

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ  
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ  
DSc.02/30.12.2019.К/ФМ/Т.36.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ**

**РАХМАНОВА ВАЗИРА НОРҚУЛОВНА**

***BOMBUX MORI* СУЛЬФАТЛАНГАН ХИТОЗАННИНГ СИНТЕЗИ,  
СТРУКТУРАСИ ВА ХОССАЛАРИ**

**02.00.06 – Юқори молекуляр бирикмалар**

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD) ДИССЕРТАЦИЯСИ  
АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент – 2021**

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси  
автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по  
химическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on chemical  
sciences**

**Рахманова Вазира Норкуловна**

*Bombyx mori* сульфатланган хитозанининг синтези,  
структураси ва хоссалари.....3

**Рахманова Вазира Норкуловна**

Синтез, структура и свойства сульфатированного  
хитозана *Bombyx mori*.....21

**Rakhmanova Vazira Norkulovna**

Synthesis, structure and properties of  
sulfated chitosan *Bombyx mori*.....39

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ  
List of published works.....42

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ  
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ  
DSc.02/30.12.2019.К/ФМ/Т.36.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ**

**РАХМАНОВА ВАЗИРА НОРҚУЛОВНА**

***ВОМБУХ МОРИ* СУЛЬФАТЛАНГАН ХИТОЗАНИНИНГ СИНТЕЗИ,  
СТРУКТУРАСИ ВА ХОССАЛАРИ**

**02.00.06 – Юқори молекуляр бирикмалар**

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент – 2021**

Кимё фахлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.4.PhD/K340 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Полимерлар кимёси ва физикаси институтида бажарилган.  
Диссертация автореферати уч тилда (Ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-сайтига (polchemphys.uz) ҳамда «ZiyoNET» Ахборот таълим порталига (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.


Илмий раҳбар:	Рашидова Сайёра Шарафовна кимё фахлари доктори, профессор, академик
Расмий оponentлар:	Ихтирова Гулнора Акмаевна кимё фахлари доктори, профессор Юнусов Хайдар Эргашович техника фахлари доктори, катта илмий ходим
Ётақчи ташкилот:	Биоорганик кимё институти


Диссертация ҳимояси Полимерлар кимёси ва физикаси институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.02/30.12.2019.K/FM/T.36.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «26» ноябрь соат 19:00даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100128, Тошкент шаҳри, Абдулла Қодирий кўчаси, 7<sup>н</sup>. Тел: (+99871) 241-85-94; факс: (+99871) 241-26-61, e-mail: polymer@academy.uz).

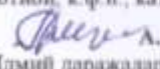
Диссертация билан Полимерлар кимёси ва физикаси институтининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (26 рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100128, Тошкент шаҳри, Абдулла Қодирий кўчаси, 7<sup>н</sup>. Тел: (+99871) 241-85-94).

Диссертация автореферати 2021 йил «12» ноябрь кунин тарқатилди.  
(2021 йил «12» ноябрь даги 11 рақамли реестр баённомаси).



  
Н.Р. Ашуров  
Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш  
раиси ўринбосари, т.ф.д., профессор

  
М.М. Усминова  
Илмий даражалар берувчи Илмий  
кенгаш котиби, к.ф.и., катта илмий ходим

  
А.А. Сарымсаков  
Илмий даражалар берувчи Илмий  
кенгаш қотидаги илмий семинар  
раиси, т.ф.д., профессор

## КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда сувда эрувчан, тиббий-биологик (антибактериал, антикоагулянт, иммунологик бошқ.) хоссаларга эга бўлган табиий полимерлар ва уларнинг ҳосилалари асосида олинган препаратларга эҳтиёж ортиб бормоқда. Ушбу йўналишда хитозан ва унинг ҳосилалари, жумладан, сульфат хитозан асосида антибактериал ва антикоагулянт хусусиятларга эга бўлган янги авлод дори воситаларини яратиш ва амалиётга татбиқ қилиш муҳим аҳамиятга эга.

Бугунги кунда жаҳонда хитозаннинг молекуляр ва структуравий хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда, турли хил омилларни бошқариш орқали модификацияланган ҳосилаларини синтез қилишга бағишланган фундаментал илмий тадқиқотлар жадал олиб борилмоқда. Бу борада хитозаннинг сульфатланган сувда эрувчан ҳосилаларини синтез қилиш ва уларнинг структуравий, физик- кимёвий ва биологик хоссаларини ўрганиш, ҳамда улар асосида комплекс таъсир қилувчи антимиқроб ва иммуннофаол хоссалар мажмуига эга бўлган дори воситаларини ишлаб чиқиш долзарб ҳисобланади.

Республикамизда маҳаллий табиий хом ашё асосида янги дори воситаларини яратиш бўйича, илмий тадқиқотлар олиб бориш ва маҳаллий фармацевтика саноатини ривожлантириш бўйича кенг қўламли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда, бунда тиббиёт тармоғида қўлланиладиган дори воситаларининг янги полимер препаратив шакллари яратишда муҳим натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида<sup>1</sup> ва 2030 йилгача фанни ривожлантириш концепциясида<sup>2</sup> «...фармацевтика соҳасида ишлаб чиқаришни ошириш...» вазифалари белгилаб берилган. Бу борада *Bombux mori* хитозан сульфатини синтез қилиш шароитларини тадқиқ қилиш, унинг тузилиши ва хоссаларини аниқлаш ҳамда тиббиёт амалиётида қўллашга қаратилган илмий-амалий тадқиқотлар ўтқазилмоқда муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 07 февралдаги ПФ-4947-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2017 йил 17 февралдаги ПҚ-2789-сонли «ЎзР ФА фаолиятини такомиллаштириш, илмий тадқиқот ишларини ташкиллаштириш, бошқариш ва молиялаштиришни янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ва 2020 йил 12 августдаги ПҚ-4805-сонли «Кимё ва биология йўналишларида узлуксиз таълим сифати ва фан самарадорлигини ошириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарорлари ҳамда ушбу соҳада қабул қилинган бошқа меъёрий ҳужжатлар билан

<sup>1</sup>Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» Фармони.

<sup>2</sup>Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 29 октябрдаги ПФ-4947-сон «Илм-фанни 2030 йилгача ривожлантириш концепциясини тасдиқлаш тўғрисида» Фармони.

белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги.** Мазкур тадқиқот республикада фан ва технологияларни ривожлантиришнинг VI. «Медицина ва фармакология» ва VII. «Кимёвий технологиялар ва нанотехнологиялар» йўналишларига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Дунёнинг кўпгина мамлакатларида хитозан ва унинг ҳосилаларини ўрганиш ҳамда уларни қўллаш бўйича илмий изланишлар жадаллик билан олиб борилмоқда. Краб хитинидан олинган сульфатланган хитозанни олиш усулларини ўрганиш бўйича илмий йўналишни ривожлантиришга Z.Wang, P. Chandika, S. El-Saharty, B. Focher, Sh. Hirano, R. Holme, E. M. Zhang, N. Subhapradha, R. Pires, S. Kosabay ва бир қатор илмий мактаблар томонидан катта ҳисса қўшилган, жумладан, МДХ давлатларидан А.И. Гамзаде, Л.А. Вихорева, Л.А. Нудьга, К.Э. Будовская, П.П. Столбушкина каби ва бошқа олимларнинг илмий-тадқиқот ишларини таъкидлаб ўтиш зарур.

Республикамизда мазкур йўналиш ривожига академик С.Ш. Рашидова ва унинг шогирдлари ўз изланишлари билан хитозан ва унинг ҳосилаларини синтез қилиш, тузилиш ва хоссаларини аниқлаш ҳамда амалиётга жорий қилиш орқали ўз хиссаларини қўшиб келмоқдалар.

Ушбу изланишларга қадар сульфатланган *Bombyx mori* хитозанини синтез қилиш ва реакция жараёнининг кинетик қонуниятини ўрганиш борасида тадқиқотлар етарлича ўрганилмаган. Мазкур йўналишдаги фундаментал изланишларни амалга ошириш юқори биологик фаолликка эга бўлган хитозан ҳосилалари асосидаги экологик хавфсиз полимер препаратларни яратиш истиқболларини юзага келтиради.

**Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Полимерлар кимёси ва физикаси институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг 3Ф-1 «Полимер тизимларда нанозаррачалар ва наноструктураларни шакллантиришнинг илмий асослари» (2003-2007 йй.); ФА-Ф-3-Т 100 «Полимерларда наноструктуралар, яратиш йўллари ва материалларнинг махсус хоссаларида намоён бўлиш қонуниятлари» (2007-2011 йй.); ФА-А-14-Т-043 «Полисахаридлар асосида янги маҳаллий наноструктураларни препаратларни ишлаб чиқиш ва улардан турли этиологияли касалликларни даволашда фойдаланиш» (2009-2011 йй.); ОТ-Ф7-01 «Нанополимер тизимлар: махсус хоссали материалларни яратишда кинетик жиҳатлар ва электрон тузилишнинг роли» (2016-2020 йй) фундаментал ва амалий тадқиқот лойиҳалари доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** *Bombyx mori* сульфатланган хитозанини синтез қилиш йўллари аниқлаш, молекуляр массавий, структуравий хусусиятларини ва хоссаларини тадқиқ қилиш ҳамда тиббий-биологик хоссаларини аниқлашдан иборат.

### **Тадқиқотнинг вазифалари:**

турли хил сульфатловчи агентлар иштирокида *Bombyx mori* хитозан сульфатини синтез қилиш;

сульфатлаш реакциясининг кинетикасини тадқиқ қилиш ва хитозан сульфат синтезининг мақбул шароитларини аниқлаш;

хитозан сульфатнинг молекуляр массавий ва конформацион тавсифлари ва эритмалардаги барқарорлигини тадқиқ қилиш;

хитозан сульфатнинг тузилиши ва физик-кимёвий хоссаларини тадқиқ қилиш;

хитозан сульфатнинг электрон тузилишини ўрганиш ва моделлаштириш;

*Bombyx mori* хитозан сульфатининг гиперхолестеримияга қарши тиббий-биологик хоссаларини аниқлаш.

**Тадқиқот объекти** *Bombyx mori* хитозани, хлорсульфон кислотаси, хитозан сульфат ва у асосида олинган биологик фаол дори воситаларидан иборат.

**Тадқиқотнинг предмети** *Bombyx mori* хитозанини сульфатлашнинг қонуниятларини ўрганиш, молекуляр массавий хусусиятларини аниқлаш, хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакцияси кинетикаси, физик-кимёвий хоссалари ва тиббий-биологик хусусиятларини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотларда элемент-анализи, УВ- ва ИҚ-Фурье спектроскопияси, рентген-структуравий таҳлил, ёруғликнинг динамик тарқалиши усули, сорбцион таҳлил, кондуктометриқ титрлаш, вискозиметрия, физик-кимёвий ва квант-кимёвий назарий ҳисоблаш усулларидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

илк бор сульфатловчи агент сифатида хлорсульфон кислотасидан фойдаланган ҳолда *Bombyx mori* сульфатланган хитозани олинган;

хитозанни сульфатлаш реакциясининг кинетик қонуниятлари ва маълум молекуляр тузилишга ҳамда функционал гуруҳларнинг алмашилиш даражасига эга бўлган хитозан сульфат олишнинг мақбул шароитлари аниқланган;

сульфатланган хитозаннинг молекуляр-массавий хусусиятлари, полидисперслик қийматлари, конформацион хоссалари ва Кун сегментининг узунлиги аниқланган;

*Bombyx mori* хитозан сульфати асосида кам захарлилик, гиполипидемик, антикоагулянтлик ва бошқа хусусиятларга эга бўлган "Сульфопарин" дори воситаси яратилган ва атеросклероз фармокотерапиясида юқори самарадорлиги кўрсатилган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

*Bombyx mori* хитозан сульфати синтезининг мақбул шароитлари аниқланган, ишлаб чиқаришнинг лаборатория регламенти ишлаб чиқилган ҳамда тиббий-биологик хоссалари исботланган.

*Bombyx mori* хитозан сульфати гиполипидемик воситалар сифатида, атеросклерознинг фармокотерапиясида ва антикоагулянт сифатида

гиперхолестеринемияда, шунингдек иммунологик ва гематологик препаратлар сифатида тадқиқ қилинган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончилиги.** Хитозан сульфат синтези ҳамда уларнинг физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш бўйича олиб борилган тажрибалар натижалари замонавий физик-кимёвий усуллар ёрдамида олинди. Тадқиқот бўйича хулосалар кимёвий жараёнлар ва кинетиканинг замонавий назарияларида қўлланиладиган тенгламалардан фойдаланган ҳолда олинган натижалар асосида қабул қилинди. Олинган натижалар республика ва халқаро илмий анжуманларда муҳокама қилинди.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти *Bombyx mori* хитозанини сульфатлаш реакциясининг кинетик қонуниятлари ўрнатилганлигидир. Маълум алмашиниш даражаси ва занжир тузилишига эга бўлган хитозан сульфатини синтез қилишда реакция механизмлари асослаб берилган ҳолда *Bombyx mori* хитозан сульфатининг молекуляр массавий тақсимланиши, полидисперслиги ва конформацион тавсифлари тадқиқ этилган.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти *Bombyx mori* хитозан сульфатининг аниқланган тиббий-биологик хусусиятлари гиполипидемик восита сифатида, атеросклерознинг фармакотерапиясида ва гиперхолестеринемияда қўлланилган ва кам токсик антикоагулянт "Сульфопарин" дори воситаси ёрдамида гиперхолестеринемиянинг олдини олиш ва атеросклерозни даволашда самарали натижаларга эришилган.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** «*Bombyx mori* сульфатланган хитозанининг синтези, тузилиши ва хусусиятлари» бўйича олинган диссертация ишида келтирилган илмий натижалар асосида:

*Bombyx mori* хитозан сульфатининг намуналари гиполепидемик хоссаларига эга бўлган АДСС-28.8 рақамли “Куйиш яраларини даволашда хитозан ҳосилаларидан фойдаланишнинг мақбул усулини ишлаб чиқиш ва танлаш” мавзусидаги амалий лойиҳасида атерогенез ҳавфини, қондаги холестерин ва липидлар миқдорини камайтирувчи хусусиятларига эга бўлган дори воситасини яратишда фойдаланилган (Тошкент тиббиёт академиясининг 2021 йил 9 октябрдаги №03/3093-сон маълумотномаси). Натижада атеросклерознинг фармакотерапияси ва гиперхолестеринемияда антикоагулянт сифатида қўлланиладиган иммунологик ва гематологик хоссага эга бўлган “Сульфопарин” янги дори воситасини яратиш имконини берган;

мазкур тадқиқот бўйича чоп этилган *Bombyx mori* хитозан сульфати синтези, тузилиш таҳлили, реакция механизми ва хоссаларига оид тадқиқот натижаларидан юқори импакт факторли (IF) 3 та хорижий илмий журналларда фойдаланилган ва ҳаволалар берилган (Polymers, 2018, V.10, Scopus , IF=4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF=9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF=18.808). Натижада қисқичбақасимонлардан олинган хитозан асосида сульфатланган хитозан синтезини амалга ошириш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Диссертация бўйича олинган асосий натижалар 6 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларда маъруза қилинган ва муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 17 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан фалсафа фанлари доктори (PhD) диссертациянинг асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 2 таси Республика ва 3 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 112 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида танланган мавзунинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, объектлари ва предметлари белгиланган, Ўзбекистон Республикасида фан ва технологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, унинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг ишончлилиги асосланган, назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий этиш истиқболлари бўйича хулосалар келтирилган.

Диссертациянинг "**Хитозаннинг сульфатланиши ва унинг биологик фаоллиги**" (адабиётлар шарҳи) номли биринчи бобида турли хил хом ашё манбаларидан хитозан сульфат синтезининг замонавий талқини келтирилган бўлиб, *Bombux mori* хитозанини сульфатлашнинг истиқболлари асосланган ва ушбу реакцияни амалга оширишнинг мақбул шароитлари танланган. Хитозан сульфатнинг молекуляр тузилиши ва махсус хусусиятларининг ўзига хослиги ва унинг амалиётда қўлланилишидаги, хусусан, тиббий-биологик жиҳатдан самарадорлиги муҳокама қилинган. Тадқиқот вазифалари шакллантирилган ва асосланган.

Диссертациянинг «**Объектлар ва тадқиқ этиш методлари**» номли иккинчи боби тадқиқот объектлари ва реагентлар тавсифлари ҳақидаги методик қисмдан ҳамда *Bombux mori* ипак қурти ғумбагидан олинадиган хитозанининг сувда эрийдиган ҳосиласи - хитозан сульфати (СХЗ) хоссалари ва уларни олиш усуллари тавсифланган. *Bombux mori* хитозанини сульфатлашнинг танланган усуллари ва бу реакцияни амалга ошириш учун қўлланилган реагентлар (натрий гидроксид, сульфат кислота, олеум, хлорсульфон кислотаси, диметилсульфоксид, натрий ацетат, этил спирти) келтирилган.

Хитозан ва хитозан сульфатни идентификация қилишда қўлланиладиган асосий тадқиқот усуллари (рентгенструктуравий таҳлил, ИҚ-, УБ-спектроскопияси, элемент таҳлили, кондуктометрик титрлаш ва б.) ва эритмалардаги намуналарнинг молекуляр ва структуравий хусусиятларини

тадқиқ қилиш (вискозиметрик, кондуктометрик, босқичли фракциялаш, поляризацион микроскопик ва бошқа методлар) тавсифланган. Физик - кимёвий ва тиббий-биологик тадқиқотларни ўтказишнинг стандарт усуллари ва уларга оид ҳаволалар берилган ва тажриба натижаларини муҳокама қилишдаги ноанъанавий ёндашувлар тадқиқот натижалари қисмида муҳокама қилинган.

Диссертациянинг "***Bombyx mori* хитозан сульфати синтези ва молекуляр тавсифлари**" деб номланган учинчи бобида *Bombyx mori* хитозан сульфатини синтез қилишнинг мақбул шароитларини ва кинетик қонуниятларини аниқлашга йўналтирилган синтез натижалари муҳокама қилинган. Шунингдек, синтез қилинган хитозан сульфатнинг барқарорлиги ва молекуляр массавий хусусиятларини тадқиқ қилиш асосида олинган натижалар келтирилган.

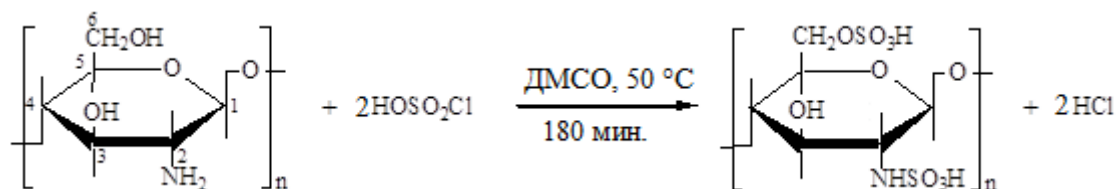
Сульфатлаш учун қўлланиладиган хитозан элементар бўғинларидаги (звенолари) С-2 (NH<sub>2</sub>- гуруҳлари) ва С-6 (СН<sub>2</sub>ОН -гуруҳлари) сульфогуруҳларга (SO<sub>3</sub>H) алмашилиш имконини берадиган ҳолатда бўлиши зарур. Шунинг учун, хитозан сульфатланиш вақтида сульфатланган хитин звено бўғинларилари ҳосил бўлмаслиги учун хитозаннинг деацетилланиш даражаси (ДАД  $\geq 0,75$ ) юқори бўлиши, шунингдек, молекуляр массанинг 30000 дан ортиқ бўлиши талаб этилади, чунки ушбу реакцияда занжирнинг деструкцияси содир бўлганлиги боис, олинган хитозан сульфатнинг молекуляр массаси 1,5÷5 марта камаяди. Мазкур талабларни инобатга олган ҳолда, хитозан намуналари *Bombyx mori* ипак курти ғумбаги хитинини 40 % NaOH эритмасида 120°C да 2 соат давомида, шунингдек, нисбатан қаттиқ шароитларда 50% NaOH эритмасида 3 соат давомида 120°C да деацетиллаш орқали олинди.

Хитозан намуналарини олинганлиги ИҚ-спектроскопияси маълумотлари билан тасдиқланди. 3200-3500 см<sup>-1</sup> соҳада гидроксил -ОН гуруҳининг тебранишларига мос келадиган ютилишлар, 2900 см<sup>-1</sup> соҳада алифатик метилен гуруҳларига хос ютилишлар, шунингдек 1680 см<sup>-1</sup> соҳада амид-I учун хос ютилишлар аниқланди ва деформацион тебранишлар асосан 1395, 1170, 1040, 868 см<sup>-1</sup> соҳаларда намоён бўлиши кузатилди. Элемент анализи, кондуктометрик титрлаш ва вискозиметрия тадқиқотлари шуни кўрсатадики, биринчи ҳолда, хитозан ҳосил бўлиш унуми  $Y \approx 60\%$  ва деацетилланиш даражаси ДАД=76%, 2% СН<sub>3</sub>COOH эритмасида эрувчанлиги  $P=95\%$  ни ташкил қилди, шунингдек полиэлектрولитик эффектнинг олдини олишда 2% СН<sub>3</sub>COONa эритмаси 25°C ҳарорат таъсирида қўлланилганида характеристик қовушқоқлик  $[\eta]_{хз} \approx 5,08$  дл/г га тенг эканлиги аниқланди. Марк-Кун-Хаувинк тенгламаси  $[\eta]_{хз} \approx 1,41 \cdot 10^{-4} M_{\eta}^{0,83}$  асосида ҳисобланган молекуляр массаси  $M_{\eta} \approx 309000$  га тенглиги келтирилди. Иккинчи ҳолатда, хитозан намунасининг ҳосил бўлиш унуми  $Y \approx 49\%$ , ДАД=91%, эрувчанлиги  $P=98\%$ , ни ташкил этиб характеристик қовушқоқлиги  $[\eta]_{хз} \approx 2,05$  дл/г ва  $M_{\eta} \approx 104000$  билан тавсифланди.  $Y$  (унум), ДАД,  $P$  қийматларнинг қиёсий ўсишида  $[\eta]_{хз}$  ва  $M_{\eta}$

нинг кескиш камайиши кузатилади. Бундай занжир деструкциясининг сабаби, ишқор концентрациясининг ортиши (>40%) ва хитин деацетилланиш реакцияси давомийлигининг (1 соатга) ортиши билан боғлиқ бўлади.

ДАД≈76% ва  $M_n \approx 309000$  бўлган ХЗ намуналари краб асосида олинган хитозан учун ишлаб чиқилган усуллар ёрдамида *Bombyx mori* хитозанини сульфатлашнинг асосий имкониятларини тадқиқ қилиш учун қўлланилди. СДА≈91% ва  $M_n \approx 104000$  бўлган намуна асосида *Bombyx mori* хитозанини сульфатлашнинг кинетик қонуниятлари ўрганилди.

*Bombyx mori* ( $M_n \approx 104000$ ) хитозанини сульфатлаш шароитларини танлаш краб хитозанини сульфатлаш принципларига асосан хитозанни фаоллаштирувчи реагент сифатида диметилсульфоксид (ДМСО) ва сульфатловчи реагент сифатида хлорсульфон кислотаси (ХСК) ёрдамида дастлабки компонентлар ХЗ:ХСК=1:6 модулида, ҳарорат 50°C интервалида ва реакция вақти 180 минут бўлган шароитда амалга оширилди. Бундай реакция шароитларида хитозан элементар бўғинларининг С-2 ( $\text{NH}_2$ -гуруҳлари) ва С<sub>6</sub>-(ОН) гуруҳларининг сульфатланишига эришилди:



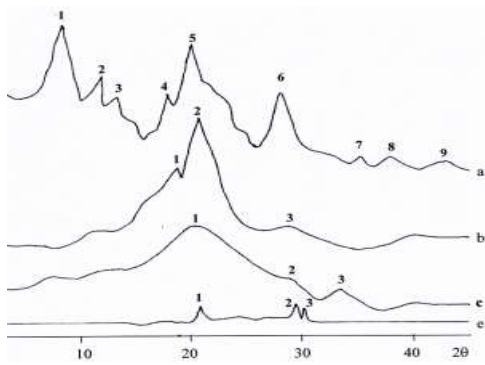
Таклиф қилинаётган реакция механизмида С-2, С-3, С-6 функционал гуруҳларининг реакция фаоллиги қуйидаги кетма-кетликда ортади:  $-\text{NH}_2 < -\text{CH}_2-\text{OH} < -\text{C}_6\text{OH}$ . Ушбу схема бўйича *Bombyx mori* хитозан сульфати намуналарини ҳосил бўлишини тасдиқловчи тўғридан-тўғри далиллар ва таклиф қилинган реакция механизми қиёсий тадқиқотлар натижасида олинган.

Хитозан сульфати аморф полимер бўлиб, уни *Bombyx mori* хом ашёсидан олиш, кристалл тузилишини бузиш ва хитинни деацетиллаш орқали олинган хитозанни сульфатлаш йўли билан босқичма -босқич амалга оширилади (1-расм, 1-жадвал). Рентгеноструктуравий тадқиқотларининг таққосланган натижалари шуни кўрсатдики, хитин, хитозан, хитозан сульфат СХЗ-1 (50°C да) ва СХЗ-3 (80°C да) намуналарининг дифрактограммасининг 2θ бурчакларнинг кенг оралиғидаги характеристик текисликлараро масофада (d) турли хил интенсивлик даражасидаги рефлекслар мавжуд.

#### 1-жадвал

*Bombyx mori* хитини, хитозани ва хитозан сульфатининг рентгенографик тавсифлари

Рефлекс рақами	d, Å			
	Хитин	Хитозан	СХЗ-1	СХЗ-3
1	9,19	4,91	4,46	4,29
2	6,79	4,50	3,17	3,18
3	6,39	3,39	2,91	2,75



**1-расм. *Bombyx mori* хитини (а), хитозани (b), сульфат хитозани**

Хитин (а), хитозан (b) ва СХЗ-1 (с) дифрактограммаларидаги  $2\theta \approx 20^\circ$  соҳасида якқол рефлекслар ушбу намуналарнинг кристалл хуудлари борлигидан далолат беради, жумладан  $80^\circ\text{C}$  ҳароратда олинган СХЗ-3 (е) намуна рентгенограммаларда ушбу рефлекснинг йўқолиши содир бўлган. Бу ҳароратнинг ортиши ва сульфогуруҳларнинг алмашилиш даражасининг ошиши, шунингдек, СХЗ-3 нинг аморф тузилишига ўтиши билан хитозаннинг кристалл тузилишининг юқори даражада бузилишидан далолат беради. Шундай қилиб,

сульфатланиш реакцияси учун реакция шароитларини танлаш билан сульфат хитозаннинг алмашилиш даражасини ошириш мумкин.

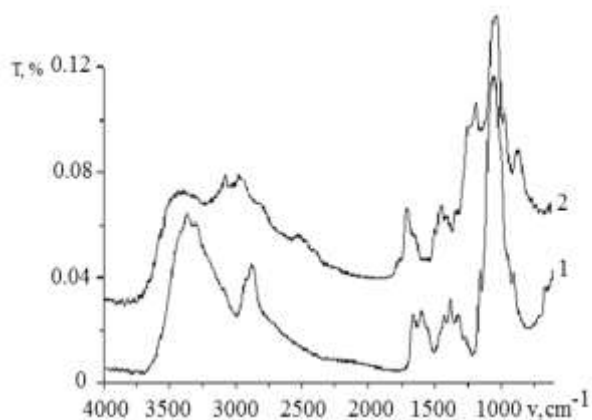
Хитозан сульфати намунасининг ИҚ-спектрида  $1200\text{--}1090\text{ см}^{-1}$  гача бўлган соҳада ( $\text{R-SO}_3\text{H}$ ) сульфон гуруҳларига хос ютилишлар ва  $1240\text{ см}^{-1}$  соҳада  $\text{S=O}$  гуруҳларининг ассиметрик валент тебранишлари билан боғлиқ бўлган ютилиш максимумлари кузатилди (2-расм).  $790\text{ см}^{-1}$  соҳадаги ютилиш максимумлари сульфат гуруҳларининг ( $\text{C-O-C}$  боғлари) валент тебранишларидан далолат беради. Бундан ташқари, гидроксил  $\text{OH-}$  гуруҳининг валент тебранишларига мос келадиган ютилишларнинг  $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$  соҳада, хитозаннинг алифатик метилен гуруҳларига хос ютилишларнинг  $2900\text{ см}^{-1}$  ютилиш диапазонида ўзгариши ва интенсивлигининг пасайиши кузатилди.

Хитозаннинг амид-I гуруҳлари учун хос бўлган  $1680\text{ см}^{-1}$  соҳадаги ютилишларининг СХЗ учун нисбатан қисқа тўлқинли ютилиш соҳасига  $1620\text{ см}^{-1}$  силжиши, элементар бўғиндаги (звенодаги) C-2 амин гуруҳларининг сульфатланишини изоҳлайди. Бундан ташқари, сульфатлашдан кейин  $1395, 1170, 1040, 868\text{ см}^{-1}$  ютилиш соҳаларининг мос равишда  $1380, 1160, 1050\text{ см}^{-1}, 864\text{ см}^{-1}$  ютилиш диапазонларига силжиши кузатилди. Ютилиш тўлқинларидаги бундай силжишлар хитозан сульфат занжирининг элементар бўғинидаги C-3 ( $\text{OH-}$  гуруҳлари) ва C-6 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) гуруҳларида сульфо гуруҳларининг алмашилишини тасдиқлайди.

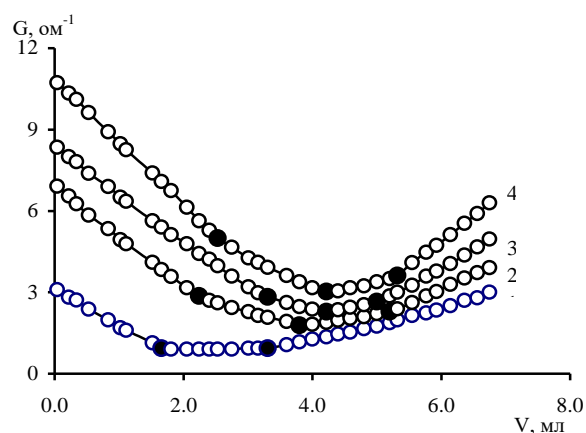
Синтез қилинган хитозан сульфат намунасини дастлабки хитозан намунасидан фарқлашга имкон берадиган энг муҳим катталиклардан бири унинг вискозиметрия усулида аниқланган характеристик қовушқоқлиги  $[\eta]$  қиймати ёрдамида аниқланган молекуляр массаси ҳисобланади. СХЗ-1 намунасининг қовушқоқлиги  $[\eta]_{\text{СХЗ}} \approx 0,31$  дл/г қийматига тенглиги аниқланди, хитозан намунаси  $[\eta]_{\text{ХЗ}} \approx 2,05$  дл/гга тенг бўлган қовушқоқлик қиймати билан тавсифланди.

Бу ҳолда, СХЗ-1 нинг молекуляр массасининг қиймати  $M_n \approx 85000$  га тенг бўлиб, бошланғич хитозаннинг молекуляр массаси қийматидан ( $M_n \approx 104000$ ) 1,22 баробар кам эканлиги аниқланди.  $M_n$  нинг камайиши хитозан

молекулаларининг хитозан сульфат молекулаларига айланиш жараёнида хитозан молекулаларининг сезиларли даражада деструкцияга учрашни кўрсатади. Бу маълумотлар краб асосида олинган хитозан ҳақидаги адабиёт маълумотларига мувофиқ келади.



2-расм. Хитозан (1) ва сульфатланган хитозан (2) нинг ИҚ-спектрлари



3-расм. 1-ХЗ; 2-СХЗ-1; 3-СХЗ-2; 4-СХЗ-3 намуналари эритмаларининг кондуктометрик титрлаш натижалари

Хитозандаги сульфо гуруҳларининг алмашинуви маълум даражада реакция шароитига боғлиқ. Буни таҳлил қилиш учун ҳар-хил ҳарорат ва реакция давомийлигида олинган хитозан сульфат намуналарини (СХЗ-1, СХЗ-2, СХЗ-3) кондуктометрик титрлашлари ўтказилди. Эритмалар 0,1 н НСІ эритувчиси иштирокида тайёрланди, титрант сифатида 0,5 Н NaOH дан фойдаланилди.

3-расмдаги қиёсий маълумотлардан кўриниб турибдики, титрлаш эгри чизиқлари синиқ қисмлар билан тавсифланади ва сульфатланган намуналар учун хос бўлган 2-, 3-, 4- эгри чизиқлар, хитозан (эритмаси) учун хос кондуктометрик 1-эгри билан солиштирилганида  $G_{sm}$  кўрсаткичининг қийматларининг катта қийматли соҳага силжиши кузатилди.

Хитозан ва хитозан сульфатнинг титрлаш эгри чизиқларини таққослаш шуни кўрсатадики, сульфогуруҳларининг титрланиши АВ сегментда содир бўлади ва  $\Delta V_S \approx |V_A - V_B|$  титрант ҳажмларининг фарқига мос келади, амина гуруҳларнинг титрланиши эса ВС кесимида  $\Delta V_N \approx |V_C - V_B|$  фарқига мувофиқ келади. Бу усул, шунингдек, хитозаннинг элементар бўғиндаги  $-NH_2$  гуруҳлари асосида деацетилланиш даражасини аниқлашда ҳам қўлланилди (2-жадвал).

Кўриниб турибдики, ҳароратнинг  $80^\circ\text{C}$  гача кўтарилиши (СХЗ-3 намунаси учун) олтингугурт микдорининг, хитозан сульфат таркибидаги сульфогуруҳлари алмашиниш даражасининг, шунингдек эрувчанликнинг (Р) ортишига олиб келган. СХЗ-2 намунаси учун сульфатланиш вақтининг (45 минут) қисқариши, ҳароратнинг СХЗ-1 ( $50^\circ\text{C}$ ) намунаси синтез ҳароратига нисбатан сезиларли даражада юқори ( $60^\circ\text{C}$ ) бўлишига қарамай,  $S_s$  ва Р кўрсаткичларининг пасайишига олиб келганлиги аниқланди.

***Bombux mori* хитозани сульфатланиш реакцияси катталикларининг сульфат хитозаннинг элементар таркибига таъсири**

Намуна	Реакция шароити		N, %	S, %	$\gamma_s$	O <sub>s</sub>	N <sub>s</sub>	O <sub>s</sub> /N <sub>s</sub>	P, %
	T, °C	t, дақиқа							
X3	120	120	7,36	-	-	-	-	-	95*
CX3-1	50	60	4,39	9,76	0,68	7,16	6,26	1,14	80
CX3-2	60	45	4,08	9,55	0,66	7,21	6,31	1,14	75
CX3-3	80	60	4,30	11,91	0,90	6,63	5,80	1,14	95

\*CH<sub>3</sub>COOH нинг 2 %-ли эритмасида

-SO<sub>3</sub>H сульфо гуруҳлари гидроксил ва амино гуруҳларига алмашиниш даражасининг тақсимланишини баҳолаш, олинган CX3 нинг барча намуналари учун -OH гуруҳларига алмашиниш қийматининг амин гуруҳларига алмашиниш даражасига нисбатан 1,14 барабар юқори эканлигини кўрсатди. Бу хитозан сульфатланиши нафақат NH<sub>2</sub>-гуруҳларида, балки C<sub>6</sub>-даги -OH гуруҳларида ҳам амалга ошади деган қарашларни тасдиқлайди.

Шундай қилиб, олинган натижалар *Bombux mori* хитозани молекулалари сульфатланиш реакциясининг мураккаб механизмини кўрсатади, улар маълум даражада ҳарорат ва реакция вақтини ўзгартириш билан бошқарилиши мумкин.

*Bombux mori* хитозанини хитозан сульфатга кимёвий ўзгартиришнинг кинетик қонуниятларини ўрганиш, реакция давомийлиги ва ҳароратини, шунингдек сульфат кислота, олеум ва хлорсульфон кислотанинг сульфатловчи агент сифатида хитозанга нисбатини ўзгартириш орқали амалга оширилди. Сульфатловчи агент сифатида хитозан сульфат олиш учун сульфат кислота ва олеум, шунингдек хлорсульфон кислоталаридан фойдаланилди. Шу билан бирга, хитозан сульфатнинг ҳосил бўлиш реакцияси тезлиги ( $v$ ) қуйидаги формула бўйича аниқланди:

$$v = \Delta C / t V (l)$$

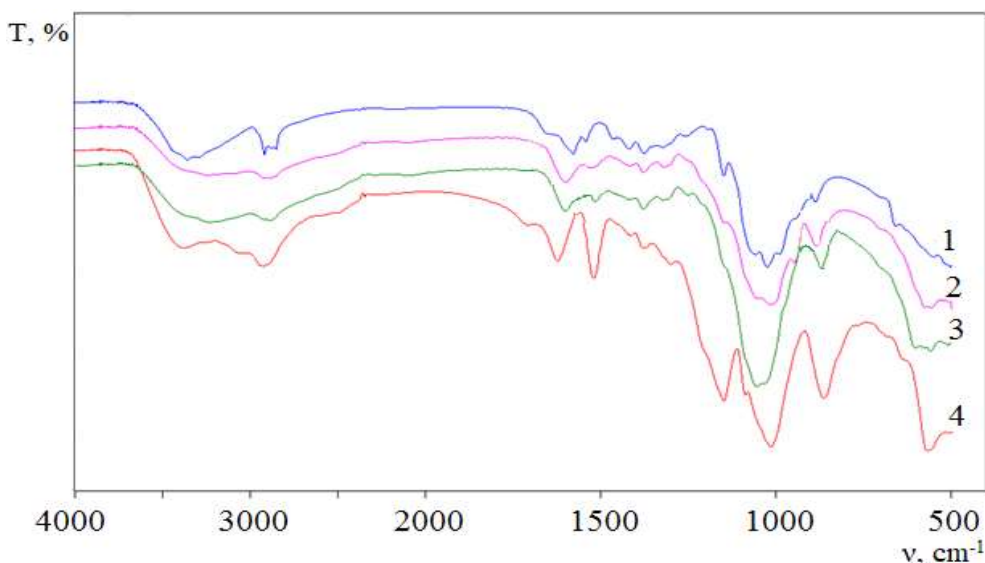
бу ерда,  $\Delta C$  – хитозан сульфати ҳосил бўлиши реакциясида сульфатловчи агент концентрациясининг ўзгариши;  $V$  – реакция аралашма ҳажми.

Сульфатловчи агент сифатида хлорсульфон кислотаси (ХСК) ҳам қўлланилган. Тадқиқотларда сульфатлаш реакциясининг дастлабки компонентлар хитозан: НОSO<sub>2</sub>Cl (ХСК) 1:2 дан 1:10 гача нисбатларига боғлиқлигини ўрганиш вазифаси белгиланди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакцияси 20<sup>0</sup>С да ва 3 соат давомида амалга оширилди. Энг юқори алмашиниш даражаси компонентлар хитозан: ХСК нисбати 1:6 бўлган реакция шароитида аниқланди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг кинетикаси дастлабки компонентларнинг 1:6 нисбатида 20<sup>0</sup>С хона ҳароратида олиб борилди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг

мақбул давомийлиги 3 соат эканлиги аниқланди. Реакция тезлигини аниқлаш натижалари шуни кўрсатадики, синтез вақтининг ошиши билан ХСК нинг реакцияга киришмаган молекулалари миқдорининг камайиши билан боғлиқ бўлган реакция тезлигининг  $8,46 \times 10^{-4}$  дан  $1,79 \times 10^{-4}$  моль/л.с. гача пасайиши кузатилди.

Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг синтез ҳароратига боғлиқлиги ўрганилди. СХЗ синтези 3 соат вақт интервалида  $20-70^{\circ}\text{C}$  ҳарорат таъсирида ХСК иштирокида, компонентлар хитозан: ХСК нисбати 1:6 бўлган шароитда амалга оширилди. Реакция ҳароратининг  $50^{\circ}\text{C}$  дан ортиши билан сульфо гуруҳининг алмашилиш даражаси ва олтингугурт миқдори камаяди. Бу юқори ҳарорат таъсирида тескари реакция тезлигининг ошиши билан изоҳланиши мумкин.  $50^{\circ}\text{C}$  реакция ҳароратида алмашилиш даражасининг ва олтингугурт миқдорининг юқори бўлиши аниқланди.

Хитозан сульфат намуналарида сульфон ( $\text{R-SO}_3\text{H}$ ) гуруҳи ва  $863-1150 \text{ см}^{-1}$  соҳада сульфат ( $\text{S=O}$ ) гуруҳларининг валент тебранишлари мавжудлигини кўрсатувчи тавсифий ютилиш чизиқлари кузатилди. Хитозан сульфат ҳосил бўлишида ХСК сульфатловчи агент иштирокида  $863, 1015, 1149 \text{ см}^{-1}$  соҳаларда сульфат гуруҳларининг ( $\text{C-O-S}$  боғлари) валент тебранишларини тавсифловчи ютилиш максимумлари аниқланди. Хитозаннинг амид-II гуруҳлари учун хос бўлган ютилишларнинг  $1580 \text{ см}^{-1}$  дан  $1520 \text{ см}^{-1}$  гача тўлқин узунлиги кичикроқ соҳага силжиши кузатилди, бу хитозан элементар бўғинидаги С-2 амин гуруҳлари иштирокида сульфатланиш содир бўлишини тасдиқлайди. Олеум ва сульфат кислота сульфатловчи агентлари иштирокида олинган хитозан сульфати спектрларида, дастлабки хитозан амино гуруҳларига хос ютилиш чизиқларнинг диапазонларининг силжиши кузатилди, шунингдек олинган спектрларда сульфатловчи агент ХСК асосида олинган хитозан сульфати билан солиштирганда, бошқа ютилишлар интенсивлигининг пасайиши кузатилади.



4-расм. Хитозан (1) ва сульфатланган хитозаннинг ИҚ спектрлари: олеум билан (2), сульфат кислотаси билан (3), хлорсульфон кислотаси билан (4)

Ютилишлар ва интенсивликнинг бундай силжиши ва ўзгариши хитозан сульфатланиш реакцияси содир бўлишидан далолат беради. Ютилиш соҳалари интенсивлигининг 863, 1015, 1149  $\text{см}^{-1}$  соҳасида эканлиги, ХСК сульфатловчи агенти таъсирида янада интенсив алмашилиш содир бўлишини тасдиқлайди (4-расм).

Шундай қилиб, хитозан ва хлорсульфон кислотаси асосида компонентлар нисбати 1:6 бўлганида хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг тезлиги, ҳарорат ва синтез давомийлигининг таъсири ҳам ўрганилди. Хитозан сульфатнинг ҳосил бўлишида дастлабки компонентлар-хитозан:ХСК нисбати 1:6, реакция давомийлиги 3 соат ва ҳарорат  $50^{\circ}\text{C}$  бўлиши мақбул шароит эканлиги аниқланди. Натижада, дастлабки хитозаннинг маълум қисми моно-, ди- сульфополисахаридларга ўтиши аниқланди.

Моделлаштириш принциплари асосида хитозан сульфат ҳосил бўлиш тажриба натижаларига асосланиб, *Bombyx mori* хитозани сульфатланиш кинетикаси бўйича кимёвий реакциясининг назарий ҳисоблашлари амалга оширилди.

Хитозан элементар бўғинларида сульфогуруҳининг алмашилиши занжирнинг кимёвий потенциалининг ўзгаришига, биологик фаолликнинг ошишига, турли моддалар билан, айниқса сув билан ўзаро таъсирлашишига ва эрувчанлиги ортишига олиб келади. Натижалар шундан далолат берадики, эрувчанлик ( $P$ ) чизикли бўлмаган ҳолда  $\gamma_s \leq 0,85$  га қадар ошиб боради, кейинчалик  $\gamma_s > 0,85$  бўлганида намуналар юқори эрувчанлик даражаси  $P > 95\%$  билан тавсифланади. Бу, албатта, хитозан сульфат молекулаларининг барқарорлигида намоён бўлади. Шунини инобатга олган ҳолда, барқарорлик кўрсаткичи сульфат хитозан (7900-35900) намуналарининг суюлтирилган эритмалари (Дебай критерияси  $C[\eta] \leq 0,5$ ) учун турли алмашилиш даражалари билан боғлиқ ҳолда ўрганилди. Нисбий қовушқоқлик қиймати бўйича ( $\eta_{\text{нис}}$ ), хитозан сульфат молекулаларининг барқарорлиги 1 ой давомида кузатилди. Дастлабки хитозан сульфати намуналари эритмаларининг нисбий қовушқоқлиги нисбатан фарқ қилиши аниқланди,  $\gamma_s$  нинг ортиши билан нисбий қовушқоқлик  $\eta_{\text{нис}}$  ошиши кузатилди. Эритмалар хона шароитида сақланар экан,  $\eta_{\text{нис}}$  нинг қиймати деярли ўзгармайди, яъни хитозан сульфати намуналари молекулаларининг эритмадаги ҳолати билан боғлиқ сезиларли ўзгаришлар аниқланмади. Олинган натижалар турли алмашилиш даражасидаги хитозан сульфати молекулаларининг сувли эритмаларда барқарорлигини кўрсатди.

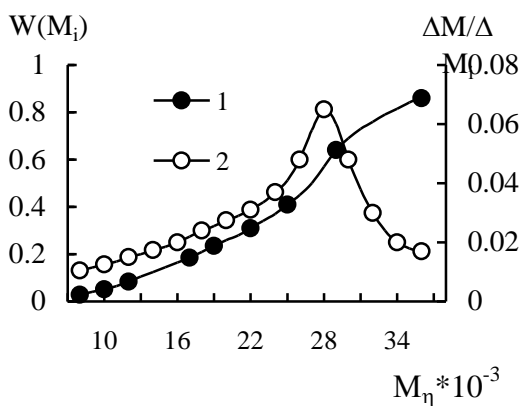
Хитозан сульфатнинг таркибини таҳлил қилиш учун унинг ( $C=1\%$ ) ли сувли эритмасини ацетон ёрдамида чўктириш усулидан фойдаланилган ҳолда фракциялаш амалга оширилди. Ушбу тадқиқот натижасида, 9 та фракция олинди, уларнинг характеристикалари, хусусан, массаси ( $m_i$ ), массавий улуши ( $f_i$ ), шунингдек, кумулятив массавий улушлари ( $W'(M_i)$ ) қуйидаги ҳисоблаш формуласи ёрдамида аниқланди.

$$W'(M_i) \approx 0,5f_i + \sum f_i - f_{i-1} \quad (2)$$

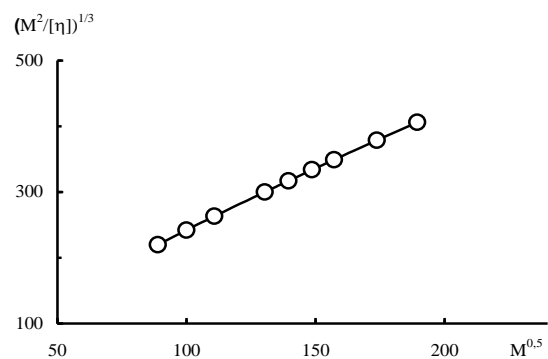
Фракцияларнинг молекуляр массалари қийматлари тавсифий қовушқоқлик қийматларидан аниқланди. Кўришиб турибдики, фракция чўктиришлар сони ортиши билан (яъни  $i$  – фракциялар сони), массавий улуш ва молекуляр массанинг камайиш тенденцияси кузатилади.

Молекуляр масса диапазони кичик бўлишига қарамай (7900-35900), хитозан сульфати маълум молекуляр массавий тақсимооти билан ажралиб туради. 5- расмда келтирилган маълумотлардан кўришиб турибдики, дифференциал эгри чизикдаги қуйи молекуляр массалар ( $M_n$ ) қийматларига мос келадиган ҳудуд нисбатан катта. Бу, хитозаннинг сульфатланиши занжирларнинг сезиларли даражада деструкцияга учрашига олиб келишидан далолат беради, яъни, хитозан сульфатнинг қуйи молекуляр оғирликдаги кўплаб фракциялари ҳосил бўлади.

Олинган натижаларга асосланиб, хитозан сульфати полидисперслиги аниқланди ва бу қиймат  $M_w/M_n \approx 1.25$  ни ташкил этди.  $M_w/M_n$  нинг бу қиймати ўрганилган хитозан сульфати намунасининг тор полидисперстиклик билан ажралиб турадиган полимерлар тоифасига киритиш имконини беради.



5-расм. *Bombyx mori* хитозан сульфати нинг молекуляр массавий тақсимланиши интеграл (1) ва дифференциал (2) эгри чизиклари



6-расм. Сульфат намуналари эритмаларида  $(M^2/[\eta])^{1/3}$  қийматининг  $M^{0.5}$  нинг хитозан боғлиқлиги

"Занжирсимон" занжирлар модели бўйича илгариланма ва айланма ҳаракатланиш назариясига кўра қуйидагича ифода бўйича ҳисоб-китоблар амалга оширилди:

$$(M^2/[\eta])^{1/3} \approx \Phi^{-1/3} (M_o / \lambda_s A)^{0.5} M^{0.5} + M_o / \lambda_s (k/3\pi A_o 100^{1/3}) (\lg(A/d) - 1,056) \quad (3)$$

Бу ерда,  $\Phi \approx 2,21 * 10^{23}$  – гидродинамик константа;  $M_o \approx 401$ ,  $\lambda_s \approx 0,51$  нм ва  $d \approx 1$  нм, мос равишда элементар бўғин массаси, узунлиги ва диаметри;  $A_o \approx 3,7 * 10^{-10}$  эргград-1моль-1/3-гидродинамик инвариант;  $k$ - константа.  $(M^2/[\eta])^{1/3}$  нинг  $M^{0.5}$  га боғлиқлик графиги ифодаланди (6- расм).

Графикдан эгри чизикнинг йўналган бурчак қиймати  $\Phi^{-1/3} (M_o / \lambda_s A)^{0.5} \approx 1,83$  ва *Bombyx mori* хитозан сульфати учун занжир сегментининг узунлиги  $A \approx 15$  нм га тенглиги аниқланди. Олинган  $A$  қиймати мазкур синф

полисахаридлари учун хосдир. Хитозан сульфатининг ўрганилган фракциялари занжирларининг контур узунлиги  $(M_i/M_o)\lambda_s \approx L$  10 дан 50 нм гача бўлгани учун, улар  $N \approx L/A$  сегментларининг сони 1 дан 4 гача эканлиги тасдиқланди. Таъкидлаш жоизки, дастлабки *Bombyx mori* хитозанининг Кун сегменти узунлиги 20 дан 25 нм гача ва занжирнинг сегментлари сони 4 дан 17 гача ўзгариб туриши аниқланган. Ушбу ҳолатни хитозан сульфати Кун сегменти қийматининг камайиши сульфогуруҳларининг элементар бўғинларда алмашилиши натижасида занжир қаттиқлигининг камайиши билан, сегментлар сонининг камайиши эса хитозан сульфатлиниши жараёнида занжирнинг деструкцияга учраши билан изоҳланиши мумкин.

Тўртинчи бобда *Bombyx mori* хитозан сульфати намуналарининг тузилишини, ўзига хос физик-кимёвий ва тиббий-биологик хусусиятларининг намоён бўлишини тадқиқ қилиш натижалари муҳокама қилинди. Хитозан сульфат намуналари атеросклероз фармакотерапиясида гипополидемик восита сифатидаги самарадорлиги, антикоагулянтлик хусусиятлари, иммунологик фаоллиги, токсиклигини баҳолашга оид тадқиқотлар натижалари келтирилган.

*Bombyx mori* хитозан сульфатнинг атеросклерозда антикоагулянтлик хусусиятини, шунингдек, хитозан сульфати асосида олинган дори воситаларининг иммунологик хусусиятлари ва токсиклигини аниқлаш бўйича тадқиқотлар олиб борилди ва синовдан ўтказилди.

Ушбу дори воситалар гемостазга сезиларли таъсир кўрсатиши мумкинлигини инобатга олиб, клиникада антикоагулянт сифатида кенг қўлланиладиган гепарин, фибратларга мансуб бўлган ва гиперхолестеринемия ва атеросклерозни даволашда клиник амалиётда қўлланиладиган гипополидемик дори гемфибразилдан фойдаланилди. Тажрибалар шуни кўрсатдики, хитозан сульфатнинг (№1) ва асосан хитозан сульфат №2 намуналари экспериментал атеросклерозга учраган ҳайвонларга 30 кун мобайнида қўлланилганида тромбоцитлар агрегацияси кўрсаткичларининг сезиларли пасайиши кузатилди (3-жадвал).

### 3-жадвал

#### Экспериментал атеросклерозли куёнларнинг тромбоцитлари кўрсаткичларига хитозан сульфат намуналарининг таъсири ( $M \pm m$ , $n=6$ )

Кўрсаткичлар	Интакт	Назорат	Гепарин	СХЗ-№1	СХЗ-№2
Тромбоцитлар агрегацияси, %	36,33±1,96	61,67±0,71*	30,0±0,58 <sup>а,б</sup>	31,33±2,74 <sup>а,б</sup>	24,0±1,15 <sup>а,б</sup>
Тромбоцитлар вақт, с	13,83±0,17	15,33±0,67*	14,0±0,0	14,0±0,0	14,0±0,0
РФМК, мг%	3,62±0,14	4,83±0,25*	3,0±0,09 <sup>а,б</sup>	3,6±0,93 <sup>а,б</sup>	3,5±0,06 <sup>а,б</sup>

Изоҳ: \* $p < 0,05$  интакт гуруҳга нисбатан, \*\* $p < 0,05$  назорат гуруҳига нисбатан, \*\*\* $p < 0,05$  гепаринли гуруҳга нисбатан, \*\*\*\* $p < 0,05$  хитозан-1 мавжуд бўлган гуруҳга нисбатан

Қўлланилган дори воситалари антикоагулянт хусусиятларга эга эди. №1 хитозан сульфатнинг (СХЗ) 1 ой давомида қўлланилиши тромбоцитлар агрегацияси қийматларини 1,96 марта ( $P < 0,001$ ), тромбин вақтини 1,1 у

баробарига ва РМФК қийматини 1,34 баробарга ( $P < 0,05$ ) пасайишига олиб келди. Антикоагулянтлик хусусиятларига кўра, №1 СХЗ препарати хоссалари жиҳатидан гепариндан ортда қолмайди, №2 СХЗ препарати эса уларнинг ундан устунлик намоён қилади. Дори воситаларининг бу хусусиятлари гиполепидемик хусусиятлари билан боғлиқ бўлади. Экспериментал гиперхолестеинемияда ушбу дори воситаларнинг эрувчан фибрин-мономерли комплексларга (ЭФМК) таъсирини ўрганиш СХЗ-1 ва СХЗ-2 препаратларини қўллашда тромбоцитлар вақтининг камайиши 8,68 % ни ташкил қилишини кўрсатди.

Хитозан сульфат препаратларининг иммунологик кўрсаткичларга самарадорлиги текширилди: №1 СХЗ – хитозан сульфат эритмаси - 500 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл  $H_2O$ ); № 2 СХЗ - хитозан сульфат эритмаси - 1000 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл  $H_2O$ ). Иммунологик кўрсаткичлар бўйича, иммунитетнинг марказий ва периферик органлари ҳолатида (4-жадвал), хусусан, назорат гуруҳи сичқонларининг талоқларида ўртача  $1685,0 \pm 211,0$  антитела ҳосил қилувчи хужайралар (АХҚХ) вужудга келди. №1 СХЗ препарати қўлланилган хайвонларда, қўйларнинг эритроцитларида иммун жавоб 1,91 марта ошиши кузатилди. (талокдаги АХҚХ нинг миқдори  $3225,0 \pm 364,8$  га тенг), №2 СХЗ препарати қўлланилганида – 1,96 марта ошади (талоклардаги АХҚХ нинг миқдори  $3300,0 \pm 274,4$  га тенг). Тадқиқ қилинган препаратлар етарлича иммуностимуляторлик фаолликни намоён қилди.

4-жадвал

Сичқонлардаги ( $M \pm m$ ), ( $n=8$ ) қўй эритроцитлари иммун жавобига хитозан сульфатнинг таъсири ( $M \pm m$ ), ( $n=8$ )

Гуруҳ	Модда дозаси (мл)	ТЯЭХ $\times 10^6$ миқдори	НН	Антитела ҳосил қилувчи хужайралар сони			
				Талок бўйлаб	НН	Талокнинг $10^6$ хужайраси	НН
Назорат	-	$85,6 \pm 9,2$	-	$1685,0 \pm 211,0$	-	$22,5 \pm 4,8$	-
№1- СХЗ	0,5	$108,8 \pm 14,5$	+1,27	$3225,0 \pm 364,8^*$	+1,91	$32,5 \pm 4,9$	+1,44
№2- СХЗ	0,5	$86,3 \pm 13,5$	+1,0	$3300,0 \pm 273,4^*$	+1,96	$46,9 \pm 8,7^*$	+2,08

Изоҳ: ТЯЭХ – Талокнинг ядрога эга хужайралари, НН – назоратга нисбатан солиштириш индекси, \* - 1 г тенг.

«Сульфопарин» дори воситасининг ўткир токсиклиги. "Сульфопарин" дори воситасининг ўртача ўлим меъёри ( $LD_{50}$ )  $2150 (2425,4 + 1874,6)$  мг/кг ни ташкил қилади. Шунинг учун, дори воситаларининг токсиклик даражаси таснифига кўра, «Сульфопарин» дори воситаси кам токсик моддалар синфига мансубдир (IV синф). Ўтказилган тадқиқотлар бир марталик хитозан сульфати препарати «Сульфопарин» дори воситаси қорин бўшлиғи ва оғиз орқали юборилганида, кам токсиклик намоён этишини тасдиқлади.

## ХУЛОСА

«*Bombyx mori* сульфатланган хитозанининг синтези, структураси ва хусусиятлари» мавзусидаги фалсафа доктори (PhD) диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. C2-N-, C6-O- хитозан сульфатини синтез қилиш имконияти кўрсатилди. Изопропил спирти ва сульфат кислота сульфатловчи агенти иштирокида асосан C6-O- хитозан сульфати ҳосилалари (алмашилиш даражаси 0,22 дан 1,00 гача), диметилсульфоксид, олеум ва хлорсульфон кислотаси (ХСК) муҳитида эса C2-N-, C6-O- диалмашилган хитозан ҳосилалари (алмашилиш даражаси 0,52 дан 1,38 гача) шаклланади, бунда компонентларнинг нисбати  $X3:ХСК \approx 1:6$ , синтез ҳарорати  $50^{\circ}\text{C}$  бўлиб, давомийлиги 3 соатни ташкил этади.

2. Алмашилиш жараёнида хитозаннинг C-2-N-, C-6-O- гуруҳлари кристалланиш даражасининг (40% дан 18% гача) пасайиши аниқланди ва молекуляр массасининг максимал даражада камайиши (104000 дан 15000 гача) кўрсатилди.

3. *Bombyx mori* хитозан сульфати намуналарининг молекуляр массавий ва конформацион хусусиятлари аниқланди. Хитозан сульфатининг полидисперслиги нисбатан кичик қийматга  $M_w/M_n \approx 1,25$  эга бўлиб, бу занжир сегментларининг узунлиги 15 нм ва сегментлар сони  $N \approx 1 \div 4$  (молекуляр массаси 35900 дан 7900 гача) бўлган қаттиқ занжирли полимерлар учун хос эканлигидан далолат беради.

4. *Bombyx mori* хитозан сульфатида гидрофил сульфогуруҳларнинг мавжудлиги ва унинг аморф тузилишда бўлиши сув буғларининг юқори сорбцион фаоллигини ва эрувчанлигини таъминлаши кўрсатилди. Ёруғликнинг динамик тарқалиши усули билан  $X3:ХСК$  нисбатининг (1:2 дан 1:10 гача) ортиши билан зарралар ўлчамининг 57-135 нм оралиғида катталаниши аниқланди. Сульфат хитозан эритмасини 5 ой давомида сақлаш натижасида заррачаларнинг ўлчами 67-90 нм оралиғида сақланади, бу эса хитозан сульфат эритмаларининг барқарорлиги ва турғунлигидан далолат беради.

5. Синтез қилинган хитозан сульфати асосида «Сульфопарин» кам захарлилик дори воситаси олинди. Дори воситасининг атеросклероз фармокатерапиясида гиполлипидемик воситалар сифатида қўлланилганда юқори биологик фаоллиги ҳамда гиперхолестеринимияда ва антикоагулянтлик хусусиятлари аниқланди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.К/ФМ/Т.36.01  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ  
ПРИ ИНСТИТУТЕ ХИМИИ И ФИЗИКИ ПОЛИМЕРОВ**

---

**ИНСТИТУТ ХИМИИ И ФИЗИКИ ПОЛИМЕРОВ**

**РАХМАНОВА ВАЗИРА НОРКУЛОВНА**

**СИНТЕЗ, СТРУКТУРА И СВОЙСТВА СУЛЬФАТИРОВАННОГО  
ХИТОЗАНА *ВОМБУХ МОРИ***

**02.00.06 – Высокмолекулярные соединения**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)  
ПО ХИМИЧЕСКАМ НАУКАМ**

**Ташкент – 2021**

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за В2020.4.PhD/К340.

Диссертация выполнена в Институте химии и физики полимеров

Автореферат диссертации на трёх языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (polchemphys.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

**Научный руководитель:** Рашидова Сайёра Шарафовна  
доктор химических наук, профессор, академик

**Официальные оппоненты:** Ихтиорова Гулнора Акмаловна  
доктор химических наук, профессор  
Юнусов Хайдар Эргашович  
доктор технических наук,  
старший научный сотрудник

**Ведущая организация:** Институт биоорганической химии

Защита диссертации состоится «26» ноября 2021 г. в 14.00 часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019 К/ФМ/Т.36.01 при Институте химии и физики полимеров по адресу: 100128, г. Ташкент, ул. Абдулла Кадыри, 7<sup>Б</sup>. Тел. (99871) 241-85-94; факс: (99871) 241-26-61, e-mail: polymer@academy.uz.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института химии и физики полимеров за № 26. (Адрес: 100128, г. Ташкент, ул. Абдулла Кадыри, 7<sup>Б</sup>. Тел. (99871) 241-85-94)

Автореферат диссертации разослан «12» ноября 2021 года  
(протокол рассылки № 11 от «12» ноября 2021 года).



**Н.Р. Ашуров**  
Заместитель председателя  
Научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.т.н., профессор

**М.М. Усманова**  
Ученый секретарь Научного совета по присуждению  
ученых степеней, к.х.н., старший научный сотрудник

**А.А. Сарымсаков**  
Председатель научного семинара  
при Научном совете по присуждению  
ученых степеней, д.т.н., профессор

## ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире растет потребность в лекарственных препаратах на основе природных полимеров и их производных, обладающих водорастворимыми, медико-биологическими (антибактериальными, антикоагулянтными, иммунологическими и др.) свойствами. В связи с этим важна разработка и внедрение препаратов нового поколения с антибактериальными и антикоагулянтными свойствами на основе хитозана и его производных, в том числе сульфата хитозана.

На сегодняшний день в мире активно ведутся фундаментальные научные исследования по синтезу модифицированных производных хитозана путем направленного управления различными факторами с учетом молекулярных и структурных свойств. В этом направлении важным является синтез водорастворимого сульфатированного производных хитозана и изучение его структурных, физико-химических и биологических свойств, а также разработка препаратов на их основе, обладающих антимикробными и иммуноактивными комплексными свойствами.

В Республике особое внимание уделяется разработке и внедрению новых лекарств на основе местного природного сырья, предпринимается широкий комплекс мер по организации научных исследований и развитию отечественной фармацевтической промышленности, с достижением значительных результатов в создании новых полимерных форм лекарств, используемых в медицине. В Стратегии действий<sup>1</sup> по дальнейшему развитию Республики Узбекистан намечены задачи по «Концепции развития науки до 2030 года<sup>2</sup>», в частности ставится задача «... увеличения производства фармацевтических препаратов ...». В связи с этим, большое значение приобретают научно-практические исследования, направленные на изучение условий синтеза сульфата хитозана *Bombux mori*, определение его структуры и свойств, а также применение в медицинской практике.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, поставленных Указом Президента РУз №УП-4947 от 07 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию РУз», ПП РУз №ПП-2789 от 17 февраля 2017 года «О мерах по совершенствованию деятельности АН РУз, организации НИР, управление и финансирование» и ПП РУз от 12 августа 2020 года №ПП-4805 «О мерах по повышению качества непрерывного образования и результативности науки по направлениям химия и биология», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

---

<sup>1</sup>Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

<sup>2</sup>Указу Президента Республики Узбекистан УП-6097 от 29 октября 2020 года «Об утверждении концепции развития науки до 2030 года»

**Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологии в Республике.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий в Республике Узбекистан по разделам: VI. «Медицина и фармакология» и VII. «Химические технологии и нанотехнологии».

**Степень изученности проблемы.** Во многих странах мира активно развиваются научные работы по изучению и применению хитозана и его производных. Интересные данные о способе получения сульфатированного хитозана, выделенного из крабового хитина, представлены в работах авторов Z. Wang, P. Chandika, Y. El-Saharty, B. Focher, Sh. Hirano, R. Holme, M. Zhang, N. Subhapradha, R. Pires, S. Kocabay. Немаловажный вклад внесен другими школами, также необходимо подчеркнуть работы ученых из стран СНГ А.И. Гамзадае, Л.А. Вихоревой, Л.А. Нудьги, К.Э. Будовской, П.П. Столбушкиной и др.

В нашей республике академик С.Ш. Рашидова и ее ученики внесли весомый вклад своими исследованиями по синтезу, определению структуры и свойств производных хитозана *Bombux mori* и их внедрению в практику.

До настоящей работы в литературе не имеются исследований по синтезу и кинетическим свойствам сульфат хитозана *Bombux mori*. Исходя из этого, обусловлено проведение теоретико-практических исследований в этом направлении, что создает перспективу получения экологически безопасных полимерных препаратов на основе производных хитозана с высокой биологической активностью.

**Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация.** Диссертационная работа связана с тематическими планами научно-исследовательских работ Института химии и физики полимеров АН РУз: 3Ф-1 «Научные основы формирования наночастиц и наноструктур в полимерных системах» (2003-2007 гг.); ФА-Ф-3-Т 100 «Наноструктуры в полимерах, пути создания и закономерности их проявления в специальных свойствах материалов» (2007-2011 гг.); ФА-А-14-Т-043 «Разработка новых отечественных наноструктурированных препаратов на основе полисахаридов и их применение при лечении заболеваний различной этиологии» (2009-2011 гг.); ОТ-Ф7-01 «Нанополимерные системы: роль кинетических аспектов и электронного строения в создании материалов со специальными свойствами» (2016-2020 гг.) и выполнена в рамках фундаментальных и прикладных исследовательских проектов.

**Цель исследования** состоит в выявлении путей синтеза сульфатированного хитозана *Bombux mori*, изучения молекулярной массы, структурных особенности, а также определения медико-биологических свойств.

**Задачи исследования:**

получение сульфата хитозана *Bombux mori* в присутствии сульфатирующих агентов;

исследование кинетики сульфатирования и определение оптимальных условий синтеза сульфата хитозана;

изучение молекулярно-массовых и конформационных характеристик сульфата хитозана и их стабильности в растворах;

исследование структуры и физико-химических свойств сульфата хитозана;

изучение электронного строения и моделирование структуры сульфата хитозана;

исследование влияния медико-биологических свойств сульфата хитозана *Bombyx mori* на подавление гиперхолестеримии.

**Объектами исследования** являются хитозан *Bombyx mori*, хлорсульфоновая кислота, образцы сульфат хитозана, биологически активные препараты, полученные на его основе.

**Предмет исследования** – изучение закономерностей сульфатирования хитозана *Bombyx mori*, определение молекулярно-массовых характеристик, определение кинетики реакции образования сульфата хитозана; его физико-химических и специальных медико-биологических свойств.

**Методы исследований.** В исследованиях использованы элементный анализ, ИК- Фурье, УФ-спектроскопия, рентгеноструктурный анализ, динамическое рассеяние света и сорбционный анализ, кондуктометрическое титрование, вискозиметрия, физико-химические и квантово-химические теоретические вычислительные методы.

**Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:**

впервые получены сульфатированные образцы хитозана *Bombyx mori*, используя в качестве сульфорирующего реагента хлорсульфоновою кислоту;

установлены кинетические закономерности данной реакции и выявлены оптимальные условия получения сульфата хитозана с определенным молекулярным строением и степенью замещения функциональных групп;

установлены молекулярно-массовые характеристики сульфата хитозана, определены значения полидисперсности и конформационных параметров, в частности, длина сегментов Куна для данного полисахарида;

разработан препарат «Сульфопарин» на основе сульфата хитозана *Bombyx mori* с малотоксичными, гиполипидемическими, антикоагулянтными и другими свойствами, который показал высокую эффективность в фармакотерапии атеросклероза.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

определены оптимальные условия синтеза сульфат хитозана *Bombyx mori*, разработаны лабораторный регламент его получения и доказаны его медико-биологические свойства;

сульфат хитозана *Bombyx mori* изучался как гиполипидемическое средство в фармакотерапии атеросклероза и как антикоагулянт при гиперхолестеринемии, а также как иммунологический и гематологический препарат.

**Достоверность результатов исследований.** Экспериментальные результаты по получению и исследованию физико-химических свойств сульфат хитозана проводили с применением современных физико-химических методов. Выводы в работе сделаны на основе результатов, обработанных с применением уравнений, используемых в современных теориях кинетики и химических процессов. Подтверждением полученных результатов служит их апробация на республиканских и международных научных конференциях.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования заключается в установлении кинетических закономерностей реакции сульфатирования хитозана *Bombyx mori*. Молекулярно-массовое распределение, полидисперсность и конформационные характеристики сульфата хитозана *Bombyx mori* были изучены на основе механизмов реакции при синтезе сульфата хитозана с известной степенью замещения и структурой цепи.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том, что выявленные медико-биологические свойства сульфата хитозана *Bombyx mori* позволяют использовать его в качестве гипополидемического средства в фармакотерапии атеросклероза и применяется при гиперхолестеринемии, а также достигнуты эффективные результаты при лечении атеросклероза с помощью малотоксичного антикоагулянта «Сульфопарин».

**Внедрение результатов исследования.** На основании научных результатов, представленных в диссертационной работе «Синтез, структура и свойства сульфатированного хитозана *Bombyx mori*» выполнено, что:

образцы сульфата хитозана *Bombyx mori* с гипополидемическими свойствами использовались в практическом проекте ADSS-28.8 «Разработка и выбор оптимального метода использования производных хитозана при лечении ожогов» для получения лекарственного препарата способствующего уменьшению риска атерогенеза, содержания липидов и холестерина в крови, (Справка №03/3093 от 9 октября 2021 г. Ташкентская медицинская Академия). В результате была разработана новая лекарственная форма «Сульфопарин» с иммунологическими и гематологическими свойствами, применяемая в качестве антикоагулянта при фармакотерапии атеросклероза и гиперхолестеринемии.

результаты исследования по сульфату хитозана *Bombyx mori*, данные по синтезу сульфат хитозана и его свойствам, анализу структуры, механизма реакции и свойств сульфат хитозана были опубликованы и по ним были даны ссылки в 3<sup>-х</sup> зарубежных журналах с высоким импакт-фактором (IF) (Polymers, 2018, V.10, Scopus , IF=4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF=9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF=18.808). В отмеченных работах удалось осуществить синтез сульфатированного хитозана, полученного из ракообразных.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследований апробированы на 6 международных и 6 республиканских конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликованы 17 научные работы, 5 статей, из них 2 в Республиканских и 3 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации доктора философии (PhD).

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Изложена на 112 страницах.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования.

В первой главе диссертации - «**Сульфатирование хитозана и его биологическая активность**» (обзор литературы) проанализированы литературные данные, посвященные современному представлению синтеза сульфат хитозана из различных источников сырья, обоснована перспектива сульфатирования хитозана из *Bombyx mori* и подобраны оптимальные условия проведения данной реакцией химического превращения. Обсуждается особенность молекулярного строения и специальных свойств образцов сульфат хитозана, их эффективность при практическом применении, в частности, в медико-биологическом аспекте. Обосновывается постановка задачи исследования.

Вторая глава диссертации под названием «**Объекты и методы исследования**» состоит из методической части, в которую входят характеристики объектов и реагентов и представлены методы получения и свойства водорастворимых производных хитозана - сульфат хитозана. Представлены выбранные способы сульфатирования хитозана *Bombyx mori* и реагенты, использованные для проведения данной реакции (гидроксида натрия, серная кислота, олеум, хлорсульфоновая кислота, диметилсульфоксид, ацетат натрия, этиловый спирт).

Описаны основные методы, использованные для идентификации хитозана и сульфат хитозана (рентгеноструктурный анализ, ИК-, УФ-спектроскопия, элементный анализ, кондуктометрическое титрование) и для исследования молекулярных и структурных характеристик образцов в растворах (вискозиметрия, кондуктометрия, фракционирование, поляризационная микроскопия). На стандартные методы проведения физико-химических и медико-биологических исследований и испытаний даны соответствующие ссылки, а нетрадиционные подходы описаны в ходе обсуждения результатов опытов.

В третьей главе диссертации «Синтез и молекулярные характеристики сульфата хитозана *Bombyx mori*» обсуждены результаты синтеза сульфата хитозана *Bombyx mori*, проведенного путем поиска оптимальных условий и кинетических закономерностей реакции сульфатирования данного хитозана. Также представлены данные об исследовании стабильности и молекулярно-массовых характеристик синтезированного сульфата хитозана.

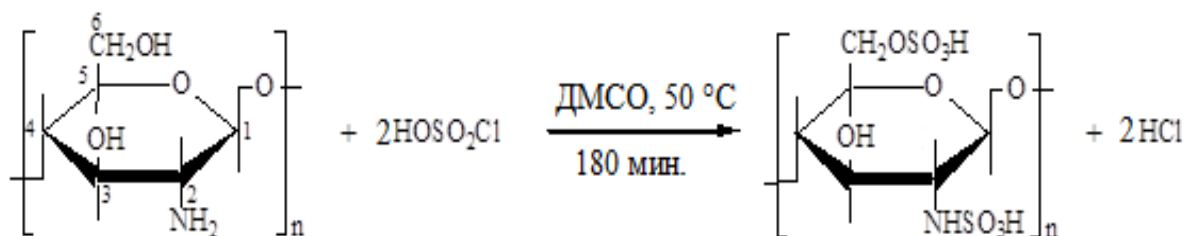
Хитозан, используемый для сульфатирования должен быть в состоянии для замещения сульфогрупп ( $\text{SO}_3\text{H}$ ), которое может осуществляться при С-2 ( $\text{NH}_2$ -групп) и С-6 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ -групп) элементарного звена. Поэтому, хитозан должен иметь высокую степень деацетилирования ( $\text{СДА} \geq 0,75$ ) для исключения образования сульфата хитиновых фрагментов при сульфатировании, а также молекулярную массу выше 30000, поскольку данная реакция сопровождается деструкцией цепей, при этом молекулярная масса сульфата хитозана падает в 1,5÷5 раз. С учетом этих требований получали образцы хитозана путем деацетилирования хитина куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori* в 40%  $\text{NaOH}$  растворе при  $120^\circ\text{C}$  в течение 2 ч., а также, в сравнительно жестких условиях 50%-ном растворе  $\text{NaOH}$  при  $120^\circ\text{C}$  в течение 3 ч.

Получение образцов хитозана подтверждали данные ИК-спектроскопии, т.е. обнаружены характерные полосы поглощения в области  $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ , соответствующие валентным колебаниям гидроксильной  $\text{OH}$ -группы, при  $2900\text{ см}^{-1}$  - алифатической метиленовой группы, а также для амид-I при  $1680\text{ см}^{-1}$  и деформационных колебаний при  $1395, 1170, 1040, 868\text{ см}^{-1}$ . Результаты элементного анализа, кондуктометрического титрования, вискозиметрии показали, что, в первом случае выход хитозана составлял  $Y \approx 60\%$  и характеризовался  $\text{СДА} = 76\%$ , растворимостью  $P = 95\%$  в 2%-ном растворе  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , а также характеристической вязкостью  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 5,08$  дл/г при подавлении полиэлектролитного эффекта 2%  $\text{CH}_3\text{COONa}$  при  $25^\circ\text{C}$ . Молекулярная масса  $M_\eta \approx 309000$ , рассчитанная по уравнению Марка-Куна-Хаувинка  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 1,41 * 10^{-4} M_\eta^{0,83}$ . Во втором случае, образец хитозана характеризовался  $Y \approx 49\%$ ,  $\text{СДА} = 91\%$  и  $P = 98\%$ , а также  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 2,05$  дл/г и  $M_\eta \approx 104000$ . Сравнительное увеличение значений  $Y$ ,  $\text{СДА}$ ,  $P$  сопровождается резким снижением  $[\eta]_{\text{хз}}$  и  $M_\eta$ . Причиной этого, т.е. деструкции цепей, безусловно, является повышение концентрации щелочи ( $>40\%$ ) и увеличение продолжительности реакции деацетилирования хитина (на 1 ч).

Образцы со  $\text{СДА} \approx 76\%$  и  $M_\eta \approx 309000$  использовали для выявления принципиальной возможности проведения сульфатирования хитозана *Bombyx mori*, использовав способы, разработанные для крабового хитозана. На основе образца со  $\text{СДА} \approx 91\%$  и  $M_\eta \approx 104000$  исследовали кинетические закономерности сульфатирования хитозана *Bombyx mori*.

Поиск условий сульфатирования хитозана *Bombyx mori* ( $M_\eta \approx 104000$ ) проводили исходя из принципов сульфатирования крабового хитозана,

используя в качестве активирующего реагента диметилсульфоксид (ДМСО) и сульфатирующего реагента хлорсульфоновую кислоту (ХСК) при модуле ХЗ:ХСК=1:6, интервале температуры 50°C и продолжительности реакции 180 мин. Применение данных условий реакции привело к сульфатированию как аминогрупп (NH<sub>2</sub>-групп) при С-2, так и ОН-групп при С-6 элементарного звена хитозана:



Предполагаемый механизм протекания данной реакции состоит из последовательности реакционных способностей функциональных групп при С-2, С-3, С-6, которые увеличиваются в порядке: -NH<sub>2</sub><-CH<sub>2</sub>-ОН<-ОН. Прямое доказательство для подтверждения образования образцов сульфата хитозана *Bombyx mori* по данной схеме и предполагаемого механизма реакции получали путем проведения сравнительных исследований.

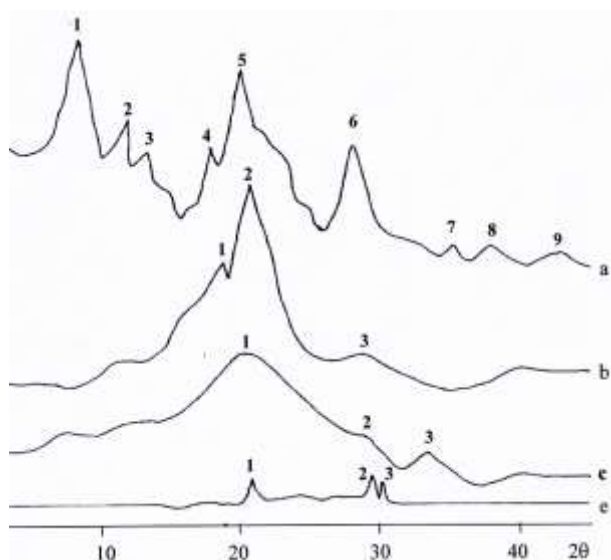
Сульфат хитозана является аморфным полимером, получение которого из сырья *Bombyx mori* осуществляется поэтапно, путем разрушения кристаллической структуры и деацетилирования хитина, сульфатирования полученного хитозана (рис. 1, таблица 1).

**Таблица 1**

**Рентгенографические характеристики образцов хитина, хитозана, сульфата хитозана *Bombyx mori***

Номер рефлекса	d, Å			
	Хитин	Хитозан	СХЗ-1	СХЗ-3
1	9,19	4,91	4,46	4,29
2	6,79	4,50	3,17	3,18
3	6,39	3,39	2,91	2,75

Сравнительные рентгеноструктурные исследования показали, что на дифрактограммах образцов хитина, хитозана, сульфата хитозана СХЗ-1 (при 50°C) и СХЗ-3 (при 80°C) имеются рефлексы различной интенсивности при характерных межплоскостных расстояниях (d) в широком диапазоне углов 2θ. Ярко выраженные рефлексы на дифрактограмме хитина (а), хитозана (б) и СХЗ-1 (с) в области 2θ≈20° свидетельствуют о наличии кристаллических участков данных образцов, которые почти исчезают в случае СХЗ-3 (е), полученного при 80°C.



**Рис. 1.** Диффрактограммы хитина (а), хитозана (b), сульфата хитозана CX3-1 (c) и CX3-3 (e) *Bombyx mori*

Это свидетельствует о высокой степени разрушения кристаллической структуры хитозана с ростом температуры и повышения при этом степени замещения сульфогрупп, а также об образовании аморфной структуры CX3-3. Таким образом, повышение степени замещения сульфата хитозана возможно при подборе условий реакции сульфатирования.

На ИК-спектре образца сульфат хитозана имеются характерные полосы поглощения, обусловленные наличием сульфоновой ( $R-SO_3H$ )-группы при  $1200-1090\text{ см}^{-1}$  и полоса поглощения

с основным максимумом в области  $1240\text{ см}^{-1}$ , которая связана с ассиметричными валентными колебаниями сульфатных групп  $S=O$  (рис.2). При  $790\text{ см}^{-1}$  появляется четкий максимум, характеризующий валентные колебания сульфатных групп ( $C-O-S$  связей). Также наблюдается снижение интенсивности и изменение полосы поглощения в области  $3200-3500\text{ см}^{-1}$ , соответствующих валентным колебаниям гидроксильной  $OH$ -группы, а также при  $2900\text{ см}^{-1}$  - алифатической метиленовой группы хитозана.

Произошло смещение полосы поглощения амид-I при  $1680\text{ см}^{-1}$  для хитозана в более низковолновую область  $1620\text{ см}^{-1}$  для CX3, что может указывать на сульфатирование хитозана по аминной группе у C-2 элементарного звена. Также наблюдается смещение полос при волновых числах  $1395, 1170, 1040, 868\text{ см}^{-1}$  в область  $1380, 1160, 1050\text{ см}^{-1}, 864\text{ см}^{-1}$ , после сульфатирования соответственно. Такие смещения волновых чисел свидетельствуют о замещении сульфогрупп при C-3 ( $OH$ -групп) и при C-6 ( $CH_2OH$ -групп) элементарного звена цепи сульфата хитозана.

Одним из важнейших параметров, позволяющих отличать синтезированный образец сульфата хитозана от образца исходного хитозана, является его молекулярная масса, определяемая вискозиметрическим методом по величине характеристической вязкости  $[\eta]$ . Определено значение  $[\eta]_{CX3} \approx 0,31$  дл/г для CX3-1, тогда как образец хитозана характеризуется значением  $[\eta]_{X3} \approx 2,05$  дл/г. При этом значение молекулярной массы CX3-1 составило  $M_\eta \approx 85000$ , что в 1,22 раза меньше, чем величины молекулярной массы исходного хитозана ( $M_\eta \approx 104000$ ).

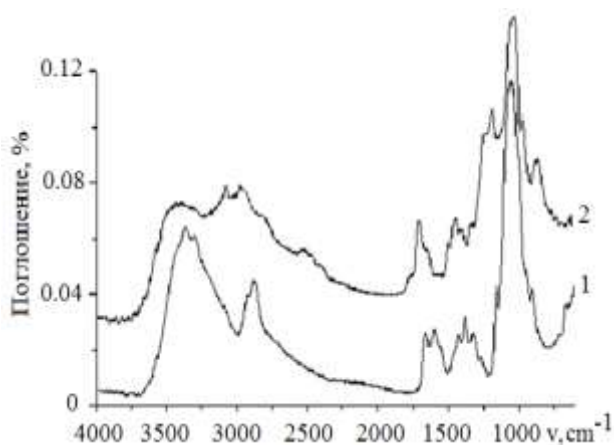


Рис.2. ИК-спектры хитозана (1) и сульфатированного хитозана (2).

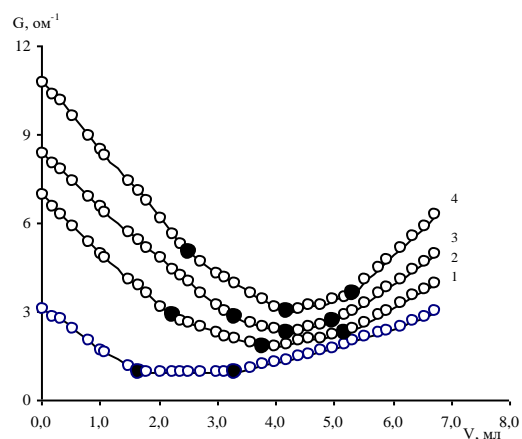


Рис.3. Кривые кондуктометрического титрования растворов образцов: 1-ХЗ; 2-СХЗ-1; 3-СХЗ-2; 4-СХЗ-3.

Снижение  $M_n$  свидетельствует о протекании заметной деструкции молекул хитозана при превращении их в молекулы сульфата хитозана в результате сульфатирования. Эти данные коррелируют с литературными данными для крабового хитозана.

Замещение сульфогрупп в хитозане зависит в определенной степени от условий реакции. В целях анализа этого было проведено кондуктометрическое титрование образцов сульфата хитозана (СХЗ-1, СХЗ-2, СХЗ-3), полученных при различной температуре и продолжительности реакции. При этом растворы приготовлены в 0,1 н НСl, в качестве титранта использован 0,5 н NaOH.

Из сравнительных данных на рис.3, видно, что кривые титрования характеризуются изломанными участками, причем, кривые 2, 3, 4 для сульфатированных образцов смещены в область больших значений  $G_{sm}$  по сравнению с кривой 1 для хитозана.

Сравнение кривых титрования хитозана и сульфат хитозана, показало, что титрование сульфогрупп происходит на отрезке АВ и соответствует разности объемов титранта  $\Delta V_S \approx |V_A - V_B|$ , а титрование аминогрупп имеет место на отрезке ВС при разности  $\Delta V_N \approx |V_C - V_B|$ .

Данный метод был также использован для определения степени деацетилирования хитозана по  $-NH_2$  группе элементарных звеньев цепей.

Таблица 2

**Влияние параметров реакции сульфатирования хитозана *Bombus mori* на элементарный состав сульфата хитозана**

Образец	Условие реакции		N, %	S, %	$\gamma_s$	Os	Ns	Os/Ns	P, %
	T, °C	t, мин							
ХЗ	120	120	7,36	-	-	-	-	-	95*
СХЗ-1	50	60	4,39	9,76	0,68	7,16	6,26	1,14	80
СХЗ-2	60	45	4,08	9,55	0,66	7,21	6,31	1,14	75
СХЗ-3	80	60	4,30	11,91	0,90	6,63	5,80	1,14	95

\* - в 2 %-ном растворе  $CH_3COOH$

Видно, что повышение температуры до 80°C (для образца СХЗ-3) способствует увеличению содержания серы и степени замещения сульфогрупп в хитозане, а также его растворимости (Р). Сокращение времени сульфатирования (45 мин) для образца СХЗ-2, несмотря на то, что температура заметно выше (60°C), чем при синтезе СХЗ-1 (50°C), приводит к уменьшению значений показателей  $S$ ,  $\gamma_s$  и  $P$ . Оценка распределения сульфогрупп по гидроксильным и амино группам показала, что содержание  $SO_3H$ -групп для всех образцов СХЗ, полученных при варьировании условий реакции в 1,14 раз больше для  $OH$ -групп. Это является подтверждением предположения того, что сульфатирование хитозана осуществляется не только по  $NH_2$ -группам, но и по  $OH$ -группам при С-6.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о сложном механизме реакции сульфатирования молекул хитозана *Bombyx mori*, который может в определенной степени регулироваться варьированием температуры и времени реакции.

Исследование кинетических закономерностей химического превращения хитозана *Bombyx mori* в сульфат хитозана проводили путем варьирования продолжительности и температуры реакции, а также соотношения сульфатирующих агентов серной кислоты, олеума и хлорсульфоновой кислоты с хитозаном. С целью получения сульфат хитозана в качестве сульфатирующего агента, нами выбраны серная кислота и олеум, а также хлорсульфоновая кислота. Одновременно определена скорость реакции образования сульфат хитозана ( $v$ ), рассчитанная по формуле:

$$v = \Delta C / t V \quad (1)$$

где  $\Delta C$  – изменение концентрации серной кислоты при реакции образования СХЗ;  $V$  – объему реакционной смеси.

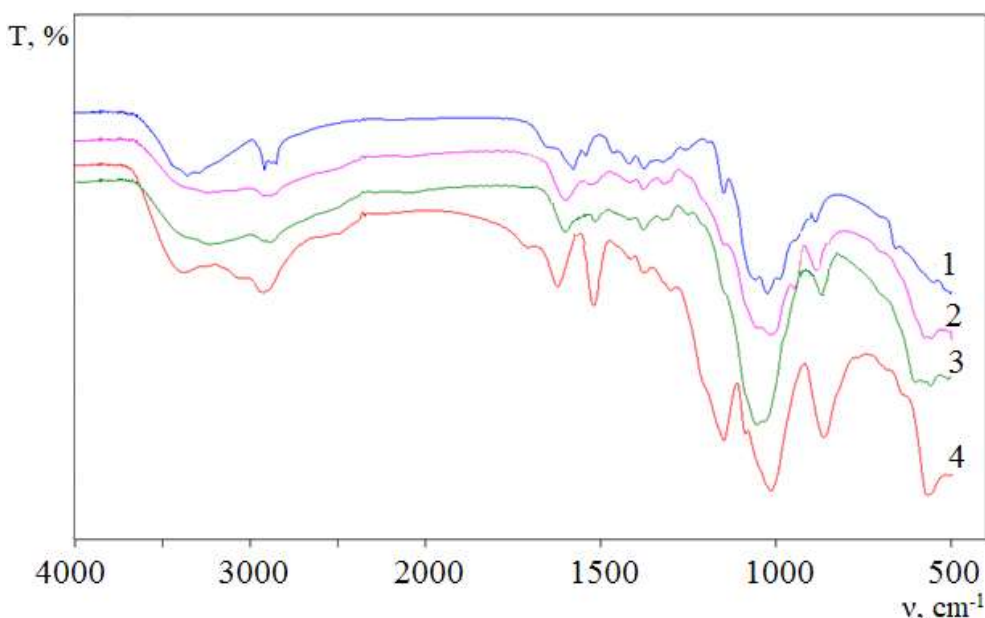
В качестве сульфатирующего агента также использовалась хлорсульфоновая кислота (ХСК). Основной задачей эксперимента поставлено изучение зависимости соотношения компонентов ХЗ: $HSO_2Cl$  (ХСК) от 1:2 до 1:10. Реакцию образования СХЗ проводили при 20°C и продолжительности 3 часа. Самая высокая степень замещения установлена при соотношении компонентов ХЗ:ХСК 1:6. Для изучения кинетики образования сульфат хитозана проводили синтез при комнатной температуре 20°C в соотношении компонентов 1:6. Выявлено, что время синтеза продолжительностью 3 ч. является самым оптимальным для образования сульфат хитозана. Результаты определения скорости реакции свидетельствуют о том, что с увеличением времени синтеза наблюдается снижение скорости реакции от  $8,46 \times 10^{-4}$  до  $1,79 \times 10^{-4}$  моль/л.с., которое обусловлено уменьшением количества нереагирующих молекул хлорсульфоновой кислоты.

Изучена зависимость свойств сульфат хитозана от температуры синтеза. Синтез проводили в присутствии ХСК при соотношении компонентов ХЗ:ХСК 1:6 и продолжительности 3 ч. при температуре 20-70°C.

С увеличением температуры более чем  $50^{\circ}\text{C}$ , происходит уменьшение степени замещения сульфогруппы и содержания серы. Это может происходить за счет увеличения скорости обратной реакции под действием высоких температур. Установлено, что при температуре  $50^{\circ}\text{C}$ , наблюдается высокая степень замещения и содержание серы.

На ИК-спектре образцов сульфат хитозана имеются характерные полосы поглощения, обусловленные наличием сульфоновой ( $\text{R-SO}_3\text{H}$ )-группы и валентными колебаниями сульфатных групп  $\text{S=O}$  при  $863\text{-}1150\text{ см}^{-1}$ . В образовании СХЗ в присутствии сульфатирующего агента ХСК в области при  $863, 1015, 1149\text{ см}^{-1}$  появляется четкий максимум, характеризующий валентные колебания сульфатных групп ( $\text{C-O-S}$  связей). Произошло смещение полосы поглощения амид-II от  $1580\text{ см}^{-1}$  до  $1520\text{ см}^{-1}$  для хитозана в более низкочастотную область для СХЗ, что может указывать на сульфатирование хитозана по аминной группе у C-2 элементарного звена хитозана. На спектре сульфата хитозана, полученного на основе сульфатирующих агентов олеума и серной кислоты, также наблюдается смещение полосы поглощения, характерное для аминогрупп исходного хитозана, а также в полученном спектре наблюдается снижение интенсивности остальных полос поглощения по сравнению с СХЗ, полученного на основе сульфатирующего агента ХСК.

Такие смещения и изменения интенсивности волновых чисел свидетельствуют о протекании реакции сульфатирования хитозана. Интенсивность полосы поглощения в области  $863, 1015, 1149\text{ см}^{-1}$  подтверждает, что под действием сульфатирующего агента ХСК происходит более интенсивное замещение (рис. 4.).



**Рис.4. ИК-спектры хитозана (1) и сульфатированного хитозана: олеумом (2), серной кислотой (3), хлорсульфоновой кислотой (4)**

Таким образом, определены скорость реакции и константа скорости при образовании сульфат хитозана на основе хитозана и хлорсульфоновой

кислоты в соотношении компонентов ХЗ:ХСК 1:6, а также изучено влияние температуры и продолжительности синтеза. Установлено, что для образования сульфат хитозана оптимальными условиями синтеза являются продолжительность 3 час, температура 50°C и соотношение компонентов ХЗ:ХСК 1:6. В результате определенная часть исходного хитозана превращается в моно- и ди- сульфополисахариды.

На основе экспериментальных результатов кинетики сульфатирования хитозана *Bombux mori* проведены теоретические расчеты с использованием модельных представлений химической реакции превращения производных хитозана в сульфат хитозана.

Замещение сульфогруппы в элементарном звене хитозана приводит к изменению химического потенциала цепей, повышению биологической активности, увеличению взаимодействий с различными веществами, особенно, с водой, повышению растворимости. Выявлено, что растворимость (P) увеличивается нелинейно до  $\gamma_s \leq 0,85$ , далее образцы с  $\gamma_s > 0,85$  характеризуются высокой степенью растворимости  $P > 95\%$ . Это, безусловно, отражается в стабильности молекул сульфата хитозана. С учетом этого, вопросы стабильности исследовали для разбавленных растворов (критерий Дебая  $C[\eta] \leq 0,5$ ) образцов СХЗ (7900-35900) с различной степенью замещения. По величине относительной вязкости ( $\eta_{отн.}$ ) контролировали состояние молекул СХЗ в течение 1 месяца. Обнаружено, что относительная вязкость исходных образцов растворов сульфата хитозан различается, т.е. с увеличением  $\gamma_s$  повышается  $\eta_{отн.}$  По мере хранения растворов в комнатных условиях значение  $\eta_{отн.}$  практически не изменяется, т.е. не обнаруживается заметное изменение, связанное с поведением молекул образцов СХЗ. Полученные результаты свидетельствуют о стабильности молекул СХЗ с различной степенью замещения в водных растворах.

Синтез сульфата хитозана с высокой степенью замещения ( $\gamma_s \geq 1,2$ ) и низкой молекулярной массой ( $M_n \approx 309000$ ) для применения в медицине, фармакологии, косметике и т.п. оказался возможным при проведении сульфатирования хитозана ( $M_n \approx 104000$ ) в хлорсульфоновой кислоте при 50°C в течение 3 часов. Для анализа состава сульфата хитозана проводили фракционирование его водного раствора (C=1%) методом дробного осаждения с использованием осадителя – ацетона. При этом получено 9 фракций, характеристики которых, в частности, масса ( $m_i$ ), массовая доля ( $f_i$ ), а также кумулятивные массовые доли ( $W'(M_i)$ ), рассчитанные согласно выражению

$$W'(M_i) \approx 0,5f_i + \sum f_i - f_{i-1} \quad (2)$$

Величины молекулярной массы фракций определяли по значениям характеристической вязкости. Видно, что по мере увеличения числа дробного осаждения (т.е.  $i$  - номера фракций), наблюдается тенденция уменьшения массовой доли и молекулярной массы.

Несмотря на то, что диапазон молекулярной массы небольшой (7900÷35600), СХЗ характеризуется определенным молекулярно-массовым распределением. Из данных рис. 5 видно, что участок, соответствующий значениям низких молекулярных масс ( $M_n$ ) на дифференциальной кривой зависимости, сравнительно большой. Это свидетельствует о том, что при сульфатировании хитозана происходит заметная деструкция цепей, т.е. образуется множество фракций сульфата хитозана, характеризующихся низкой молекулярной массой.

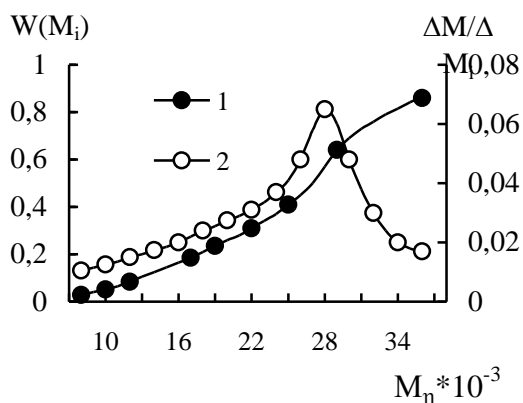


Рис.5. Интегральная (1) и дифференциальная (2) кривые молекулярно-массового распределения сульфата хитозана *Bombyx mori*

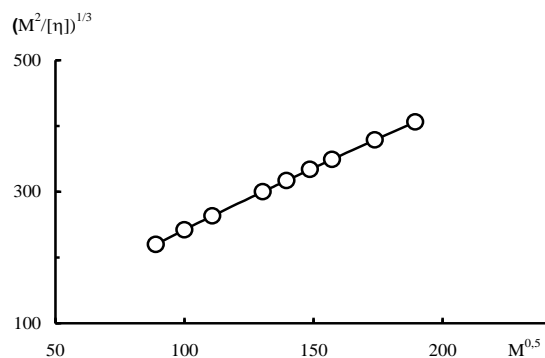


Рис.6. Зависимость  $(M^2/[\eta])^{1/3}$  от  $M^{0,5}$  для растворов образцов СХЗ

На основе полученных данных найдена полидисперсность СХЗ, которая оказалась  $M_w/M_n \approx 1,25$ . Такое значение  $M_w/M_n$  позволяет отнести исследуемый образец СХЗ к категории полимеров, характеризующихся узкой полидисперсностью.

Согласно теории поступательного и вращательного трения по модели "червеобразных" цепей, проведены расчеты по выражению:

$$(M^2/[\eta])^{1/3} \approx \Phi^{-1/3} (M_o / \lambda_s A)^{0,5} M^{0,5} + M_o / \lambda_s (k/3\pi A_o 100^{1/3}) (\lg(A/d) - 1,056) \quad (3)$$

где  $\Phi \approx 2,21 * 10^{23}$  - гидродинамическая постоянная;  $M_o \approx 401$ ,  $\lambda_s \approx 0,51$  нм и  $d \approx 1$  нм, масса, длина и диаметр элементарного звена, соответственно;  $A_o \approx 3,7 * 10^{-10}$  эргград-1 моль-1/3 - гидродинамический инвариант;  $k$  - константа.

Был построен график в виде зависимости  $(M^2/[\eta])^{1/3}$  от  $M^{0,5}$  (рис.6).

Из графика определяли угол наклона кривой  $\Phi^{-1/3} (M_o / \lambda_s A)^{0,5} \approx 1,83$  и рассчитывали длину сегмента цепи  $A \approx 15$  нм для СХЗ *Bombyx mori*. Полученное значение  $A$  характерно для полисахаридов данного класса. Поскольку, контурная длина цепей  $(M_i/M_o) \lambda_s \approx L$  исследуемых фракций СХЗ колеблется от 10 до 50 нм, то они характеризуются числом сегментов  $N \approx L/A$  от 1 до 4. Следует отметить, что длина сегмента Куна исходного хитозана *Bombyx mori* колеблется от 20 до 25 нм и числа сегментов в цепи от 4 до 17. Снижение длины сегментов Куна сульфата хитозана *Bombyx mori*, по-видимому, связано с уменьшением жесткости цепей в результате замещения

сульфогрупп в элементарных звеньях, а уменьшение числа сегментов обусловлено деструкцией цепей при сульфатировании хитозана.

В четвертой главе обсуждаются результаты исследования структуры, проявление специфических физико-химических и медико-биологических свойств образцов сульфата хитозана *Bombux mori*. Особое внимание уделено оценкам эффективности образцов в качестве гиполипидемических средств фармакотерапии атеросклероза, антикоагулянтных свойств, иммунологической активности, токсичности и т.п.

Были исследованы и испытаны образцы сульфата хитозана *Bombux mori* на предмет выявления эффективности их при атеросклерозе и его антикоагулянтная способность, а также иммунологических свойств и токсичности препаратов на основе сульфата хитозана.

Учитывая, что эти препараты могут оказывать существенное влияние на гемостаз, был использован в качестве контроля гепарин, широко применяемый в клинике антикоагулянт, и гиполипидемический препарат гемфибразил, относящийся к фибратам и используемый в клинической практике для лечения гиперхолестеринемии и атеросклероза. Опыты показали, что при введении животным с экспериментальным атеросклерозом СХЗ-№1 в течение 30 дней, особенно СХЗ-№2, приводит к существенному снижению показателей агрегации тромбоцитов (таблица 3).

Используемые препараты обладали антикоагулянтными свойствами. Введение СХЗ-№1 в течение 1 месяца способствовало снижению значений агрегации тромбоцитов в 1,96 раза ( $P < 0,001$ ), тромбинового времени в 1,1 раза и РФМК – в 1,34 раза ( $P < 0,05$ ). По своим антикоагулянтным свойствам препарат СХЗ-№1 не уступает гепарину, а СХЗ-№2 – превосходит его.

Таблица 3

**Влияние образцов сульфата хитозана на показатели тромбоцитов кроликов с экспериментальным атеросклерозом ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )**

Показатели	Интактная	Контроль	Гепарин	СХЗ-№1	СХЗ-№2
Агрегация тромбоцитов, %	36,33±1,96	61,67±0,71*	30,0±0,58 <sup>а,б</sup>	31,33±2,74 <sup>а,б</sup>	24,0±1,15 <sup>а,б</sup>
Тромбоцитарное время, с	13,83±0,17	15,33±0,67*	14,0±0,0	14,0±0,0	14,0±0,0
РФМК, мг%	3,62±0,14	4,83±0,25*	3,0±0,09 <sup>а,б</sup>	3,6±0,93 <sup>а,б</sup>	3,5±0,06 <sup>а,б</sup>

Примечание: \* $p < 0,05$  по отношению к интактной группе, \*\* $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе, \*\*\* $p < 0,05$  по отношению к группе с гепарином, \*\*\*\* $p < 0,05$  по отношению к группе с хитозаном-1

Эти свойства препаратов сочетаются с их гиполипидемическими свойствами. Изучение влияния данных препаратов на растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) при экспериментальной гиперхолестеринемии показало достаточно значительное понижение тромбоцитарного времени как при лечении СХЗ-№1, так и СХЗ-№2 составляет 8,68 %.

Исследована эффективность препаратов: СХЗ-№1 - раствор СХЗ - 500 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл H<sub>2</sub>O); СХЗ-№2 - раствор СХЗ - 1000 МЕ/кг (0,6 г

СХЗ/100 мл Н<sub>2</sub>О. На иммунологические показатели, в частности, на состояние центральных и периферических органов иммунитета (таблица 4) обнаружено, что в селезенках мышей контрольной группы в среднем образуется 1685,0±211,0 антителообразующих клеток (АОК). У животных, получавших СХЗ-№1, иммунный ответ к эритроцитам барана (ЭБ) повышается в 1,91 раза (число АОК в селезенках равно 3225,0±364,8), а при введении СХЗ-№2 - в 1,96 раза (3300,0±274,4 АОК). Следовательно, изученные вещества обладают достаточно выраженной иммуностимулирующей активностью.

Таблица 4

**Влияние препаратов сульфата хитозана на иммунный ответ к эритроцитам барана у мышей (M±m), (n=8)**

Группа	Доза вещества (мл)	Количество ЯСКС × 10 <sup>6</sup>	ИС	Количество антителообразующих клеток на			
				всю селезенку	ИС	10 <sup>6</sup> клеток селезенки	ИС
Контроль	-	85,6 ± 9,2	-	1685,0±211,0	-	22,5±4,8	-
№1- СХЗ	0,5	108,8±14,5	+1,27	3225,0±364,8*	+1,91	32,5±4,9	+1,44
№2- СХЗ	0,5	86,3 ± 13,5	+1,0	3300,0±273,4*	+1,96	46,9±8,7*	+2,08

Примечание: ЯСКС - ядродержащие клетки селезенки, ИС - индекс соотношения к контролю, \* - достоверно к 1 г.

Острая токсичность препарата «Сульфопарин». Средне-смертельная доза (ЛД<sub>50</sub>) препарата «Сульфопарин» - 2150 (2425,4 + 1874,6) мг/кг. Следовательно, по классификации лекарственных средств по токсичности препарат «Сульфопарин» относится к малотоксичным веществам (IV класс). В целом результаты проведенных исследований показали, что изучаемые препараты СХЗ, т.е. «Сульфопарин», при однократном внутрибрюшинном и оральном введении является малотоксичным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по диссертационной работе на соискание ученой степени доктора философии (PhD) на тему: «Синтез, структура и свойства сульфатированного хитозана *Bombux mori*» сформулированы следующие выводы:

1. Показана возможность синтеза С2-N-, С6-O- сульфата хитозана. Обнаружено, что в присутствии изопропилового спирта и сульфатирующего агента серной кислоты, преимущественно формируются производные С6-O-сульфата хитозана (степень замещения от 0,22 до 1,00), тогда как в среде диметилсульфоксида, олеума и хлорсульфоновой кислоты (ХСК), формируются С2-N-, С6-O- дизамененные производных хитозана (степени

замещения от 0,52 до 1,38), при соотношении компонентов ХЗ:ХСК $\approx$ 1:6, температуры синтеза 50°C, продолжительности в 3 часа.

2. Показано что, в процессе замещения С2-N-, С6-O- группы хитозана *Bombyx mori* сопровождается максимальным снижением молекулярной массы (от 104000 до 15000) и степени кристалличности (от 40 % до 18 %).

3. Определены молекулярно-массовые и конформационные характеристики образцов сульфата хитозана *Bombyx mori*. Выявлено, что сульфат хитозана характеризуется невысокой полидисперсностью  $M_w/M_n \approx 1,25$ , длиной сегментов цепи  $A \approx 15$  нм и числом сегментов  $N \approx 1 \div 4$  (в интервале молекулярных масс от 35900 до 7900 кДа), что характерно для жесткоцепных полимеров.

4. Показано, что наличие гидрофильных сульфогрупп в сульфате хитозана и его аморфизация способствуют высокой сорбционной активности паров воды и растворимости сульфата хитозана *Bombyx mori*. Методом динамического рассеяния света установлено, что с увеличением соотношения ХЗ:ХСК (от 1:2 до 1:10) наблюдается увеличение размеров в пределах 57-135 нм. В течение 5 месяцев хранения данная тенденция сохраняется с малым разбросом 67-90 нм размеров частиц, что свидетельствует об устойчивости и стабильности растворов СХЗ.

5. На основе синтезированного сульфата хитозана получен малотоксичный препарат «Сульфопарин». Обнаружена высокая биологическая активность препарата при применении в качестве гипополидемического средства в фармакотерапии атеросклероза и антикоагулянтные свойства при гиперхолестеринемии.

SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREES  
DSc.02/30.12.2019.K/FM/T.36.01 AT INSTITUTE OF POLYMER  
CHEMISTRY AND PHYSICS

---

INSTITUTE OF POLYMER CHEMISTRY AND PHYSICS

**RAKHMANOVA VAZIRA NORKULOVNA**

**SYNHTESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF SULFATED  
CHITOSAN *BOMBYX MORI***

**02.00.06 - High molecular compounds**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR  
OF PHILOSOPHY (PhD) ON CHEMICAL SCIENCES**

**Tashkent – 2021**

The theme of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2020.4.PhD/K340.

The dissertation was carried out at the Institute of Polymer Chemistry and Physics.

The abstract of dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) is available online (polchemphys.uz) and on the website of «ZiyoNET» information-educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor:	<b>Rashidova Sayyora</b> doctor of chemical science, professor, academician
Official opponents:	<b>Ihtiyarova Gulnora</b> doctor of chemical sciences, professor <b>Yunusov Haydar</b> doctor of technical science senior researcher
Leading organization:	<b>Institute of bioorganic chemistry</b>

The defense of the dissertation will take place on «26» 11 2021 at «14:00» at a meeting of Scientific council DSc.02/30.12.2019.K/FM/T.36.01 at the Institute of Polymer Chemistry and Physics (Address: 100128, Tashkent city, Abdulla Kadiry str., 7<sup>b</sup>, Ph.: (998-71)-241-85-94; fax: (998-71)-241-26-61; e-mail: polymer@academy.uz)

The dissertation can be reviewed at the informational Resource Centre of Institute of Polymer Chemistry and Physics (registration number 26 (Address: 100128, Tashkent city, Abdulla Kadiry str., 7<sup>b</sup>, Ph.: (998-71)-241-85-94;)

The abstract of the dissertation has been distributed on «22» 11 2021 year  
(Protocol at the register № 21 dated «12» 11 2021 year)



N.R. Ashurov

Deputy of chairman of scientific council for awarding the scientific degrees, doctor of technical science, professor

M.M. Usmanova

Scientific secretary of scientific council for award of scientific degrees, candidate of chemical sciences, senior researcher

A.A. Sarimsakov

Deputy of chairman of scientific seminar under Scientific council for awarding the scientific degrees, doctor of technical sciences, professor

## INTRODUCTION (abstract of doctor of philosophy (PhD) thesis)

**The aim of the study** is to identify the ways of synthesis of sulfated chitosan *Bombyx mori*, to study the molecular weight, structural features, as well as to determine the biomedical properties.

**The objects of research** are chitosan *Bombyx mori*, chlorosulfonic acid, samples of chitosan sulfate, biologically active preparations obtained on its basis

**Scientific novelty of the research work** is consisted in follows:

for the first time, sulfated samples of *Bombyx mori* chitosan were obtained using chlorosulfonic acid as a sulfonating reagent;

kinetic regularities of this reaction are established and optimal conditions for obtaining chitosan sulfate with a certain molecular structure and degree of substitution of functional groups are revealed;

the molecular-mass characteristics of chitosan sulfate were established, the values of polydispersity and conformational parameters were determined, in particular, the length of the Kuhn segments for this polysaccharide;

the drug «Sulfoparin» based on *Bombyx mori* chitosan sulfate with low-toxic, hypolipidemic, anticoagulant and other properties have been developed, which has shown high efficacy in the pharmacotherapy of atherosclerosis.

**Implementation of the research results.** Based on the scientific results presented in the dissertation «Synthesis, structure and properties of sulfated chitosan *Bombyx mori*», it was found that:

Samples of *Bombyx mori* chitosan sulfate with hypolepidemic properties were used in the practical project ADSS-28.8 "Development and selection of the optimal method of using chitosan derivatives in the treatment of burns" for the release of a drug that helps to reduce the risk of atherogenesis, lipid content and cholesterol in the blood, (Reference No. 03/3093 dated October 9, 2021 Tashkent Medical Academy). As a result, a new dosage form «Sulfoparin» with immunological and hematological properties was developed, used as an anticoagulant in the pharmacotherapy of atherosclerosis and hypercholesterolemia.

The results of the study on *Bombyx mori* chitosan sulfate, data on the synthesis of chitosan sulfate and its properties, analysis of the structure, reaction mechanism and properties of samples were published and referenced in 3 foreign journals with a high impact factor (IF) (Polymers, 2018, V.10, Scopus, IF=4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF=9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF=18.808). In the mentioned works, it was possible to synthesize sulfated chitosan obtained from crustaceans.

**Structure and scope of the dissertation work.** The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, a list of references and appendices. It is presented on 112 pages.

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

**I бўлим (I часть; part I)**

1. Рахманова В.Н., Нудьга Л.А., Милушева Р.Ю., Волчек Б.З., Холмуминов А.А., Баклагина Ю.Г., Рашидова С.Ш. Определение степени сульфатирования хитозана *Bombyx mori* методом кондуктометрического титрования // Журнал прикладной химии. 2009. -№12(82). -С.2048-2052. (<https://doi.org/10.1134/S1070427209120192>) (IF= 0,47 (Scopus))

2. Иноятова Ф.Х., Кутликова Г.М., Милушева Р.Ю., Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш., Некоторые механизмы гипохолестеринемического действия сульфаторина // Вестник Ташкентский медицинский академии. 2011. № 3. - С.19-22. (14.00.00. №13)

3. Rakhmanova V. N., Rashidova S. Sh. Molecular-weight characteristics of chitosan sulfate *Bombyx mori* // Journal of Scientific and Engineering Research. 2020. №7(8). -P. 57-60. (IF= 0,543 (SJIF))

4. Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Синтез сульфатированного хитозана *Bombyx mori* и его свойств // Доклады Академии наук Республики Узбекистан. 2021. № 1. –С. 60-65. (02.00.00. №8)

5. Rakhmanova V.N., Rashidova S.Sh. Formation kinetics of chitosan sulfate *Bombyx mori* in the presence of sulfating agents // International Scientific Journal Theoretical & Applied Science. 2021. №9 (101), -P. 407-415. (<https://dx.doi.org/10.15863/TAS>) (IF= 7.184. (SJIF))

**II бўлим (II часть; part II)**

6. Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Сульфатирование хитозана *Bombyx mori* и перспективные биоактивные материалы на его основе. // Труды Института химии и физики полимеров АНРУз. –Ташкент, 2011. -С.90-110.

7. Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Ашуров Н.Ш., Холмуминов А.А., Рашидова С. Ш. Исследование сорбции паров воды производными хитина с применением корреляционно-регрессионного анализа // Международная конференция «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» -Мурманск, 25-30 июня, 2012. -С.209-212.

8. Милушева Р.Ю., Рахманова В.Н., Иноятова Ф.Х., Рашидова С.Ш. Синтез производных хитозана *Bombyx mori* и их использование при заболеваниях различной этиологии // Международная конференция «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» -Мурманск, 25-30 июня, 2012. -С.69-72.

9. Милушева Р.Ю., Иноятова Ф.Х., Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Перспективные полимерные препараты на основе хитозана *Bombyx mori* // Шестая всероссийская каргинская конференция, «Полимеры-2014» -Москва, 27- 31 января, 2014. Т.1. С.130.

10. Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Влияние соотношения исходного

компонента при сульфатировании хитозана *Bombyx mori* // Международная научно-практическая конференция «Нанополимерные системы на основе природных и синтетических полимеров: синтез, свойства и применение» - Ташкент, 5-6 ноябрь, 2014.-С.90.

11. Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Сульфатирование очищенного хитозана *Bombyx mori* // Республиканская научная конференция «Роль интеграции науки о полимерах и образования в инновационном развитии отраслей экономики» -Ташкент, 6 ноябрь, 2015. - С. 71-72

12. Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Влияние соотношения компонентов хитозана и серной кислоты на образования сульфат хитозана *Bombyx mori* // Республиканская конференция «Современные проблемы науки о полимерах» -Ташкент, 31 октябрь-1 ноябрь, 2019. –С. 35-36.

13. Рахманова В.Н., Ашуров Н.Ш., Рашидова С.Ш. Изучение термодинамических характеристик сульфат хитозана *Bombyx mori* // Республиканская научная конференция «Современные проблемы науки о полимерах» -Ташкент, 25-26 ноябрь, 2020. –С. 66-67.

14. Рахманова В.Н., Нургалиев И.Н., Рашидова С.Ш. Моделирование методом теории функции плотности реакции сульфатирования хитозана: теория и эксперимент // Республиканская научная конференция «Современные проблемы науки о полимерах» -Ташкент, 25-26 ноябрь, 2020. –С. 62.

15. Нургалиев И.Н., Рахманова В.Н., Бурханова Н.Ж., Рашидова С.Ш. Реакционная способность сульфатированных производных хитозана // II Коршаковская Всероссийская с международной конференция «Поликонденсационные процессы и полимеры» -Москва, 25-26 февраль, 2021. -С.90

16. Нургалиев И.Н., Рахманова В.Н., Бурханова Н.Ж., Рашидова С.Ш. Электронная структура сульфатированных производных хитозана // Республиканская конференция «Роль одаренной молодежи в развитии физики» -Ташкент, 26-27 март, 2021. -С. 44-45

17. Rakhmanova V. N., Rashidova S Sh. Obtaining sulfated chitosan *Bombyx mori* with chlorosulphonic acid // «14<sup>th</sup> international Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» -Tashkent, October 7-8, 2021 y, -pp.233

Автореферат «Кимё ва кимё технология» журнали таҳририятида таҳрирдан  
ўтказилиб, ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро  
мувофиқлаштирилди.

Босишга рухсат этилди: 11.11.2021 йил  
Бичими: 84x60 1/16. «Times New Roman» гарнитураси.  
Рақамли босма усулда босилди.  
Шартли босма табағи: 3. Адади 100. Буюртма № 180.

Гувоҳнома № 10-3719  
«Тошкент кимё технология институти» босмахонасида чоп этилган.  
Босмахона манзили: 100011, Тошкент ш., Навоий кўчаси, 32-уй.