконитин, N-дезацетиллаппаконитин, лаппаконидин, аксин, аксинатин, лейконидин и др. Очищенная сумма алкалоидов (аклезин), содержащая в основном указанные выше алкалоиды, обладает высокой антиаритмической активностью и разрешена для применения в медицинской практике в качестве лекарственного средства, обладающего антиаритмическим действием.

Технический аклезин (сумму алкалоидов) получают способом водно-спиртовой экстракции по технологической схеме производства аллапинина из надземной части борца белоустого (рис. 7). Для очистки технического аклезина его растворяют в хлороформе (28) и пропускают через слой оксида алюминия с активностью V степени по Брокману (29). Элюат упаривают досуха (30), получают субстанцию аклезина с выходом 82-85% от содержания в сырье.

Технология производства субстанции аклезина отработана на пилотной установке ОП ИХРВ по производству алкалоидов способом водно-спиртовой технологии. Разработаны опытно-промышленный регламент производства, временные фармакопейные статьи на субстанцию и лекарственную форму аклезина (покрытые оболочкой таблетки по 0,025 г №10) [41, 42, 44].

Способ производства препарата защищен патентом РУз [18].

Показания к медицинскому применению аклезина. В отделе фармакологии Института проведены фармако-токсикологические исследования препарата и разработаны рекомендации по применению аклезина.

Аклезин оказывает антиаритмическое действие в отношении предсердных и желудочковых нарушений ритма сердца. Проявляет местноанестезирующее, анальгезирующее, противовоспалительное и седативное действие. При сопоставлении с существующими антиаритмическими средствами установлено, что аклезин является наиболее высокоэффективным средством лечения больных с хроническими и жизненно опасными желудочковыми тахикардиями. У больных с сердечной недостаточностью аклезин практически не вызывает изменений сократительной функции миокарда, что выгодно отличает его от других антиаритмических средств.

2.7. Технология производства субстанции аксаритмина из корневищ с корнями травы борца северного [24, 71, 78, 87, 88]

Подобно надземной части травы борца белоустого корневища с корнями борца северного также, кроме лаппаконитина, содержат еще свыше 10 алкалоидов – лейконин, N-дезацетиллаппаконитин, сепаконитин, ацетилсепаконитин, ранаконитин, лейконидин, лаппаконин и др. Фармакологические исследования показали, что очищенная сумма алкалоидов (аксаритмин) обладает высокой антиаритмической активностью и разрешена ФК ГУККЛС и МТ при МЗ РУз для широкого медицинского применение.

Технический аксаритмин получают по технологической схеме производства аллапинина из корневищ с корнями борца северного (рис. 7). Для очистки суммы алкалоидов (технического аксаритмина) его растворяют в хлороформе (28) и пропускают через слой оксида алюминия со степенью активностью V по Брокману (29). Элюат упаривают досуха (30), получают аксаритмин с выходом 2,8% от воздушно-сухой массы сырья, или 82-85% от содержания в растительном сырье.

Разработанная технология производства препарата отработана на пилотной установке ОП ИХРВ по производству алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции. Составлен опытно-промышленный регламент производства. Разработаны временные фармакопейные статьи на субстанцию, лекарственную форму (покрытые оболочкой таблетки по 0,025 г №10).

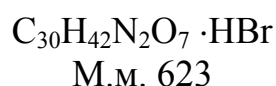
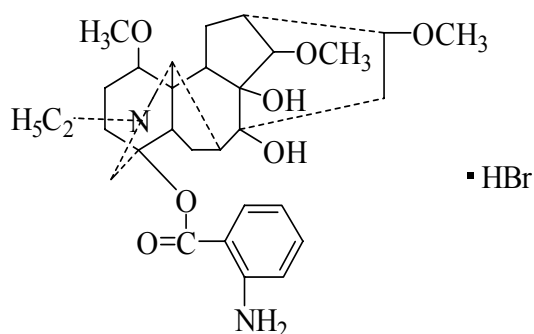
Наработано достаточное количество препарата для полного обеспечения его клинических испытаний.

Способ производства препарата защищен патентом РУз [24].

2.8. Технология производства субстанции N-дезацетиллаппаконитина гидробромида (антиаритмина) из отходов производства аллапинина [26, 76, 81-86]

Как отмечено выше, на базе ОП ИХРВ АН РУз по разработанной нами технологии производится субстанция препарата антиаритмического действия аллапинина из растений борца белоустого и борца северного. Объем производства субстанции постоянно растет. Так, в 2013 году было наработано свыше 400 кг субстанции аллапинина. При производстве субстанции этого препарата образуется в виде отхода смесь дитерпеновых алкалоидов (метанольный маточник), содержащая в значительном (до 50-80% от воздушно - сухой массы отхода) количестве алкалоид N-дез-

Структурная формула N-дезацетиллаппаконитина гидробромида:



ацетиллаппаконитин в виде бромистоводородной соли.

Нами разработана оригинальная технология получения препарата, позволяющая выделять антиаритмин из отходов в нативном виде, т.е. не разрушая имеющуюся в отходах бромистоводородную соль N-дезацетиллаппаконитина.

Для производства субстанции антиаритмина в качестве сырья используют высушенный отход производства аллапинина, получаемый после перекристаллизации технического аллапинина. Высушенный отход (31) растворяют в дистиллированной воде в соотношении 1:3 (32) и доводят pH раствора до 6,5 (рис. 7).

Установлено, что при сильнощелочной среде в хлороформный экстракт переходит значительное количество примесей других алкалоидов, находящихся в отходе, а из сильноокислой среды N-дезацетиллаппаконитина гидробромид трудно экстрагируется, что снижает выход конечного продукта.

Из водного раствора алкалоиды извлекают трехкратной экстракцией хлороформом (32). Хлороформные извлечения фильтруют, упаривают досуха (33), обрабатывают ацетоном (34) и получают субстанцию антиаритмина, отвечающую требованиям проекта ВФС на препарат.

Выход 50% от воздушно-сухой массы отхода. Разработан пакет необходимой НТД (проекты ВФС и ОПР на субстанцию и лекарственную форму). Нарботано достаточное количество образцов субстанции и лекарственной формы препарата. Нормативно-технические документы представлены в ГУККЛС и МТ РЗ РУз и получено разрешение на широкие клинические испытания. Способ производства препарата защищен патентом РУз [26].

Показания к медицинскому применению антиаритмина. Исследования, проведенные в отделе фармакологии и токсикологии ИХРВ АН РУз, показали, что алкалоид N-дезацетиллаппаконитин также обладает высокой антиаритмической активностью. Экспериментально доказано, что N-дезацетиллаппаконитина гидробромид (антиаритмин) при введении в вену по противоаритмической активности не уступает препарату аллапинину, при этом в отличие от аллапинина N-дезацетиллаппаконитина гидробромид менее токсичен, обладает большой терапевтической широтой и превосходит аллапинин по скорости развития противоаритмического эффекта, не уступая последнему по продолжительности фармакологического действия. Антиаритмическая активность N-дезацетиллаппаконитина проявляется в отношении предсердных и желудочковых нарушений ритма сердца и обусловлена различными механизмами. Препарат в пределах терапевтических доз не обладает заметным отрицательным инотропным действием, не вызывает артериальной гипотензии, не дает холинолитического и адренолитического эффектов.

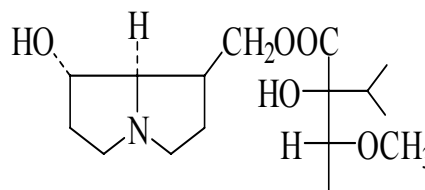
N-дезацетиллаппаконитина гидробромид (антиаритмин) предлагается в виде 0,5%-ного инъекционного раствора в ампулах по 1 мл.

3-й раздел. Унифицированная технология производства биореактивов гелиотрина, бикукулина, d-β-гидрастина, аконитина, донаксина гидрохлорида и импералина

3.1. Технология производства субстанции биореактива гелиотрина из надземной части гелиотропа волосистоплодного [1, 11, 28, 33, 70]

70 кг надземной части (рис. 8) гелиотропа волосистоплодного после измельчения до размера частиц 5-20 мм заливают 300 л 80%-ного раствора этилового спирта (гидромодуль 1 : 4,2) и оставляют настаиваться на 8 часов. Сливают 160 л экстракта. Второй раз заливают 160 л 80%-ного раствора этилового спирта. Аналогично проводят 3-, 4-, 5- и 6-е извлечения. Полученные экстракты сгущают в вакуум-выпарной установке до остатка 8,0–11,0% от первоначального объема. В результате получают 60 л сгущенного водного экстракта. Последний подкисляют в реакторе 2,5 кг серной кислоты до pH 1, затем для восстановления N-окисной формы гелиотрина добавляют при перемешивании 4 кг порошка цинка, нагревают раствор до 70°C и реакционную смесь выдерживают в течение 4 часов.

Структурная формула гелиотрина:



$C_{16}H_{27}NO_5$
М.м.233



Рис. 8. Блок-схема производства субстанции биореактива гелиотрина из надземной части гелиотропа волосистоплодного

Затем избыток цинка отделяют фильтрованием. Для удаления примесей неосновного характера кислый раствор алкалоидов 2 раза промывают хлороформом. Очищенный кислый раствор (64 л) подщелачивают 25%-ным раствором аммиака до pH 11 и алкалоиды извлекают хлороформом порциями по 10 л, производя четыре извлечения. Полученный хлороформный раствор упаривают досуха в вакуум-выпарной установке. Получают 560 г суммы алкалоидов, или 0,8% от воздушно-сухой массы сырья. Сумму алкалоидов (560 г) растворяют в 3 л ацетона и оставляют на 12 ч. Выпавший осадок гелиотрина отфильтровывают, промывают ацетоном и сушат. Полученный технический гелиотрин (490 г) растворяют в 1,6 л ацетона, раствор нагревают до полного растворения алкалоида. При стоянии ацетонового раствора 8-10 часов при комнатной температуре гелиотрин кристаллизуется. Кристаллы гелиотрина отделяют и промывают ацетоном (425 г). После сгущения маточного раствора дополнительно получают 45 г гелиотрина. Выход готового продукта 470 г, или 0,67% от воздушно-сухой массы сырья.

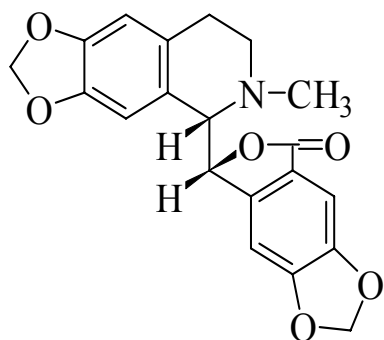
Технология производства гелиотрина отработана на опытной установке Института, составлен опытно-промышленный регламент, внедренный на ОП Института в 1982 г. Выпускаемый по ТУ 6-09-50-238682 объем гелиотрина обеспечивает потребности медицинских учреждений страны в этом реактиве и, кроме того, экспортируется во Францию. Способ производства биореактива гелиотрина защищен авторским свидетельством [28].

Алкалоид гелиотрин в медицинской практике применяется как реактив для получения экспериментальной модели гепатита и цирроза печени у лабораторных животных, при поиске эффективных путей лечения гепатита и других тяжелых заболеваний печени.

3.2. Технология производства субстанции биореактивов бикукулин и d-β-гидрастин из надземной части хохлатки ложноогнутой [17, 35, 72]

Структурные формулы:

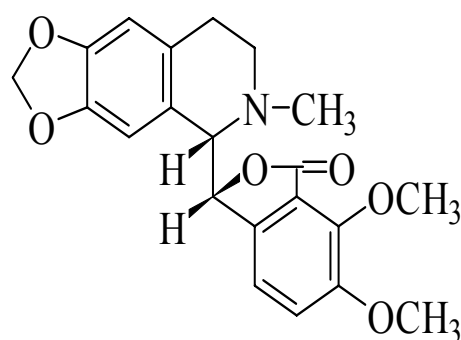
d-Бикукулин



$C_{20}H_{17}NO_6$

М.м. 367

d-β-Гидрастин



$C_{21}H_{21}NO_6$

М.м. 383

Воздушно-сухую надземную часть хохлатки ложносогнутой (10 кг) измельчают до размера частиц 5-15 мм (рис. 9) и загружают в экстрактор, куда заливают 15 л водно-спиртового экстракта от предыдущей шестой загрузки и 25 л 80%-ного раствора этилового спирта, оставляют настаиваться на ночь. Сливают 15 л спиртового экстракта. Аналогично производят 2-, 3-, 4-, 5- и 6-е извлечения. Полученный от пяти извлечений экстракт алкалоидов в количестве 75 л сгущают в вакуум-выпарной установке до остатка 8,0-11% от первоначального объема. Получают 7,8 л экстракта. Водный остаток экстракта фильтруют через стекловату или декантируют от смолистых веществ, подщелачивают 25%-ным водным раствором аммиака до pH 8,0-9,5 и исчерпывающе извлекают хлороформом (пять извлечений по 4 л). Из хлороформного экстракта алкалоиды извлекают 10%-ным раствором серной кислоты (пять извлечений по 4 л). Для удаления примесей неалкалоидного характера кислый раствор алкалоидов 2 раза промывают хлороформом. Очищенный сернокислый раствор алкалоидов в количестве 19 л подщелачивают 25%-ным раствором аммиака до pH 9-10. При стоянии в течение 12 часов алкалоиды выпадают в осадок. Осадок отфильтровывают, сушат до постоянного веса при температуре 50–60°C. Высушенную сумму алкалоидов в количестве 145 г растворяют в 0,5 л хлороформа и пропускают через слой оксида алюминия (со степенью активности V по Брокману) в соотношении 1:2. В качестве элюата используют хлороформ. Очищенный хлороформный раствор алкалоидов упаривают. Получают 105 г суммы алкалоидов, которую растворяют в 0,32 л метанола и оставляют на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают метанолом и сушат. Получают 60 г технической смеси бикикулина и d-β-гидрастина. Дробной перекристаллизацией технического продукта из смеси метанол–хлороформ получают чистый бикикулин и d-β-гидрастин. Выход бикикулина, отвечающего требованиям ТУ на продукт, составляет 13,2 г, или 77% от содержания в растительном сырье. Выход d-β-гидрастина 39,6 г, или 75% от содержания в сырье.

Технология производства бикикулина и d-β-гидрастина из надземной части хохлатки ложносогнутой отработана на ОП ИХРВ АН РУз. Составлен опытно-промышленный регламент, который внедрен в 1992 году. Объем производства бикикулина и d-β-гидрастина обеспечивает потребности медицинских учреждений страны этими реактивами, которые также экспортируются во Францию.

Алкалоиды бикикулин и d-β-гидрастин применяются как биореактивы в качестве антагонистов гамма-аминомасляной кислоты в биологических, фармакологических и токсикологических исследованиях. Бикикулин выпускается по ТУ 6-09-50-2473-86.

Способ производства биореактива бикикулин защищен патентом Республики Узбекистан [17].

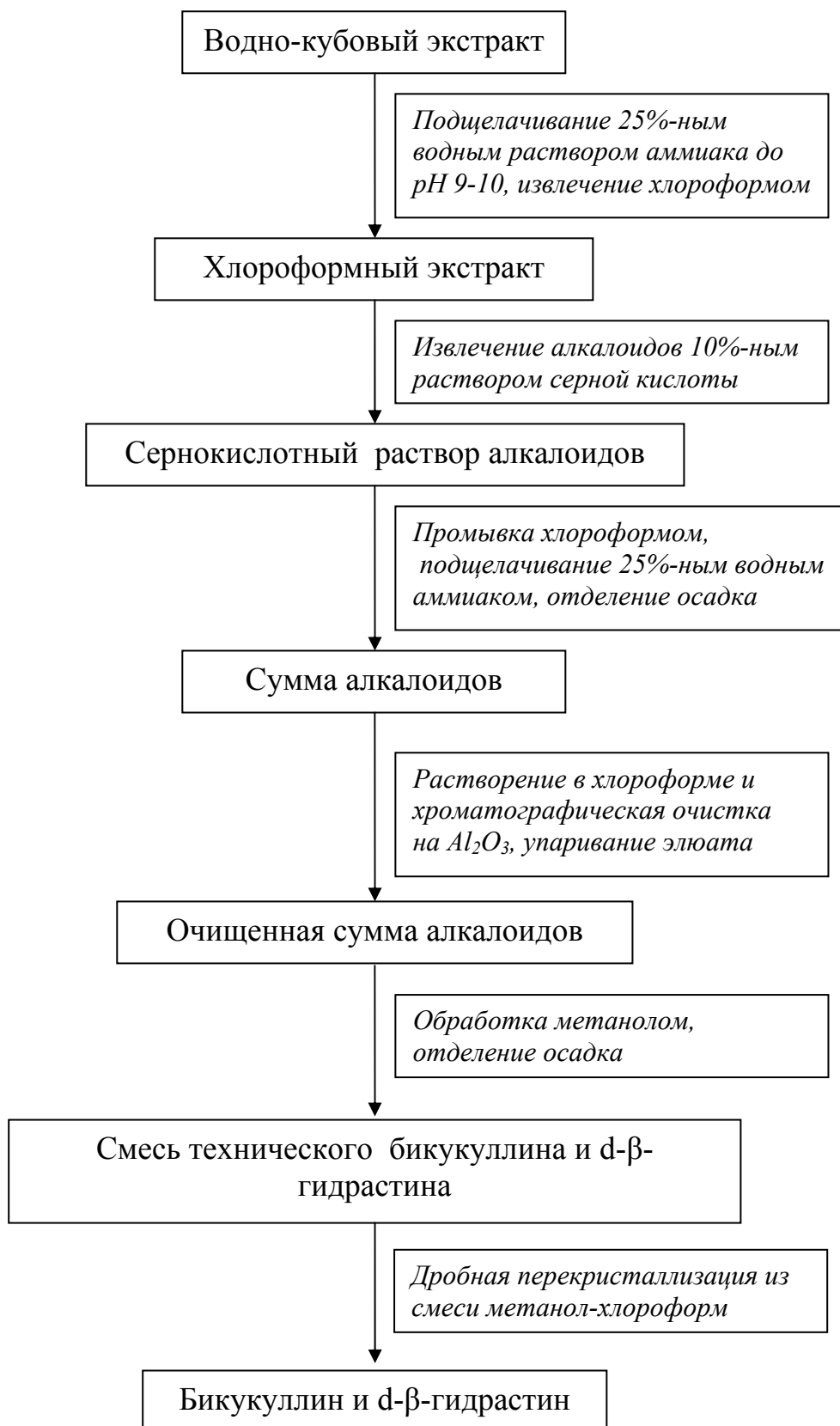


Рис. 9. Блок-схема производства субстанций биореактивов бикукуллин и d-β-гидрастин из надземной части хохлатки ложносогнутой

3.3. Технология производства субстанции биореактива аконитина из клубней борца джунгарского [5, 12, 31, 34, 56]

50 кг измельченных клубней борца джунгарского до размера частиц 3-10 мм экстрагируют 80%-ным раствором этилового спирта. Сырье заливают 150 л 80%-ного спирта и оставляют настаиваться 12 часо. Затем сливают 80 л спиртового экстракта аконитина. Второй раз заливают 80 л экстрагента. Аналогично проводят еще шесть извлечений. Полученные экстракты объединяют и сгущают в вакуум-выпарной установке до остатка 7-10% от первоначального объема. Получают 64 л водно-кубового остатка экстракта (рис. 10).

Структурная формула аконитина:

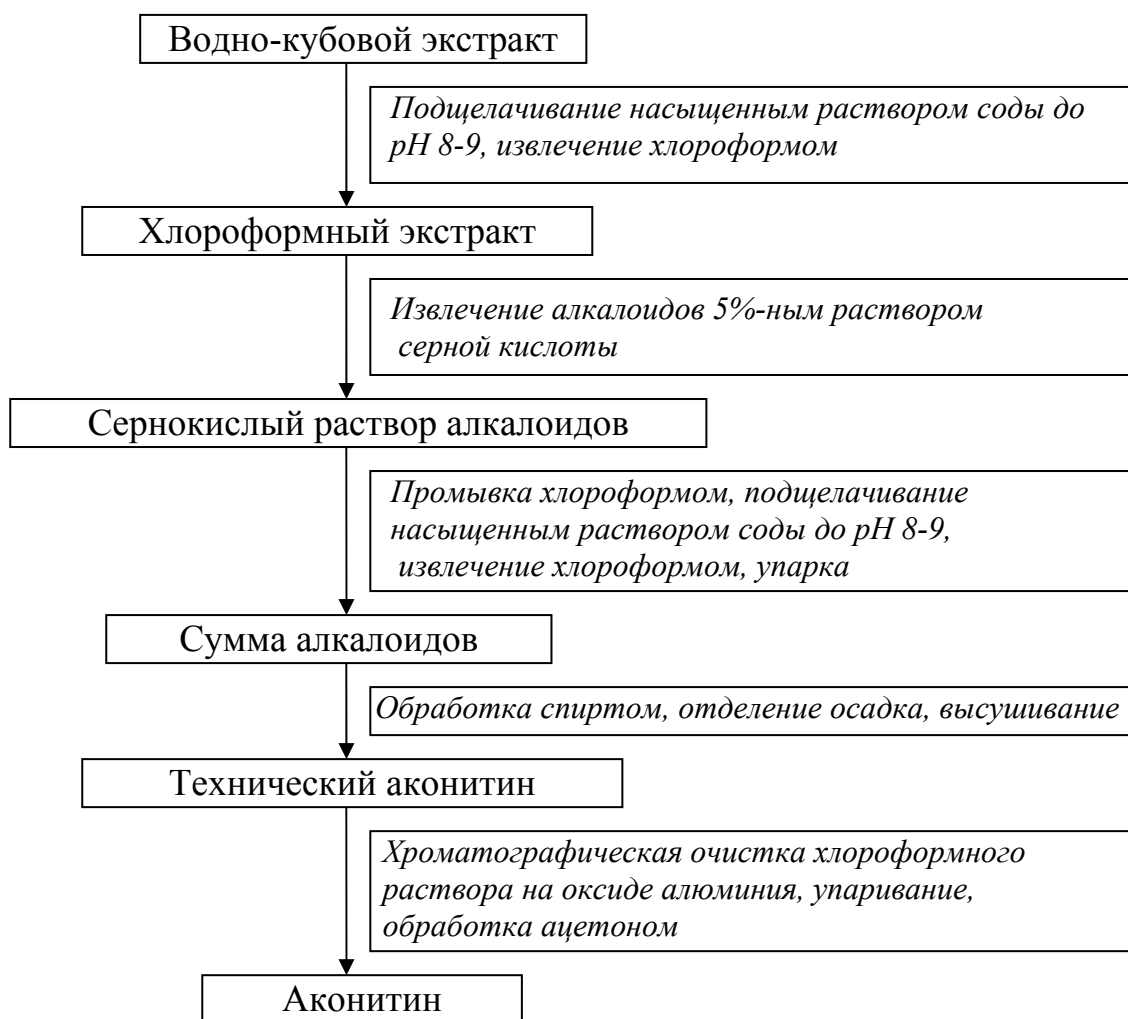
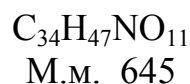
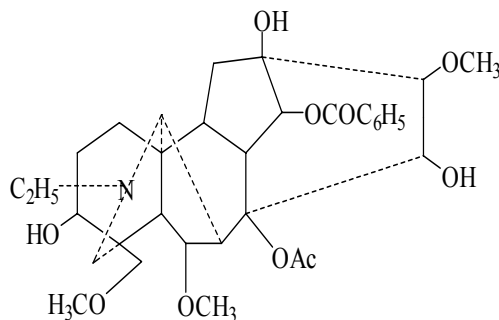


Рис.10. Блок-схема производства субстанции биореактива аконитина из клубней борца джунгарского

Водный кубовой остаток экстракта после фильтрации подщелачивают насыщенным раствором соды до pH 8-9 и алкалоиды 4-кратно извлекают хлороформом по 15 л. Хлороформный экстракт алкалоидов обрабатывают 3 л 5%-ного раствора серной кислоты, после расслоения фаз отделяют сернокислотный экстракт алкалоидов. Аналогично порциями по 2 л 5%-ного раствора серной кислоты проводят еще пять извлечений. Для удаления примесей неосновного характера кислый раствор алкалоидов 2 раза промывают хлороформом по 5 л. Промытый кислый раствор алкалоидов в количестве 13 л подщелачивают до pH 8-9 насыщенным раствором кальцинированной соды и алкалоиды извлекают 15 л хлороформа. Аналогично проводят еще четыре извлечения хлороформом по 10 л. Объединенные хлороформные извлечения упаривают под вакуумом, получают 300 г суммы алкалоидов. Затем сумму алкалоидов обрабатывают 570 мл этилового спирта и оставляют на 12 ч. Выпавший осадок отфильтровывают и сушат. Получают 100 г технического аконитина.

Технический аконитин (100 г) растворяют в 100 мл хлороформа и пропускают через колонку с оксидом алюминия со степенью активности V по Брокману в соотношении технический аконитин–оксид алюминия 1-30:40, аконитин элюируют хлороформом. Очищенный хлороформный элюат упаривают при температуре не выше 50°C. Сухой остаток обрабатывают 100 мл ацетона и оставляют на 12 ч. Выпавший осадок отделяют и сушат. Выход аконитина 56 г, или 55% от содержания в сырье.

Технология производства биореактива аконитина отработана на полузаводской установке ИХРВ. Разработан опытно-промышленный регламент, который внедрен на ОП ИХРВ АН РУз в 1985 г. Объем производства биореактива аконитина, выпускаемого в соответствии с ТУ-6-09-50-2462-85, полностью обеспечивает потребность медицинских и научно-исследовательских учреждений страны и позволяет экспортировать их во Францию.

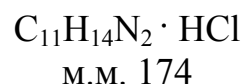
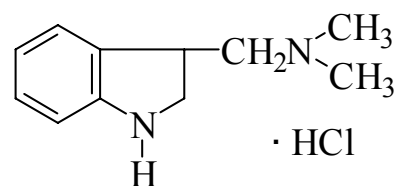
Показания к применению. Биореактив аконитин в медицинской практике и в экспериментальной биологии используется для создания модели патологии сердечной деятельности и молекулярных процессов, лежащих в основе генерации первичного импульса, при поиске и создании эффективных антиаритмических препаратов.

Способ производства биореактива аконитина защищен авторским свидетельством [31] и патентом РУз [12].

3.4. Технология производства биореактива донаксина гидрохлорида из листьев камыша [20]

Измельченное до размера частиц 10-20 мм 2 кг сырья экстрагируют путем шестикратного настаивания с 80%-ным раствором этилового спирта (рис. 11). На первую экстракцию подают 6 л экстрагента и настаивают в течение 10 ч, после чего сливают 3 л экстракта. Второй раз заливают 3л экстрагента. Далее проводят 3–6-е извлечения алкалоидов с настаиванием в

Структурная формула
донаксина гидрохлорида:



течение соответственно 8, 8, 6 и 6 ч. Экстракты объединяют и сгущают под вакуумом при температуре 50-60° С до водного остатка, составляющего 10% от первоначального объема экстракта (1,8л). Остаток фильтруют, подщелачивают 7%-ным едким натром до рН 11-12, алкалоиды экстрагируют хлороформом 4 раза по 1 л. Из хлороформного экстракта алкалоиды извлекают 5%-ным раствором серной кислоты 4 раза по 0,5 л. Сернокислый раствор алкалоидов 2 раза промывают хлороформом (по 0,5 л) и подщелачивают 7%-ным раствором едкого натра до рН 11-12, алкалоиды извлекают хлороформом 3 раза по 1 л, упаривают и получают сухой остаток суммы алкалоидов в количестве 10 г (рис. 11).

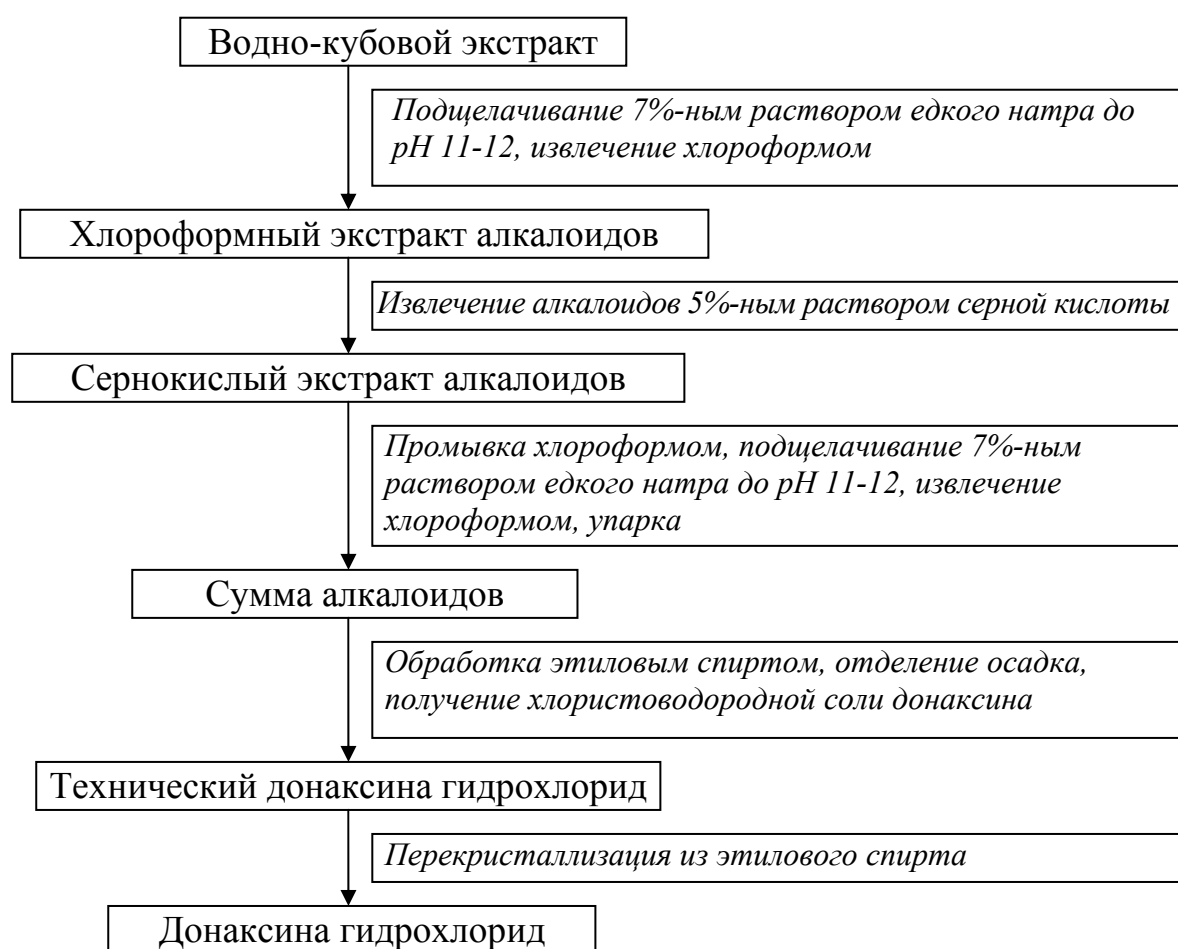


Рис.11. Блок-схема производства субстанции донаксина гидрохлорида из листьев камыша

Сумму алкалоидов (10 г) обрабатывают 20 мл этилового спирта для осаждения донаксина, выпавший осадок (5,2 г) алкалоида отделяют фильтрованием. Для получения гидрохлорида донаксина осадок (5,2 г) в спиртовой среде обрабатывают насыщенным спиртовым раствором соляной кислотой до рН 3-4. Выпавшую в осадок хлористоводородную соль донаксина отделяют, промывают спиртом и перекристаллизуют из спирта. Выход 2,1 г, или 75% от содержания в сырье.

Технология получения донаксина гидрохлорида отработана на ОП ИХРВ, разработан лабораторный регламент получения препарата. Подготовлены проекты фармакопейных статей на растительное сырье, субстанцию и лекарственную форму.

В экспериментах, проведенных в лаборатории фармакологии и токсикологии ИХРВ, найдено, что донаксина гидрохлорид является эффективным и малотоксичным маточным стимулятором. Эксперименты показали, что он активнее пахикарпина в абсолютных дозах, бревинолмина – по фармакологической широте и эрготамина – по окситоцинподобному действию.

Три модифицированных производных донаксина (донаксина гидрохлорид, N-окись донаксина, донаксина йодметилат) вошли в каталог французской фирмы «Латоксан» в качестве биореактивов для медико-биологических испытаний.

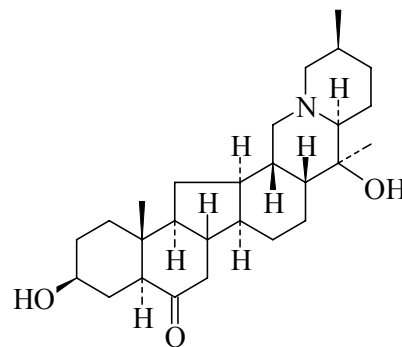
Способ производства препарата донаксина гидрохлорида защищен патентом РУз [20].

3.5. Технология производства субстанции биореактива империалин из надземной части рябчика Эдуарда [16]

2 кг измельченного до размера частиц 5-15 мм (рис. 12) сырья экстрагируют путем шестикратного настаивания 80%-ным раствором этилового спирта. На первую экстракцию подают 7,4 л экстрагента, настаивают в течение 8 часов, после чего сливают 3,1 л экстракта. Второй раз заливают 3,1 л экстракта. Далее проводят третьесестое извлечения алкалоидов с настаиванием в течение соответственно 6, 6, 4 и 4 часов. Экстракты объединяют и сгущают до водного остатка, составляющего 10% от первоначально объема экстракта (около 1,9 л).

Водный остаток экстракта подщелачивают водным аммиаком до pH 9-10 и алкалоиды извлекают хлороформом 5 раз по 1 л. Из хлороформного извлечения алкалоиды экстрагируют 5 раз по 0,2 л 5%-ным раствором серной кислоты. Кислые извлечения объединяют и промывают хлороформом по 0,5 л 2 раза. Затем сернокислый экстракт алкалоидов подщелачивают водным аммиаком до pH 9-10, извлекают 4 раза (по 1 л) хлороформом, упаривают досуха. Обработкой ацетоном из сухого остатка выделяют технический империалин. Его растворяют в хлороформе и загружают в колонку с силикагелем марки «КСК». Элюируют империалин смесью растворителей хлороформ–спирт–25%-ный аммиак (100:40:10), упаривают досуха и перекристаллизовывают из смеси хлороформ–метанол. Получают 3,0 г чистого империалина. Выход составляет 65% от содержания в сырье.

Структурная формула империалина:



$C_{27}H_{43}NO_3$
м.м. 429,64



Рис.12. Блок-схема производства субстанции биореактива империалина из надземной части рябчика Эдуарда

Технология получения субстанции биореактива империалина отработана на ОП ИХРВ. Биореактив империалин включен в каталог французской фирмы «Латоксан».

Используется в медицинской практике в качестве биореактива М-2 холиноблокатора. На М-4 рецепторы он оказывает блокирующее действие в 20, а на М-3 рецепторы в 300 раз слабее, чем на М-2 подтип. По активности империалин превосходит известные М-2-блокаторы – метокрамин и АГ-ДХ II б.

Способ производства биореактива империалин защищен патентом РУз [16].

4-й раздел. Унифицированная технология производства алкалоидов экстракцией растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией [9, 22, 25, 27]

Из литературы известно, что подавляющее большинство алкалоидов в растительном сырье находятся в виде солей органических кислот, которые хорошо растворяются в воде или в слабых растворах органических или минеральных кислот. В настоящее время существует ряд производств субстанций алкалоидов способом экстракции растительного сырья слабыми растворами различных минеральных или органических кислот с последующей жидкостно-жидкостной экстракцией алкалоидов из подщелаченного водно-кислого экстракта. Существенным недостатком при этом является образование довольно стойких эмульсий на стадии жидкостно-жидкостной экстракции. Для предотвращения образования эмульсии двух несмешивающихся жидкостей предложено несколько способов. Так, например, для производства эфедрина и анабазина на Чимкентском ХФЗ и галантамина на Ташкентском ХФЗ смонтирован ряд установок для предотвращения образования эмульсии на стадии жидкостно-жидкостной экстракции:

- а) колонки с кольцами Рашега;
- б) жидкостно-жидкостные экстракторы смесительно-отстойного типа;
- в) экстракционные колонки с различными типами перегородок, тарелок, уменьшающих образование эмульсии.

В технологическом процессе производства ряда алкалоидов способом жидкостно-жидкостной экстракции использование указанных выше конструкций полностью не решает проблему предотвращения образования эмульсии. Даже частичное образование эмульсии приводит к значительной потере основного продукта. По этой причине выход конечного продукта на Чимкентском и Ташкентском ХФЗ не превышает 60-65% от его содержания в растительном сырье.

Проведенные нами исследования показали, что образование эмульсии при жидкостно-жидкостной экстракции алкалоидов органическими растворителями возникает из-за присутствия в экстракте соизвлекаемых поверхностно-активных веществ (ПАВ) растительной природы (белки, пектины, полисахариды, липиды и др.), затрудняющих процесс разделения фаз. Для освобождения экстракта от высокомолекулярных ПАВ мы использовали способ ультрафильтрации, позволяющий разделить экстрактивные вещества по молекулярной массе.

Мы исследовали применимость некоторых типов мембран (размеры отверстий 10 кДа, 50, 100, 150 кДа) для удаления указанных высокомолекулярных поверхностно-активных соединений из сырого экстракта алкалоидов. Опыты показали, что в зависимости от размера отверстий мембран можно получить экстракты различной чистоты. Наиболее успешными были опыты с мембраной М5 (10 кДа), при использовании которой удалось

полностью избавиться от образования эмульсии и очистить экстракт алкалоидов от ПАВ.

В результате разработана принципиальная технология производства алкалоидов различной силы основности методом экстракции растительного сырья водой или слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией и выделением целевого продукта методом жидкостно-жидкостной технологии. Разработанная технология включает в себя следующие стадии производства (рис. 13):

1. экстракцию растительного сырья водой или слабыми растворами минеральных или органических кислот;
2. удаление из растительного экстракта высокомолекулярных соединений с поверхностно-активными свойствами методом ультрафильтрации;
3. подщелачивание очищенного экстракта и последующую жидкостно-жидкостную экстракцию основного продукта;
4. получение технического продукта и его очистку способами, соответствующими силе основности и другим физико-химическим свойствам выделяемого алкалоида.

Предварительное изучение в динамических условиях процесса экстракции алкалоидоносного сырья (борца белоустого, дымянки вайяны, унгернии Северцова, унгернии Виктора, борца джунгарского и др.) слабыми растворами кислот (в основном 0,5–1,0%-ными растворами серной, соляной или уксусной кислоты) показало, что основными факторами, влияющими на процесс, являются x_1 – скорость прохождения экстракта через сырье; x_2 – степень помола сырья; x_3 – длительность экстракции; x_4 – концентрация кислоты в экстрагенте; x_5 – отношение высоты слоя сырья в экстракторе к его диаметру (l/d).

Для определения влияния этих факторов на процесс экстракции алкалоидов (из борца, унгернии и т.д.) и выявления оптимальных условий его проведения проводили оптимизацию процесса методом математического планирования эксперимента. В качестве параметра оптимизации (y) выбрали выход суммы алкалоидов. Во всех случаях для проведения оптимизации процесса использовали 1/4 реплики от полного факторного эксперимента типа $y = 2^5$ со следующими генерирующими соотношениями:

$$x_4 = x_1 x_2 x_3; x_5 = x_1 \cdot x_3.$$

В основном выбирали следующие уровни факторов и интервалы их варьирования:

$$(x_1 - 450 \text{ л/час } m^2 \pm 200; x_2 - 15 \text{ мм} \pm 10; x_3 - 4 \text{ час} \pm 2; x_4 - 1,5\% \pm 1; x_5 - 3 \pm 1).$$

После проведения эксперимента типа $y = 2^{5-2}$ получили математические модели процесса и установили, что основными факторами, влияющими на процесс экстракции, являются скорость прохождения экстракта через сырье и время экстракции.

Ультрафильтрационная очистка полученных экстрактов с использованием мембраны М5 (10 кДа) позволяет очистить от веществ, образующих эмульсию, без потерь основного продукта.

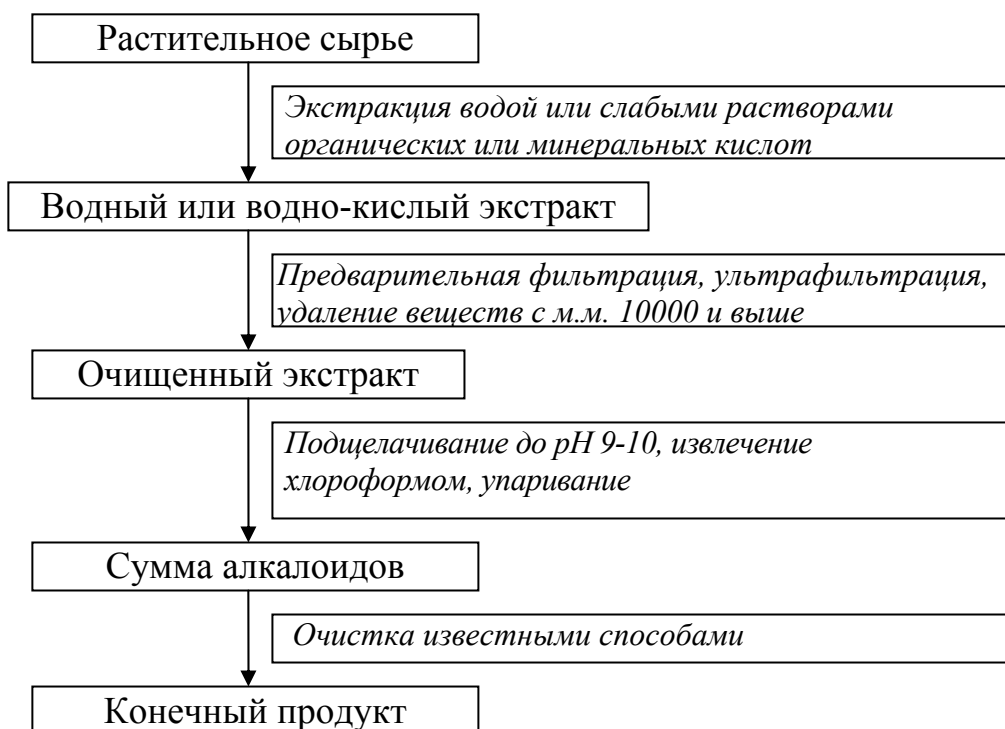


Рис. 13. Блок-схема производства алкалоидов экстракцией растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией

Таким образом, ключевой стадией производства алкалоидов экстракцией растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией являются экстракция растительного сырья водой или слабыми растворами минеральных или органических кислот, предварительная фильтрация экстракта от взвешенных частиц сырья, удаление высокомолекулярных поверхностно-активных вещества с молекулярной массой 10 000 и выше методом ультрафильтрации, подщелачивание очищенного экстракта до pH 9-12, извлечение суммы алкалоидов хлороформом, упаривание хлороформного экстракта, получение суммы алкалоидов и очистка конечного продукта.

Для внедрения разработанной технологии производства алкалоидов способом экстракции растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией на базе ОП ИХРВ создана полупромышленная установка. По этой технологии получены стабильные полупромышленные образцы алкалоидов – субстанций таких лекарственных препаратов, как аллапинин, аклезин, аксаритмин, ликорина гидрохлорид, галантамина гидробромид и биореактива аконитин с выходом 80-85% от содержания в растительном сырье.

Способы производства по указанной выше технологии препаратов аллапинина [22], аклезина [21], аксаритмина [25] и аконитина [25] запатентованы в Государственном патентном ведомстве РУз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые определена сила основности ($pH_{б.р.}$) 11 алкалоидов: лаппаконитина, N-дезацетиллаппаконитина, гелиотрина, бикикулина, d- β -гидрастина, ликорина, галантамина, аконитина, протопина, донаксина, империалина и установлено, что два алкалоида – бикикулин и d- β -гидрастин – являются слабоосновными; семь алкалоидов – лаппаконитин, N-дезацетиллаппаконитин, галантамин, аконитин, протопин, донаксин, империалин – алкалоидами средней силы основности; два алкалоида – гелиотрин и ликорин – являются сильными основаниями.

2. Впервые установлено, что подавляющее большинство изученных алкалоидов в виде солей, независимо от силы основности, хорошо растворяются в системе спирт–вода с максимальным растворением при 55% объемных. Экспериментально установлено, что для селективного извлечения алкалоидов из растительного сырья рационально использовать растворы этилового спирта крепостью 75-85% объемных.

3. Разработана промышленная технология производства субстанции лекарственных препаратов и биореактивов – протопина гидрохлорида, ликорина гидрохлорида, галантамина гидробромида, аллапинина, аклезина, аксаритмина, антиаритмина, гелиотрина, бикикулина, d- β -гидрастина, аконитина, донаксина, империалина, с использованием в качестве экстрагента 75-85%-ных растворов этилового спирта.

4. Разработана экономически выгодная и экологически безопасная технология производства субстанции аллапинина из корневищ с корнями борца белоустого и борца северного, позволяющая исключить из технологических циклов использование таких токсичных веществ, как серная кислота, метанол и хлороформ.

5. Разработана технология производства субстанции нового лекарственного средства антиаритмина, обладающей антиаритмическим действием, из отходов промышленного производства субстанции аллапинина.

6. На созданные лекарственные препараты и биореактивы разработана соответствующая нормативно-техническая документация – опытно-промышленные или промышленные регламенты, фармакопейные статьи на растительное сырье, субстанцию и готовые лекарственные формы, технические условия на биореактивы.

7. Технология алкалоидов методом водно-спиртовой экстракции растительного сырья внедрена в производство на ОП ИХРВ АН РУз и по ней налажен серийный выпуск субстанций пяти лекарственных препаратов

(протопина гидрохлорида, ликорина гидрохлорида, аллапинина, аклезина, галантамина гидробромида) и шести биореактивов (гелиотрина, бикукулина, d-β-гидрастина, аконитина, донаксина и империалина). Объем производства указанных выше препаратов и биореактивов полностью обеспечивает потребность нашей страны и позволяет экспортировать их за рубеж (РФ, Франция).

8. На технологической линии по производству алкалоидов, созданной на базе ОП ИХРВ АН РУз, наработаны достаточные количества субстанций препаратов аксаритмина и антиаритмина для фармакологических, токсикологических и клинических испытаний и разработки лекарственных форм препаратов.

9. Разработана технология производства алкалоидов способом экстракции растительного сырья водой, слабыми растворами минеральных или органических кислот с последующей ультрафильтрацией. Технология апробирована при производстве субстанций аллапинина, галантамина гидробромида, ликорина гидрохлорида и биореактива аконитина. Установлено, что ультрафильтрацией можно удалить из экстракта высокомолекулярные поверхностно-активные вещества с молекулярной массой более 10000 (белки, пектины, полисахариды, липиды и другие), благодаря этому предотвратить образование эмульсий и повысить выход целевых продуктов. Получены стабильные образцы указанных выше препаратов.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR
OF SCIENCES 16.07.2013 K.B.T.13.01 AT THE INSTITUTE OF
BIOORGANIC CHEMISTRY AND THE NATIONAL UNIVERSITY OF
UZBEKISTAN**

INSTITUTE OF THE CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES

SADIKOV ALIMDJAN ZAIROVICH

**OPTIMIZATION OF PRODUCTION TECHNOLOGIES OF ALKALOIDS
FROM PLANT RAW MATERIALS**

(on the example of alkaloids of diterpenoid, isoquinoline,
indole, pyrrolizidine and steroidal classes)

**02.00.10 – Bioorganic chemistry
(technical sciences)**

DOCTORAL DISSERTATION IN THE FORM OF SCIENTIFIC REPORT

Tashkent – 2015

The subject of doctoral dissertation in the form of scientific report is registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number 30.09.2014/B2014.5.T278

The doctoral dissertation in the form of scientific report is written in the Institute of the Chemistry of Plant Substances.

The dissertation in the form of scientific report in three languages (Uzbek, Russian, English) is placed on the website of the Scientific Council <http://ss.biochem.uz> and Information-educational portal "ZiyoNet" www.ziynet.uz.

Official opponents:

Sagdullaev Shamansur Shahsaidovich
Doctor of Technical Sciences

Scientific advisor:

Glushenkova Anna Ivanovna
Doctor of Technical Sciences, Academician

Urmanova Flyura Faridovna
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Sagdullaev Bakhodir Takhirovich
Doctor of Technical Sciences

Leading organization:

Tashkent Institute of Chemical Technology

The defense will take place on "_____" _____ 2015 in _____ at the meeting of the Scientific Council number 16.07.2013.K.B.T.13.01 at the Institute of the Bioorganic Chemistry and the National University of Uzbekistan. (Address: 83 Mirzo Ulugbek str, Tashkent, 100125. Tel. 262-35-40, fax (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

The doctoral dissertation is available in Information-resource centre at the Institute of Bioorganic Chemistry (Registered with the number _____). (Address: 83 Mirzo Ulugbek str, Tashkent).

Dissertation in the form of scientific report sent out on "_____" _____ 2015 year
(mailing report _____ on "_____" _____ 2015 year)

A.S. Turayev

Chairman of Scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.ch.Sc, Professor

B.N.Babaev

Scientific secretary of Scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.ch.Sc.

A.A. Akhunov

Chairman of Scientific seminar under Scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.b.Sc, Professor

Introduction

(Annotation of doctoral dissertation in the form of scientific report)

Topicality and relevance of the dissertation theme. Currently, the share of medicinal products derived from plant raw materials is more than 40% of the amount of the medicines used in medical practice. The main part of drugs based on natural compounds are created from biologically active substances extracted from plant raw materials - from alkaloids, flavonoids, ecdysteroidals, proteins, glycosides, essential oils, high molecular carbohydrates and others. In the pharmaceutical industry the bulk of medicaments prepared from the alkaloids which are derived from plant raw materials is produced by the technology developed on the basis of physicochemical properties of the active substance of the created medicament. These causes have some inconveniences to producers of substances. In pharmaceutical factories the production lines producing substances throughout the year can be idle for a while because of the inability of reorientation of the production line to the production of other substances. In particular, at Tashkent Chemical-Pharmaceutical Factory the production line of glaucine works for 3-4 months, cytosine – for 5-6 months. Tashkent Chemical-Pharmaceutical Plant on the liquid-liquid technology produces the substance of galantamine hydrobromide for 3-4 months. In the Institute of the Chemistry of Plant Substances on the liquid-liquid technology, the substance of deoxypeganine hydrochloride is produced for 5-6 months. During the rest of time these production lines are idle. Naturally, this leads to poor performance of these lines. It was possible to improve the performance of these lines with the possible production of other substances. This requires creating unified manufacturing techniques of existing and new drug substances.

Another important issue of the pharmaceutical industry of our country is the need to create new medications from local plant raw materials which are not conceding to imported drugs and their implementation into medical practice. So, despite the great achievements of the pharmaceutical industry of the Republic, the plants producing finished dosage forms of drugs still work using imported substances and intermediates.

From the above issues, it is clear that in modern pharmaceutical industry urgent tasks are creating new medicines based on alkaloids from plant raw materials, the development of production technology of substances of these medicines, the improvement of existing technologies and unification of their production technologies.

This research work devoted to the development of production technologies of biologically active substances from plant raw materials is aimed to the development of the pharmaceutical industry of the Republic in accordance with the Decree of Ministry Cabinet of the Republic of Uzbekistan № 283 from 14 august, 1996 «On measures of the state support for the development of medical and pharmaceutical industry in the Republic of Uzbekistan» and the Decree of the President of the Republic of Uzbekistan № PD-731 from 19 November, 2007 «On the program of modernization of the pharmaceutical industry, technical and technological re-equipment until 2011».

Compliance of the investigation with priorities of science and technological directions of the Republic of Uzbekistan. This work has been performed in accordance with the Decree of the President of the Republic of Uzbekistan No PP - 1442 from 15.12.2010, "On the priorities of industrial development of Uzbekistan". In accordance with this program the investment project "The modernization and reconstruction of the Pilot production (PP) of ICPS for the creation, development and production of original substances from plant raw materials and the most popular generics under GMP requirements, ...» and priority directions of development of Science and Technology of the Republic of Uzbekistan ППИ-11 «Development of production technologies of new medicines based on local natural and synthetic raw materials» is performed.

Review of international scientific researches on the theme of dissertation. North Carolina State University and Oregon (USA), the pharmaceutical company IHN Shanghai (Canada), University of Eastern Piedmont (Italy), the pharmaceutical company «KRKA» (Slovenia), the Alkaloid AD Skopje company (Macedonia), the Adana University (Turkey), Xinjing Technical Institute of Physics & Chemistry, University of Traditional Chinese Medicine, the University of Macau (China), Osaka University (Japan) and others carry out in-depth scientific researches on theoretical and practical studies related to the creation of drugs based on alkaloids from plant raw materials - extraction of alkaloids from plant raw materials, their chemical analysis, the study of pharmacological and toxicological properties of the obtained compounds, the creation of medicines in compliance with pharmaceutics and the field of medicine based on compounds of high biological activity, their qualitative and quantitative research, as well as on the development of production technologies.

A number of research centers and companies have achieved significant results in the creation of drugs based on alkaloids successfully introduced into medical practice such medicaments as anti-inflammatory and antipyretic homeopathic preparation «Aflubin» («Medice Arzneimittel Putter GmbH», Germany) and «Sandra» (CJSC «Pharmcenter VILAR», Russia) on the basis of the aconitine alkaloid derived from the tubers of *Zoongoricum*, the anesthetic drugs «Codelmicst», «Sedal-M», «Sedalgin-NEO» («Rusan Pharma», «Balkanpharma», Bulgaria), «Solpadein» («Boots Healthcare International», United Kingdom) based on the codeine alkaloid, spasmolytic «Bromatropin» («Sopharma», Bulgaria) on the basis of atropine alkaloid, soothing and spasmolytic «Colutan», «Bellaspone» («Galena», «Lechiva», Czech Republic), «Tremoforat» («Klein», Germany) on the basis of alkaloids of the belladonna plant, high blood pressure decreasing «Papazol» («Medisorb», Russia) on the basis of papaverine alkaloid, the antimicrobial agent «Sedacollyre» («The Cooper Companies», USA) based on the berberine alkaloid, the painkiller agents («BOC Sdances», USA, «Chemos GmbH», Germany, «Haihang Industry», China) on the basis of lappaconitine alkaloid, against allergies «Piladren» («Alcon Pharma GmbH», Germany) based on the pilocarpine alkaloid, the anti-arrhythmic «Gilyrytma» («Carinopharm GmbH», Germany) based on ajmaline alkaloid, the anticholinesterase drug «Anticholium» («DR Franz Konler Chemic GmbH», Germany) based on the eserine alkaloid, for the treatment of residual symptoms of a stroke «Nivolina» («Sopharma», Bulgaria) on the basis of the galanthamine alkaloid, contributing to the

increase of potassium in the blood «Kollyr» («Camillo Corvi Farmacia», Italy) based on the hydrastine alkaloid, the painkiller agent «Duramorph» («West Ward pharmaceuticals», USA) on the basis of morphine alkaloid, the anti-smoking agents «Lobatox», «Nicoderm» («GlaxoSmithKline», UK, «Alza Corporation», USA) based on the alkaloids of lobeline and nicotine.

It was previously relevant and in demand in the researches published in international academic journals to develop an individual production technology for each substance based on alkaloids for pharmaceuticals used in medical practice. Currently, the leading research centers pay special attention to the study on the creation of unified and cost-effective production technologies of substances and improvement of existing production lines.

Degree of study of problem. A French pharmacist Deron for the first time (1803) isolated a mixture of alkaloids from opium poppy, a German scientist Serturmer (1806) isolated an alkaloid morphine from opium poppy and established nitrogen atom in its structure, as well as described the basic properties (somnifacient, anesthetizing and others). Later, the French chemists Pelletier and Kaventu isolated strychnine and brucine from the glume grass seeds (1818), quinine and cinchonine from the bark of a cinchonic tree (1820). The American scientists - chemists Woodward and Doering received the Nobel Prize (1944) for the establishment of the chemical structure. The Russian chemist A.A. Voskresensky for the first time isolated theobromine alkaloid from cocoa beans, and defined its chemical structure and properties.

Great merit in the development of chemistry and technology of the production of alkaloids was included by foreign chemists Emeritus Geoffrey A. Cordell, Robert Francis Raffauf, Tadhg P. Begley (USA), Micheal Wink (Germany), Margaret F. Roberts (England), Shinji Funayama (Japan), Gui-Qiu Han, Ya-Yan Chen, Jin-Jiun Lu (China), D.S. Bhakuni (India), Peter R. Cheeke (Canada), Tadeusz Aniszewski (Finland) and Russian scientists A.M. Butlerov, A.N. Shatsky, A.E. Chichibabin, A.P. Orekhov, G.P. Menshikov, R.A. Konovalova, N.A. Preobrazhensky, N.A. Izmaylov, V.A. Bykov, S.A. Minina.

In Uzbekistan, Acad. S.Y. Yunusov for the first time began research on the alkaloids together with colleagues and students (A.S. Sadikov, S.I. Iskanderov, M.S. Yunusov, G.P. Sidiyakin, P.H. Yuldashev, H.A. Aslanov, R.Sh. Shakirov, S.F. Aripova, A.A. Ibragimov). They have isolated thousands of alkaloids from hundreds of plants growing in our Republic and have established their chemical structure. It should be mentioned the great merit of Uzbek scientists M.B. Sultanov, F.S. Sadridinov, N.T. Tulyaganov, H.A. Aliev and F.N. Dzhahangirov in the study and determination of anti-arrhythmic, broncholytic, hepatoprotective, anti-inflammatory, antiviral and other properties of alkaloids.

Works on development of the production technology of medicines based on alkaloids began in Germany, France, Great Britain, USA and China. At the end of the 19th century the production of alkaloids was organized in Russia. In Moscow a plant for the production of alkaloids began working. Later, Moscow Chemical-Pharmaceutical Research Institute, Kharkov Chemical-Pharmaceutical Institute and All-Union Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants were

established. Shymkent, Batumi, Tashkent chemical-pharmaceutical plants were built and they began to work on the production of substances from plant raw materials, including the production of pharmaceutical substances based on alkaloids.

The biological activity of alkaloids described in this dissertation and on which developed the production technologies are defined by group of scientists of the department of pharmacology and toxicology of the Institute of the Chemistry of Plant Substances.

Connection of the dissertation work to the state programs or plans of Scientific-research works. This work has been carried out in accordance with the problem-thematic plan of ICPS AS of the RUz and grants of State scientific-technical and innovative programs: 2.29 "Bioorganic chemistry", the subject «Learning patterns of technological processes of production of biologically active compounds of synthetic and plant origin» (No. state reg. 0197000561) (1971-1991); RUz-NSTP - 10 «Creation of new medicines based on local raw materials of synthetic and plant origin and development of high-performance technologies for their production» (1994-1996); RUz-NSTP – 15 «Development and preparation for introduction into medical practice the medicines Aksaritmin, Flanorin and Dry extract of Althaea» (2003-2005). RUz-NSTP Grant No. A-10-131 «The creation and introduction into medical practice two export-oriented antiarrhythmic drugs of new generation - N-desacetylappaconitine and neoallapinin» (2006-2008); RUz-IP Grant No. IDF-8 «Development of new industrial production technology of export oriented substance of the drug galantamine hydrobromide and production of 5 kg of substance» (2007-2008); RUz-IP FA–I3–T10 «Introduction of new cost-effective and environmentally friendly technology for the production of substances of the antiarrhythmic drug allapinin» (2011-2012); RUz-IP Grant No.I-2012-33 «Experimental and clinical development of the pleiotropic properties of original domestic import substituting drugs for the treatment of cardiovascular diseases» (2012-2013); RUz-IP Grant No.I6-FA-0-11621 «Introduction into medical practice new import-substituting and antiarrhythmic drugs aksaritmin and antiaritmin» (2013-2014).

Purpose of the research is to create unified production technologies of substances of the medicines and bioreagents based on (diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine, and steroidal classes) alkaloids of various basicities.

The following **tasks of the research** have been solved to fulfill the set goal:

the study of the basicity strength ($\text{pH}_{\text{b,b}}$) of 11 alkaloids – representatives of the diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids classes;

the study of the solubility of alkaloids in alcohol-water mixtures of different concentrations;

the development of technology for the production of alkaloids by aqueous-alcoholic extraction of plant raw materials based on seven drugs and six bioreagents, such as protopine hydrochloride from the herb *Fumaria vaillantii*, licorine hydrochloride from the leaves of *Ungernia Sewertzovii*, allapinin and aklezin from the aerial part of *Aconitum leucostomum*, allapinin and aksaritmin from the rhizomes and roots of *Aconitum septentrionale* and *Aconitum leucostomum*, galantamine hydrobromide from the leaves of *Ungernia victoris*, antiaritmin from the wastes of allapinin production, geliotrine from the the aerial part of *Heliotropium dasycarpium*,

bicuculine, d- β -hydrastine from the the aerial part of *Corydalis pseudoadunca*, aconitine from the tubers of *Aconitum Zoongoricum*, imperialine from the aerial part of *Petilium eduardii*, donaxine hydrochloride from the leaves of *Arundo donax*.

the development of cost-effective and ecologically safe production technology of substances of the drug allapinin;

the optimization of extraction process of plant raw materials with mathematical planning of experiments method of Box-Wilson;

the development of optimal conditions for purification of the raw material extracts, processes for obtaining technical products and methods of cleaning;

the development of methods for stepwise control of the production, the specifications and technical documentation for raw materials, substances and finished dosage forms;

the establishment of a pilot plant based on the PP of the Institute for the production of alkaloids by aqueous-alcoholic extraction of plant raw materials;

the development of normative and technical documentations and industrial production regulations and industrial mastering of technology for obtaining substances of medicines and bioreagents.

The object of the study is alkaloid-containing plants *Fumaria vaillantii*, *Ungernia Sewertzovii*, *Ungernia Victoris*, *Aconitum leucostomum*, *Aconitum septentrionale*, *Heliotropium dasycarpium*, *Corydalis pseudoadunca*, *Aconitum Zoongoricum*, *Arundo donax*, *Petillum eduardii*, as well as production wastes of allapinin.

Subject of the study is diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids.

Methods of the research. Technological (the solid-liquid, liquid-liquid extraction systems, sedimentation processes, crystallization, drying, chromatographic separation, ion-exchange purification, ultrafiltration), physical, chemical (UV, IR, NMR) and analytical (TLC, non-aqueous titration, spectrophotometric, photolorimetric HPLC) methods were used in the process of the work.

Scientific novelty of the dissertational research consists of the following:

The strength of basicity ($\text{pH}_{b,b}$) of 11 diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids (protopine $\text{pH}_{b,b}=3.6$, licorine $\text{pH}_{b,b}=7.5$, galantamine $\text{pH}_{b,b}=5.8$, geliotrine $\text{pH}_{b,b}=7.3$, bicuculine $\text{pH}_{b,b}=3.2$, d- β -hydrastine $\text{pH}_{b,b}=2.2$, aconitine $\text{pH}_{b,b}=3.6$, donaxine $\text{pH}_{b,b}=6.2$, imperialine $\text{pH}_{b,b}=4.8$, lappaconitine $\text{pH}_{b,b}=3.4$, N-desacetylappaconitine $\text{pH}_{b,b}=3.7$) was for the first time identified in order to use this indicator in the study of heterophasic processes of their production;

for the first time it was established that all the 11 examined alkaloids in salt form, irrespective of their basicity strength, are readily soluble in aqueous alcohol with the concentration of 75-85% and with the maximum solubility in 55% alcohol, and it was proved that this figure could be the basis for the creation of the unified technology of alkaloids;

it was experimentally determined that regardless of a chemical structure the alkaloids can be selectively extracted from plant raw material with 75-85% ethanol solution with the lowest content of other extractive substances;

the optimal conditions of the extraction process of plant raw materials were found by optimization using method of mathematical planning of experiments;

for the first time the unified industrial production technology of 7 medicines and 6 bioreagents was developed by using 75-85% solution of ethyl alcohol as an extractant for diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids.

Practical value of the results of the research is the following:

The industrial production technology of substances of preparations on the basis of diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids by the method of hydroalcoholic extraction of plant raw materials has been established. It was revealed for the first time that, regardless of the basicity strength of alkaloids, they may be extracted from the raw materials with 75-85% ethanol solution. Also it was founded that these ethanol concentration alkaloids are extracted selectively and with the least amounts of concomitant extractive substances.

On the base of the Pilot manufacture of the Institute, a technological line for the industrial production of alkaloids using the developed technology has been assembled.

As a result of implementing an advanced production technology of the allapinin drug, the toxic substances such as sulfuric acid, methanol and chloroform have been excluded from the technological cycles. As a result, the cost of the product significantly decreased.

For the created medicinal preparations and bioreagents the appropriate pharmacopoea or temporary pharmacopoea articles, experimental-industrial or industrial regulations were developed, registration certificates were received, and the processes of their production were patented.

Verification of the obtained data. Modern technological (solid-liquid extraction, liquid-liquid extraction, precipitation, crystallization, drying) and analytical (UV-, IR-, NMR- spectroscopy, spectroscopy, thin layer chromatography, anhydrous titration, photocalorimetry, high performance liquid chromatography) methods in the production of new medicines and bioreagents with the unified technology passed approbation with the approval of normative and technical documentation of authorized state bodies.

Theoretical and practical value of the results of investigation. As a result of the conducted researches, the unified installation for the production of diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids by extraction method of plant raw materials with a solution of ethyl alcohol has been developed. Conditions for the production of alkaloids of above-mentioned classes with conducting minor changes in this installation have been created.

The technology for the production of substance of a new drug antiarritmin from wastes of the industrial production of allapinin drug substance have been developed.

Realization of the results. On the basis of the obtained scientific results by unification of the production technology of alkaloids from plant raw materials:

all normative and technical documentation for the production of drugs «Allapinin», «Protopine hydrochloride», «Aksaritmin», «Galantamine hydrobromide», «Aklezin» (registration certificates 00/523/3 from 22.11.2010; 004-

01 from 22.03.2001; 0008/01/15 from 30.01.2015; 04/415/6 from 19.01.2015) and of the Ministry of Health of the Russian Federation («Allapinin», «Galantamine hydrobromide», «Aklezin») (R No.014369/01 from 27.12.2011, FS-000 243 from 22.11. 2011) were approved by the authorized bodies of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan;

bioreagent "Aconitine" (pure) was included (112/001641 from 24/06/2014) by the Agency "Uzstandard" in the State Register (Ts 035-3440-017:2014).

On the basis of the export license agreement (No.90295 from 22.06.2000, JSC «Pharmcenter VILAR», Russian Federation), 1369 kg (valued 6.4 million US dollars) of substances of the drug allapinin was produced in 2011-2014;

On the basis of the export license agreement (No.1/08 from 09.08.2012, JSC «VIFITEH», Russian Federation), 3 kg (valued 54.0 thousand US dollars) of substances of the drug galantamine hydrobromide was produced and delivered to the customer in 2011-2014.

On the basis of the contract (№4-L/01 from 27.04.2011, the company «LATOXAN», France) 1389 g (valued 90.4 thousand Euros) of bioreagent aconitine was exported in 2011-2014.

Approbation of the work. The results of the dissertation were reported at the Republican and international forums: «Actual Problems of Chemistry of Natural Compounds» (Tashkent, 1993), «International Symposium on the Chemistry of Natural Compound» (Bukhara, 1994; Eskisehir, Turkey, 1996, 2001, 2009; Ankara, Turkey, 2005; Tashkent, 2003, 2007; Urumchi, China, 2011), «Creation of medicinal resources, therapeutic and prophylactic facilities and use in medical practice» (Samarkand, 1996, 2000), «Medicinal Raw Material and Phytopreparation for Medicine and Agriculture» (Karaganda, 1999), «Integration of education, science and production in the pharmacy» (Tashkent, 2002), «1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients» (Urumqi, China 2008), «Terpenoids: achievements and prospects of application in the field of chemistry, production technology and medicine» (Karaganda, 2008) and others.

With the decree of the President of the Republic of Uzbekistan (23 August, 2007), part of the dissertation devoted to "Development and creation of a new domestic drug of antiarrhythmic action «Allapinin», introduction into clinical practice and organization of its mass production" was awarded the I-degree State Prize of the Republic of Uzbekistan in the field of science and technology.

Publication of the results. On the basis of the main scientific results of the dissertation, 10 scientific articles and 36 report theses were published, 21 patents and copyright certificates of the Republic of Uzbekistan and the Russian Federation were obtained, 14 pharmacopoeial articles, 9 industrial regulations were developed and approved by the authorized bodies.

Structure and volume of the dissertation. The dissertation in the form of a scientific report consists of four sections, conclusion, and the list of 90 published scientific works. The material of work is set on 136 pages, main text in three languages (Uzbek, Russian, English) on 129 pages. It includes 1 table and 13 figures.

MAIN CONTENT OF DISSERTATION

Section 1. The main criteria for the development of a unified production technology of diterpenoid, isoquinoline, indole, pyrrolizidine and steroidal alkaloids from plant raw materials

1.1. The current state of industrial methods for the production of alkaloids from plant raw materials

In plant tissues the alkaloids are contained as salts mainly of organic (oxalic, malic, acetic, succinic, etc.), less of mineral (sulfuric, phosphoric, thiocyanic) acids. The salts of alkaloids are usually well soluble in water, poor soluble in alcohol and insoluble in organic solvents such as chloroform, dichloroethane and others.

The alkaloids can be isolated from plants by extraction in the form of salts or in the form of bases. In most cases, the process of obtaining the alkaloids from plant raw materials is divided into three main stages:

1. Extraction of the alkaloids from plant raw materials;
2. Purification of the extracts from the ballast substances;
3. Separation and purification of the sum of alkaloids.

Three groups of methods of alkaloid extraction are known: extraction, ion-exchange, or electrochemical (electrodialysis). The most commonly used method among them is extraction method based on process of multiple liquid-liquid extraction of alkaloids by various solvents. In all cases, during the extraction, the concomitant substances (saponins, resins, lipids, flavonoids, etc.) are extracted together with alkaloids which require further purification of the desired product.

For the development of rational technology of industrial production of alkaloids from plant raw materials, the main and decisive factor is the selection of selective, cost effective extractant, which can maximize the extraction of the desired alkaloid. With the purpose of selection of the selective extractant, the solubility of the isolating alkaloid in various organic solvents and their mixtures, water, solutions of mineral and organic acids at various temperatures were preliminarily studied. Depending on the obtained results, the solvent or mixture of solvents as extractant was selected.

While investigating the basicity strength of a number of alkaloids and their solubility, acad. Kh. N. Aripov established the dependence of the alkaloid solubility in different solvents on the strength of its basicity. He proposed the following classification of alkaloids.

Strongly basic alkaloids ($\text{pH}_{\text{b,b}} \geq 9$) are easily soluble in water, aqueous solutions of mineral and organic acids, alcohols and, consequently, well extracted from plant raw materials with listed solvents but poorly soluble with organic solvents. Such alkaloids are well adsorbed on the sorbents, but poorly desorbed. From the chloroform solution they are well extracted with water or acid solutions with $\text{pH} < 8$.

Medium basic alkaloids ($1,5 \leq \text{pH}_{\text{b,b}} \leq 9$) are easily soluble in organic solvents, aqueous solutions of various minerals and organic acids. They are well extracted from plant raw materials with water, weak solutions of mineral and organic acids; are easily extracted from chloroform in a buffer solution, and from aqueous or acidic solution after alkalization are extracted by organic solvents. Medium basic alkaloids are well adsorbed on ion-exchange sorbents and desorbed.

Weakly basic alkaloids ($pH_{b,b} \leq 1,5$) are easily soluble in organic solvents, and poorly soluble in aqueous solutions of various mineral and organic acids. From plant raw materials the weakly basic alkaloids are easily extracted with organic solvents only after its prior wetting by alkaline agents. Some weak bases are well extracted and do not need an alkalization. Weakly basic alkaloids are very poorly or not extracted from chloroform buffer solutions and even with 5-10% solutions of mineral or organic acids. They are very difficult to adsorb on the sorbents and very difficult to desorb. Thus, for the development of a rational technology for isolation of a particular alkaloid, firstly, the basicity strength of the desired alkaloids must be examined and, in accordance with the classification of obtaining methods, the extractant must be chosen and then a technology for the production stages must be developed.

The classification of acad. Kh. N. Aripov, the methods of isolating alkaloids from plant raw materials, recommends isolating weakly basic alkaloids with hot water or organic solvents, strongly basic alkaloids – by extraction of plant raw materials with alcohol or aqueous acids. However, some alkaloids are not resistant to strong alkalis, acids, light, temperature, etc., while extracting them from plant raw materials; they do not obey regularities arising from the technological classifications of acad. Kh. N. Aripov. Therefore, when developing the production technology of alkaloids, in addition to the basicity strength, it is also necessary to consider their physico-chemical properties and structural characteristics.

Consequently, for the development of rational technology for alkaloid production, it is necessary to study the basicity of alkaloids present in the raw materials, their properties, chemical structure, and choose the flow chart of production in relation to a concrete plant and find optimal conditions for each stage of technological process.

1.2. Production technology of drug substances based on alkaloids using aqueous-alcoholic extraction of plant raw materials

The rapid development of bioorganic chemistry, increase of the arsenal of medications and bioreagents of the alkaloid nature pose new challenges for researchers to improve the known and development of new standardized schemes of their production.

Alkaloids in plant raw materials are usually available in small amounts, in the range 0.1-1.0%, although there are some plant tissues in which the alkaloid content can be up to 5-10% by mass of air-dry raw material. Areas of distribution of many alkaloid plants are limited and not permitted storing raw materials in large volumes. In this regard, the production of medications on the basis of alkaloids is low, and alkaloids are produced ranging from a few kilograms up to 100-200 kg. In exceptional cases, the production volume reaches 300-500 kg per year.

If also to take into account that each alkaloid is isolated on its original technology, many lines on pharmaceutical plants stand idle or not work at full capacity due to the impossibility of reorientation of the technological line from production of one alkaloid on another. For example, the existing production lines for the production of substances of glaucine (Shymkent CFP, operates 3-4 months/year), galantamine hydrobromide

(liquid-liquid technology, Tashkent CFP, 3 months/year), deoxypeganine hydrochloride (liquid-liquid technology, the PM of ICPS AS RUz, 5-6 months/year), cytosine (ion-exchange technology, Shymkent CFP, 6 months/year), and others.

As a result of studying the basicity strength of 11 alkaloids, we found that heliotrine has $pH_{b,b} = 7,3$; d- β -hydrastine – $pH_{b,b} = 2,2$; bicuculine – $pH_{b,b} = 3,2$; lycorine – $pH_{b,b} = 7,5$; imperialine – $pH_{b,b} = 4,8$; protopine – $pH_{b,b} = 3,6$; lappaconitine – $pH_{b,b} = 3,4$; donaxine – $pH_{b,b} = 6,2$; galantamine – $pH_{b,b} = 5,8$; N-desacetylappakonitine – $pH_{b,b} = 3,7$; aconitine – $pH_{b,b} = 3,6$ (fig. 1).

Our investigations of solubility of various salts of a number of the biologically active alkaloids, including 11 above-mentioned compounds in the system of alcohol-water showed that the vast majority of alkaloids regardless of the strength of basicity are readily soluble in the solutions of ethyl alcohol. The solubility of the alkaloids was tested at the temperature of boiling water-alcohol mixtures.

As can be seen from fig. 1, the maximum solubility of the above alkaloids is observed at the volume strength of alcohol 55%. When extracting the plant raw materials with 55% ethyl alcohol, except alkaloids, a large number of extractive substances are also extracted. The ratio of yields of the desired product and extractive substances, the dynamics of the extraction of a complex of substances from plant raw materials depending on the alcohol concentration are shown in fig. 2 and 3 on the example of extraction of galantamine and accompanying alkaloids from the leaves of *Ungernia Victoris*.

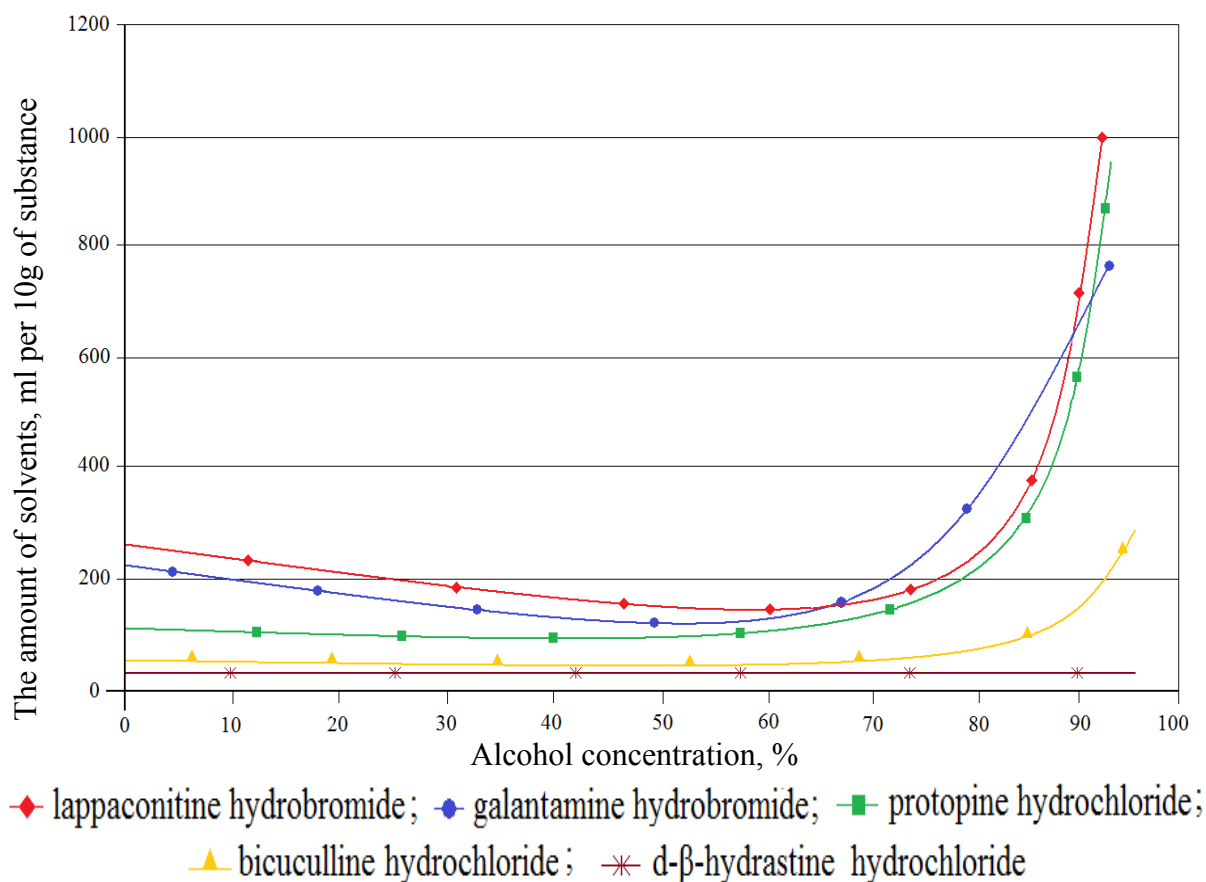


Fig. 1. Solubility of some alkaloids in the alcohol-water mixture

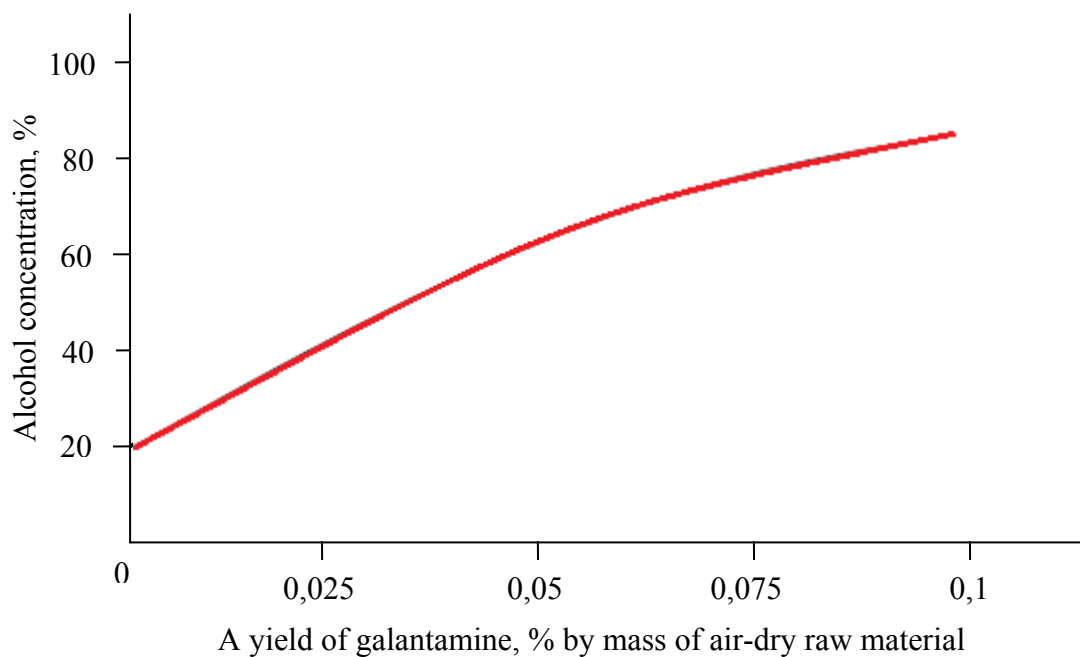


Fig. 2. Change in a yield of galantamine depending on the alcohol concentration

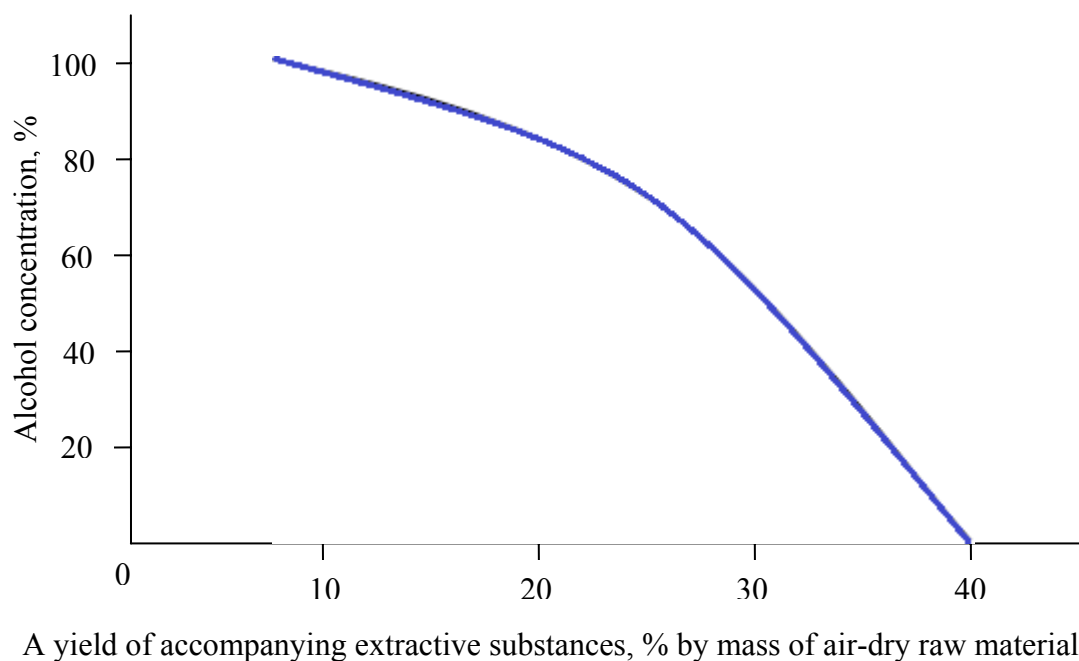


Fig. 3. Change in a yield of accompanying extractive substances on the alcohol concentration

From fig. 2, it is seen that when raw materials are extracted by alcohol with strength of less than 20%, the yield of galantamine is very low. This is due to the fact

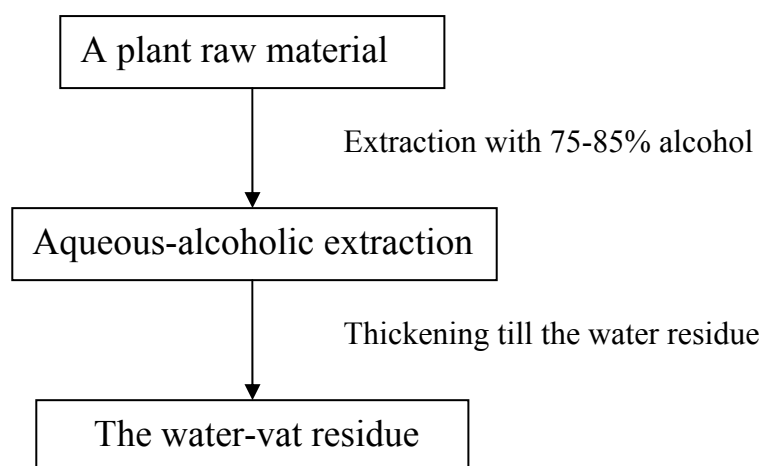
that when alkaloids are extracted from the alkaline, vat solution with organic solvent (chloroform) forms a resistant emulsion, which practically is not separated. The optimal concentration of ethyl alcohol is its strength of 75-85%. In this case, the maximum sum of alkaloids is extracted with the minimum amount of accompanying extractives. Similar results were obtained for the other above-mentioned alkaloids.

So, our studies showed that the alcohol-water mixture as the extractant can extract alkaloids of different strength of basicity from various alkaloid containing plants. The obtained data allowed us to unify the process of the extraction of alkaloids from plant raw materials, and its purification.

Here are the main stages of the production of alkaloids by aqueous-alcoholic extraction of plant raw materials:

1. Extraction of the sum of alkaloids from grinded plant raw materials with the solution of ethyl alcohol of strength of 75-85%;
2. Evaporation of the extract till the water-vat residue;
3. Obtaining the technical product and its purification depending on the strength of basicity and physico-chemical properties of the isolating alkaloid.

Thereby, the flow chart of the key step of the production technology of alkaloids from plant raw materials by aqueous-alcoholic extraction looks as follows:



Designed aqueous-alcoholic process of the extraction of alkaloids from plant raw materials with the subsequent reception of the basic substance enables in industrial environments on a single production line with a slight modification to produce several alkaloids with the various strength of basicity. Using the results of the studies, we established a production line for the production of alkaloids from plant raw materials by aqueous-alcoholic extraction, which is based on the PM of ICPS AS RUz.

Our research resulted in the development and introduction of production technologies of 7 medications and 6 bioreagents based on alkaloids by aqueous-alcoholic extraction of alkaloids from plant raw materials, which are provided below.

Section 2. Unified production technology of substances of the drugs protopine hydrochloride, lycorine hydrochloride, galantamine hydrobromide, allapinin, aklezin, aksaritmin, antiaritmin

2.1. Production technology of substances of preparation protopine hydrochloride from the herb *Fumaria vaillantii* [19, 32, 45, 46, 63]

10 kg of grinded to a particle size of 5-10 mm herb *Fumaria vaillantii* is extracted six times by the infusion method with 80% ethanol. In the first extraction, 40 liters of extractant serves, and it is infused for 12 hours and then 16 liters of the extract is poured. The second extraction is performed by pouring 16 liters of extractant and after the infusion for 9 hours, 16 liters of the extract is decanted. Further, the 3rd, 4th, 5th and 6th extraction of alkaloids with the infusion method are carried out within 8, 6, 4, 3 hours respectively (fig. 4).

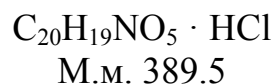
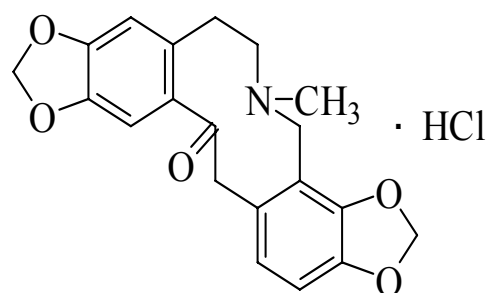
The extracts are combined and thickened to an aqueous residue making 10% (9.6 l) of the original volume of the extract.

The aqueous residue is filtered and alkalized up to pH 9-10 with sodium carbonate solution, and alkaloids are extracted 4 times with 6 liters of chloroform. From the chloroform extract alkaloids are extracted 5 times with 1 liter of 10% sulfuric acid solution. The acidic extracts are combined and washed 2 times with 2 liters of chloroform. Then, the sulfuric acid extract is alkalized up to pH 9-10, alkaloids are extracted 3 times with 3 liters of chloroform and the combined chloroform extract is evaporated to dryness. With processing the methanol from the dry residue, the technical protopine is isolated, which is further processed with the calculated amount of 5% hydrochloric acid and the precipitated protopine hydrochloride is separated. Protopine hydrochloride is recrystallized from distilled water at a ratio 1:8. 16.2 g protopine hydrochloride or 0.16% by mass of air-dry raw material is obtained. The yield is 76% of the content in the raw material.

A set of essential scientific-technical documents (temporary pharmacopoeia articles on the plant raw material, substance, a dosage form, experimental industrial regulations on the production of substances and dosage form, the instructions for use of the drug, and others) for the introduction of the drug in medical practice has been developed [32, 45, 46].

Indications for use. The drug protopine hydrochloride is used in medical practice as a bile stimulating and hepatoprotective agent.

*The structural formula of
protopine hydrochloride:*



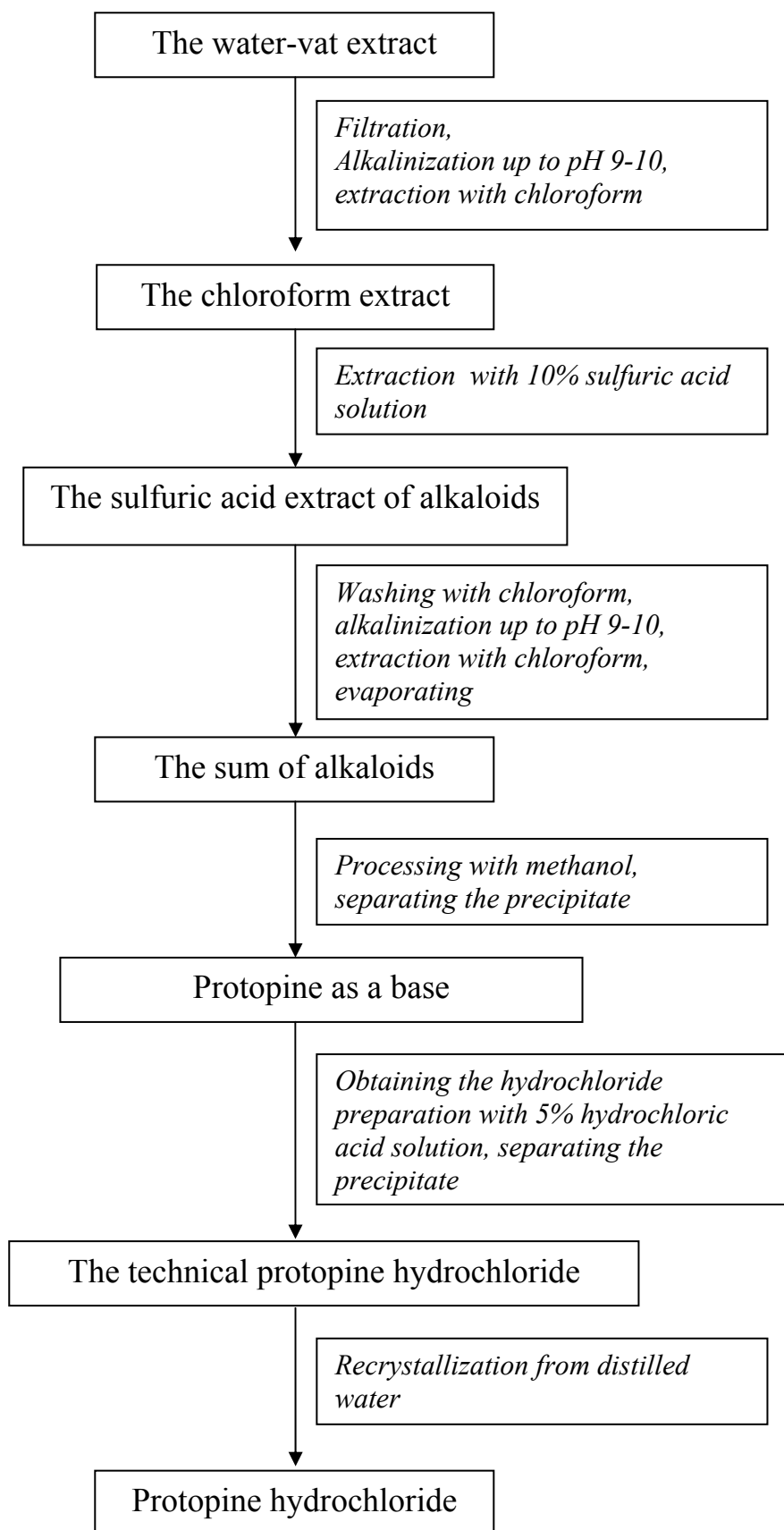


Fig.4. The flow chart of the production of substance of the drug protopine hydrochloride from the herb *Fumaria vaillantii*

2.2. Production technology of substance of licorine hydrochloride from the leaves of *Ungernia Sewertzovii* [6, 13, 30, 36, 67, 69]

100 kg of leaves of *Ungernia Sewertzovii* after grinding to a particle size of 10-20 mm is loaded to the extractor, 300 liters of 80% ethanol (1:3 ratio) is poured and left to infuse for 10 hours, and then it is poured out. The obtained 160 liters of extract are thickened. 160 liters of 80% ethanol is poured for the second time. Analogously, 4 more extractions are carried out with an infusion method 7, 5, 3 and 3 hours respectively. The extracts are combined and thickened till the water residue (9-10% of the original volume) (fig. 5).

About 96 liters of extract obtained, filtered, and then added 50 liters of chloroform and alkalized with ammonia up to pH 9-10.

From the alkaline solution alkaloids are extracted 4-5 times with 50 liters of chloroform. To the combined chloroform extracts 50 liters of 10% sulfuric acid solution is added and the chloroform is evaporated. The sulfuric extract of alkaloids is washed twice with 30 liters of chloroform.

To the purified sulfuric solution of alkaloids 500 g (1%) of absorbent carbon is added and the mixture is heated with stirring to 85-100°C for 15-20 min. The solution is then filtered, cooled and technical licorine is precipitated as a base with 25% ammonia solution at pH 9-10. The precipitated technical licorine is filtered off and dried. As a result, 250 g of a technical licorine is obtained.

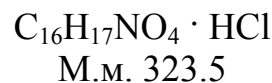
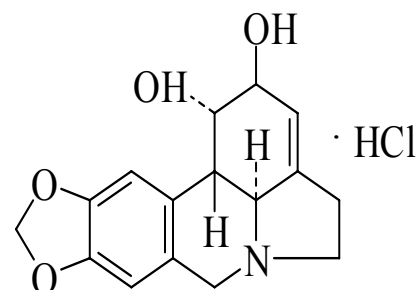
For obtaining pharmacopoeia quality licorine hydrochloride, a technical product is processed with 5% hydrochloric acid solution up to pH 1.0-1.5. The technical licorine hydrochloride is recrystallized from distilled water and 180 g of licorine hydrochloride obtained, which meets the requirements of PA-Uz-1349-79. The yield of the desired product is 73-75% of the content in the raw material.

The current production technology of licorine hydrochloride is retested on the semi-factory installation of the ICPS. Experimental-industrial regulation developed and introduced on the PM of ICPS AS of the RUz in 1984, the serial production of licorine hydrochloride is organized.

Indications for use. Licorine hydrochloride is used in medical practice in the form of tablets of 0.002 g as an expectorant, as well as against the acute form of bronchitis and bronchial asthma.

The method of producing the drug licorine hydrochloride is protected by the copyright certificate [30] and patent of the RUz [13].

The structural formula of licorine hydrochloride:



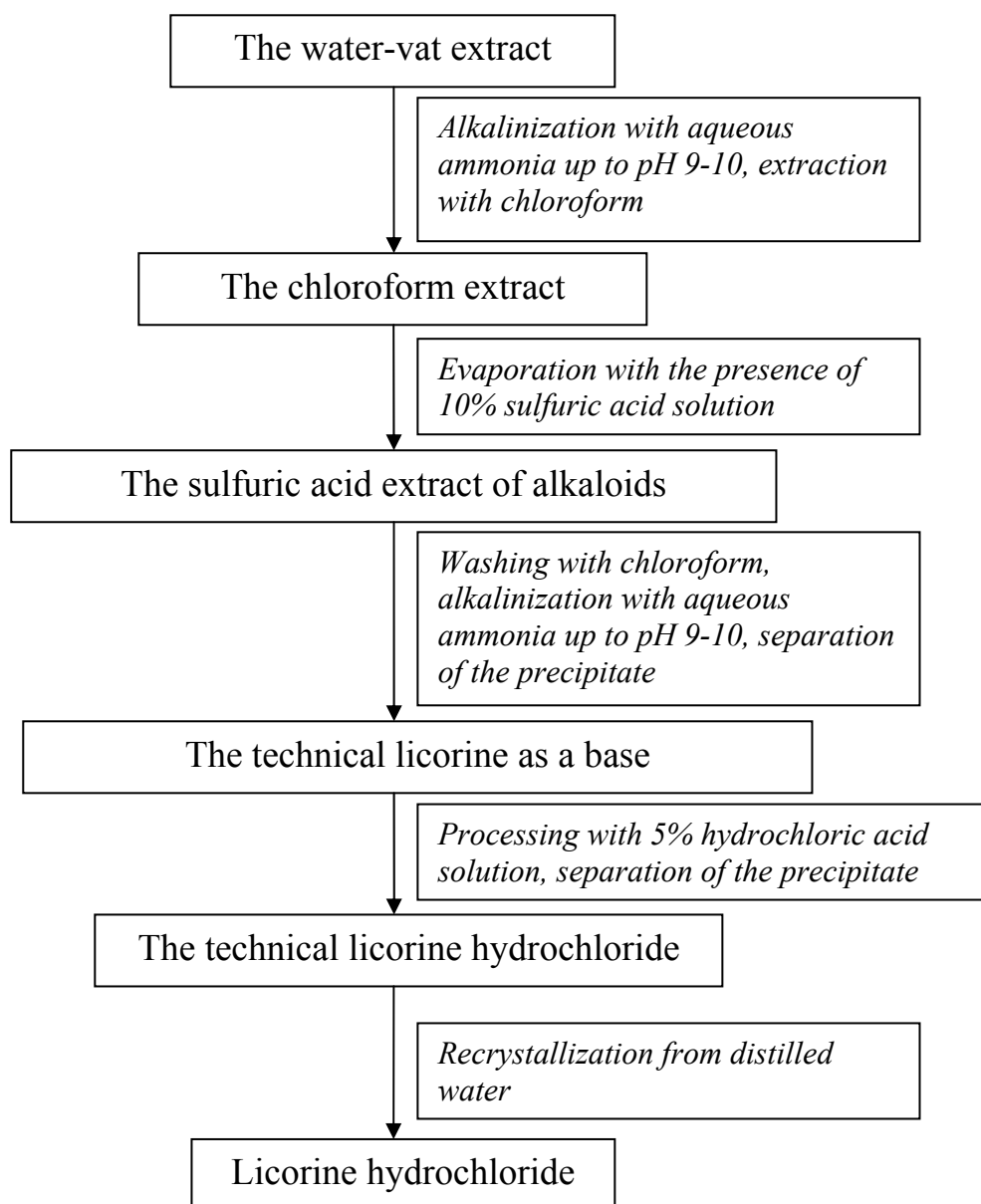


Fig.5. The flow chart of the production of licorine hydrochloride from the leaves of Ungernia Sewertzovii

2.3. Production technology of substance of galantamine hydrochloride from the leaves of Ungernia Sewertzovii [23, 39, 51, 52, 73, 77]

80 kg of grinded to a particle size of 10-20 mm leaves of Ungernia Victoris is loaded to the extractor, 140 liters of the sixth hydroalcoholic extract from a previous load is poured and 160 liters of 80% ethanol solution (ratio 1:3.7) and allowed to infuse for 10 hrs. Then 140 liters of extractant is poured out. Similarly, 2nd – 6th extractions are carried out. The extracts of alkaloids obtained from the five extractions are combined, thickened in a vacuum evaporator till a residue 8.0-11% of the original volume (fig. 6).

About 70 liters of thickened water extract is obtained. Further, it is filtered or decanted from the tarry substances, alkalized with 25% ammonia solution up to pH 8-10 and alkaloids are extracted fourfold with 20 liters of chloroform. The chloroform extracts are combined and alkaloids are extracted five times with 10 liters of 5% sulfuric acid solution. To remove undesirable admixtures, the acidic solution of alkaloids is washed twice with 15 liters of chloroform.

The purified sulfuric acid solution of alkaloids (45 liters) is alkalized with 25% ammonia solution up to pH 8-10 and alkaloids are extracted fourfold with 20 liters of chloroform.

The obtained combined chloroform solution of alkaloids is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and evaporated. The yield is 115 g sum of alkaloids or 0.145% by mass of air-dry raw material.

The sum of alkaloids (115 g) is dissolved in 0.230 liter of acetone and while cooling at the temperature of 5-10°C and stirring, the concentrated hydrobromic acid (up to pH 1) is added. The precipitated galantamine hydrobromide is separated, washed with acetone, dried and 40.9 g of a technical product is obtained.

The technical galantamine hydrobromide in an amount of 40.9 g is recrystallized from 55% ethanol solution (in the ratio 1:10) and this gives 38.4 g of galantamine hydrobromide with a content of the main product 98-102%. The yield of the final product of galantamine hydrobromide is 80% of the content in the plant raw material.

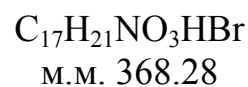
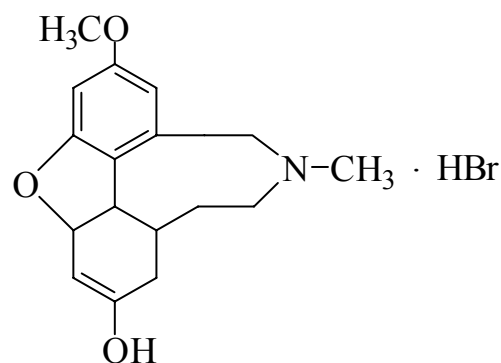
The production technology of galantamine hydrobromide from the leaves of *Ungernia Victoris* is retested on the base of the PM of the ICPS. Experimental-industrial regulation was developed, which was introduced on the PM of ICPS AS of the RUz in 2005, the serial production of galantamine hydrobromide is organized.

For realization of the export of substance of galantamine hydrobromide, extensive work was carried out and the drug is registered in the Russian Federation. There is an agreement with CJSC «VIFITEX» (Moscow, Russia). In accordance with the contract, after the registration, CJSC « VIFITEX » will produce a finished product of galantamine hydrobromide from the substance of our production for the needs of the Russian pharmaceutical market. Currently, the export of the substance of galantamine hydrobromide (2 kg) is carried out for the first time.

The method of producing the drug galantamine hydrobromide is protected by patent of the RUz [23].

Indications for use. Galantamine hydrobromide as a solution (ampoules of 1 ml – 1%) and tablets of 0.01, 0.02 g in medical practice is applied against myasthenia gravis, progressive muscular dystrophy, motor and sensory disorders, associated with neuritis, polyneuritis, radiculitis, radiculoneuritis, with residual problems after cerebral circulatory disorders, psychogenic impotence and other pathologies.

The structural formula of galantamine hydrochloride:



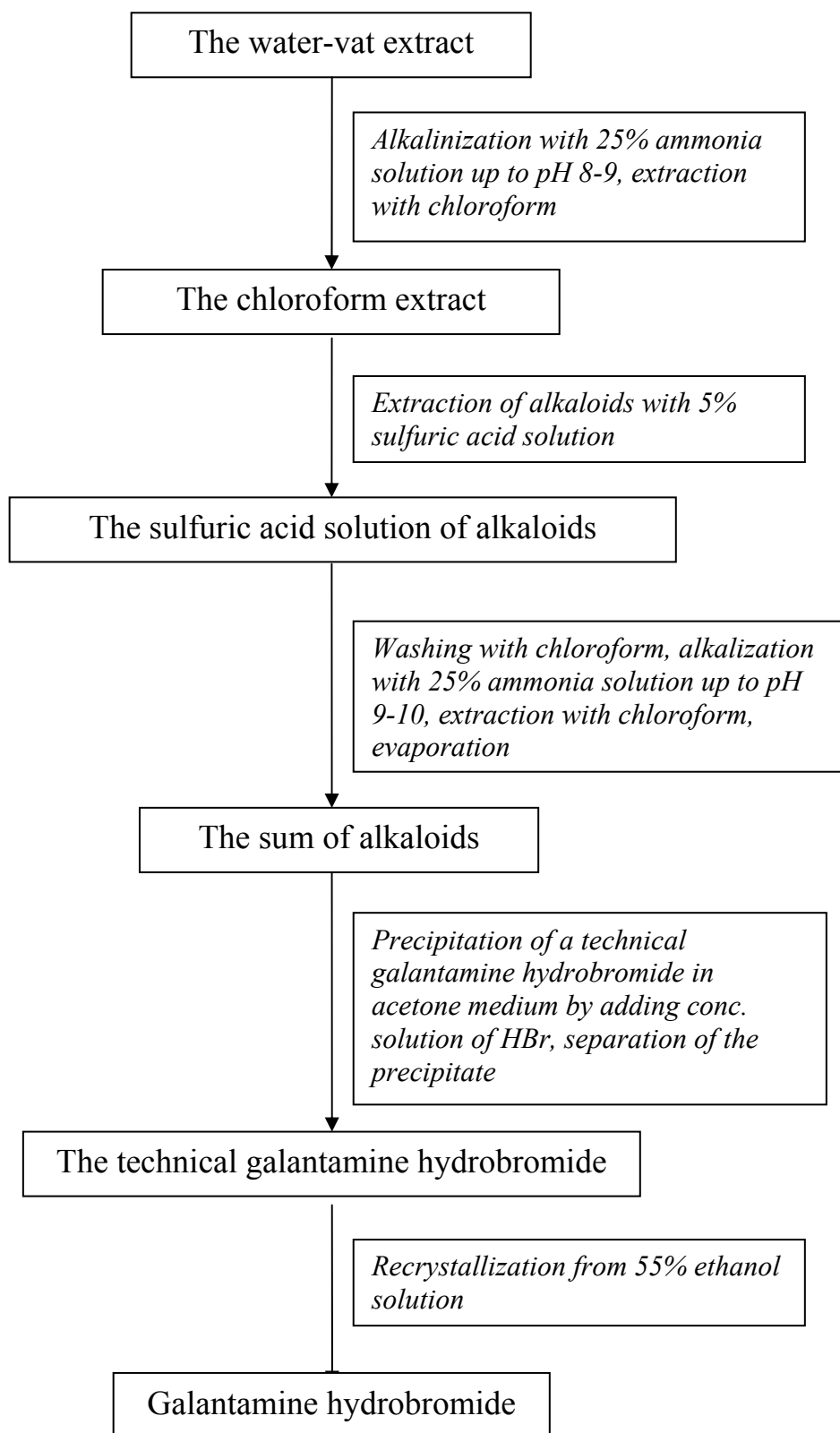


Fig.6. The flow chart of the production of substance of galantamine hydrochloride from the leaves of *Ungernia Sewertzovii*

2.4. Production technology of substances of allapinin from the aerial part and from the rhizomes with roots of *Aconitum leucostomum* and *Aconitum septentrionale* [2–4, 14, 15, 24, 29, 38, 40, 43, 44]

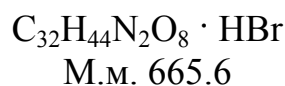
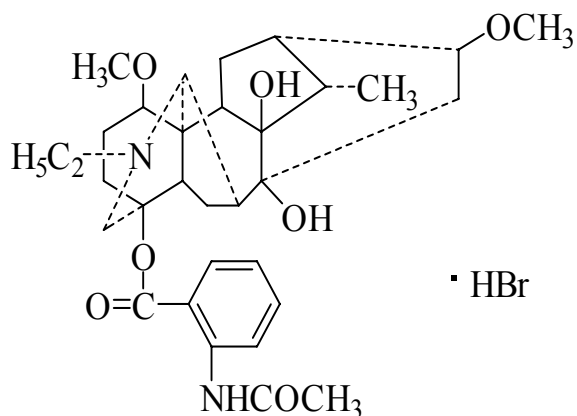
Perennial herbaceous plants of the buttercup family the *Aconitum leucostomum* and *A. septentrionale* (by habitus and chemical composition these plants are almost the same) are species with a wide habitat growth, covering the territory of forest and forest-tundra regions of Western and Eastern Siberia, the forest areas of Central Asia, China, Japan, Canada and others. (Флора СССР. Изд-во АН СССР, М. - Л., - 1937. с.190-236; Тахтаджян А.Л. Система и филогения цветковых растений. Изд-во «Наука» М.-Л.- 1966 г. 611 с.).

According to the botanists of All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), annually it is possible to harvest hundreds of tons of the aerial parts and air-dried rhizomes with roots of *A. septentrionale* and *A. leucostomum* without destroying their natural reserves. Lappaconitine substance in the aerial part of *Aconitum leucostomum* reaches up to 0.8-1.0% by mass of air-dry raw material, depending on soil and climatic conditions and the place of growth.

In accordance with the developed technology (fig. 7), an air-dry raw material, the aerial part of *Aconitum leucostomum* is grinded in the mill (1), extracted with 80% ethanol (2), thickened (5), the water-vat residue of the extract is received (6). Then, it is separated by filtration or decanting the floating to the surface protein-lipid complex and alkalized with a saturated solution of sodium carbonate until pH 10-11, the alkaloids are extracted with chloroform (7). The obtained chloroform extract is charged into the reactor (8) and the exhaustive alkaloids are extracted with 5% sulfuric acid solution. To remove the admixtures of not alkaloid nature, the acidic solution of alkaloids is washed twice with chloroform. The chloroform is added to the purified acid solution and alkalized with saturated sodium carbonate solution up to pH 10-11. The alkaloids are extracted with chloroform (9) until a negative response to the alkaloids with silicotungstic acid solution. The chloroform extract is evaporated to dryness (10) which provides the sum of alkaloids to 0.8-1.0% by mass of air-dry raw material.

The dried sum of alkaloids are processed with alcohol (11), the precipitated lappaconitine with admixtures of accompanying alkaloids is separated, washed with alcohol and dried, and technical lappaconitine with admixtures of accompanying alkaloids is obtained.

The structural formula of the hydrobromide salt of the alkaloid lappaconitine - the main active substance of allapinin:



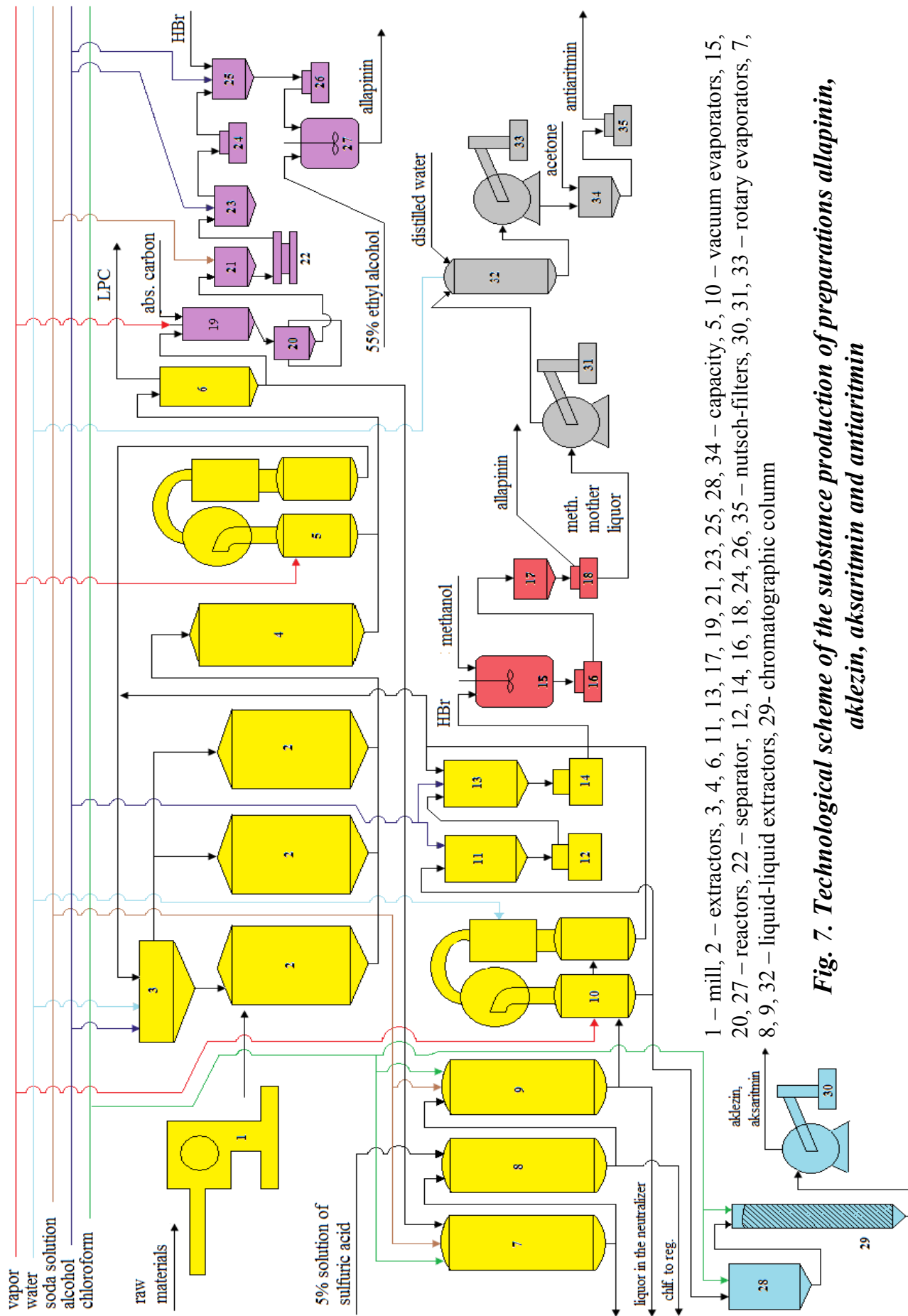


Fig. 7. Technological scheme of the substance production of preparations allapinin, aklezin, aksartrinin and antiartrinin

Hydrobromide salt of lappaconitine with admixtures of accompanying alkaloids (the substance of allapinin) is obtained in an alcoholic medium by adding to this solution an alcoholic solution of hydrobromic acid (5%) until pH1 (13). The obtained technical product is separated (14) and recrystallized from methanol (17). As a result, the substance of allapinin with a yield 72% of the content in the plant raw material is obtained.

In accordance with the developed technology based on the PM of ICPS, a pilot installation is mounted, and the amount of drug sufficient to provide pharmacological, toxicological and clinical drug trials is obtained.

Pharmacopoeia articles on plant raw material, substance and dosage forms of the drug were developed [38, 40, 44, 47-50]. The industrial regulation on its production was developed, commissioning works were carried out and since 1986 the drug substance of allapinin has been batch produced on the PM of ICPS [29].

Our research has shown that the content of lappaconitine in the rhizomes with roots of *Aconitum leucostomum* and *Aconitum septentrionale* reaches 2% or more by mass of air-dry raw material, depending on soil and climatic conditions and the place of growth.

A study of the production technology of the substance of allapinin from the rhizomes with roots of *Aconitum leucostomum* and *Aconitum septentrionale* showed that the developed industrial technology for producing the substance of allapinin from the aerial part of the herb *Aconitum leucostomum* can be successfully applied with a few changes for the production of allapinin from the rhizome with roots. The method of the production of the preparation from the new raw material is protected by patents of Uzbekistan and the Russian Federation [14, 15, 22].

Currently, the PM of ICPS is serially producing the substance of allapinin from the rhizomes with roots of *Aconitum leucostomum* with a yield of the main product 72% of the content in the raw material. The volume of production of the substance of allapinin in 2013-2014 was amounted to more than 1000 kg.

2.5. The development of economically profitable and environmentally friendly production technologies of substances of allapinin from the rhizomes with roots of *Aconitum septentrionale* and *Aconitum leucostomum* [25]

To provide the population of our country with a preparation allapinin as well as economically profitable export sales of the substances of the preparation and further increase of its production, there is a need to modernize the production technology of the substances of allapinin making it meet to the international standards.

Currently, in the production of the allapinin drug substance such organic solvents as chloroform, methanol, and sulfuric acid are used in large quantities. We succeeded in developing a new cost-effective technology to produce the substances of allapinin, according to which harmful to an organism easily volatile solvents chloroform, methanol as well as sulfuric acid are completely excluded from the technological cycles.

According to this method (fig. 7), grinded plant raw material, as described above, is extracted with 80% ethanol (2) and obtained a water-vat residue (6). The residue is decanted from the resinous substances, then boiled (19) with the presence

of 0.5% (by mass of the residue) neutral activated carbon of mark "A" for 10-15 min and filtered (20). The purified aqueous extract (21) of alkaloids is alkalized with saturated solution of sodium carbonate up to pH 10-12 and left for a day. The precipitated alkaloids are separated by filtration through filter paper or by separation (22). The precipitate is processed with ethanol (23) in a ratio of 1:3 - 1:5, while the base of lappaconitine with an admixture of accompanying alkaloids precipitates. Then the precipitate is separated (24), washed with alcohol and dried. The dry residue in an alcoholic medium is processed with 5% hydrobromic acid solution (25), after a day the precipitated hydrobromides of lappaconitine and accompanying alkaloids (allapinin) are separated (26). The technical allapinin is recrystallized from 55% ethanol (27) with the presence of 0.5% (by weight of technical allapinin) activated carbon of mark "A". The yield of the substance of allapinin on this technology is 70-75% of the content in the raw material.

The study of the physic-chemical and pharmacological properties of the preparation has shown that the substance of allapinin obtained by the new technology does not differ from that obtained by the conventional way.

For the characterization of the economic advantages of the proposed method of production, in the table below the economic indices of the production of the substances of allapinin by known and new cost-effective and environmentally friendly production technologies are given.

Table 1

Consumption rates of raw and other materials on the final product by known and new production technologies of the preparation substances of allapinin

№	Names of raw materials and materials, No. STD	Routine consumption rates	
		On known technology	On new technology
1.	Rhizomes with roots of <i>A. septentrionale</i> . БФС 42-2420-95. Content - 0.81% by mass of air-dry raw material	181 kg	181 kg
2.	Ethyl alcohol GOST 18300-72 with considering the return	2818 l 189 l	2818 l 195 l
3.	Sulfuric acid GOST 4204-68	12 kg	-
4.	Sodium carbonate GOST 94-76	48 kg	13.5 kg
5.	Methanol GOST 6995-67	9.4 kg	-
6.	Chloroform GOST 3160-51 with considering the return	1487 kg 241 kg	- -
7.	Sodium sulphate GOST 4166-76	17.2 kg	-
8.	Hydrobromic acid GOST 2413-80	0.6 kg	0.6 kg

As seen from the table 1, the consumption of ethanol for the production of 1kg substance of allapinin on the new technology increases by only 2-4%, the consumption of soda ash is reduced by more than three times, the use of sulfuric acid, methyl alcohol, chloroform and sodium sulfate are completely eliminated from the technological cycle.

Thus, the expected economic benefit, which can be obtained by the use of this production method compared to the known method, is obvious.

Currently, based on the PM of ICPS a pilot installation is created for the production of the substance of allapinin on the new technology. The first industrial designs of the drug are produced. The industrial regulation of production of the substances of allapinin on the new technology is developed. The yield of desired product is 70-75% of the alkaloid content in the raw material.

The method of producing the drug is protected by patent of the RUz [25].

Indications for medical use of allapinin. In the department of pharmacology of ICPS, pharmaco-toxicological studies of the drug were carried out and recommendations for the use of allapinin were developed.

In medical practice, allapinin is used as antiarrhythmic drug at the disturbances of a ventricular and supraventricular origin caused by increased excitability at tachyarrhythmia and a paroxysmal form of ciliary arrhythmia, at the Wolff-Parkinson-White syndrome. The drug is also recommended for cardiac rhythm disturbances arising in the treatment of patients with myocardial infarction in the initial stage.

Allapinin is released in the form of tablets of 0,025g No.30 and as an injectable form - ampoules 0.5% aqueous solution of 2 ml.

2.6. Production technology of substances of aklezin from the aerial part of *Aconitum leucostomum* [8, 18, 37, 41, 42, 44, 59, 61]

The aerial part of the herb *Aconitum leucostomum* contains more than 10 alkaloids except lappaconitine: leuconine, sepaconitine, acetylsepaconitine, N-deacetylsepaconitine, lappaconidine, acsin, acsinatine, leukonidine and others. The purified sum of alkaloids (aklezin) containing mainly the aforementioned alkaloids possesses high antiarrhythmic activity and is approved for use in medical practice as antiarrhythmic drug.

Technical aklezin (sum of alkaloids) is prepared by the method of aqueous-alcoholic extraction on the technological scheme of allapinin production from the aerial part of *Aconitum leucostomum* (fig. 7). For the purification of technical aklezin, it is dissolved in chloroform (28) and passed through a layer of aluminum oxide with an activity of Brockmann's V extent (29). The eluate is evaporated to dryness (30) to obtain a substance with a yield 82-85% of the content in the raw material.

The production technology of the substances of aklezin is retested on the pilot plant of the PM of ICPS for the production of alkaloids with a method of aqueous-alcoholic technology. Experimental-industrial production regulations, temporary

pharmacopoeia articles on substance and dosage form of aklezin (film-coated tablets of 0,025.g No.10) were developed [41, 42, 44].

The method of producing the drug is protected by patent of the RUz [18].

Indications for medical use of aklezin. In the department of pharmacology of ICPS, pharmaco-toxicological studies of the drug were held and recommendations for the use of aklezin were developed.

Aklezin renders antiarrhythmic effect against atrial and ventricular rhythm disturbances of the heart. It shows local anesthetic, analgesic, anti-inflammatory and sedative effect. When compared with existing antiarrhythmic agents, it was determined that aklezin is the most highly effective treatment agent for patients with chronic and life-threatening ventricular tachycardia. In patients with heart failure, aklezin practically does not cause changes in myocardial contractile function, which favourably distinguishes the drug from other antiarrhythmic agents.

2.7. Production technology of substances of aksaritmin from the rhizomes with roots of the herb *Aconitum septentrionale* [24, 71, 78, 87, 88]

Like the aerial part of the *Aconitum leucostomum*, the rhizomes with roots of *A. septentrionale* also contain more than 10 alkaloids except lappaconitine - antronoyllicoctonine, N-desacetylappaconitine, songorine, licoctonine, ranaconitine, septenine, septentriadine, septedine, septeine, septefine, acoseptine and others. The pharmacological studies have shown that the amount of purified alkaloids (aksaritmin) possesses high anti-arrhythmic activity, and it is allowed for extensive clinical trials by Chief Department for Quality Control of Drugs and Medical Technique under the Ministry of Health of Uzbekistan

Technical aksaritmin is obtained on the technological scheme of production of allapinin from the rhizomes with roots of *A. septentrionale* (fig. 7). For the purification of the sum of alkaloids (technical aksaritmin), it is dissolved in chloroform (28) and passed through a layer of aluminium with V-degree of Brockmann activity (29). The eluate is evaporated to dryness (30) to obtain aksaritmin with a yield 2.8% by mass of air-dry raw material or 82-85% of the content in the plant raw material.

The developed production technology of the drug is retested on the pilot plant of the PM of ICPS AS RUz for the production of alkaloids by aqueous-alcohol extraction method. The experimental-industrial regulations are compiled. Temporary pharmacopoeia articles on substance, dosage form (film-coated tablets of 0.025.g №10) were developed.

A sufficient amount of the drug for full ensuring of its clinical trials are produced.

The method of producing the drug is protected by patent of the RUz [24].

2.8. Production technology of substances of N-desacetylappaconitine hydrobromide (antiarrhythmia) from the production wastes of allapinin [26, 76, 81-86]

As noted above, based on the PM of ICPS AS RUz the technology of drug substance allapinin with an antiarrhythmic action produced from the plants *Aconitum leucostomum* and *Aconitum septentrionale* was developed by us. The production volume of the substance is constantly growing. In 2013, more than 400 kg of substance of allapinin was produced. In the production of the substance of this drug a mixture of diterpenoid alkaloids (methanolic mother liquor) containing a substantial amount (up to 50-80% by mass of air-dry waste) of alkaloid N-desacetylappaconitine as the hydrobromide salt is formed as a waste.

We have developed a unique technology for producing the drug, which can isolate antiarrhythmia from the waste in the native form, i.e. without destroying hydrobromide salt of N-desacetylappaconitine existing in the waste.

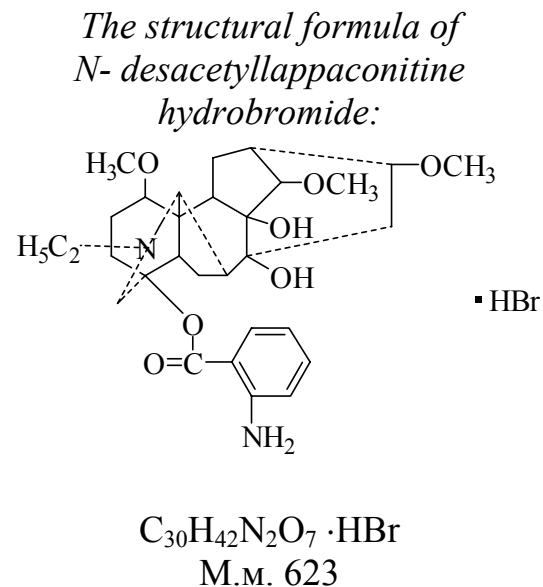
For the production of the substance of antiarrhythmia, dried wastes of production of allapinin obtained after recrystallization of the technical allapinin are used as raw materials. The dried waste (31) is dissolved in distilled water at a ratio 1: 3 (32) and adjusted the pH solution to 6.5 (fig. 7).

It is found out that, at a strongly alkaline medium, a considerable amount of admixtures of other alkaloids contained in the waste passes into chloroform extract, and from a strongly acid medium, N-desacetylappaconitine hydrobromide is extracted with difficulties, which leads to lower yield of the final product.

Alkaloids from the aqueous solution are extracted with threefold chloroform extraction (32). The chloroform extracts are filtered, evaporated to dryness (33), processed with acetone (34), and a substance of antiarrhythmia corresponding to TPA project requirements on the preparation is obtained.

The yield is 50% by mass of air-dry waste. A set of essential STD (TPA projects and EIR on substance and dosage form) is developed. A sufficient number of specimens and dosage form of the drug are produced. Normative and technical documents are presented in Chief Department for Quality Control of Drugs and Medical Technique under the Ministry of Health of Uzbekistan to obtain permission for extensive clinical trials. The method of producing the drug is protected by patent of the RUz [26].

Indications for medical use of antiarrhythmia. The research conducted at the department of pharmacology and toxicology of ICPS AS of the RUz showed that the alkaloid N-desacetylappaconitine also has a high antiarrhythmic action. It is experimentally proved that N-desacetylappaconitine hydrobromide (antiarrhythmia) is



not inferior to the drug allapinin on antiarrhythmic activity when it is injected into a vein. At the same time, in contrast to allapinin N-desacetylappaconitine hydrobromide is less toxic, has a great therapeutic breadth and surpasses allapinin for the rapid development of antiarrhythmic effect, not yielding to the last for the duration of the pharmacological action. The antiarrhythmic activity of N-desacetylappaconitine has an effect against atrial and ventricular rhythm disturbances of the heart caused by different mechanisms. The drug within the therapeutic dose does not have noticeable negative inotropic effect, does not cause to an arterial hypotension, and does not exert holinolytic and adrenolytic effects.

N-desacetylappaconitine hydrobromide (antiarritmin) is available as 0.5% injection solution in ampoules of 1 ml.

Section 3. Unified production technology of the bioreagents geliotrine, bicuculine, d-β-hydrastine, aconitine, donaxine hydrochloride and imperialine

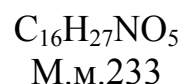
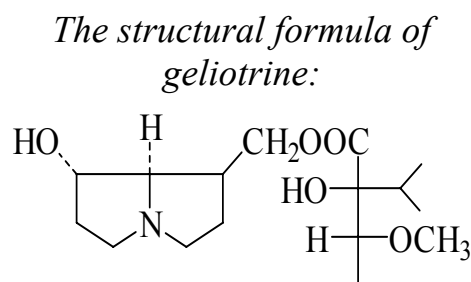
3.1. Production technology of substance of the bioreagent geliotrine from the aerial part of *Heliotropium dasyocarpum* [1, 11, 28, 33, 70]

70 kg of aerial parts of *H. dasyocarpum* after grinding to a particle size of 5-20 mm, 300 liters of 80% ethanol solution (hydromodulus 1 : 4,2) is poured and left to infuse for 8 hours. Then, 160 liters of extract is poured out. 160 liters of 80% ethyl alcohol solution is poured for the second time. Similarly the 3rd, 4th, 5th, and 6th extractions are carried out. The obtained extracts are thickened in a vacuum evaporator till the residue 8.0-11.0% of the original volume.

As a result, 60 liter of condensed water extract is obtained. Further, it is acidified in the reactor of 2.5 kg of sulfuric acid up to pH 1, and then to restore the N-oxide forms of geliotrine 4 kg of zinc powder is added while stirring, the solution is heated up to 70°C and the reaction mixture is held for 4 hours. Then the excess of zinc is separated by filtration (fig. 8)

To remove unnecessary admixtures, the acidic solution of alkaloids is washed twice with chloroform. The purified acidic solution (64 liters) is alkalized with 25% ammonia solution up to pH 11 and alkaloids are extracted with chloroform in portions of 10 liters, producing 4 extraction. The obtained chloro-form solution is evaporated to dryness in a vacuum evaporating installation. As a result, 560 g sum of alkaloids or 0.8% by mass of air-dry raw material is obtained. The yield of the desired product is 70-72% of the content in the raw material.

The sum of alkaloids (560 g) is dissolved in 3 liters of acetone and allowed to stand for 12 hours. The precipitated geliotrine is filtered, washed with acetone and dried. The obtained technical geliotrine (490 g) is dissolved in 1.6 liters of acetone,



and the solution is heated until complete dissolution of the alkaloid. Geliotrine is crystallized on standing in the acetone solution for 8-10 hours at a room temperature. The crystals of geliotrine are separated and washed with acetone (425 g). After thickening the mother liquor, additional 45 g of geliotrine is obtained. The yield of the final product is 470 g or 0.67% by mass of air-dry raw material.

The technology of production of geliotrine is retested on the pilot plant of ICPS, experimental-industrial production regulations were developed, which were introduced at the PM of ICPS in 1982. Issued by TC 6-09-50-238682, the production volume of geliotrine meets the needs of medical institutions of the country for this reagent and also is exported to France. The method of producing the bioreagent geliotrine is protected by the copyright certificate [28].

Alkaloid geliotrine is used in the medical practice as a reagent to obtain an experimental model of hepatitis and liver cirrhosis in laboratory animals, when looking for effective ways to treat hepatitis and other severe liver diseases.

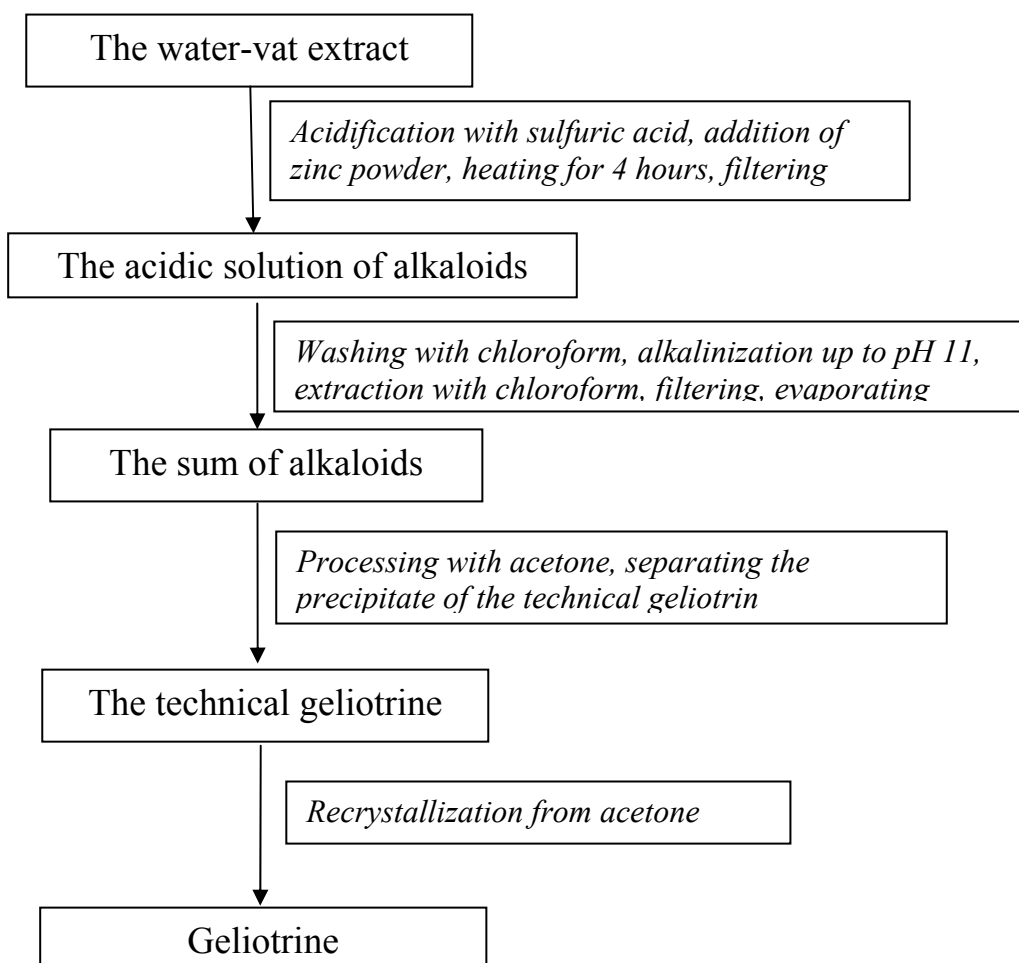
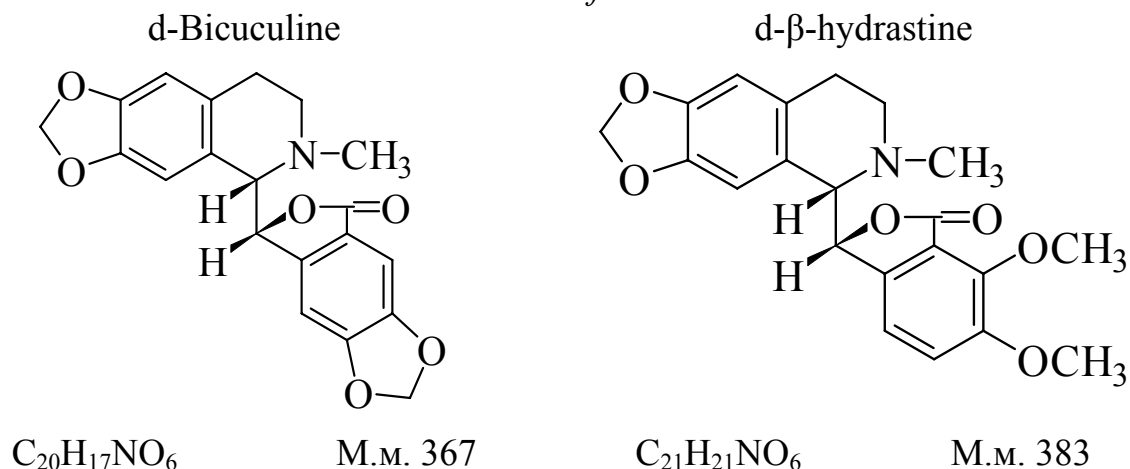


Fig. 8. The flow chart of the production of substance of the bioreagent geliotrine from the aerial part of *Heliotropium dasyocarpum*

3.2. Production technology of substances of the bioreagents bicuculine and d-β-hydrastine from the aerial part of *Corydalis pseudoadunca* [17, 35, 72]

The structural formulas:



The extract of alkaloids in the amount of 75 litres obtained from the five extractions is thickened in a vacuum evaporator until a residue 8.0-11% of the original volume. 7.8 liters of extract is obtained. The aqueous residue of the extract is filtered through a glass wool or decanted from the tarry substances, alkalinized with 25% aqueous solution of ammonia up to pH 8.0 – 9.5, and exhaustively extracted with chloroform (5 extractions by 4 l). From the chloroform extract, the alkaloids are extracted with 10% sulfuric acid solution (5 extraction at 4 l). To remove the admixtures of non-alkaloid nature, the acidic solution of alkaloids is washed twice with chloroform. The purified sulfuric acid solution of alkaloids in the amount of 19 liters is alkalinized with 25% ammonia solution up to pH 9-10. The alkaloids are precipitated on standing for 12 hours. The precipitate is filtered and dried to constant weight at a temperature of 50-60°C. The dried sum of alkaloids in the amount of 145 g is dissolved in 0.5 liter of chloroform and passed through a layer of aluminium (with Brockmann's V-degree) in the ratio 1:2. Chloroform is used as eluate. The purified chloroform solution of alkaloids is evaporated. 105 g sum of alkaloids is obtained, which is dissolved in 0.32 l of methanol and kept overnight. The precipitate is filtered off, washed with methanol and dried. As a result, 60 g of a technical mixture of bicuculine and d-β-hydrastine is obtained. The fractional recrystallization of the technical product from the mixture of methanol-chloroform gives the pure bicuculine and d-β-hydrastine. The yield of bicuculine that meets the requirements of technical specifications for the product is 13.2 g or 77% of the content in the plant raw material. The yield of d-β-hydrastine is 39.6 g or 75% of the content in the raw material (fig. 9).

The technology of production of bicuculine and d-β-hydrastine from the aerial part of *Corydalis pseudoadunca* was retested on the PM of ICPS AS RUz. It Experimental industrial regulations were compiled, which were introduced in 1992. The volume of production of bicuculine and d-β-hydrastine meets the needs of medical institutions of the country for these reagents, and also they are exported to France.

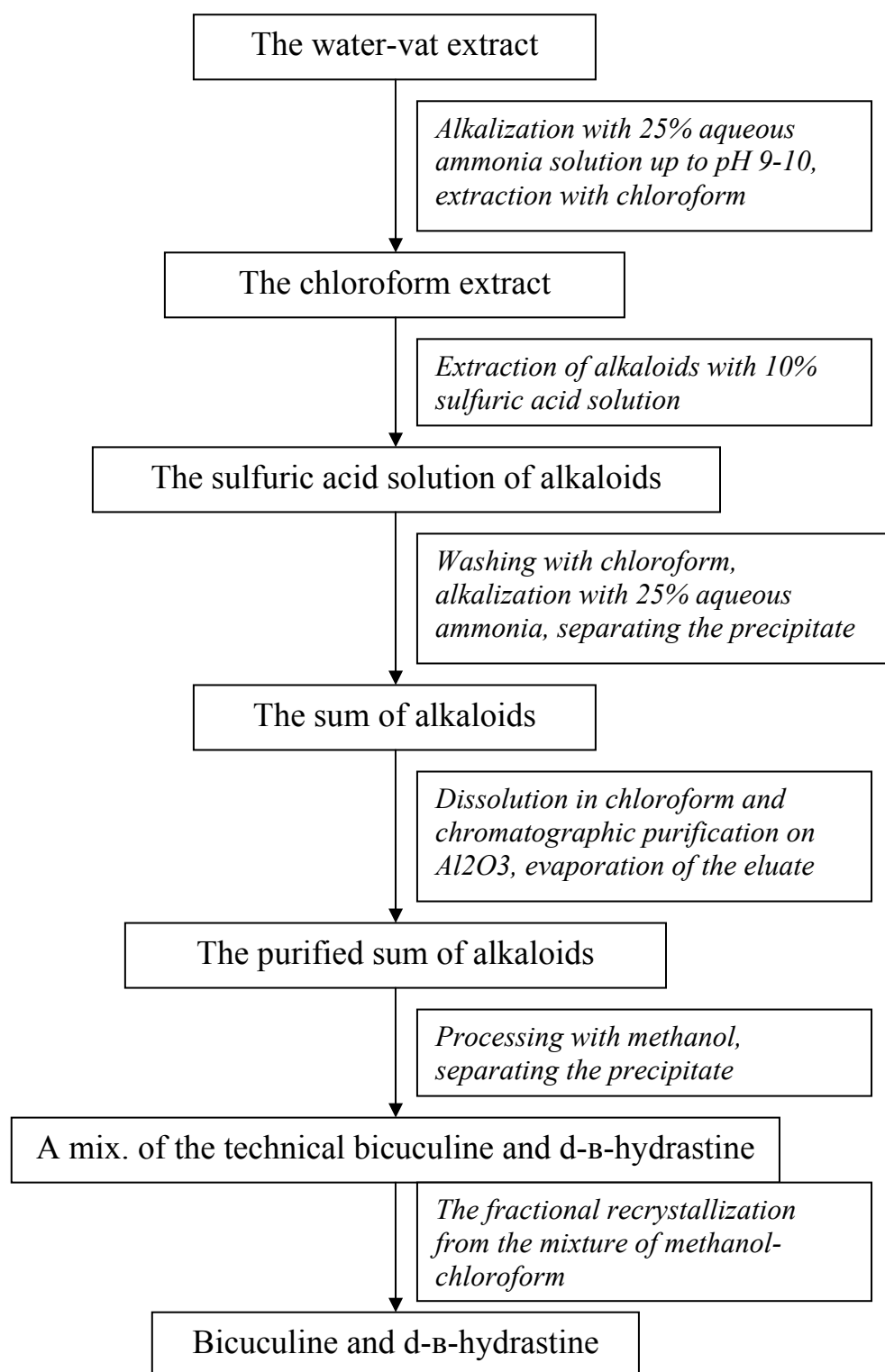


Fig. 9. The flow chart of the production of substances of the bioreagents bicuculine and d-β-hydrastine from the aerial part of *Corydalis pseudoadunca*

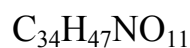
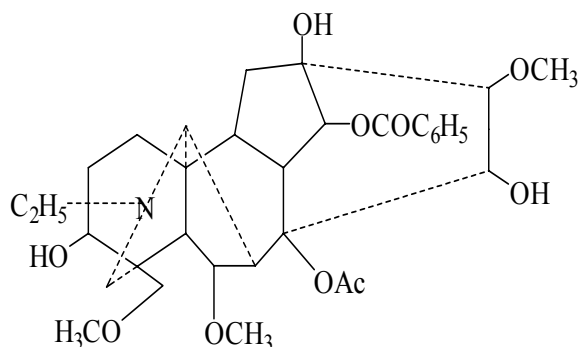
The alkaloids bicuculine and d-β-hydrastine are applied as bioreagents - antagonists of the g-aminobutyric acid in the biological, pharmacological and toxicological studies. Bicuculine is issued by TC 6-09-50-2473-86.

The method of producing the bioreagent bicuculine is protected by patent of the RUz [17].

3.3. Production technology of substance of the bioreagent aconitine from the tubers of *Aconitum zoongoricum* [5, 12, 31, 34, 56]

50 kg of grinded to a particle size of 3-10 mm the tubers of *Aconitum zoongoricum* is extracted with 80% ethanol solution. 150 liters of 80% alcohol is poured to the raw material and left to infuse for 12 hours. Then, 80 liters of alcoholic extract of aconitine is poured out. For the second time, 80 liters of extractant is poured. Similarly 6 more extractions are carried out. The obtained extracts are combined and thickened in a vacuum evaporator until a residue 7-10% of the original volume. 64 liters of water-vat residue of the extract is obtained.

The structural formula of aconitine:



M.M. 645

The water-vat residue of the extract after filtration is alkalized with saturated solution of soda up to pH 8-9 and the alkaloids are fourfold extracted with 15 liters of chloroform. The chloroform extract of alkaloids is processed with 3 liters of 5% sulfuric acid solution, after the separation phase, the sulfuric acid extract of alkaloids is separated. Similarly, 5 more extractions with portions of 2 liters of 5% sulfuric acid solution are carried. To remove undesirable admixtures, the acidic solution of alkaloids is washed twice with 5 liters of chloroform.

13 liters of the washed acid solution of alkaloids is alkalized up to pH 8-9 with saturated solution of sodium carbonate, and alkaloids are extracted with 15 liters of chloroform. Analogously, another 4 extractions are carried with 10 liters of chloroform. The combined chloroform extract is evaporated under vacuum, which provides 300 g sum of alkaloids. Then the sum of alkaloids is processed with 570 ml of ethanol and allowed to stand for 12 hours. The precipitate is filtered off and dried. As a result, 100 g of technical aconitine is obtained.

The technical aconitine (100 g) is dissolved in 100 ml of chloroform and passed through an aluminium oxide column with the activity V of Brockmann in the ratio of the technical aconitine: the aluminium oxide 1-30:40, aconitine is eluted with chloroform. The purified chloroform eluate is evaporated at a temperature not exceeding 50°C. The dry residue is processed with 100 ml of acetone and allowed to stand for 12 hours. The precipitate is separated and dried. The yield of aconitine is 56 g or 55% of the content in the raw material (fig. 10).

The technology of production of the bioreagent aconitine is retested on the semi-factory installation of ICPS. Experimental-industrial regulations were developed and introduced on the PM of ICPS AS of the RUz in 1985. The production volume of the bioreagent aconitine issued by TC-6-09-50-2462-85 fully meets the needs of the medical and research institutions of the country. It is also exported to France.

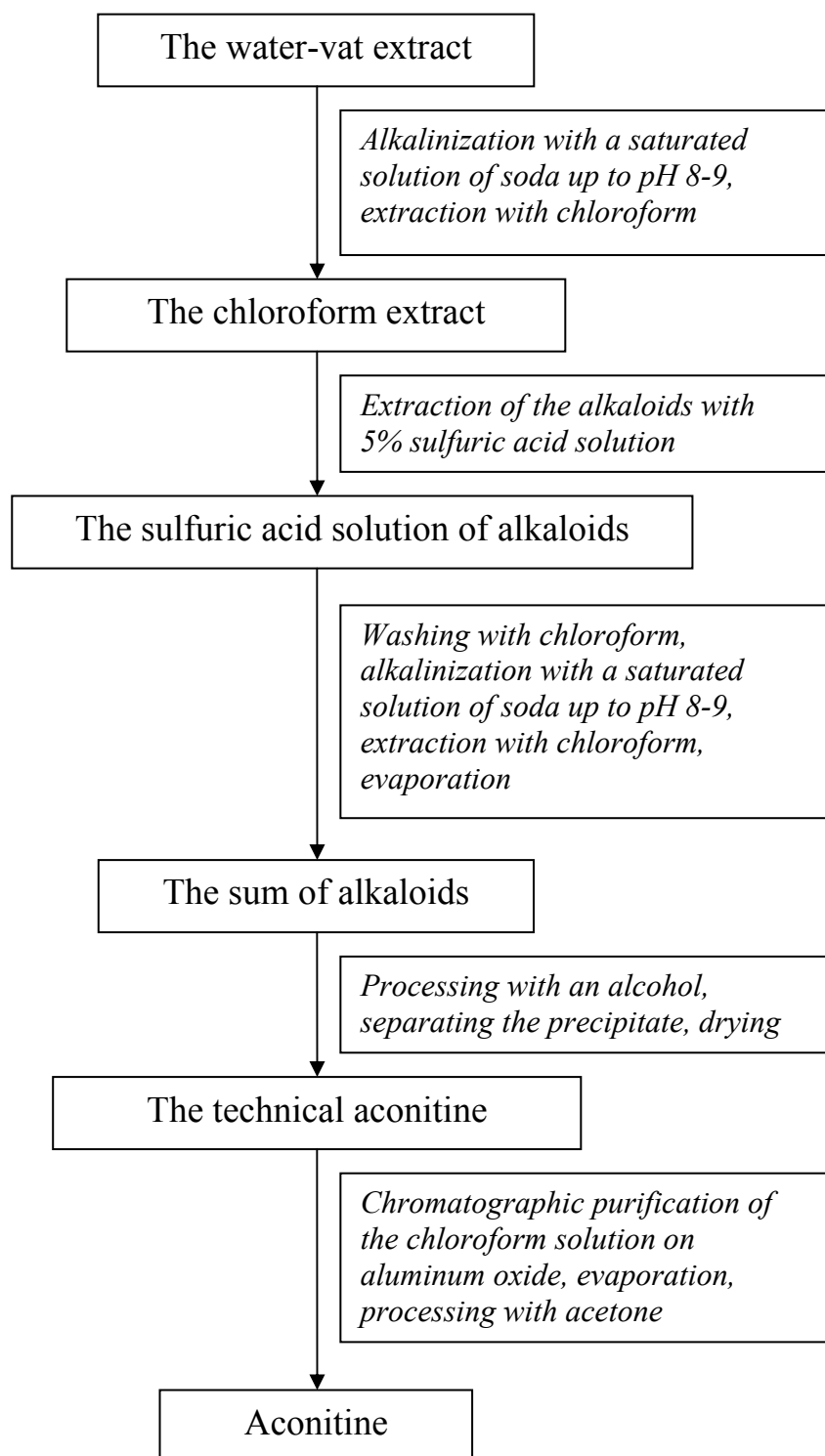


Fig.10. The flow chart of the production of substance of the bioreagent aconitine from the tubers of *Aconitum zoongoricum*

Indications for use. The bioreagent aconitine is used in medical practice and in experimental biology to create models of pathology of cardiac activity and molecular processes underlying the generation of the initial pulse, and in finding and establishing effective anti-arrhythmic drugs.

The method of producing the bioreagent aconitine is protected by the copyright certificate [31] and patent of the RUz [12].

3.4. Production technology of the bioreagent donaxine hydrochloride from the leaves of *Arundo donax* [20]

2 kg of raw materials grinded to a particle size of 10-20 mm is extracted six times by infusion method with 80% ethanol solution. For the first extraction, 6 liters of extractant is poured and infused for 10 hours, then 3 liters of extract is poured out. Then 3 liters of extractant is poured for the second time. After that the 3rd–6th extractions of alkaloids are carried by infusing for 8, 8, 6 and 6 hours, respectively. The extracts are combined and thickened under vacuum at 50-60°C till a water residue 10% of the original volume of the extract (1.8 l) (fig. 11).

The residue is filtered, alkalized with 7% caustic soda up to pH 11-12, alkaloids are extracted 4 times with 1 liter of chloroform.

From the chloroform extract, alkaloids are extracted 4 times with 0.5 liter of 5% sulfuric acid solution.

The sulphuric acid solution of alkaloids is washed 2 times with 0.5 liter of chloroform and alkalized with 7% caustic soda solution up to pH 11-12. Alkaloids are extracted 3 times with 1 liter of chloroform, and after evaporating, 10 g of the dry residue of the sum of alkaloids is obtained.

The sum of alkaloids (10g) is processed with 20 ml of ethyl alcohol to precipitate donaxine, the precipitate of alkaloid (5.2 g) is separated by filtration. In order to obtain donaxine hydrochloride, the precipitate (5.2 g) in an alcohol medium is processed with saturated ethanolic hydrochloric acid up to pH 3-4. The precipitated hydrochloride salt of donaxine is separated, washed with ethanol and recrystallized from alcohol. The yield is 2.1 g or 75% of the content in the raw material.

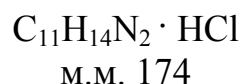
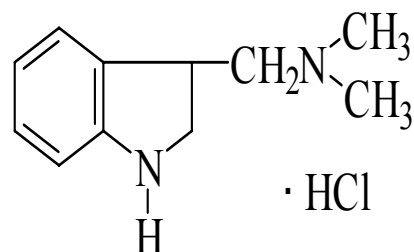
The production technology of donaxine hydrochloride is retested on the PP of ICPS, the laboratory regulations for producing the drug were developed. The projects of pharmacopoeia articles on plant raw material, substance and dosage form were prepared.

In the experiments conducted in the laboratory of pharmacology and toxicology of ICPS, it was found out that donaxine hydrochloride is an effective and low-toxic uterine stimulant. The experiments showed that it is more active than pachycarpine in absolute doses, brevinolmin - on pharmacological latitude and ergotamine - on action like oxytocin.

Three modified derivatives of donaxine (donaxine hydrochloride, N-oxide donaxine, donaxine methiodide) were included in the catalogue of the French company "Latoxan" as bioreagents for biomedical testing.

The method of producing the drug donaxine hydrochloride is protected by patent of the RUz [20].

The structural formula of donaxine hydrochloride:



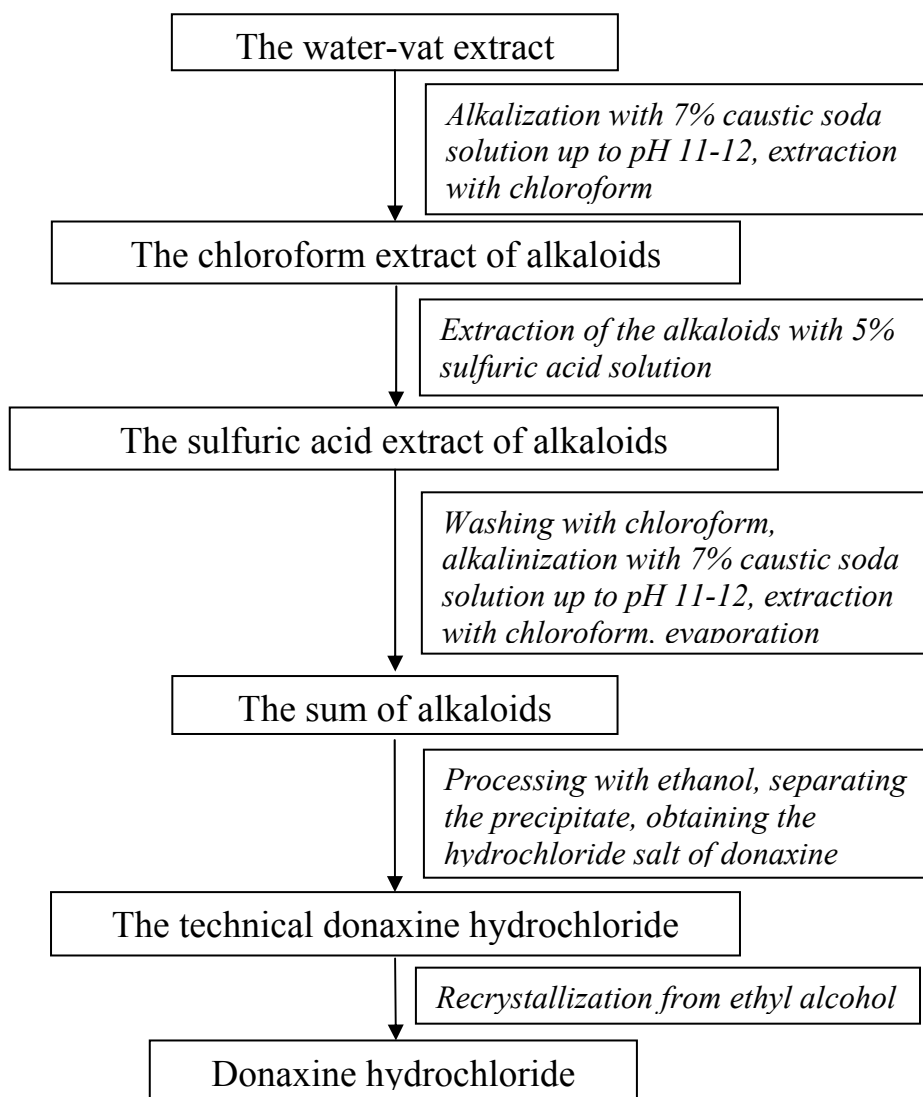
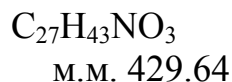
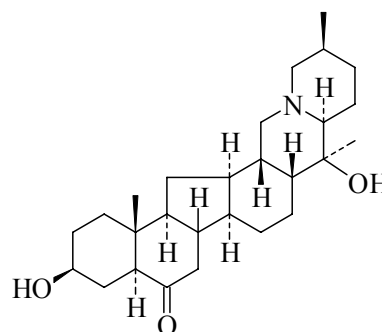


Fig.11. The flow chart of the production of substance of donaxine hydrochloride from the leaves of *Arundo donax*

3.5. Production technology of substance of the bioreagent imperialine from the aerial part of *Petillum eduardii* [16]

2 kg of raw materials grinded to a particle size of 5-15 mm is extracted six times by infusion method with 80% ethanol solution. For the first extraction, 7.4 liters of extractant is poured and infused for 8 hours, then 3.1 liters of extract poured out. 3.1 liters of extractant is poured again for the second time. After that, the 3rd–6th extractions of alkaloids are carried by infusing for 6, 6, 4 and 4 hours, respectively. The extracts are combined and thickened till a water residue 10% of the original volume of the extract (1.9 l).

The structural formula of imperialine:



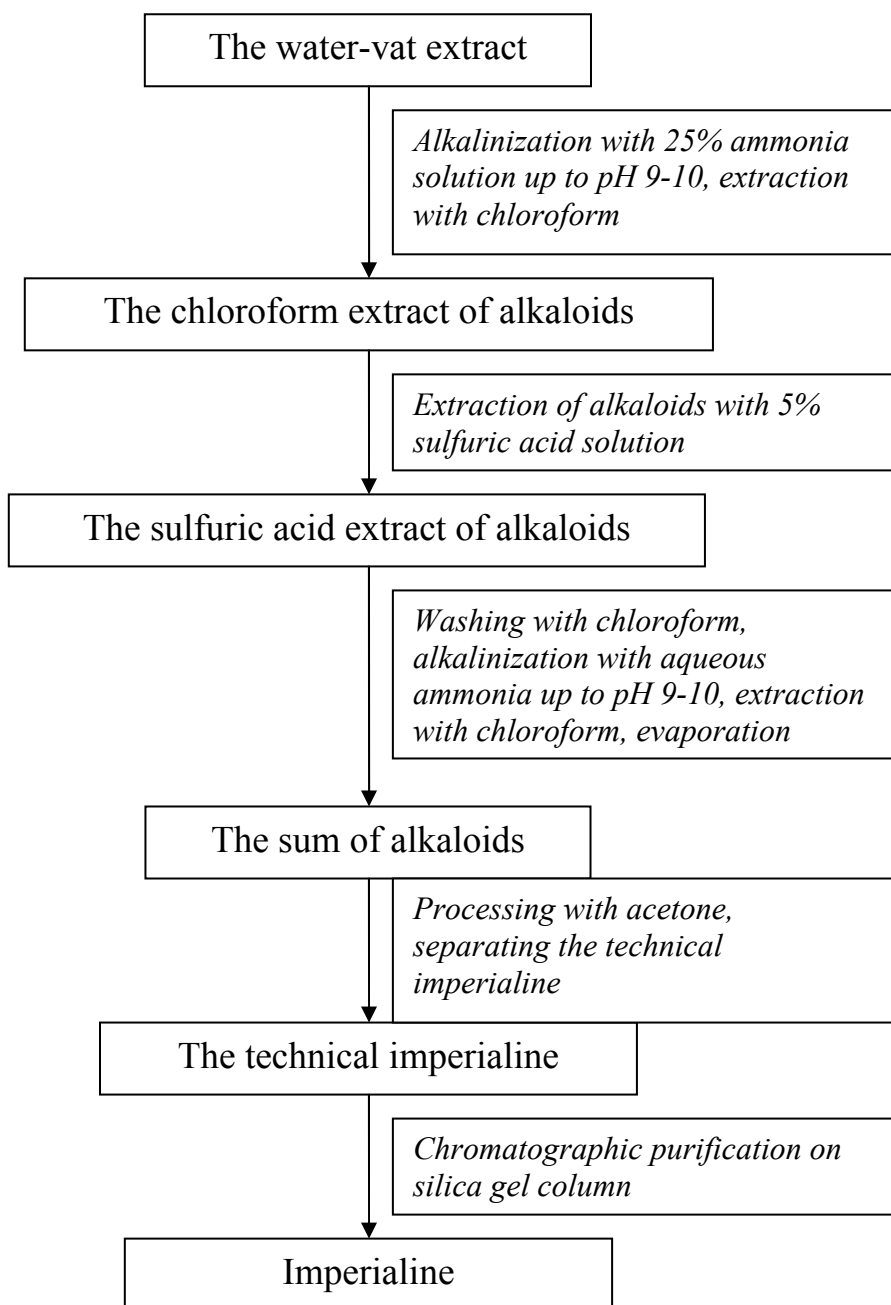


Fig.12. The flow chart of the production of substance of the bioreagent imperialine from the aerial part of *Petillum eduardii*

The water residue of the extract is alkalinized with aqueous ammonia up to pH 9-10, and alkaloids are extracted 5 times with 1 liter of chloroform. From the chloroform extract, alkaloids are extracted 5 times with 0.2 liter of 5% sulfuric acid solution (fig. 12)

The acid extractions are combined and washed 2 times with 0.5 liter of chloroform. Then, the sulphuric acid solution of alkaloids is alkalinized with aqueous ammonia up to pH 9-10, extracted 4 times with 1 liter of chloroform and evaporated to dryness. The technical imperialine is isolated from the dry residue by processing with acetone. Then, it is dissolved in chloroform and loaded into a column of silica

gel of "KSK" brand. Imperialine is eluted with a solvent mixture of chloroform - alcohol - 25% ammonia (100:40:10), evaporated to dryness and recrystallized from a chloroform-methanol mixture. As a result, 3.0 g of pure imperialine is obtained. The yield is 65% of the content in the raw material.

The production technology of substance of the bioreagent imperialine is retested on the PM of ICPS. The bioreagent imperialine is included in the catalogue of the French company "Latoxan".

It is used in medical practice as a bioreagent - M-2 cholineblocker. On M-4 receptors it has blocking effect in 20 times, and on M-3 receptors it is 300 times weaker than M-2 subtype. In terms of activity, imperialine surpasses the well-known M-2 blockers - metokramin and AG-DH II b.

The method of producing the bioreagent imperialine is protected by patent of the RUz [16].

Section 4. Unified production technology of alkaloids by extraction of plant raw materials with water, weak solutions of mineral or organic acids with subsequent ultrafiltration [9, 22, 25, 27]

From the literature, it is known that the vast majority of alkaloids in plant raw materials are in the form of salts of organic acids, which are readily soluble in water or in weak solutions of organic or mineral acids. Currently, there are a number of substance productions of alkaloids with a method of extraction of plant raw materials with weak solutions of various mineral or organic acids, followed by liquid-liquid extraction of alkaloids from the alkalized aqueous acidic extract. A significant drawback of this is the formation of fairly stable emulsions in the step of liquid-liquid extraction. To prevent the emulsification of the two immiscible liquids, several methods were proposed. For example, for the production of ephedrine and anabasine on Shymkent CFP and galantamine on Tashkent CFP several installations were mounted to prevent the formation of emulsion in the step of liquid-liquid extraction:

- a) column with rings Rashega;
- b) liquid-liquid extractors of mixer-settlers type;
- c) extraction columns with different types of baffles, plates, reducing the formation of emulsion.

In the process of production of a number of alkaloids by liquid-liquid extraction, using the aforesaid constructions does not completely solve the problem of preventing the formation of emulsion. Even a partial formation of emulsion results in a significant loss of the main product. For this reason, at the Shymkent and Tashkent CFP, a yield of final product does not exceed 60-65% of its content in the plant raw materials.

Our studies showed that the formation of emulsion with liquid-liquid extraction of alkaloids with organic solvents arises because of the presence in the extract co-extractable surface-active agents (surfactants) of plant origin (proteins, pectins, polysaccharides, lipids, etc.), complicating the process of the separation phase. To release the extract from the high-molecular surfactants, we used the ultrafiltration method that allows sharing the extractive substances by molecular weight.

We conducted studies on the applicability of certain types of membranes (pore size – 10 kDa, 50 kDa, 100 kDa, 150 kDa) to remove specified high-molecular surfactants from the crude extract of alkaloids. The experiments showed that depending on the size of holes of membranes it is possible to reach the various purity of extract. The most successful were the experiments with the membrane M5 (10 kDa), the use of which managed to completely get rid of formation of emulsion and purified the extract of alkaloids from surfactants.

As a result, the basic production technology of alkaloids with various strength of basicity was developed by extraction of plant raw materials with water or with weak solutions of mineral or organic acids, followed by ultrafiltration and isolation of the desired product by liquid-liquid technology. The developed technology includes the following stages of production (fig. 13):

1. Extraction of plant raw materials with water or weak solutions of mineral or organic acids.
2. Removal of high-molecular compounds with surfactant properties from the plant extract by ultrafiltration.
3. Alkalinization of the purified extract and subsequent liquid-liquid extraction of the main product.
4. Obtaining the technical product and its purification with methods in accordance with the strength of basicity and other physico-chemical properties of the isolating alkaloid.

A preliminary study in the dynamic conditions of the extraction process of alkaloid containing raw materials (*Aconitum leucostomum*, *Fumaria vaillantii*, *Ungernia Sewertzovii*, *Ungernia Victoris*, *Aconitum zoongoricum* and others) with weak acid solutions (mainly 0.5 – 1.0% solutions of sulfuric, hydrochloric or acetic acid) showed that the main factors affecting the process are: x_1 – the rate of passage of the extract through raw materials; x_2 – the degree of grinding the raw materials; x_3 – the duration of the extraction; x_4 – the acid concentration in the extractant; x_5 – the relation of the layer height of raw materials in the extractor to its diameter (l/d).

To determine the influence of these factors on the process of extraction of alkaloids (from *Aconitum*, *Ungernia*, etc.) and to identify the optimal conditions for its conducting, optimization of the process using mathematical planning of experiments method was carried out. As a parameter of optimization (y) a yield of the amounts of alkaloids was chosen. In all cases, for carrying out the process of optimization, we used 1/4 replicas from the full factorial experiment of type $y = 2^5$ with the following generating ratios:

$$x_4 = x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 ; x_5 = x_1 \cdot x_3.$$

Basically, we chose the following factor levels and intervals of their variation: ($x_1 - 450 \text{ l/hr} \cdot \text{m}^2 \pm 200$; $x_2 - 15 \text{ mm} \pm 10$; $x_3 - 4 \text{ hr} \pm 2$; $x_4 - 1,5\% \pm 1$; $x_5 - 3 \pm 1$).

After conducting the experiment of type $y = 2^{5-2}$, we obtained mathematical model of the process and found out that the main influencing factors on the extraction process are the rate of passage of the extract through raw materials and the extraction time.

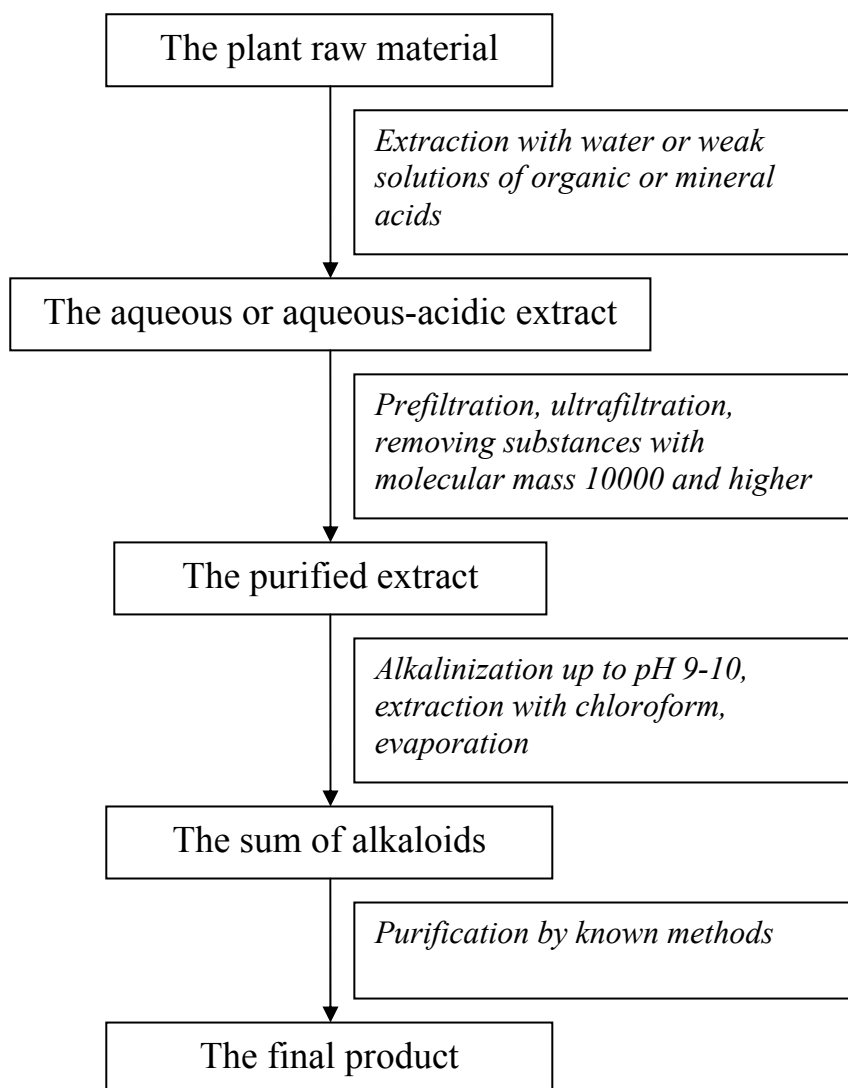


Fig. 13. The flow chart of the production of alkaloids using the method of acidic aqueous extraction - ultrafiltration

The ultrafiltrational purification of the obtained extracts using a membrane M5 (10 kDa) makes it possible to purify from substances forming emulsion without loss of the primary product.

Thereby, the key step of the production of alkaloids by extraction of plant raw materials with water, weak solutions of mineral or organic acids with subsequent ultrafiltration is the extraction of plant raw materials with water or with weak solutions of mineral or organic acids, prefiltering from suspended particles of raw materials, removing high-molecular surfactants with a molecular mass 10,000 Da and higher by ultrafiltration method, alkalinization of the purified extract up to pH 9-12, the extraction of the amounts of alkaloids with chloroform, evaporating the chloroform extract, obtaining the amounts of alkaloids, and purification of the final product.

For the introduction of the developed technology of production of alkaloids by extraction of plant raw materials with water, weak solutions of mineral or organic

acids with subsequent ultrafiltration on the base of the PM of ICPS, a semiindustrial plant was established. Under this technology stable semiindustrial samples of substances of such medical products, like allapinin, aklezin, aksaritmin, licorine hydrochloride, galantamine hydrobromide and bioreagent aconitine were obtained with a yield of 80-85% of the content in the plant raw materials.

The methods of production of the medicines allapinin [22], aklezin [21], aksaritmin [25] and aconitine [27] on the abovementioned technology are patented in the State Patent Office of the RUz.

CONCLUSION

1. For the first time, for use in heterophase technological processes, we defined the basicity strength ($\text{pH}_{b,b}$) of 11 alkaloids: protopine, licorine, galantamine, lappaconitine, N-desacetylappaconitine, geliotrine, bicuculine, d- β -hydrastine, aconitine, donaxine, imperialine and found out that 2 alkaloids - bicuculine and d- β -hydrastine are weakly basic; 7 alkaloids - lappaconitine, N- desacetylappaconitine, galantamine, aconitine, protopine, donaxine, imperialine are the alkaloids of the medium basicity strength; 2 alkaloids - geliotrine and licorine are strong basic.

2. For the first time it was established that the vast majority of the studied alkaloids in the form of salts, regardless of the strength of basicity, are readily soluble in alcohol-water system with a maximum dissolution at 55% by volume. It was experimentally determined that for the selective extraction of alkaloids from plant raw materials, use of ethyl alcohol with the strength of 75-85% by volume is rationale.

3. Industrial production technology of substances of the medicines and bioreagents - protopine hydrochloride, licorine hydrochloride, galantamine hydrobromide, allapinin, aklezin, aksaritmin, antiaritmin, geliotrine, bicuculine, d- β -hydrastine, aconitine, donaxine and imperialine was developed by using as extractant 75-85% ethanol solutions.

4. Economically profitable and ecologically safe production technology of substance of allapinin from the rhizomes with roots of *Aconitum septentrionale* and *Aconitum leucostomum* was developed, which eliminates using toxic substances, such as sulfuric acid, methanol and chloroform from technological cycles.

5. Production technology of substance of the new drug antiaritmin, which possesses an antiarrhythmic action, from waste of industrial production of substance of allapinin developed.

6. For the created medicinal preparations and bioreagents an appropriate regulatory and technical documentation - experimental industrial or industrial

regulations, pharmacopoeia articles on plant raw materials, substances and ready dosage forms, technical specifications for bioreagents were developed.

7. Technology of alkaloids with a method of aqueous-alcoholic extraction from plant raw materials was introduced into production on the PM of ICPS AS RUz and the serial production of substances of 5 drugs (protopine hydrochloride, licorine hydrochloride, galantamine hydrobromide, allapinin, aklezin,) and 6 bioreagents (geliotrine, bicuculine, d- β -hydrastine, aconitine, donaxine and imperialine) is organized. The volume of production of the above preparations and bioreagents fully meets the needs of our country and allows export them abroad (Russia, France).

8. On the technological line created on the base of PM of ICPS for the production of alkaloids, a sufficient amount of substances of the preparations aksaritmin and antiaritmin is produced for the pharmacological, toxicological and clinical trials and for the development of dosage forms of the drugs.

9. Technology for the production of alkaloids from plant raw materials with the method of extraction of plant raw materials with water, weak solutions of mineral or organic acids with subsequent ultrafiltration was developed. The technology is tested in the production of substances of allapinin, galantamine gidrobomida, licorine hydrochloride and bioreagent aconitine. It was established that it is possible to remove high molecular surfactants with a molecular mass of over 10,000 (proteins, pectin, polysaccharides, lipids, and others) by ultrafiltration, and thereby prevent the formation of emulsions and increase the yield of desired products. Stable examples of the above drugs were obtained.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ - СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ - LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Садиқов А.З., Шакиров Т.Т. Способ получения гелиотрина из надземной части *Heliotropum dasicarpum* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1986. – №1. – С. 86–88. (02.00.00. №1).

2. Садиқов А.З., Шакиров Т.Т. Способ получения аллапинина из надземной части *Aconitum leucostomum* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1988. – № 1. – С. 91–94. (02.00.00. №1).

3. Садиқов А.З., Махкамова А.У., Сафонова Э.В., Добронравова Е., Шакиров Т.Т. Метод количественного определения аллапинина // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1989. – №3. – С. 436–437. (02.00.00. №1).

4. Садиқов А.З., Сафонова Э.В., Шакиров Т.Т. Экспресс-метод количественного определения аллапинина в траве *Aconitum leucostomum* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1993. – №2. С. 306-307. (02.00.00. №1).

5. Зальмеж Н.И., Садиқов А.З., Шакиров Т.Т. Экстракция суммы

алкалоидов из клубней *Aconitum songoricum* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1994. – №3. – С.445. (02.00.00. №1).

6. Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Шакиров Т.Т. Способ получения ликорина гидрохлорида из листьев *Ungernia Severtsovii* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1999. – Спец. выпуск. – С. 115–118. (02.00.00. №1).

7. Сагдуллаев Ш.Ш., Садилов А.З., Джахангиров Ф.Н., Шакиров Т.Т. Аклезин – новый антиаритмический препарат из надземной части *Aconitum leucostomum* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1999. – Спец. выпуск. – С. 134–136. (02.00.00. №1).

8. Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Шакиров Т.Т. Жидкостно-жидкостная технология получения нового антиаритмического препарата аклезина из надземной части *Aconitum leucostomum* // Химико-фармацевтический журнал. – Москва, 2000. – №6. – С. 29–31. (02.00.00. 12. Index Copernicus. IFA – 0,300).

9. Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Ботиров Р.А. Совершенствование технологии получения ликорина гидрохлорида из листьев *Ungernia Severtsovii* // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2011. – №1. – С. 37–41. (02.00.00. №2).

10. Н.В. Валиев, Сагдуллаев Ш.Ш., Садилов А.З. N–дезацетиллапаконитина гидробромид – новый антиаритмический препарат из отходов производства субстанции препарата аллапинин // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2012. – №1. – С. 64–67. (02.00.00. №2).

11. Патент РУз №523. Гелиотрин олиш усули/ Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Шамсутдинов М–Р.И. // Расмий ахборотнома. – 1994. – № 1.

12. Патент РУз №524. Аконитин олиш усули/ Садилов А.З., Трофимова Н.И., Шакиров Т.Т., Юнусов М.С. // Расмий ахборотнома. – 1994. – №1.

13. Патент РУз №526. Ликорин гидрохлорид олиш усули/ Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Трофимова Н.И., Рахимова Д.А. // Расмий ахборотнома. – 1994. – № 1.

14. Патент РУз №645. Антиаритмик таъсирга эга воситани олиш усули/ Садилов А.З., Арипов Х.Н., Джахангиров Ф.Н., Шакиров Т.Т., Тельнов В.А., Галяутдинова Р.М., Режепов Д., Усманова С., Быков В.А., Зайко Л.Н., Буданова Д.И. // Расмий ахборотнома. – 1994. – №1.

15. Патент РФ №2039568. Способ получения средства, обладающего антиаритмическим действием / Садилов А.З. Арипов Х.Н., Джахангиров Ф.Н., Шакиров, Т.Т. Тельнов В.А., Галяутдинова Р.М., Режепов Д., Усманова С., Быков В.А., Зайко Л.Н., Буданова Г.В., Шретер А.И. // Б.И.– 1995 – №20.

16. Патент РУз №831. Способ получения импералина/ Садилов А.З., Зальмеж Н.И., Шакиров Т.Т., Шакиров Р.Ш., Мирзаев Ю.Р. // Расмий ахборотнома. – 1994.– №2.

17. Патент РУз №880. Способ получения бикукулина/ Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Муминходжаев А.М., Исроилов И.А., Юнусов М.С., Рахимова Д.А. // Расмий ахборотнома. – 1994. – № 2.

18. Патент РУз №881. Способ получения средства, обладающего антиаритмическим действием (Аклезин)/ Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Юнусов М.С., Тельнов В.А., Джахангиров Ф.Н., Садритдинов Ф., Саттарова А., Добронравова Е.И., Пак А., Тилляев М.К., Генкина Г.А., Тайжанов К., Камилов Г.

// Расмий ахборотнома. – 1994. – №2.

19. Патент РУз №1755. Протопин гидрохлорид олиш усули/ Садиқов А.З., Зальмеж Н.И., Шакиров Т.Т., Набиев А., Джахангиров Ф.Н., Исраилов И.А., Нигматуллаев А.Л., Рахимова Д.А. // Расмий ахборотнома. – 1994. – №2.

20. Патент РУз №5362. Способ получения средства, обладающего стимулирующим действием на мускулатуру матки / Садиқов А.З., Шакиров Т.Т., Арипов Х.Н., Арипова С.Ф., Ходжаев В.У. // Расмий ахборотнома. - 1998. -№4.

21. Патент РУз №5498. Способ получения средства обладающего антиаритмическим действием/ Садиқов А.З., Арипов Х.Н., Сагдуллаев Ш.Ш., Тураходжаев М.Т., Джахангиров Ф.Н. // Расмий ахборотнома – 1999. – № 1.

22. Патент РУз №IAP 02014. Способ получения средства обладающего антиаритмическим действием/ Садиқов А.З., Арипов Х.Н., Сагдуллаев Ш.Ш., Джахангиров Ф.Н. // Расмий ахборотнома. – 2000. – № 6.

23. Патент РУз №IAP 03421. Способ получения галантамина гидробромида / Садиқов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Азимова Ш.С., Абдуазимов Х.А. // Расмий ахборотнома. – 2007. – №4.

24. Патент РУз №IAP 04544. Антиаритмическое средство и способ его получения / Сагдуллаев Ш.Ш., Садиқов А.З., Джахангиров Ф.Н., Муллабаева З.У., Касимова К.Р., Курбанов Р.Д., Закиров Н.У., Салаев О.С. // Расмий ахборотнома. – 2012. – № 8.

25. Патент РУз №IAP 04737. Способ получения средства, обладающего антиаритмическим действием / Садиқов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Джахангиров Ф.Н., Валиев Н.В. // Расмий ахборотнома. – 2013. – № 8.

26. Патент РУз №IAP 04858. Способ получения N-дезацетиллаппаконитина гидробромида, обладающего антиаритмическим действием / Садиқов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Валиев Н.В., Джахангиров Ф.Н., Абдуллаев Н.Д., Турсунходжаева Ф.М., Усманова С.К. // Расмий ахборотнома. – 2014. – №4.

27. Патент РУз №IAP 04803. Способ получения аконитина/ Садиқов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Джураев О.Т. // Расмий ахборотнома. – 2014. – № 1.

II бўлим (II часть; II part)

28. Авт. свид. № 1163881. Способ получения гелиотрина/ Садиқов А.З., Шакиров Т.Т., Шамсутдинов М – Р.И. // Открытия, изобретения. – 1985. – №24. – С. 19

29. Авт. свид. №1196004. Способ получения лаппаконитина гидробромида (аллапинина)/ Садиқов А.З., Шакиров Т.Т., Шамсутдинов М–Р.И., Юнусов М.С., Тельнов В.А. // Открытия, изобретения. –1985.– № 45. – С. 17.

30. Авт. свид. №127654. Способ получения ликорина гидрохлорида/ Садиқов А.З., Шакиров Т.Т., Рахимова Д.А., Садиқов Т., Хамидходжаев С.А. // Открытия, изобретения. –1986. – №46. – С. 15

31. Авт. свид. №1312778. Способ получения аконитина/ Садиқов А.З., Шакиров Т.Т., Зальмеж Н.И., Султанхаджаев М.Н., Юнусов М.С., Тайжанов К. // Открытия, изобретения. –1987. – №47. – С. 19

32. Лабораторный технологический регламент получения протопина гидрохлорида / Садиқов А.З., Бабаев Б., Шакиров Т.Т., Добронравова Е.К.,

Рахимова Д.А. Утв. ИХРВ АН РУз в 1976 г.

33. Опытнo-промышленный регламент на производство гелиотрина / Шакиров Т.Т., Шамсутдинов М.Р.И., Садилов А.З., Добронравова Е.К., Рахимова Д.А. Утв. ИХРВ АН РУз в 1982 г.

34. Опытнo-промышленный регламент на производство аконитина / Трофимона Н.И., Садилов А.З., Шакиров Т.Т. Утв. ИХРВ АН РУз в 1985 г.

35. Опытнo-промышленный регламент на производство бикукулина / Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Муминходжаев А.М. Утв. ИХРВ АН РУз в 1986 г.

36. Опытнo-промышленный регламент на производство ликорина гидрохлорида / Садилов А.З., Шакиров Т.Т., Рахимова Д.А., Садилов Т., Хамидходжаев С.А. Утв. ИХРВ АН РУз в 1986 г.

37. Опытнo-промышленный регламент на производство аклезина / Садилов А.З., Муминходжаев А.М., Шакиров Т.Т., Сагдуллаев Ш.Ш. Утв. ИХРВ АН РУз в 1993 г.

38. Промышленный регламент на производство аллапинина из надземной части *Aconitum leucostomum* / Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Шакиров Т.Т. Утв. ПР 42 Уз-03873/03535440-0084-1999. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 1999 г.

39. Промышленный регламент на производство субстанции галантамина гидробромида / Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Азимова Ш.С. Утв. ПР 42 Уз-03823/03535440-612-2005. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2001 г.

40. Промышленный регламент на производство аллапинина из корневищ с корнями *Aconitum septentrionale* / Садилов А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Шакиров Т.Т. Утв. ПР 42 Уз-03873/03535440-612-2001. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2001 г.

41. ВФС 42-2418-94. Аклезин-субстанция / Арипов Х.Н., Тураходжаев М.Т., Садилов А.З., Саттарова А.Х., Муминходжаев А.М. Утв. ФК МЗ РФ 1995 г.

42. ВФС 42-2419-94. Таблетки аклезина 0,025 г, покрытые оболочкой / Арипов Х.Н., Тураходжаев М.Т., Пак А.П., Садилов А.З., Саттарова А.Х. Утв. ФК МЗ РФ 1995 г.

43. ФС 42 Уз-0092-01. Раствор аллапинина 0,5% для инъекций / Шахидоятов Х.М., Тураходжаев М.Т., Садилова Ш.А., Сагдуллаев Ш.Ш., Садилов А.З., Сафонова Э.В. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2001 г.

44. ФС 42 Уз-0299-2003. Трава борца белоустого / Садилов А.З., Сафонова Э.В., Садилова Ш.А., Якубова М.Р., Сагдуллаев Ш.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2003 г.

45. ВФС 42 Уз-0585-2003. Протопина гидрохлорид / Садилов А.З., Тураходжаев М.Т., Рахимов Д.А., Сагдуллаев Ш.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2003 г.

46. ВФС 42 Уз-0586-2003. Таблетки протопина гидрохлорида по 0,01 г / Садилов А.З., Тураходжаев М.Т., Рахимов Д.А., Сагдуллаев Ш.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2003 г.

47. ФС 42 Уз-0093-06. Таблетки аллапинина 0,025 г / Сагдуллаев Ш.Ш., Тураходжаев М.Т., Садилов А.З., Садилова Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2006 г.

48. ФС 42 Уз-0091-2011. Аллапинин – субстанция / Садилов А.З., Махкамова А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2011 г.

49. ФС 42 Уз-0300-2013. Корневища с корнями борца северного / Тураходжаев М.Т., Садииков А.З., Махкамова А.У., Садиикова Ш.А., Якубова М.Р., Сагдуллаев Ш.Ш., Сафонова Э.В. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2013 г.
50. ФС 42 Уз-0934-2014. Корневища с корнями борца белоустого / Сагдуллаев Ш.Ш., Пулатов А.А., Садииков А.З., Отаева Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2014 г.
51. ФСП 42 Уз-03535440-1020-2014. Галантамина гидробромид – стандартный образец / Абдуллаев Н.Д., Сагдуллаев Ш.Ш., Садииков А.З., Тураходжаев М.Т., Муллабаева З.У., Отаева Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2014 г.
52. ФСП 42 Уз-03535440-1021-2014. Галантамина гидробромид / Абдуллаев Н.Д., Сагдуллаев Ш.Ш., Садииков А.З., Тураходжаев М.Т., Муллабаева З.У., Отаева Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2014 г.
53. ВФС 42 Уз-2645-2015. Аксаритмин / Сагдуллаев Ш.Ш., Садииков А.З., Азимова Ш.С., Валиев Н.В., Отаева Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ФК ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2015 г.
54. ВФС 42 Уз-2646-2015. Аксаритмин таблетки, покрытые оболочкой, 0,025 г. / Сагдуллаев Ш.Ш., Садииков А.З., Азимова Ш.С., Мадрахимов Ш.Н., Валиев Н.В., Азизова М.А., Отаева Ш.А., Махмудова Б.Ш. Утв. ФК ГУККЛС и МТ МЗ РУз. 2015 г.
55. Садииков А.З., Шакиров Т.Т., Рахимова Д.А. Гелиотрин - новый биореактив из растения *Heliotropium dasicarpum*. // I Региональное совещание по химическим реактивам респ. Сред. Азии и Казахстана: Тез. докл. - Душанбе. 1986.- С.31.
56. Садииков А.З., Шакиров Т.Т., Рахимова Д.А., Зальмеж Н.И., Султанходжаев М.Н., Юнусов М.С. О производстве биореактива аконитина из растения *Aconitum songoricum* // I Региональное совещание по химическим реактивам респ. Сред. Азии и Казахстана: Тез. докл. - Душанбе. 1986.- С.33.
57. Садииков А.З., Джахангиров Ф.Н., Садриддинов Ф.С., Тельнов В.А., Шакиров Т.Т., Добронравова Е.К., Юнусов М.С. Аллапинин - новый антиаритмический препарат из растения *Aconitum leucostomum* // Результаты и перспективы научных исследований по биотехнологии: Тез. докл. Всесоюзной научно-технической конференции. - Ленинград, 1989. – С.29-30.
58. Садииков А.З., Муминходжаев А.М., Шакиров Т.Т. О выделении биореактива бикукулина из надземной части *Corydalis pseudoauncea* // Актуальные проблемы химии природных соединений: Тез. докл. Научной конференции молодых ученых. – Ташкент, 1993 – С.57-58.
59. Садииков А.З., Муминходжаев А.М., Шакиров Т.Т. Экстракция суммы алкалоидов из надземной части *Aconitum leucostomum* // Актуальные проблемы химии природных соединений: Тез. докл. Научной конференции молодых ученых. – Ташкент, 1993 – С.78.
60. Sadikov A.Z., Shakirov T.T., Zalmej N.I. Technology of processing of protopine hydrochloride // 1st International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Tashkent, 1994. - p.79.

61. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Shakirov T.T. Acelezin - a new antiarrhythmic preparation from aerial parts of *Aconitum Leucostomum* // 1st International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Bukhara, 1994. - p.93.

62. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Shakirov T.T. About processing licorine hydrochloride from *Ungernia Sewertzovii* // 1st International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Bukhara, 1994. - p.141.

63. Садиков А.З., Набиев А.Н. Фармакологические свойства и получение протопина гидрохлорида – средства для лечения дискинезии желчных путей и гепатита // Создание лекарственных ресурсов, лечебно-профилактических средств и использование в медицинской практике: Тез. докл. Республиканской научно-практической конференции: - Самарканд, 1996. – С.27.

64. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Gusakova S.D., Shakirov T.T. New Trends in the Technology of Medicinal Raw Material Reprocessing // 2nd International Symposium on the Chemistry of Natural compound. – Eskieehir (Turkey), 1996.- p.116.

65. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Turakhodjaev M.T. Scientific achievements, in the field of complete use of the plant raw materials in the production of some preparations // International Conference: Medicinal Raw Material and Phytopreparation for Medicine and Agriculture.- Karaganda, 1999.- p.132.

66. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Drug preparations derived from aerial part of *aconitum leucostomum* plant // International Conference: Medicinal raw material and phytopreparation for medicine and agriculture.- Karaganda, 1999. - p.305.

67. Sadikov A.Z., Yakubova M.R., Sagdullaev Sh.Sh. Reliable method for quantitative determination of licorine in the leaves of *Ungernia Sewertzovii* // International Conference: Medicinal raw material and phytopreparation for medicine and agriculture.- Karaganda, 1999. – p.308.

68. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Shakirov T.T. Liquid-liquid technology of antiarrhythmic preparation allapinine obtaining from aerial parts of *Aconitum leucostomum* // International Conference: Medicinal raw material and phytopreparation for medicine and agriculture.- Karaganda, 1999. - p.120.

69. Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Якубова М.Р., Турахожаев М.Т. Усовершенствованный метод количественного определения ликорина в листьях унгернии Северцова // Создание лекарственных ресурсов диагностических, лечебно-профилактических средств и их применение в медицине: Тез. докл. 2- Республиканской конференции. – Самарканд, 2000. – С.105.

70. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Elaboration of unified technology for production of some biological active alkaloids.// 4th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds.- Turkey, 2001.- p.97.

71. Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Шахидоятов Х.М. Технология лекарственных препаратов из наземной части борца белоустого и из корневищ с корнями борца северного // Интеграция образования, науки и производства в фармации: Тез. докл. Научно-практической конференции. - Ташкент, 2002.- С.71.

72. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Shakirov T.T. Methods for the production

of bicuculine and d- β -hydrastine bioreactives from aerial parts of *Corydalis pseudoadunca* // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Tashkent, 2003.- p.217.

73. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Azimova Sh.S., Abduazimov H.A. On the production technology of galanthamine hydrobromide from the leaves of *Ungernia Victoris* // 6th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. — Ankara (Turkey), 2005.- p.147.

74. Nuriddinov H.R., Sadikov A.Z. HPLC method of analysis of diterpenoid alkaloids. // 7th International Symposium of the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2007. – p.199.

75. Sagdullaev Sh.Sh., Sadikov A.Z. On processing of alkaloid – containing plant raw materials // 7th International Symposium of the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2007.- p.33-34.

76. Rejepov D., Mullabaeva Z.U., Sadikov A.Z., Dzhakhangirov F.N., Sagdullaev Sh.Sh. New domestic antiarrhythmic preparation N-desacetil-lappacinitine hydrochloride from *Aconitum* plants // 7th International Symposium of the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2007.- p.162.

77. Mullabaeva Z.U., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Development of a new method for quantification of galantamine hydrobromide in drug substance by HPLC // 7th International Symposium of the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2007.- p.161.

78. Dzhakhangirov F.N., Kasymova K.R., Rejepov J., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Farmacological and toxicological investigation of the sum of alkaloids from *Aconitum septentrionale* plant (Axarhythmine) // 7th International Symposium of the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2007.- p.168.

79. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Mullabaeva Z.U., Uteniyazov A.K. Liquid-liquid technology for medicinal preparation Lycorine hydrochloride from *Ungernia Sewerzovii* leaves // 1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients. - Urumqi, 2008. – p.222

80. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Djahangirov F.N., Abdullaev N.D., Mullabaeva Z.U., Uteniyazov A.K. New Antiarrhythmic Preparation Manufactured from the Wastes Allapinine Drug Production // 1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients. - Urumqi, 2008. – p.224

81. Джакхангиров Ф.Н., Бижанов Р., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. К фармакологии N-дезацетиллаппаконитина // Терпеноиды: достижения и перспективы применения в области химии, технологии производства и медицины: Тез. докл. Международной научно-практической конференции. – Караганда. 2008. – С.299-300

82. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Otaeva Sh.A., Madrahimova M., Valiev N.V. Spectrophotometric Method for Analysis of 0.5% Antiarrhythmin Solution for Injection // 8th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, - Eskisehir (Turkey), 2009 - p.86

83. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Djahangirov F.N., Valiev N.V., Mullabaeva Z.U. Antiarrhythmic Preparation Antiarrhythmin Product of Decomposition from Medicinal Preparation Allapinine // 8th International Symposium on

the Chemistry of Natural Compounds. - Eskisehir (Turkey), 2009 - p.102

84. Djahangirov F.N., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Valiev N.V., Jenis J. New Pharmacological Properties of Antiarrhythmic Preparation N-Desacetyl-lappaconitine Hydrobromide. // 8th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Eskisehir (Turkey), 2009 - p.108

85. Sagdullaev Sh.Sh., Sadikov A.Z., Valiev N.V. Dependence of N-Desacetyl-lappaconitine Hydrobromide from the Method of Its Preparation // 2nd Annual Russian-Korean Conference: Current issues of natural products chemistry and biotechnology. – Novosibirsk (Russia), 2010 - p.127

86. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Valiev N.V., Otaeva Sh.A.. Analytical Control of Production of N-Desacetyl-lappaconitine hydrobromide // 2nd Annual Russian-Korean Conference: Current issues of natural products chemistry and biotechnology. - Novosibirsk (Russia), 2010 – p.128

87. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Mullabaeva Z.U. Chromatographic Method of Purifying Substance of Acsaritmin Preparation // 2nd Annual Russian-Korean Conference: Current issues of natural products chemistry and biotechnology. - Novosibirsk (Russia), 2010 - p.129

88. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Mullabaeva Z.U., Otaeva Sh.A. Spectrophotometric Method of Analyses Substance of Acsaritmin Preparation // 2nd Annual Russian-Korean Conference: Current issues of natural products chemistry and biotechnology. - Novosibirsk (Russia), 2010 - p.130

89. Juraev O.T., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Technology for producing new antiarrhythmic drug 1-o-benzoylnapelline hydrochloride // International conference «Current topics in organic chemistry». - Novosibirsk (Russia), 2010 - p.180

90. Sagdullaev Sh.Sh., Sadikov A.Z., Tursunova M.E., Valiev N.V., Juraev O.T., Botirov R.A. On acid-water extraction – ultrafiltration technology for some biologically active alkaloids production from local plants // 9th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. - Urumqi (China), 2011 - p.243

Автореферат «Тил ва адабиёт таълими» журнали тахририятида тахрирдан ўтказилди (14.05.2015 йил).