

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ
14.07.2016.К/В/Т.13.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МАТЧАНОВ АЛИМЖОН ДАВЛАТБОЕВИЧ

**ЛАБДАН ДИТЕРПЕНОИДЛАРИ ҲОСИЛАЛАРИ СИНТЕЗИ,
ГЛИЦИРРИЗИН КИСЛОТАСИ ВА САМАРАЛИ ГЕМОСТАТИК ДОРИ
ВОСИТАЛАРИНИ ЯРАТИШ**

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

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

ТОШКЕНТ - 2017

Докторлик диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата докторской диссертации
Content of the abstract of doctoral dissertation

Матчанов Алимжон Давлатбоевич

Лабдан дитерпеноидлари ҳосилалари синтези, глицирризин
кислотаси ва самарали гемостатик дори воситаларини
яратиш..... 3

Матчанов Алимжон Давлатбоевич

Синтез производных лабдановых дитерпеноидов,
глицирризиновая кислота и разработка эффективных
гемостатических лекарственных препаратов..... 31

Matchanov Alimjon Davlatboevich

Synthes of labdane diterpenoids, glycyrrhizic acid, and the
development of effective hemostatic drugs..... 59

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ...
List of published works..... 86

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ
14.07.2016.К/В/Т.13.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МАТЧАНОВ АЛИМЖОН ДАВЛАТБОЕВИЧ

**ЛАБДАН ДИТЕРПЕНОИДЛАРИ ҲОСИЛАЛАРИ СИНТЕЗИ,
ГЛИЦИРРИЗИН КИСЛОТАСИ ВА САМАРАЛИ ГЕМОСТАТИК ДОРИ
ВОСИТАЛАРИНИ ЯРАТИШ**

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

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

ТОШКЕНТ - 2017

Докторлик диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида 30.09.2014/В2014.5.К74 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (<http://ss.biochem.uz>) ва «ZiyoNet» таълим ахборот тармоғида (www.ziyoNet.uz) жойлаштирилган.

**Илмий
маслаҳатчи:**

Далимов Давранбек Нигманович
кимё фанлари доктори, профессор

**Расмий
оппонентлар:**

Азизов Умархон Мухтарович
кимё фанлари доктори, профессор

Дусматов Азиз Файзаматович
фармацевтика фанлари доктори, доцент

Абдулладжонова Нодира Гуломжановна
кимё фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Тошкент фармацевтика институти

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги 14.07.2016./К/В/Т.13.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2017 йил «__» феврал соат __ да ўтадиган мажлисида бўлади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўч., 83.Тел.: 262 35 40, факс: (99871) 262 70 63).

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

Автореферат 2017 йил «__» февралда тарқатилди.

(2017 йил __ феврал №__ рақамли реестр баённомаси)

Ш.И.Салихов

Фан доктори илмий даражасини берувчи Илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

М.И.Асраров

Фан доктори илмий даражасини берувчи Илмий кенгаш илмий котиби, б.ф.д., профессор

А.А.Ахунов

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

КИРИШ (Докторлик диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бугунги кунда дунёда, жарроҳлик амалиётида диффузион қон кетишини тўхтатиш оғир кечадиган жараёнлардан бири бўлиб, 30% ҳолатларда беморларнинг ўлимга сабаб бўлмоқда. Статистик маълумотларга кўра ер юзида ҳар йили турли хил қон кетиши натижасида 30 миллионга яқин аҳоли ҳаётдан кўз юмади. Мураккаб жарроҳлик амалиётидан кейинги бошланғич даврда қон кетиши профилактикаси учун қиммат турадиган гемостатик дори воситалари зарур бўлади. Адабиётлар таҳлили асосида, шуни таъкидлаш мумкинки, маҳаллий ва вена орқали қўлланилиш таъсирга эга бўлган, ҳамда етарли даражадаги ишончли самарали гемостатик препаратлари мавжуд эмас. Булар эса ўз навбатида маҳаллий ва умумий таъсирга эга бўлган гемостатик воситаларни излаб топиш долзарблигидан далолат беради.

Мустақиллик йилларида республикада маҳаллий ўсимликлар асосида самарали дори воситаларини яратиш бўйича кенг қамровли чоратадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилди. Бу борада алкалоидлар, полифеноллар, изопреноидлар, стероидлар манбаи бўлган шифобахш ўсимлик экстрактлари ва биологик фаол қуйи молекуляр бирикмалар асосида яратилган самарали дори воситаларни (антиаритмия хусусиятига эга бўлган «Аллапинин», қон тўхтатувчи «Лагоден», никотинга қарши «Табекс», «Анабазин гидрохлорид», герпесга қарши «Мегосин», вирусга қарши «Рагосин») алоҳида таъкидлаш мумкин.

Бугунги кунда жаҳонда табиий бирикмалар ҳосилалари ва терпеноидлар асосида янги гемостатик дори воситаларини яратиш долзарб вазифалардан ҳисобланади. Бунда табиий ўсимлик манбалардан янги самарали дори воситаларини ишлаб чиқиш бўйича тадқиқотларни амалга оширишда: янги супрамолекуляр комплекс бирикмаларни олиш, янги гемостатик дори воситаларини ишлаб чиқиш, ўсимликлардан биологик фаол бирикмаларни ажратиш олиш, терпеноидларнинг физиологик фаоллигини ҳамда реологик хусусиятларини аниқлаш, янги потенциал табиий биологик фаол бирикмаларни топиш мақсадида тузилиш-фаоллик орасидаги ўзаро боғлиқлигини аниқлаш, гемостатик дори воситаларининг таъсир механизмларини исботлаш кабилар долзарб мавзулардан ҳисобланади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2008 йил 15 июлдаги ПҚ-916-сон «Инновацион лойиҳаларни ва технологияларни мувофиқлаштириш учун кўшимча тадбирлар» Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи.¹

Биологик фаол терпеноидларни ўсимликлардан аниқлаш, ажратиб олиш, уларнинг тузилиш ва фаоллик орасидаги боғлиқликни аниқлаш ва улар асосида янги самарали гемостатиклар ишлаб чиқишга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Department of Pharmacy Practice Southwestern Oklahoma State University, (АҚШ). University of Mansoura (Миср), Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (Хитой), Бутунроссия дори воситалари ва ароматик ўсимликлар институти (Россия), Ўсимлик моддалари кимёси институти, Миллий университетда (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Ўсимликлардан биологик фаол терпеноидларни ажратиб олиш, кимёвий тузилиши ва фаолликлари, улар асосида янги самарали гемостатиклар ишлаб чиқишга оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: ўсимлик хом ашёси асосида маҳаллий гемостатик препаратлари ишлаб чиқилган ва уларнинг самарадорлиги ва хавсизлиги баҳоланган (Department of Pharmacy Practice Southwestern Oklahoma State University, АҚШ); синтетик бирикма - н-бутил-2-цианоакрилат юз-чакка хирургиясида қон тўхтатувчи восита сифатида қўлланилган (University of Mansoura, Миср); *Lagochilus ilicifolius* ўсимлигининг кимёвий таркиби таҳлил қилинган, спектрал усул ёрдамида 3 та аввал номаълум бўлган модда аниқланган (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Хитой); ширинмия ўсимлиги тритерпен сапонинлари, глицирризин кислотаси ва унинг ҳосилалари ва турли флавоноидлар асосида супрамолекуляр комплекс бирикмалар олинган (Бутунроссия дори воситалари ва ароматик ўсимликлар институти, Россия); ширинмия илдизи сапонинлари ва флавоноидлари физик-кимёвий ва спектрал хусусиятлари аниқланган (Самара давлат тиббиёт университети, Россия).

Дунёда доривор ўсимликлар таркибидан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш, уларнинг кимёвий тузилиш-фаоллиги ҳамда терпеноидлар асосида янги, самарали гемостатиклар ишлаб чиқиш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: лабдан дитерпеноидларини синтез қилиш ва биологик фаоллигини аниқлаш; янги потенциал табиий биологик фаол бирикмаларни аниқлаш учун тузилиш-фаоллик орасидаги боғлиқликни исботлаш; гемостатик дори воситаларини ишлаб чиқиш; комплекс бирикмаларнинг реологик хусусиятларини аниқлаш; гемостатик дори воситаларининг таъсир механизмларини исботлаш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. *Lagochilus* ўсимлиги қадимдан ўзининг шифобахш хусусиятлари билан машхур ва Шарқнинг доривор ўсимликлари қаторидан жой олган. *Lagochilus* тури ичида кенг тарқалгани *Lagochilus inebrians* - Лагохилус сархушлантирувчи ҳисобланади. Унинг асосий таъсир этувчи моддаси лагохилин. Аммо ёввойий ҳолда ўсувчи

¹ <http://lektrava.ru/encyclopedia/zaytsegub-opyanayayushchiy>, <http://floruz.uz/content/lagochilus-pubescens-vved>, <http://www.niscair.res.in/Science Communication/AbstractingJournals>.

ўсимлик захирасидан нооқилона фойдаланиш оқибатида, у бугунги кунда Қизил китобга киритилган.

Чет эл олимлари Н.А. Scheraga, М. Khalili, А. Liwo, Y. Zhang, R.F. Murray, Н.В. Harper, D.K. Granner, Р.А. Mayes, А.Ф. Gammermanлар томонидан хайвонот ва ўсимлик манбааларидан ажратиб олинган ди-, тритерпеноидларни аниқлаш, кимёвий тузилиши ҳамда биологик фаоллигини ўрганиш ишлари олиб борилган.

МДХ давлатларида *Lagochilus inebrians* тури ўсимлиги таркиби, лагохилин ҳосилалари тузилиши ҳамда биологик фаоллигини ўрганиш ишлари С.П.Боткин, И.П.Павлов, Г.В.Лазуревскийлар томонидан олиб борилган. Глицирризин кислотаси ва унинг тузлари асосида олинган комплекс бирикмаларнинг физик-кимёвий хусусиятлари, таъсир механизмлари бўйича Г.А.Толстикова бошчилигидаги мактаб томонидан чуқур илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Республикамизда И.Э.Акопов, О.С.Содиқов, Т.П.Пўлатова, М.И.Икрамов, И.И.Ибрагимов, Т.Р.Абдурахманов, С.Ауелбеков, М.М. Абрамов, У.Н.Зайнутдинов, Д.Н.Далимов каби олимларнинг ишларида *Lagochilus inebrians* ўсимлиги мукамал кимёвий таҳлил қилинган. Лагохилиннинг миқдори ўсимликнинг ер устки қисмида бир хил тақсимланмаганлиги, нисбатан кўпроқ баргида (1,98%), репродуктив органларида (0,84—1,87%) ва энг кам миқдори шохларида (0,15% ўсимликнинг куруқ массасига нисбатан) миқдори аниқланган. Лагохилин ҳосиласи, лагохирзин кислотасининг моносодийли тузи асосида сувда эрувчан, самарали «Лагоден» препарати яратилган. Бугунги кунда республикамизда гемостатик дори воситалари ишлаб чиқарилмайди. Қон тўхтатувчи препаратларнинг асосий тўплами хориждан олиб келинади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг П-15.20 «Маҳаллий ўсимлик хом-ашёси асосида вена қон томири ичига қўлланиладиган Лаговин препаратини ишлаб чиқиш ва яратиш» (2003-2005), А-10-053 «Коллаген пленкалари асосида маҳаллий таъсир қилувчи гемостатик дори воситасини ишлаб чиқиш ва яратиш» (2006-2008), ФА-А12-Т175 «Яллиғланишга қарши «ГЛАС» препарати, маҳаллий гемостатик препарат Глилагинни дори шакллари олиш технологиясини ишлаб чиқиш (2009-2011), ИФА 2012-6-4 «Лаговин препаратининг олиш технологиясини ўзлаштириш, клиник синовларини ўтказиш ва тажриба синов партиясини ишлаб чиқиш» (2012-2014), ФА-И11-ТО11 «Глилагин препаратини дори шакли технологиясини ўзлаштириш, ва лагохилинни олиш техник шароитларини ишлаб чиқиш» (2015-2016) мавзусидаги амалий ва инновацион лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади лабдан дитерпеноидлари синтези, глицирризин кислотаси, унинг тузлари ва кичик молекулали полимерлар асосида супрамолекуляр комплекс бирикмаларни олиш, физик-кимёвий

хусусиятларини аниқлаш ҳамда янги гемостатик воситаларни ишлаб чиқишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Lagochilus Inebrians ўсимлигидан лагохилин дитерпеноидини ажратиб олиш ва тозалаш, кимёвий модификация қилиш ҳамда физик-кимёвий хусусиятларини аниқлаш;

глицирризин кислотасини ширинмия илдизидан ажратиб олиш ва тозалаш, моноаммонийли тузини (МАСГК) олишнинг тажриба-саноат регламентини ишлаб чиқиш ва тажриба партиясини олиш;

глицирризин кислотаси ва унинг моноаммонийли тузи асосида лагохилин билан турли хил нисбатларда комплекс бирикмаларини олиш, физик-кимёвий, спектрал хусусиятларини ўрганиш ва сувли эритмаларининг реологик хоссаларини, комплекс ҳосил қилувчи моддалар нисбатига боғлиқлигини ва уларнинг таъсирлашиш кучлари табиатини аниқлаш;

синтез қилинган лагохилин ҳосилалари ва супрамолекуляр комплекс бирикмаларнинг гемостатик хусусиятлари, комплекс ҳосил қилувчи бирикмаларни тузилиш-фаоллик, тузилиш-нисбат орасидаги боғлиқлигини аниқлаш мақсадида ва уларнинг ичидан энг фаол бирикмаларини чуқур фармако-токсикологик изланишлар учун топшириш;

математик моделлаш усули ёрдамида олинган моддаларнинг структурасининг эҳтимоллиги юқори бўлган тузилишини аниқлаш;

маҳаллий хом-ашё асосида олинган субстанциялар учун лаборатория ва тажриба саноат регламентлари лойиҳаларини ишлаб чиқиш;

«Глилагин» ва «Лаговин» субстанциялари ва дори шаклларини стандартлаш ҳамда уларнинг – «Глилагин» таблетка ва Лаговин вена қон томири орқали юбориладиган дори шаклларини ишлаб чиқиш;

«Глилагин» ва «Лаговин» субстанцияларининг ва дори шаклларининг вақтинчалик фармакопея мақолалари лойиҳаларини ишлаб чиқиш ва ЎЗР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош Бошқармасига тақдим этиш;

оригинал гемостатик дори воситалари сифатида ЎЗР ССВга қарашли шифохоналарида клиник синовларини ўтказиш учун зарур бўлган меъёрий техник ҳужжатларни тайёрлаш ва клиник синовларни ўтказишга рухсат олиш.

Тадқиқот объекти сифатида *Lagochilus Inebrians* ва *Glycyrrhiza Glabra* ўсимликлари, глицирризин кислотаси, лагохилин ва унинг ацетил, бензилиден ва изопропилиден ҳосилалари, N-поливинилпирролидон, супрамолекуляр комплекслари олинган.

Тадқиқот предмети биологик фаол бирикмаларнинг физик-кимёвий, реологик хусусиятлари, биологик фаоллиги ва дори шаклларини стандартлаш, гемостатик дори препаратларини яратишдан иборат.

Тадқиқот усуллари. Диссертацияда индивидуал ди- ва тритерпеноидларни ажратиб олиш ва тозалаш учун экстракция усули, юқори самарали суюклик хроматографияси, газ хроматографияси; янги олинган моддаларнинг кимёвий тузилишларини аниқлаш учун физик-кимёвий таҳлил

усуллари: ультрабинафша, инфрақизил спектроскопия, ЯМР спектроскопияси, Chem Office 9.0 ва Hyper Chem программаларига асосланган квант-кимёвий изланиш усуллари; дори воситаларини стандартлаш учун давлат фармакопея сифат назорати ва биологик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

лагохилиннинг янги ароматик ацеталлари синтез қилинган ва охири маҳсулот унумига катализаторлар таъсири аниқланган;

лагохилиннинг ацетил ва изопропилиден ҳосилаларининг гемостатик фаоллиги билан ўринбосарларнинг табиати ва эркин гидроксил гуруҳлари сони орасидаги боғлиқлиги аниқланган;

глицирризин кислотаси ва унинг моноаммонийли тузи билан лагохилиннинг янги комплекс бирикмалари олинган;

глицирризин кислотаси ва унинг тузлари билан лагохилиннинг супрамолекуляр комплекс бирикмалари сувли эритмаларида мицелляр тузилиш, турғунлик ва термодинамик хусусиятлари билан, комплекс ҳосил қилувчи компонентлар нисбати ва уларнинг кимёвий тузилишига боғлиқлиги аниқланган;

комплекс бирикмаларнинг сувли эритмалари реологик хусусиятларини аниқлаш орқали, дори воситасини мицелла ичига кириш жараёни система энергияси ютуғи билан бориши исботланган;

система энтропияси (мицелляр ҳосилалар ўз-ўзидан ташкилланиши), меҳмон молекуласи тузилиши ва функционал ҳосилгига боғлиқлиги, глицирризин кислотаси молекулаларидан иборат мицеллаларнинг тузилиш жараёнига мувофиқлаштирувчи сифатида таъсир этиши исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси қуйидагилардан иборат:

2 хил турдаги гемостатик дори воситаларининг субстанцияси ва дори шакллари, перорал қўллашга мўлжалланган (таблетка) ва вена қон томирига юбориладиган (2мл ампулада 0,15% эритма) дори шакллари ишлаб чиқилган. «Глилагин» ва «Лаговин» субстанциялари тажриба синов партиясини олинган. «Глилагин-0,005г таблетка»си ва «0,15% Лаговин эритмаси» дори шаклларини тажриба синов партиялари олиш йўлга қўйилган. Лаговин (0,15% эритма) ва Глилагин (таблетка) дори шакллари учун клиник синовлар ўтказишга рухсат олинган. Глицирризин кислотасини олишда оралик маҳсулот ҳисобланган техник маҳсулотни олиш йўлга қўйилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги уларнинг замонавий физик-кимёвий тадқиқот усуллари кўлланилиши, олинган натижаларнинг амалиётга қўлланилиши, натижаларнинг Республика ва дунё миқёсидаги бир қатор илмий амалий конференциялардаги тақдироти, ренцензияланадиган журналларда чоп этилиши, ҳамда олинган ихтирога патентлари билан тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундаки, лагохилин ва глицирризин кислотаси ажратиб олинган, лагохилиннинг қатор ҳосилалари синтез қилинган, улар асосида янги супрамолекуляр комплекс бирикмалари

олинган. Лагохилин ҳосилаларининг гемостатик фаолликлари ўрганилган ва у кимёвий тузилишига боғлиқлиги аниқланган. Бирикмаларнинг тузилиши физик-кимёвий ва математик усуллар ёрдамида тасдиқланган. Комплекс бирикмаларнинг реологик хусусиятларини ўрганиш натижасида, бирикмаларни мицелляр ҳолати водород боғлар ва гидрофоб-гидрофоб таъсирлашишлар орқали мувофиқлашганлиги кўрсатилган.

Ишнинг амалий аҳамияти олинган супрамолекуляр комплекслар асосида самарали гемостатик дори воситалари «Глилагин» ҳамда «Лаговин» ва уларнинг лаборатория ҳамда саноат регламентлари, дори шакллари «Глилагин 0,005г таблеткалари», «Лаговин 0,15% эритмаси» учун Вақтинчалик Фармакопея мақоласи ишлаб чиқилди, бу эса ўз навбатида гемостатик дори воситаларини саноат миқёсида ишлаб чиқариши имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ўсимликлардан биологик фаол терпеноидларни ажратиб олиш, тузилиши ва фаолликларини аниқлаш натижасида янги самарали гемостатиклар ишлаб чиқиш асосида:

вена қон томири ичига қўлланиладиган гемостатик «Лаговин» дори воситаси учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти (04.12.2013 й., №IAP 04806) олинган. Гемостатик восита паренхиматоз қон кетишни тўхтатишда ишлатиш учун тавсия қилинган;

«Глилагин» субстанцияси асосида қон тўхтатувчи гемостатик пленка учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти (13.10.2015 й., №IAP 05109) олинган. Яратилган маҳаллий дори шакли капилляр ва қон томирлардан қон кетишини тўхтатишда фойдаланилган;

яллиғланишга қарши қўлланиладиган «Глицирам - 0,05г таблеткалари» учун клиник синовлари ўтказилган ва «Глицирам» субстанцияси учун Вақтинчалик Фармакопея мақоласи 42 Уз2369-2013 (18.10.2013 й.,) ишлаб чиқилган ва тасдиқланган. Яратилган препарат республикада шу турдаги дори воситаларининг импорт ўрнини босиш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 7 та Республика ва 5 та халқаро илмий-амалий анжуманларда презентация тарзида баён этилган ва апробациядан ўтган, жумладан, «Биология - наука XXI века» (Пушино, 2005); «6th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Анкара, 2005); «Современные проблемы биохимии и эндокринологии» (Тошкент, 2006); «Биология, экология ва тупроқшуносликнинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2006); «Табиий бирикмалар кимёси долзарб муаммолари» (Тошкент, 2009); «Проблемы органической химии» (Москва, 2009); «Renewable Wood and Plant Resorches: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine» (Санкт-Петербург, 2011); «International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Урумчи, 2011); «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2013); «Биоорганик кимё фани ривожланиши долзарб муаммолари» (Тошкент, 2013).

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 40 та илмий иши чоп этилган, шулардан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 11 та мақола, жумладан, 9 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган, 2 та патент олинган ва 2 та саноат регламенти ва битта ВФМ ишлаб чиқилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, етти боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 182 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги асослаб берилган, мақсад ва вазифалар, шунингдек тадқиқотнинг объект ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг республика фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг ишончилиги асосланган, натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий этиш рўйхати келтирилган, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг тузилиши тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «*Lagochilus Inebrians*» ва «*Glycyrrhiza Glabra*» тури ўсимликлари ди- ва тритерпеноидлари тузилиши, биологик хусусиятлари» деб номланган биринчи бобида, *Lagochilus* оиласига мансуб ўсимликлар, уларнинг тарқалиши, кимёвий таркиби тўғрисидаги маълумотлар келтирилган. Лагохилиннинг ҳосилалари ва уларни ажратиш олиш усуллари, кимёвий модификация қилиш ҳамда ширинмия ўсимлиги, унинг илдизи кимёвий таркиби, асосий тритерпен гликозиди - ГК ва унинг тузлари тузилиши, трансформацияси, биологик фаоллиги ва унинг тузларининг коллоид-кимёвий хусусиятлари ҳамда дори моддалари билан комплекслари тўғрисидаги маълумотлар баён қилинган.

Диссертациянинг «Гемостаз системаси ва гемостатик препаратлар» деб номланган иккинчи бобида гемостатик препаратлар, уларнинг таъсир механизмлари ва гемостаз жараёнининг бузилиш ҳолатлари тўғрисидаги адабиётлар шарҳи келтирилган.

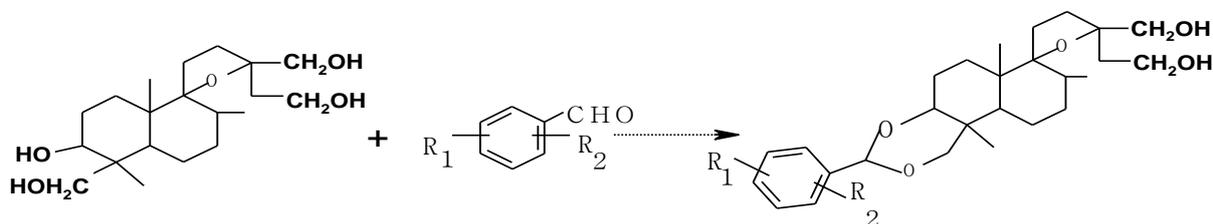
Диссертациянинг «Материаллар, шароитлар ва тадқиқотнинг замонавий усуллари, биологик фаоллик» деб номланган учинчи бобида диссертацияни бажаришда фойдаланилган материаллар, реактивлар, юпка қатлам хроматографияси учун ишлатилган системалар, ажратиш усуллари ва лагохилин билан глицирризин кислотаси (унинг тузлари) ни тозалаш, уларнинг ҳосилаларини олиш, ҳамда гемостатик фаолликни аниқлаш ва микдори таҳлил усуллари тўғрисидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Лагохилин, ГК ва унинг тузларини ажратиш олиш, лагохилин ҳосилалари синтези» деб номланган тўртинчи бобида,

сархушлантирувчи Лагохилус ўсимлигидан лагохилин дитерпеноидини ажратиб олиш усулини такомиллаштириш ва ТГК сидан ГК ва унинг тузларини олиш технологик схемаси, Лагохилиннинг моногидрат кристаллининг тузилиши ва унинг ароматик ацеталлари синтези келтирилган. Сархушлантирувчи Лагохилус ўсимлигидан лагохилинни ажратиб олиш усулини такомиллаштириш жараёни шундан иборатки, дихлорэтандан 13-14 қайта регенерация қилмасдан фойдаланилган (оптимал 10-11 қайта) электр энергиясининг, эритувчи микдорининг ҳамда умумий экстракция вақтининг тежалишига олиб келган.

Лагохилин ацетонда қайта кристалланади ва турли хил эритувчиларда қайта кристаллаш натижасида икки хил тузилишга эга кристаллар: сувсиз ва моногидрат шакллари ҳосил бўлади. Лагохилин кристалларининг рентген тузилиш таҳлили натижалари профессор Ибрагимов Б.Т. бошчилигида ўрганилган. Лагохилиннинг моногидрат тузилишдаги монокристалли ацетон:толуол:этанол эритувчилари аралашмасида олинган. Монокристаллининг тузилиши рентген тузилиши таҳлили (РТТ) усули ёрдамида ўрганилган.

Лагохилиннинг молекуляр халқасидаги ўринбосарлар маълум қонуният асосида ўзгариб борадиган ароматик альдегидлар билан реакцияси шу кунгача ўрганилмаган. Шунинг учун лагохилиннинг бир қатор ароматик альдегидлар билан реакция шароитларини ўрганиш қизиқарли бўлган. Лагохилиннинг ароматик ацеталлари синтези умумий схемаси қуйида келтирилган (1-схема).



Бу ерда R_1 ва R_2 - OH , $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{Br}$. (II.1- II.8)

1-схема. Лагохилиннинг ароматик ацеталлари синтези умумий схемаси.

Лагохилиннинг ароматик ацеталлари синтезида ароматик халқада ўринбосарлар сифатида турли хил алкоксил гуруҳлар бўлганда катализатор сифатида конц. H_2SO_4 , ароматик халқада гидроксил гуруҳи бўлганда эса, сувсиз мис сульфатни қўллаш мақбул эканлиги кўрсатилган. Барча синтез қилинган ароматик ацеталларни тозалашда колонкали хроматография усулидан фойдаланилган. 1-жадвалда уларнинг айрим физик-кимёвий катталиклари келтирилган. Синтез қилинган моддаларнинг тузилиши ИҚ- ва ПМР-спектрлари асосида тасдиқланган.

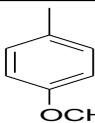
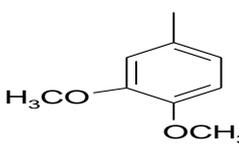
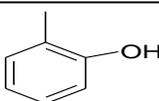
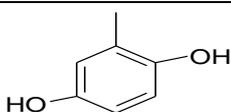
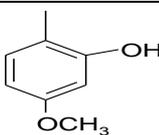
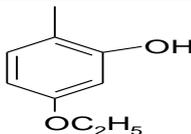
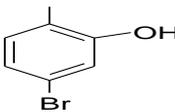
Лагохилин ацеталларининг ИҚ-спектрларида асосий тебраниш частоталари $3300\text{-}3400\text{ см}^{-1}$ соҳадаги кенг елка шаклида намоён бўлиб, бу лагохилин молекуласидаги 15,16-ҳолатларидаги молекулалараро водород боғлар ҳосил қилишда иштирок этган гидроксил гуруҳларининг валент

тебранишларига тегишли, фенол халқадасиги гидроксил гуруҳларнинг валент тебранишлари 3200 см^{-1} соҳада кузатилади (4-8 бирикмалар).

4-8 моддаларнинг ПМР-спектрларида 0,80-0,90 м.у. соҳадаги синглет кўринишидаги сигналлар C_8 ва C_{10} метил гуруҳларининг протонларига тегишли. 3,4-4.0 м.у. соҳасида лагохилиннинг C_{15} , C_{16} и C_{18} ҳолатлардаги - OCH_2 -гуруҳлари протонлари сигналлари бўлса, 5,5 м.у. соҳасида учламчи - CH , гуруҳи протонлари сигналлари кузатилади.

1-жадвал

3,18-бензилиден-15,16-диокси-9,13-эпоксилабданларнинг айрим физик-кимёвий катталиклари

№	Ar	* R_f	Катализатор	$T_{\text{суюк.}}$, °C	Унум %
2		0,73	H_2SO_4 (конц.)	-	55
3		0,26	H_2SO_4 (конц.)	-	60
4		0,50	CuSO_4 (сувсиз)	136-137	35
5		0,38	CuSO_4 (сувсиз)	138-139	27
6		0,45	CuSO_4 (сувсиз)	150-151	25
7		0,41	CuSO_4 (сувсиз)	167-168	30
8		0,40	CuSO_4 (сувсиз)	173-174	36

*Система: метанол:ацетон (2:1)

Тадқиқотнинг навбатдаги босқичида лагохилиннинг ацетил ҳосилалари синтези амалга оширилди. Адабиётлардаги маълумотларда лагохилиннинг тетраацетил ҳосиласи синтези тўғрисида маълумотлар кўп учрайди, лекин унинг моно-, ди- ва триацетил ҳосилалари асосан ўсимликлардан хроматография усулида ажратиб олинганлиги тўғрисида маълумотлар келтирилган. Шунинг учун биз лагохилинга сирка ангидриди таъсир эттириб, унинг тетраацетил ҳосиласини синтез қилдик. Уни юмшоқ гидролизга учратиб, колонкали хроматография усулида моно-, ди- ва триацетил ҳосилалари ажратиб олишни амалга оширдик.

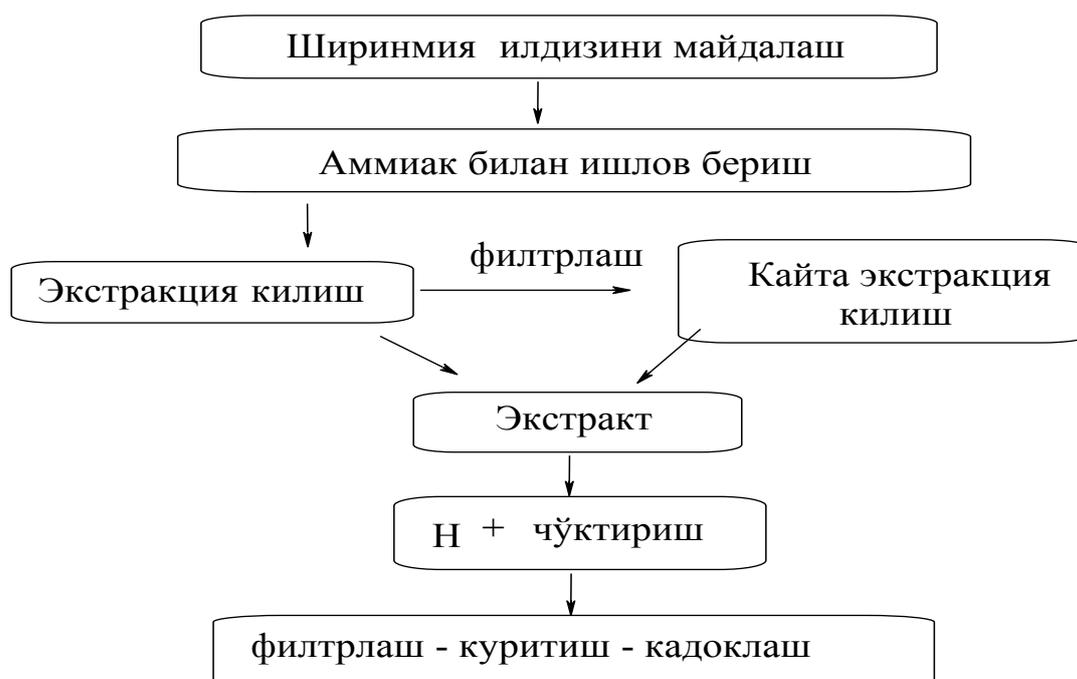
Биологик фаол моддаларнинг фаоллигини сувли муҳитда ўрганиш муҳим аҳамиятга эга (инсон организмнинг 60-75% ни структураланган сувдан иборат), шунинг учун бизга ГК ва унинг тузларини ажратиб олиш билан бир қаторда, улар асосида олинган супрамолекуляр комплекс бирикмалар сувли эритмаларининг айрим фундаментал жиҳатлари ва физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш ҳам зарур эди. Олинган натижалар ўз навбатида самарали, юқори технологик, кенг таъсир доирасига эга бўлган гемостатик дори воситаларни ишлаб чиқишда илмий асос бўлиб хизмат қилади.

Турли хил тузилишга эга бўлган биологик фаол бирикмаларнинг таъсирини кучайтириш мақсадида, уларни кимёвий усуллардан: жумладан тузларини олиш (агарда бу уларнинг асосий биологик фаоллигига таъсир кўрсатмаса), ковалент ва ноковалент боғлар ҳосил қилувчи моддалар билан модификация қилиш, тиббиётда ишлатишга рухсат этилган полимер моддалардан транспорт агенти сифатида фойдаланиш; турли хил қуйимолекуляр ташувчи моддалар (лиганд) сифатида циклодекстринлар, краун эфирларидан ва охириги ўн йил ичида амфифил табиатли табиий бирикмалардан, хусусан ГК ва унинг тузларидан кенг фойдаланилмоқда. Маълум бўлган дори воситалари (ностероид яллиғланишга қарши воситалар, простагландинлар, урациллар) асосида янги дори воситаларини олишда ташувчи (транспортировка қилувчи) сифатида 18β -глицирризин кислотаси таклиф қилинган.

Бунга асос сифатида эса комплекс ҳосил қилувчи ГК таркибида гидрофил (дори воситасини боғловчи қисм) ва гидрофоб (транспортировкага жавоб берувчи қисм) қисмларининг мавжудлиги бўлган. Бизнинг асосий объектимиш лагохилин ва унинг изопропилиден, ацетил ва бензилиден ҳосилалари сувда ёмон эрийди. Уларнинг сувда эрийдиган комплексларини олиш учун солубилизация қилувчи агент сифатида ГК ва унинг моно (аммонийли, калийли, литийли) тузларидан фойдаланишга ҳаракат қилинган.

Юқоридагиларни инобатга олган ҳолда, ушбу бобда, ГК ни ажратиб олиш усуллари, тозалаш технологияси, унинг тузларини олиш шароитларини излаш ва лагохилин билан супрамолекуляр комплекс бирикмаларни олиш усуллари тўғрисида тўхталамиз. ГК ни ширинмия илдизидан ажратиб олишга бир қатор илмий ишлар бағишланган. Уларнинг барчасини асоси технологик жараён бошланғич босқичида сифатли, бирламчи экстракт олиш ва охириги маҳсулотни зарур кондициягача қуюлтиришдан иборат.

Бошланғич техник маҳсулотни экстрактни қуюлтирмасдан сульфат кислота таъсир эттириб олиш усули апробация қилинди (2-схема). Олинган техник маҳсулот таркибида ГК нинг миқдори 25 % дан 45 % ташкил қилиб, техник ГК (ТГК)ни 9-11% унум билан олинган.



2- схема. Ширинмия илдизидан ТГК ажаратиб олиш технологик жараёни

2-жадвалда ТГК нинг баъзи физик-кимёвий характеристикалари келтирилган.

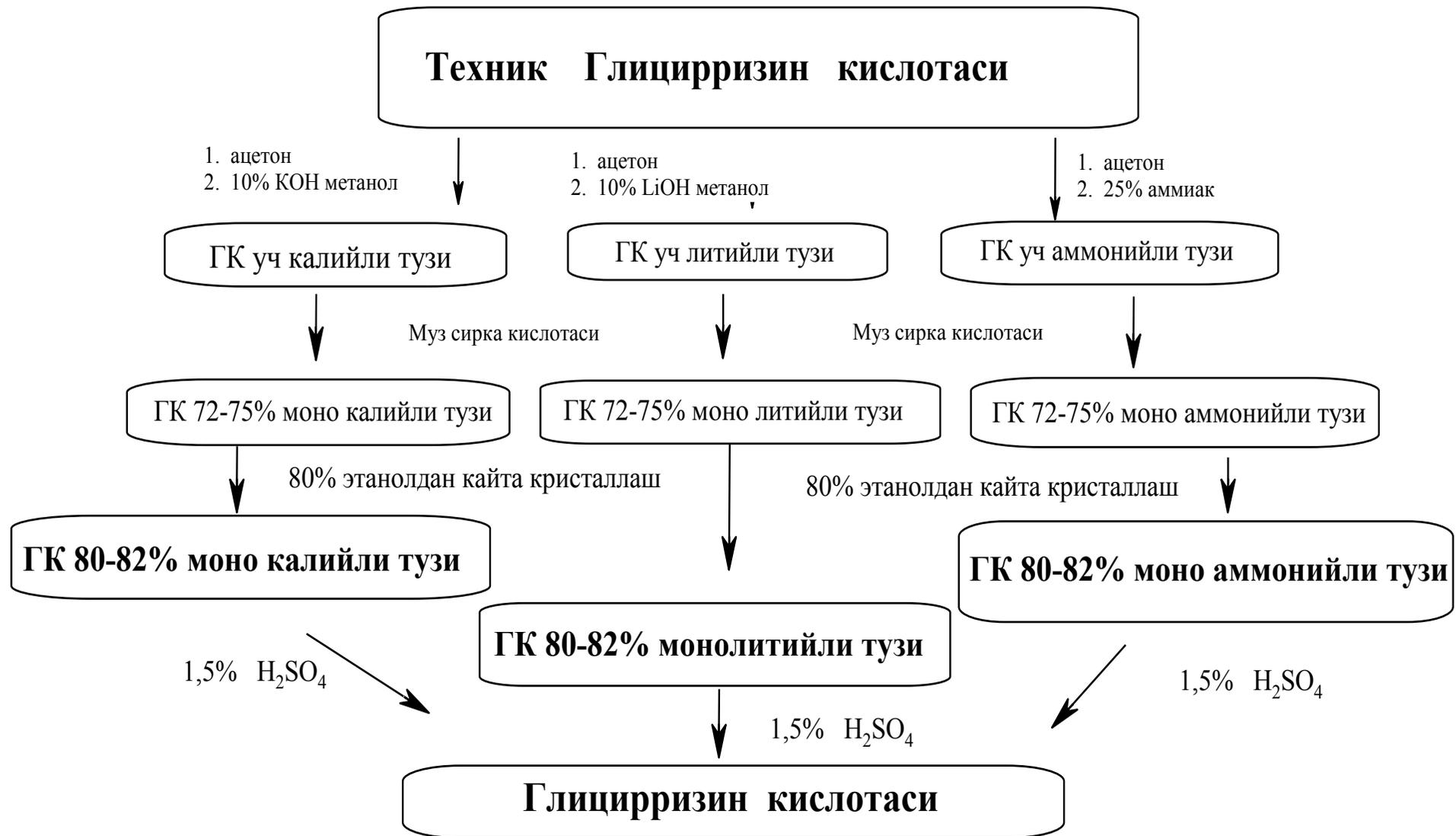
2-жадвал

Техник ГК нинг айрим физик-кимёвий характеристикалари

№	Кўрсаткичлар номлари	Таҳлил маълумотлари
1	Ташқи кўриниши	Аморф - қаттиқ донадор кукун
2	Таъми	Ёқимли ширин таъмли
3	ГК миқдори, %	40,0±5,0%
4	Намлилик даражаси, %	5,5±1,5
5	Умумий кул миқдори, %	11,4±0,7

ТГК учун «АгроБиоКимё» МЧЖ билан ҳамкорликда «TSh 19783536-02:2013» ишлаб чиқилган. Ишлаб чиқилган технология асосида ширинмия илдизини қайта ишлашга мўлжалланган Қорақалпоғистон Республикаси Беруний туманида жойлашган «Баходир ва К» ХКда 1,5 тонна миқдорида ТГК олинди.

Олинган ТГК асосида ГК ва унинг тузлари олинган. Мазкур технологик жарён ГК ни ацетонга экстракция қилиб олиш ва уни учалмашинган тузи кўринишида чўктириш, кислотали гидролиз қилиш орқали 72-75% тозаликдаги моноалмашинган тузларини олишга асосланган.



3-схема. ГК ни ширинмия илдизидан ажратиб олиш технологик жараёни

Олинган ГК ва унинг тузлари бир қатор физик-кимёвий ва спектрал кўрсаткичлар билан характерланди.

3-жадвалда уларнинг баъзи физик-кимёвий катталиклари келтирилган.

3-жадвал

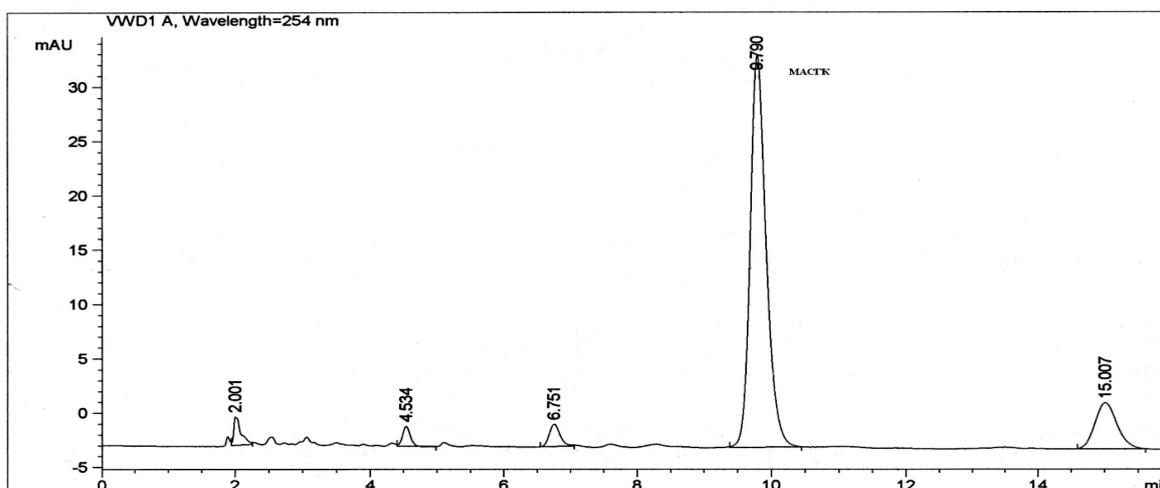
ГК ва унинг тузларни баъзи физик-кимёвий катталиклари

№	Моддалар	Ташқи кўриниши М.оғ.	Т.қай. °С	R _f	/α /D 0,5%	ИҚ см ⁻¹	УБ нм
32	Глициризин кислотаси (ГК)	оқ рангли кукун 840	210-213	0,07(II)* 0,14(V)	+48	1042, 1656, 2873, 2948,	251
33	ГКМАТ +3Н ₂ О	сарик рангли кукун 894	225-227	0,32 (VII) 0,06 (I)	+40	1042, 1655, 2948, 3239,	251
34	ГКМКТ	оқ ёки оч сарик рангли кукун 878	280-284	0,30 (VII) 0,26(II) 0,12(VI)	+36	1043, 1657 2948,3404	254
35	ГКМЛТ	оқ рангли кукун 846	250-253	0,30 (VII) 0,26(II)	+36	1037, 1664 2941, 3410	251

*Система: I – этанол:хлороформ (1:3), II – метанол:хлороформ (1:3), III – сув:ацетонитрил:ацетон (3:4:2), IV – этанол:хлороформ (1,5:3), V – метанол:ацетон (2:1), VI – сув: ацетонитрил:ацетон (1:1:1).

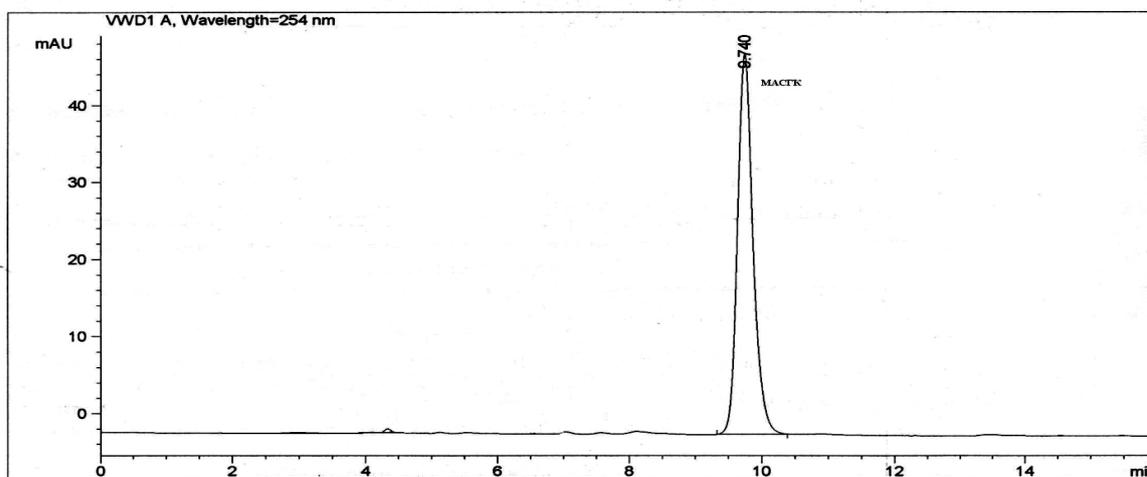
ГК ва унинг тузларининг тозалик даражасини ЮССХ усули ёрдамида изократика усулида, диод-матрицали ва УБ детекторлар ёрдамида аниқланди.

Бунинг учун модда маълум миқдоргача суюлтирилади ва яхшилаб аралаштирилиб 10 минг/мин. айланиш тезлигида центрифуга қилинади ёки 0,22 мкм миллипорали фильтр орқали фильтрланади. Ҳаракатланувчи суяқ фаза: 35 хажм ацетонитрил, 0,5 хажм муз сирка кислотаси ва 64,5 хажм бидистилланган сув. Оқим тезлиги 0,75-1,0 мл/минут қилиб белгиланади ва детекция қилиш 254 нм тўлқин узунлигида 16-17 мин давомида таҳлил қилинади.



1-расм. 80-85% тозаликдаги ГКМАТ нинг хроматограммаси

Хроматограммадан кўриниб турибдики, ГКМАТ га тегишли асосий чўққидан ташқари бир неча кўшимча кичик чўққилар мавжуд. ¹H-ЯМР спектроскопияси таҳлили натижаларига кўра ёнаки моддалар: 18Н α -глицирризин кислотаси ва қисман гидролизга учраган глицирризин кислотасининг қолдиқлари, глициррет кислотасидан иборат. Уларнинг умумий миқдори чўққилар ҳажмининг 17 \pm 2,5% ни ташкил қилади. ГК ва унинг тузларини кейинги тозалаш босқичлари кислотали гидролиз қилиш, ацетонли эритмага ўтказиш, уч алмашган тузини олиш ва кислотали гидролиз қилишдан иборат Қайта кристаллаш натижасида тозалик даражаси 90-92% ни ташкил қилган маҳсулот олинади. ГК ёнаки моддалардан жуда қийинчилик билан тозаланadi. Шунинг учун 100% тозаликдаги ГК ни фақат препаратив колонкали хроматография усули асосида ажратиб олиш мумкин. 2-расмда 100% тозаликдаги ГК нинг хроматограммаси келтирилган.

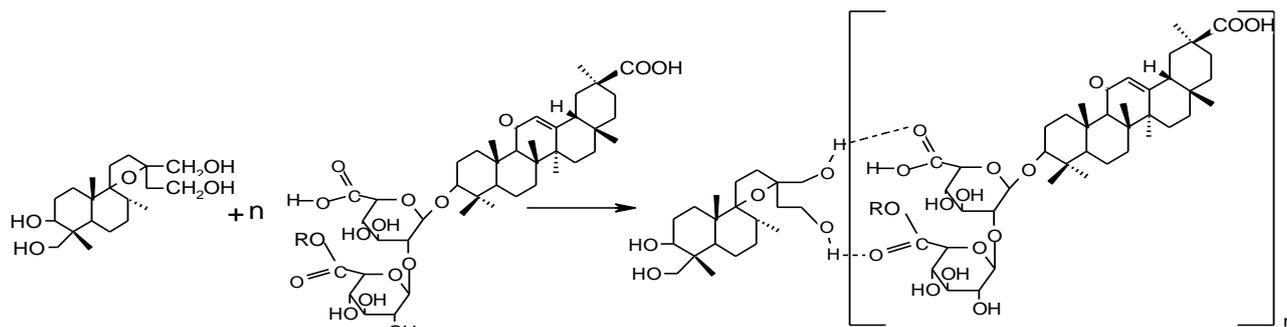


2-расм. 100% тозаликдаги ГКМАТ нинг хроматограммаси

Турли хил тозаликдаги 70-75%, 80-82%, 90-92% и 100% ГК ва унинг моноаммонийли тузларининг биологик фаолликлари бир-биридан катта фарқ қилмасликлари кўрсатилган. Тозалаш жараёнларида йўқотиш миқдори катта бўлишини ҳисобга олган ҳолда, кейинги изланишларимиз учун 80-82% тозаликдаги ГК ва унинг тузларидан фойдаланишга қарор қилдик.

Диссертациянинг «**Супрамолекуляр комплекслар, физик-кимёвий ва реологик хусусиятлари**» деб номланган бешинчи бобида тажрибада олинган маълумотлар, тузилишларнинг спектрал тасдиқланиши, физик-кимёвий катталиклар ва ГК ва унинг тузларининг лагохилин билан комплексларининг реологик хусусиятлари келтирилган.

4-схемада комплекс бирикмаларни олишнинг умумий схемаси келтирилган. Барча олинган комплекслар оптик фаол бўлиб, қутбланган ёруғлик нури тексилигини ўнга бурувчи ҳисобланади ва комплексларнинг унунми 84% дан 93% гача ташкил қилади (4-жадвал), суюқланиш ҳароратлари парчаланиш билан кузатилган. Комплексларнинг УБ спектрларида сув:спирт (50:50) системасида 251-254 нм тўлқин узунлигида ГК молекуласи агликон қисми С ҳалқасининг кўшбоғининг р-р* ўтишига мос келадиган ютилиш максимуми кузатилади.



Бу ерда R: H (5-7), NH₄ (8-10), K (11-13)

4-схема. ГК ва унинг тузлари билан лагохилининг супрамолекуляр комплексларини олишнинг умумий схемаси

Олинган комплекс бирикмаларнинг ИҚ-спектрида ГК ва унинг тузларидаги карбонил гуруҳларга тегишли валент тебранишлар 1670-1650см⁻¹ соҳада кузатилса, комплексларда бу 60-55см⁻¹ юқори частотали соҳага силжиши кузатилади. Бу ГКнинг ва унинг тузларининг лагохилин билан супрамолекуляр комплекслар ҳосил бўлишидаги иштирокини кўрсатади. 3430-3380 см⁻¹ соҳада гидроксил гуруҳларнинг валент тебранишлари кенг шаклда намоён бўлиши лагохилин ва ГК гидроксилларининг комплекс ҳосил қилишда иштирок қилишини кўрсатади.

4-жадвал

ГК ва унинг моноаммонийли, монокалийли тузлари билан лагохилиннинг супрамолекуляр комплексларининг айрим физик-кимёвий курсаткичлари

№	Комплеклар	Ташқи кўриниши Мол.массаси	T.суяқ °C	*R _f	/α /D 0,5% (сув)	ИҚ, см ⁻¹	УБ, нм	Унум %
36	Л:ГК 1:2	Оқ кукун 2036	173-175	0.74(V)	+12	1044, 1082 1728, 2942	251	93,8
37	Л:ГК 1:4	Оқ кукун 3716	175-178	0.73(V)	+16	1044, 1080 1730, 2945	251	92,5
38	Л-ГК 1:9	Оқ кукун 7916	180-183	0.73(V)	+14	1044, 1081 1732, 2947	251	93,7
39	Л:ГКМАТ 1:2	Оч сариқ кукун, 2144	197-200	0.72(V)	+24	1042, 1660 2943, 3384	250	90,0
40	Л: ГКМАТ 1:4	Оч сариқ кукун, 3932	202-204	0.72(V)	+20	1042, 1662 2945, 3385	250	84,7
41	Л- ГКМАТ 1:9	Оч сариқ кукун, 8402	205-207	0.71(V)	+22	1042, 1663 2946, 3386	250	88,7
42	Л- ГКМКТ 1:2	Оч сариқ кукун, 2112	215-517	0,18(I) 0,1(II)	+24	1043, 1079 1655, 3410,	251	93,2
43	Л- ГКМКТ 1:4	Оч сариқ кукун, 3868	220-222	0.17(I) 0.1(II)	+12	1079, 1658, 2945, 3417	251	94,1
44	Л- ГКМКТ 1:9	Оч сариқ кукун, 8258	225-227	0.17(I) 0.1(II)	+16	1043, 1660, 1948,3430,	251	93,5

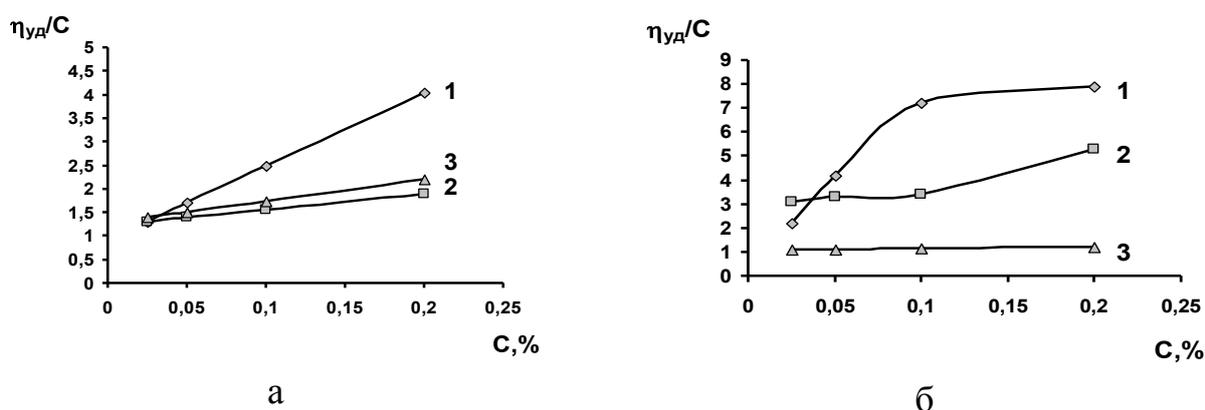
*Система: I — этанол : хлороформ (1:3), II — метанол:хлороформ (1:3), V — метанол:ацетон (2:1),

ГК:Л (2:1) комплексининг ПМР-спектрида (ацетон: D₂O) қуйидаги резонанс частоталар кузатилади: 0,5 м.у. да C₁₇ даги C-CH₃ гуруҳнинг

протонлари триплет кўринишидаги сигналлари, 0,7-0,8 м.у. соҳада дублет сигналлар лагохилин молекуласидаги C_4 ва C_{10} нинг $CH-CH_3$ гуруҳлари протонларига тегишли ва 1,0 м.у. да ГК нинг C_4 даги $CH-CH_3$ гуруҳи протонларининг ҳамда 1,3 м.у. да синглет кўринишидаги сигналлар лагохилиннинг C_{20} нинг $C-CH_3$ гуруҳидаги протонларига тегишлидир. Лагохилин молекуласидаги қолган барча протонлар 1.0-2.0 м.у. да мураккаб сигналлар кўринишида намоён бўлади. 2,8-3,0 м.у. да ацетон метил гуруҳларининг протонлари сигналлари намоён бўлади. 3,0-4,5 м.у. соҳада лагохилин ва глицирризин кислотаси молекуларидаги $-CH_2O$, $-CHO$ гуруҳларининг протонларининг сигналлари мураккаб кўринишдаги намоён бўлади. 5,0–4,5 м.у. да синглет кўринишидаги сигналлар C_{12} даги олефин протонларга тегишлидир.

Бугунги кунда, ГК нинг гел ҳосил қилиши ва солубилизациялаш хусусияти кам ўрганилган бўлиб, адабиётларда кам ёритилган. Шунинг учун қуйи молекуляр табиий бирикмаларнинг физик-кимёвий хусусиятларини, турли хил гидрогеллари хоссаларини, шу жумладан ГК ва унинг тузлари лагохилин билан ҳосил қилган супрамолекуляр комплексларнинг юқори биологик фаоллик намоён қилиш сабабларини ўрганиш муҳим ҳисобланади.

Диссертациянинг ушбу бўлими Ўзбекистон Миллий университети кимё факультети «Полимерлар кимёси» кафедраси олимлари (профессорлар У.Н. Мусаев ва М.Г. Мухамедиев) билан ҳамкорликда бажарилган. Эритманинг структураланиш жараёнини уларнинг қовушқоқлиги ўрганиш орқали ҳам характерлаш мумкин. Агар эритмада эритувчи билан эриган моддаларнинг ассоциацияси рўй берса, эритманинг қовушқоқлиги кескин ортади. Шунинг учун супрамолекуляр комплексларнинг ассоциаланиш даражасини аниқлаш мақсадида уларнинг сувли эритмаларини қовушқоқлиги ўрганилган.

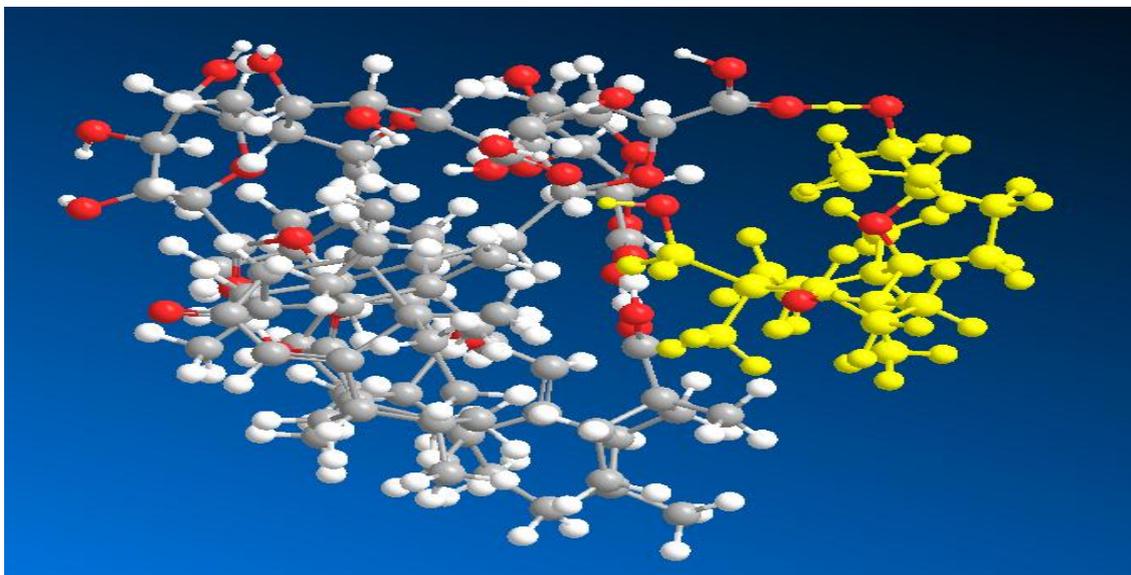


3-расм. $T=298^{\circ}K$ (1), $T=303^{\circ}K$ (2), $T=308^{\circ}K$ (3) ҳароратларда ГК билан лагохилиннинг 2:1 (а) ва 9:1 (б) нисбатдаги комплекслари сувли эритмаларининг нисбий қовушқоқлигини концентрацияга боғлиқлиги

4-расмдан кўришиб турибдики ГК билан лагохилиннинг 2:1 нисбатдаги комплекслари сувли эритмаси ассоциацияланган системага хос

бўлган жуда юқори, қовушқоқлик намоён қилган. Ушбу система учун ҳароратнинг ортиши қовушқоқликнинг камайишига олиб келади. Бу ўз навбатида ассоциатларнинг бузилишни кўрсатади. Аммо ГК билан лагохилининг (9:1) комплекси сувли эритмаси ҳароратининг оширилиши қовушқоқликнинг ҳам ошишига олиб келади. Бундан кўришиб турибдики, комплекслар таркибининг ўзгаришига қараб гидрофил-гидрофоб таъсирлар ҳам турлича бўлади. ГК ва ГКМАТ билан лагохилиннинг супрамолекуляр комплекс бирикмалари сувли эритмаларининг қовушқоқликларини ўрганиш комплекс таркибига гидрофил хусусиятга эга моддаларни киритиш қовушқоқликнинг камайишига олиб келса, гидрофоб хусусиятга эга модданинг (лагохилин) киритилиши, қовушқоқликнинг ГКМАТ қовушқоқлигига нисбатан ортишини кўрсатди. Олинган натижалар лагохилиннинг супрамолекуляр комплекс бирикмаларини мувофиқлаштиришда асосий ўринни водород боғлар ҳамда гидрофоб-гидрофоб таъсирлашиш эгаллашини кўрсатади. Ушбу натижани тасдиқлаш мақсадида математик моделлаш усули асосида «HyperChem» ва «Chem-Draw» дастурлари ёрдамида «абсолют муҳит» шароитида лагохилиннинг ГК билан ҳосил қилган супрамолекуляр комплекслари ҳосил бўлиш энергияси ҳисобланган (4-расм).

Олинган натижалар лагохилиннинг 15 ва 18 ҳолатлардаги гидроксил гуруҳлари билан ГК орасидаги ҳосил бўлган водород боғлар энергияси нисбатан кичик бўлиши кўрсатилган. Шарсимон тузилишли моделда лагохилин молекуласи ГК молекуласи ҳосил қилган халқанинг ичида эмас, балки ташқарисида жойлашганлиги кўришиб турибди.

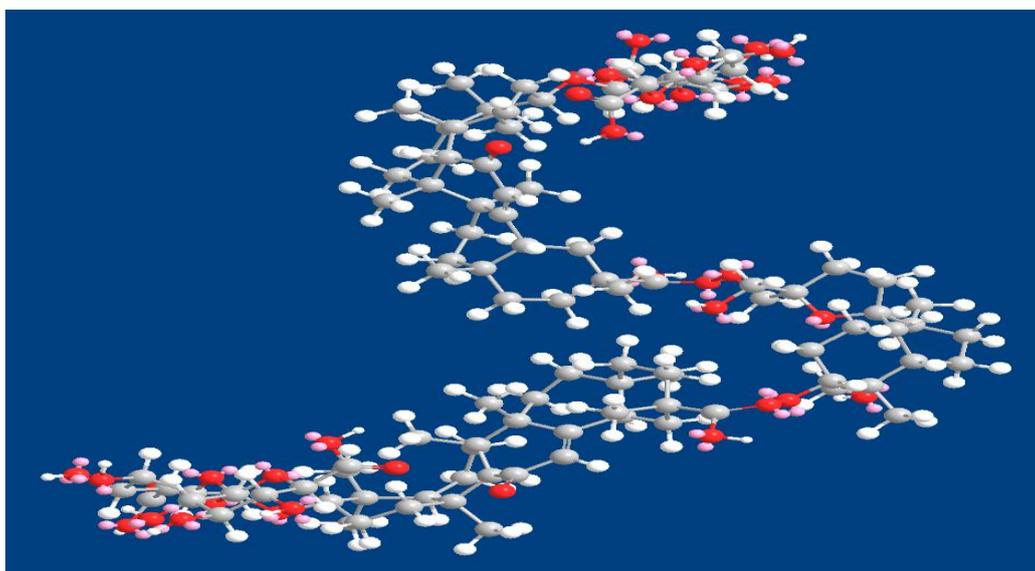


4-расм. Глилагиннинг молекуласининг халқасимон кўриши (энергияси 787 kcal/mol)

Супрамолекуляр комплекс бирикмаларнинг сувли эритмалари реологик хусусиятларини ўрганиш натижасида, ГК молекулалари ҳосил қилган мицеллалар ичига гидрофоб органик молекуланинг кириши

мицеллалар ҳосил бўлишини кучайтириши, гидрофил молекуланинг киритилиши эса қийинлашишига олиб келиши кўрсатилган.

Шунинг учун меҳмон молекула ГК ва унинг тузлари ҳосил қилган мицеляр қатламлар оралиғида жойлашиши эҳтимоллиги юқори бўлиши мумкин (5-расм). Математик ҳисоблашлар натижасида ҳақиқатдан ҳам, икки қаватли мицеляр кўринишдаги супрамолекуляр комплекс бирикма турғунлиги ва ҳосил бўлиш энергияси жиҳатидан, халқасимон тузилишидан афзал эканлигини кўрсатган.

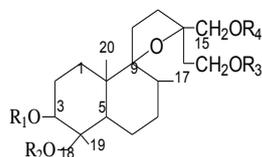


**5-расм. Глилагин молекуласининг мицеляр ҳолати
(ҳосил бўлиш энергияси 304.4334 kcal/mol).**

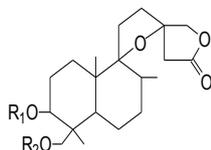
Икки қатламли мицеляр ҳолатнинг ҳосил бўлиш энергияси халқасимон ҳолатга нисбатан икки баробар кам. Шундай қилиб лагохилиннинг ГК билан супрамолекуляр комплекслари модел ҳолатини квант-кимёвий ҳисоблашлар натижасида, халқасимон шаклдаги комплекс бирикманинг тузилиши энергетик жиҳатдан мумкин эмаслигини (қулай бўлмаган) кўрсатилган. Лагохилиннинг иккита молекула ГК билан комплекс ҳосил қилиш жараёни, бу тули хил (сферасимон, икки қаватли, эллипсоид) кўринишдаги мицеллалар ҳосил бўлишида оралиқ ҳолат деб ҳисоблаймиз. Мицелла ҳосил қилиш критик концентрациясини (МХКК) аниқлашда ГКМАТ нинг гидрофоб хусусиятга эга лагохилин билан олинган комплексининг МХКК си ГКМАТ никига нисбатан паст эканлиги кўрсатилган. Бундан лагохилиннинг молекуляр комплекс ичига киритилиши ГКМАТ структураланиш жараёнига мувофиқлаштирувчи сифатида таъсир қилишини кўрсатади.

Диссертациянинг «Супрамолекуляр комплексларнинг гемостатик фаоллигини аниқлаш» деб номланган олтинчи бобида ГК, ГКМАТ ва N-поливинилпирролидон билан лагохилиннинг комплексларининг, лагохилин ҳосилаларининг гемостатик фаоллиги, *in vitro* тажрибаларида Лаговин препаратининг қон қуюлиш жараёнига таъсири ва унинг захарлилик хусусиятлари тўғрисида маълумотлар келтирилган.

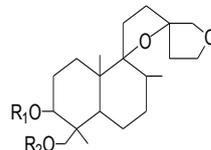
Барча бирикмаларнинг гемостатик фаолликлари ЎзР ФА БКИ Фармакология лабораториясида б.ф.н. Н.Л. Выпова бошчилигида бажарилган. Синтез қилинган бирикмаларни кимёвий тузилишига қараб 3та гуруҳга ажратиш мумкин: I. лагохилин ва унинг изопропилиден, ацетил ҳосилалари (1, 10-24); II. ангидролагохилинлар (28-30); III. дитерпеноид лактонлар (9, 25-27) ҳамда Лагоден препарати (31). Қиёслаш учун Лагоден препаратининг гемостатик фаоллиги 100% деб қабул қилинган (5-жадвал).



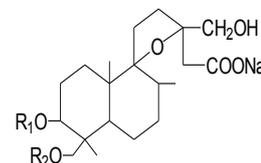
1,10-24



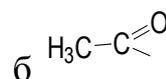
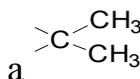
9, 25-27



28-30



31



5-жадвал

Лагохилин ва унинг ҳосилаларининг гемостатик фаоллиги

№	Ўринбосарлар				Гемостатик фаоллик	
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	%	сек
II.1	Н	Н	Н	Н	67	130,0±12,6
II.10	а		Н	Н	40	157,0±14,8
II.11	а		а		0	268,1±19,8
II.12	а		б	б	33	163,7±13,5
II.13	а		б	Н	32	165,0±14,7
II.14	б	Н	Н	Н	83	115,0±11,4
II.15	Н	Н	Н	б	82	116,0±10,8
II.16	Н	Н	б	б	83	115,0±10,5
II.17	б	б	Н	Н	84	114,0±10,6
II.18	б	Н	Н	б	83	115,0±10,6
II.19	б	Н	б	Н	83	115,0±11,0
II.20	Н	б	б	Н	83	115,0±11,0
II.21	Н	б	б	б	81	117,0±10,6
II.22	б	б	Н	б	83	115,0±11,2
II.23	б	б	б	Н	81	117,0±10,5
II.24	б	б	б	б	17	211,0±16,0
II.9	Н	Н	-	-	60	148,0±13,5
II.25	а	а	-		51	179,0±16,5
II.26	Н	Н	-	-	68	129,0±13,0
II.27	б	Н	-	-	67	130,0±13,0
II.28	Н	б	-	-	57	141,0±13,7
II.29	б	б	-	-	66	131,0±12,6
II.30	а		-	-	33	140,0±13,0
II.31	назорат				100	98,0±10,0

*P < 0,01 назоратга нисбатан

Лагохилиннинг барча ҳосилалари қайсидир миқдорда гемостатик фаолликка эга. 5-жадвалдаги келтирилган катталиклардан, шуни кўриш мумкинки, лагохилиннинг шафтоли ёғидаги 0,5% ли эритмаси 67% фаоллик намоён этса, унинг C₃ ва C₁₈ ҳолатлардаги гидроксил гуруҳларини изопропилидан гуруҳи билан ёпилиши гемостатик фаолликнинг 40% тушишига олиб келса, кейинги C₁₅ ва C₁₆ гидроксилларнинг ҳам тўла изопропилиден ҳисобига ёпилиши эса фаолликнинг йўқолишига олиб келган.

Ангидролагохилин нисбатан суст гемостатик фаоллик (57%) намоён қилса, C₃ ва C₁₈ ҳолатларини изопропилиденга алмаштирилиши гемостатик фаолликнинг 33% (II.38) камайишига олиб келган. Лагохирзиннинг C₃ ва C₁₈ ҳолатларини ацетил гуруҳларига алмаштириш гемостатик фаолликка сезиларли таъсир кўрсатмаган 67% (II.26 II.27). Лагохирзинга изопропилиден гуруҳининг киритилиши гемостатик фаолликнинг 51% (II.25) гача пасайишига олиб келса, лактон халқанинг очилиши, яъни 3,16,18-тригидрокси-9,13-эпоксилабдан-15-кислотасининг натрийли тузи ҳосил бўлишига, унинг гемостатик фаоллигининг кескин ортишига олиб келади (100%, II.31).

Лагохилин (II.1), ангидролагохилин (II.28) ва лагохирзин (II.9) қаторидаги бирикмаларининг гемостатик фаоллигини солиштириш натижасида энг фаол модда лагохилин 67%, лагохирзин 60% ва ангидролагохилин 57% эканлиги кўрсатилган.

Шундай қилиб лагохилиннинг иккита ёки учта гидроксилларининг ацетил гуруҳларига алмашиниши гемостатик фаолликка нисбатан сезиларли таъсир кўрсатмаса ҳам, тўртта гидроксил гуруҳларининг тўла алмашиниши гемостатик фаолликнинг нисбатан пасайишига олиб келади. Молекулага изопропилиден гуруҳининг киритилиши эса гемостатик фаолликка салбий таъсир кўрсатади, бу ўз навбатида молекуланинг гидрофоблигининг ошиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Лагохилиннинг ГК ва унинг тузлари билан турли хил нисбатлардаги олинган супрамолекуляр комплексларининг энг оптимал нисбатини аниқлаш мақсадида уларнинг специфик гемостатик фаоллиги ўрганилган (6-жадвал).

6-жадвал

Супрамолекуляр комплекслар сичқонларга юборилгандан сўнг 60 минут ўтгач қон тўхташиш вақтлари (M±m; n=5)

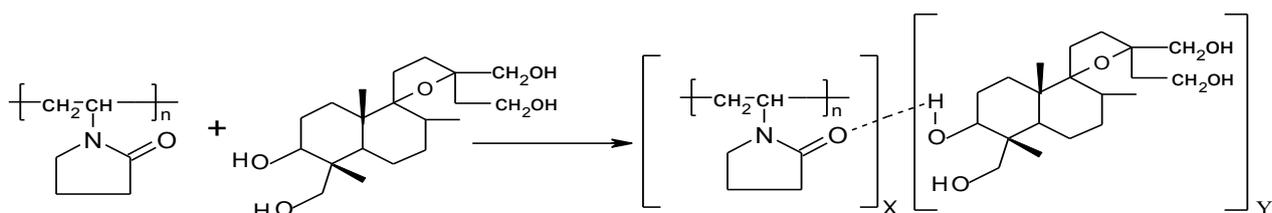
№	Препарат номи	Қон тўхташ вақти		
		сек.	%	P
1	Назорат, мг/кг	360±20	100	-
32	ГК:Л; 2:1, мг/кг	160±13	45	<0,01
33	ГКМАТ: Л; 2:1, мг/кг	85±61	24	<0,01
34	ГК:Л; 4:1, мг/кг	165±14	46	<0,01
35	ГКМАТ:Л; 4:1, мг/кг	100±10	28	<0,01
36	ГК:Л; 9:1, мг/кг	185±16	51	<0,01
37	ГКМАТ:Л; 9:1, мг/кг	120±12	33	<0,01

Олинган натижалардан олинган комплекслар бирикмалар табиати ва нисбатидан келиб чиққан ҳолда қон кетиш вақтини 2-4 марта қисқартириши аниқланган. Лагохилин (Л) билан ГКМАТ асосида олинган супрамолекуляр комплекслар юқори фаолликка эга эканлиги аниқланган. Маҳаллий қон тўхтатувчи дори воситасини яратиш учун, комплекслар ичида энг фаол бўлган нисбат (ГКМАТ:Л, 2:1), шартли равишда «Глилагин» деб номланди ва чуқур фармако-токсикологик изланишлар учун тавсия қилинди. «Глилагин» субстанцияси учун ВФМ ишлаб чиқилди ва зарур бўлган клиник олди фармако-токсикологик ва гемостатик фаоллигини аниқлаш учун махсус тажрибалар олиб борилган.

«Глилагин» субстанцияси бўйича олинган натижалар асосида унинг таблетка дори шакли таркиби (Глилагин таблеткалари -0,005г, перорал) ишлаб чиқилди. Вақтинчалик Фармакопея Мақоласи (ВФМ) лойиҳасини ишлаб чиқиш учун зарур бўлган стандарт тажрибалар ўтказилган.

Кўпчилик ҳолатларда паренхиматоз қон кетишининг олдини олиш учун перорал қўлланиладиган дори шакллари, қон тўхтатиш вақт оралиғи катта бўлганлиги сабабли зарур гемостатик самарани бермаган. Шунинг учун, одатда ушбу ҳолатларда вена қон томири орқали қўлланиладиган препаратлар ишлатилган. Республикамизда вена қон томири ичига қўлланиладиган самарали қон тўхтатиш хусусиятига эга бўлган Лагоден (Лагохилин ҳосиласи) дори воситаси ишлаб чиқилган. Аммо, унинг синтез қилиш жараёни кўп миқдорда энергия талаб қилиши, қиммат эритувчилар ва катализаторлар қўлланилиши, унуми камбўлган (бошланғичдан 10-12%) ҳамда беш босқичдан иборат. Шунинг учун лагохилин асосида нисбатан арзон, сувда эрувчан, самарали қон тўхтатувчи восита яратиш долзарб ҳисобланган. Субстанцияни олиш технологик жараёни содда, ёнғиндан хавфсиз ва арзон бўлиши назарда тутилган.

Маълумки, тиббиёт амалиётида қўлланиладиган полимер боғловчилар асосан дори воситасининг эрувчанлиги оширувчи сифатида ишлатилади. Шундай полимерлардан бири N-поливинилпирролидон (ПВП) ҳисобланади. Куйимолекуляр ПВП эритмаси тиббиётда детоксикант сифатида қўлланилади ва инсон танасидан 2-3 кунда тўлиқ чиқиб кетади. Комплекс олиш учун молекуляр массаси 8000 ± 2000 Д тенг бўлган ПВП дан фойдаланилди. ПВП билан лагохилиннинг комплекси куйидаги 5-схема бўйича олинган.



5-схема. ПВП билан лагохилин комплексларини олишнинг умумий схемаси

Лагохилин (Л) билан N-поливинилпирролидоннинг 1:5, 1:10, 1:15 ва 1:20 нисбатлардаги супрамолекуляр комплекс бирикмалари олинган.

Улар орасида 1:15 нисбатдаги комплекс барқарорлиги ва гемостатик фаоллиги бўйича энг самарали эканлиги аниқланди (7 жадвал). Янги супрамолекуляр комплекс шартли равишда «Лаговин» («Лаго»-лагохилин сўзидан, «вин»-винилпирролидон сўзидан) деб номланди ва ўзида бошланғич компонентларнинг ижобий хусусиятларини сақлаган ҳолда, комплекс терапевтик таъсирга эга, гемостатик фаоллиги жиҳатдан «Лагоден» ва «Дицинон»дан қолишмайди. Уларнинг айрим физик-кимёвий константалари 7-жадвалда келтирилган.

7-жадвал

ПВП билан лагохилин комплексларининг айрим физик-кимёвий катталиклари

№	Комплекс	T суюқ., °C	Эрувчанлик % (сув)	ИҚ, см ⁻¹	Унум %
38	ПВП:Л 5:1	95-96	100 турғун эмас	1666 C=O, 2960 C-N 3436-3422 -ОН	95-97
39	ПВП:Л 10:1	96-97	100 турғун эмас	1661 C=O, 2951 C-N 3431-3426 -ОН	94-96
40	ПВП:Л 15:1	98-100	100	1662 C=O, 2955 C-N 3435-3420 -ОН	92-95
41	ПВП:Л 20:1	99-100	100	1667 C=O, 2958 C-N 3433-3428 -ОН	91-94

Лаговинни олиш усули технологик жиҳатдан содда, охирги маҳсулот унуми эса 90% дан ошиқни ташкил қилади. Лаговиннинг фармако-токсикологик изланишлари ЎзР ФА Биоорганик кимё институти фармакология лабораториясида ва биокимёвий тажрибалар ЎЗМУ биология факультети, биокимё кафедрасида б.ф.д., профессор С.Н.Долимова бошчилигида амалга оширилган. Лаговиннинг қон қуюлиш жараёнини мувофиқлаштириш хусусияти *in vitro* тажрибаларида турли хил концентрацияларда ўрганилган (8-жадвал).

8- жадвал

Лаговин препаратини тоза қон ва плазмага қон қуюлиш вақтига таъсири (M±m; n= 6)

Препарат	Концен- трация, %	Қон қуюлиш вақти, сек.		
		1мл қон +0,1мл препарат	0,1мл плазма + 0,1мл CaCl ₂ + 0,1мл препарат	0,2мл плазма + 0,2мл препарат
Физ. эритма	0,9	150±10,0	110,0±6,5	қуюлмади
CaCl ₂	0,0277	-	-	78,0±6.6
Лаговин	0,1	100,0±10,0*	78,0±6,5*	қуюлмади
Лаговин	0,5	75,0±5,0*	60,0±4,0*	65,0±5,0
Лаговин	1,0	165,0±16,0	75,0±5,0*	96,0±8,0

*P < 0,01 назоратга нисбатан

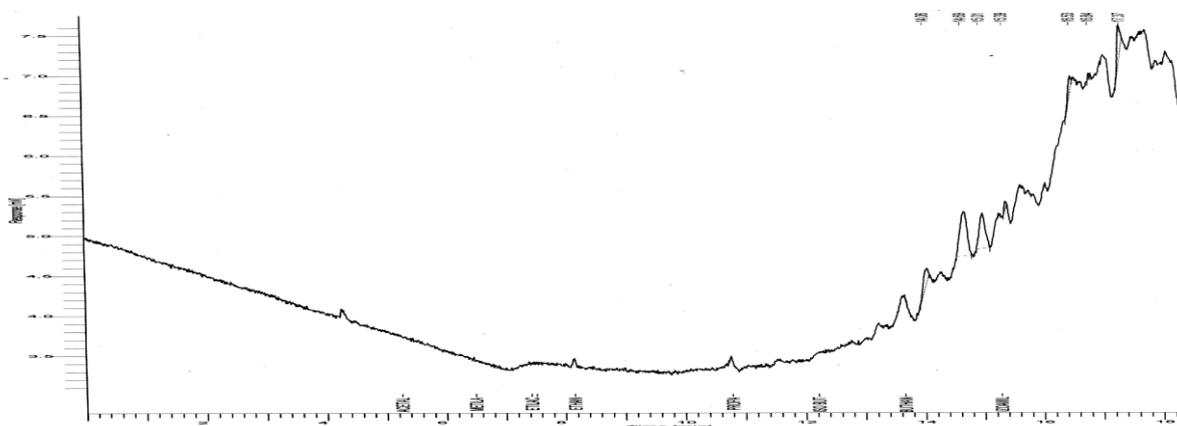
Келтирилган маълумотларга асосан Лаговин оптимал (0.5%) концентрацияда қон қуюлиш жараёнининг I ва II фазаларини фаоллаштиради.

Диссертациянинг «Гемостатик дори препаратларини ва субстанцияларни стандартлаш» деб номланган еттинчи бобида янги дори воситаларини яратиш ва субстанция ва дори шакллари стандартлаш, бўйича олинган натижалар келтирилган. «Глилагин» дори воситасини стандартлаш жараёнида Лагохилин дитерпеноидининг ўзига хос хусусиятлари ҳисобга олинган. Лагохилинда тўртта гидроксил гуруҳи бўлишига қарамадан, унинг молекуласида яққол намоён бўлган хромофор гуруҳлари йўқ, шунинг учун уни оддий спектроскопия усуллари орқали аниқлаш имконияти чекланган. Шунинг учун ЎзР ФА ЎМКИ ходимлари билан биргаликда лагохилинни субстанция таркибидаги миқдорини аниқлашнинг ПМР спектроскопияси усули ишлаб чиқилди.

Назарий жиҳатдан унинг миқдори 17,18% ташкил қилади. ПМР усулига асосан «Глилагин» препаратиде лагохилиннинг миқдори $17,5 \pm 1,13\%$ ташкил қилиши аниқланган, бу эса назарий қийматига мос келади. Лекин ушбу усул ҳозирги кунда фармакопея усуллари қаторига кирмаганлиги сабабли, миқдорий анализ учун биологик усул таклиф қилинди. Препарат терапевтик дозада назоратга нисбатан 4-5 марта тез ҳамда 60-100 секунд ораликда қон кетишини тўхтатиши кўрсатилган.

«Глилагин» субстанциясини олишнинг технологик схемаси ишлаб чиқилган. Таклиф қилинган семага асосан охириги маҳсулотнинг унуми назарийга нисбатан 93-97% ташкил қилган.

Охириги маҳсулотнинг муҳим кўрсаткичлардан бири - бу технология жараёнида фойдаланилган органик эритувчиларнинг қолдиқ миқдорини аниқлаш ҳисобланади. Таҳлил ГХ Perkin Elmer фирмаси Clarus-400 (АҚШ) амалга оширилди (6-расм). Таҳлил натижаларига кўра «Глилагин» субстанцияси қолдиқ органик эритувчиларни сақламаслиги аниқланди.



6-расм. Глилагиннинг субстанцияси хроматограммаси

Субстанция бўйича олиб борилган фармако-токсикологик изланишлар якунига асосан, Тошкент фармацевтика институти доценти А.М.Усуббаев

билан ҳамкорликда «Глилагин-0.005г таблеткалари» дори шакли ишлаб чиқилди. Таблетканинг таркиби (таблетка массаси-0.1г) субстанция- 0,005 г; микрокристаллик целлюлоза - 0,082 г; картошка крахмали - 0,012 г; кальций стеарат - 0,001 г.

Глилагин таблеткаларини («Tash Farm A.I.» МЧЖ билан ҳамкорликда) олиш саноат регламенти ишлаб чиқилди ва тасдиқланди. Субстанция ва дори шакллари учун ВФМ лойиҳалари ишлаб чиқилди, клиник олди фармако-токсикологик изланишлари олиб борилди ва ЎзР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармаси томонидан («ГЛИГ №84/6.П/62.Уз.2012/381» қарори) ЎзР ССВ қарашли қуйидаги даволаш муассасаларига йўналтирилди.

1. Гематология ва қон қуйиш институти
2. Тошкент тиббиёт академияси 3-клиникаси
3. 7-тошкент шаҳар клиникаси

«Глилагин-0.005г таблеткалари» дори шакли гемостатик фаоллиги бўйича ижобий натижалар ва хулосалар олиниб Фармакология Қўмитасига топширилди.

Шунингдек «Лаговин» дори воситаси субстанцияси ва дори шакли учун ҳам ПМР-спектроскопияси усули танланди. Спектрал усул натижаларига асосан субстанция $6,1 \pm 0,3\%$ таъсир этувчи модда сақлаган (назарий 6.25%). Шунингдек, юқорида келтирилган фикрларни инобатга олган ҳолда, фармакопея усули сифатида лаговиннинг миқдорий анализи учун биологик усул ҳам таклиф қилинди. «Лаговин» препарати таклиф қилинган терапевтик дозада назоратга нисбатан 4-5 баробар тезроқ ва 70-90 секунд оралиғида паренхиматоз қон кетиш жараёнини тўхтатиши кўрсатилди.

«Лаговин» субстанциясини олишнинг технологик усулига асосан назирийга нисбатан 93-95% унум билан маҳсулот олиш имконини беради.

Лаговин дори воситасининг дори шакли (0.15% эритма):

Субстанция-1,5 г; инъекция учун сув - 1л гача.



Препаратнинг (0.15% Лаговин эритмаси) тўлиқ фармако-токсикологик изланишлари олиб борилган ва таъсир этувчи дозаси аниқланган. «Лаговин» субстанцияси ва дори шакли учун ВФМ ишлаб чиқилган. 2012 йилда «Иммуномед» ЖК да 2500 дона ампула, 2016 йилда «Узхимфарм» АЖ базасида яна 6000 дона ампулани қуйиш ишлари амалга оширилган.

Лаговин дори воситаси физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш натижасида препаратнинг дори шакли спецификацияси ишлаб чиқилган. ЎзР ССВ «Гематология ва қон қуйиш» илмий текшириш институтида клиник синовлар муваффақиятли амалга оширилгач, «Лаговин» препарати ЎзР ССВ

ДВ ТТСНҚ Бош бошқармасининг "ЛАГВ № 71/2.ПС/66.Уз.2015/660» қарорига асосан, Республика онкология илмий марказида ва Тошкент шаҳар Онкология диспансерида 2-босқич клиник синовлари ўтказилмоқда. Ишлаб чиқилган «Лаговин» препарати самарадорлиги жиҳатидан «Лагоден» дан қолишмаслиги, нисбатан кам дозада таъсир қилиши ва олиш технологияси афзаллиги билан фарқ қилади.

ТГК олиш технологияси асосида яллиғланишга қарши қўлланиладиган Глицирам препарати субстанцияси ишлаб чиқилган. Субстанция ва «Глицирам 0,05г таблеткалари» нинг спецификациялари ишлаб чиқилди. Фармакология Қўмитасининг қарори билан ЎзР ССВ Тошкент тиббиёт академияси даволаш факультетининг "Факультетлик ва госпитал терапия" бўлимида чекланган клиник синовларини ўтказишга рухсат олинди. Клиник синовлар муваффақиятли амалга оширилди ва олинган ижобий "Ҳисобот" ЎзР ССВ Фармакология Қўмитасига, саноат миқёсида ишлаб чиқаришга рухсат олиш учун топширилди. «Глицирам 0,05г таблеткалари» учун Саноат Регламенти ишлаб чиқилган ва тасдиқланган.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор катализаторлар қўллаш орқали лагохилиннинг ароматик ацеталлари синтез қилинди. Ароматик ҳалқада гидроксил гуруҳи тутган бирикмалар учун катализатор сифатида сувсиз мис сульфати, алкокси гуруҳлари тутганлари учун эса сульфат кислотасидан фойдаланиш зарурлиги кўрсатилди.

2. Лагохилиннинг ацетил ва изопропилиден ҳосилаларининг фаоллиги ўринбосарлар табиати ва эркин гидроксил гуруҳлар сонига боғлиқлиги аниқлаган. Лагохилиндаги тўртта гидроксил гуруҳидан иккитаси ацетил гуруҳларига алмашиниши гемостатик фаолликка таъсир этмайди, аммо тўлиқ алмашиниши гемостатик фаолликнинг йўқолишига олиб келиши аниқланди.

3. Супрамолекуляр кимё усулларини қўллаб лагохилиннинг глицирризин кислотаси ва унинг тузлари билан комплекслари олинди. Супрамолекуляр комплекс бирикмалар тузилиши ИҚ-, ЯМР-спектрлари ва математик моделлаш усуллари ёрдамида тавсифланди, физик-кимёвий константалари аниқланди.

4. Супрамолекуляр комплекслар сувли эритмаларининг реологик хусусиятларини ўрганиш орқали, улар турли хил тузилишдаги мицеллар ҳосил қилиши ҳамда, гидрофоб-гидрофоб таъсирлашиш ва водород боғлари ҳисобига мувофиқлашганлиги кўрсатилди.

5. Ширинмия илдизидан техник глицирризин кислотасини олиш технологияси ишлаб чиқилди, унинг асосида яллиғланишга қарши қўлланиладиган препарат субстанцияси олинди. «Глицирам» субстанцияси ва дори шакли стандартланди. ВФМ ишлаб чиқилди ва тасдиқланди, клиник синовлари ўтказилди.

6. Лагохилин билан ГК ва унинг тузлари супрамолекуляр комплексларнинг гемостатик фаоллигини қиёсий ўрганиш натижасида,

ГКМАТ:Лагохилин (Глилагин) 2:1 нисбатдаги комплекси юқори фаолликка эга эканлигини кўрсатди.

7. «Глилагин» препарати субстанцияси ва дори шакли учун тўлиқ клиник олди фармако-токсикологик тадқиқотлари ўтказилди. ВФМ лойиҳалари ишлаб чиқилди, дори шакли учун саноат регламенти тасдиқланди.

8. Лагохилин ва N-поливинилпирролидоннинг сувда эрувчан комплекслари олинди. Улардан 1:15 нисбатдаги комплекс (Лаговин) эритмада турғун ва юқорироқ фаолликка эга эканлиги аниқланди.

9. Гемостатик дори воситалари: перорал усулда қўлланиладиган «Глилагин 0,005г таблеткалари» ва вена қон томири орқали юбориладиган «Лаговин 0,15% эритмаси» ишлаб чиқилди, 2 та ихтирога патент олинди. Ушбу препаратлар маҳаллий хом-ашё асосида яратилган ва паренхиматоз қон кетишларида гемостатик восита сифатида қўллаш учун тавсия қилинади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ 14.07.2016.К/В/Т.13.01
ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ,
НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА, ИНСТИТУТЕ
ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК**

ИНСТИТУТ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

МАТЧАНОВ АЛИМЖАН ДАВЛАТБОЕВИЧ

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ЛАБДАНОВЫХ ДИТЕРПЕНОИДОВ,
ГЛИЦИРРИЗИНОВАЯ КИСЛОТА И РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНЫХ
ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

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

АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

Ташкент – 2017

Тема докторской диссертации зарегистрирована под номером 30.09.2014/В.2014.5.К74 в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан.

Докторская диссертация выполнена в Институте биоорганической химии. Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский) размещен на веб-странице по адресу (<http://ss.biochem.uz>) и Информационно-образовательном портале «ZIYONET» по адресу www.ziyonet.uz.

Научный консультант: **Далимов Давранбек Нигманович**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Азизов Умархон Мухтарович**
доктор химических наук, профессор

Дусматов Азиз Файзаматович
доктор фармацевтических наук, доцент

Абдулладжонова Нодира Гуломжановна
доктор химических наук

Ведущая организация: **Ташкентский фармацевтический институт**

Защита состоится «__» февраля 2017 г. в ____ часов на заседании Научного совета 14.07.2016.К/В/Т.13.01 при Институте биоорганической химии АН РУз, Национальном Университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ по адресу: 100170, г. Ташкент, ул. М.Улугбека, 83. Тел: (99871) 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

С докторской диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии. Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262 35 40, факс: (99871) 262 70 63, e-mail: asrarov54@mail.ru).

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

Ш.И.Салихов

Председатель Научного совета по присуждению
ученой степени доктора наук, д.б.н., академик

М.И.Асраров

Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученой степени доктора наук, д.б.н., профессор

А.А.Ахунов

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

ВВЕДЕНИЕ (аннотация к докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день в мире, при хирургических операциях больных с диффузными кровотечениями, в 30% случаев наблюдается летальный исход. По статистике, каждый год, около 30 млн. жителей Земли умирают от различных видов кровотечений. Профилактика кровотечений в ранний послеоперационный период, при сложных оперативных вмешательствах, требуют дорогостоящих гемостатических средств. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что еще нет эффективных гемостатических препаратов местного и внутривенного применения, которые можно было бы использовать с достаточной гарантией надежности эффекта. Все это показывает актуальности и необходимости дальнейших поисков гемостатических средств общего и местного действия.

В годы независимости нашей республики по разработке эффективных лекарственных средств на основе местного растительного сырья, проведенные расширенные мероприятия на высоком уровне привели к определенным результатам. При этом важно подчеркнуть созданные эффективные лекарственные средства (с антиаритмическим свойством «Аллапинин», гемостатик «Лагоден», противоникотиновые «Табекс» и «Анабазин гидрохлорид», антигерпетик «Мегосин», противовирусный «Рагосин») на основе низкомолекулярных природных соединений и экстрактов лекарственных растений, являющихся источниками алкалоидов, полифенолов, изопреноидов, стероидов.

На сегодняшний день в мире создание новых гемостатических лекарственных средств на основе производных природных соединений и терпеноидов является актуальной задачей. При этом проведение исследований по разработке на основе растительных ресурсов новых эффективных лекарственных средств: получение супрамолекулярных комплексов, разработка новых гемостатических средств, выделение биологически активных соединений из растения, определение физиологической активности и реологических свойств терпеноидов, определение взаимосвязи структура-активность с целью поиска новых потенциальных биологически активных соединений, установление механизма действия гемостатических препаратов и другие являются актуальными задачами.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Постановлением Президента Республики Узбекистан № ПП-916 от 15 июля 2008 года «О дополнительных мерах по стимулированию внедрения инновационных проектов и технологии в производство», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в Республике. Данное исследование выполнено в соответствии приоритетного направления развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации.¹

Научные исследования, направленные на поиск, выделение биологически активных терпеноидов из растений, определение взаимосвязи структура - активность и разработке на их основе эффективных гемостатиков, проводятся в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе, Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University, (США). University of Mansoura (Египт), Shanghai University of Traditional Chinese Medicin (Китай), Всероссийском институте лекарственных и ароматических растений (Россия), Институте химии растительных веществ, Национальном университете (Узбекистан).

По результатам научных исследований, проведенных в мире, по поиску, выделению биологически активных терпеноидов из растения, определению химической структуры и активности, разработке на их основе эффективных гемостатиков получены ряд научных результатов, в том числе: разработаны и оценены эффективность и безопасность местных гемостатических препаратов на основе растительного сырья (Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University, США); синтетическое вещество- н-бутил-2-цианоакрилат применено в качестве кровоостанавливающего вещества при проведении челюстно-лицевой хирургии (University of Mansoura, Египт); проанализирован химический состав растения *Lagochilus ilicifolius*, идентифицированы с помощью спектрального анализа 3 ранее не описанные вещества (Shanghai University of Traditional Chinese Medicin, Китай); на основе тритерпеновых сапонинов солодки, глицирризиновой кислоты и её производных и различных флавоноидов растения солодки получены супрамолекулярные комплексы (Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, Россия); определены физико-химические, спектральные свойства сапонинов, флавоноидов корня солодки (Самарский государственный медицинский университет, Россия).

В мире по поиску и выделению природных терпеноидов из растения, определению структуры и активности, разработке на их основе эффективных гемостатиков по ряду приоритетных направлений проводятся исследования, в том числе: синтез и определение биологической активности лабдановых дитерпеноидов; установление структуры-активности для поиска новых потенциальных биологически активных природных соединений; разработка гемостатических лекарственных средств; определение реологических свойств комплексных соединений; доказание механизма действия гемостатических лекарственных средств.

Степень изученности проблемы. Растения рода *Lagochilus* издавна известны своими ценными лечебными свойствами и входят в число широко используемых лекарственных растений Востока. Одним из

¹ <http://lektrava.ru/encyclopedia/zaytsegub-opanyayushchiy>, <http://floruz.uz/content/lagochilus-pubescens-vved>.
<http://www.niscair.res.in/> / Science Communication / Abstracting Journals.

распространенных видов рода *Lagochilus* является растение *Lagochilus inebrians*—Лагохилус опьяняющий. Установлено, что основным действующим веществом является лагохилин. Однако, нерациональное использование запасов дикорастущего Лагохилуса привело к тому, что в настоящее время это растение внесено в Красную книгу.

Зарубежными учеными Н.А. Scheraga, М. Khalili, А. Liwo, Y. Zhang, R.F. Murray, Н.В. Harper, D.K. Granner, Р.А. Mayes, А.Ф. Gammermanами проведены поиск, изучение структуры, биологических свойств ди и тритерпеноидов, выделенных из объектов растительного и животного происхождения.

В странах СНГ исследования, посвященные изучению состава и биологической активности производных лагохилина из растения рода *Lagochilus inebrians* проведены учеными С.П.Боткиной, И.П.Павловой, Г.В.Лазуревским. Учеными научной школы Г.А.Толстикова проводятся углубленные научные исследования по изучению комплексных соединений на основе глицирризиновой кислоты и её солей, физико-химической характеристике и механизму действия полученных соединений.

Растение *Lagochilus inebrians* подвергнуто тщательному химическому анализу в работах ученых И.Э.Акопова, О.С.Садыкова, Т.П.Пулатовой, М.И.Икрамова, И.И.Ибрагимова, Т.Р.Абдурахманова, С.Ауелбекова, М.М.Абрамова, У.Н.Зайнутдинова, Д.Н.Далимова и др. Показано, что листья и цветки растения Лагохилус содержат дитерпеноид – лагохилин. Содержание лагохилина в надземных органах растения распределено неравномерно. Больше всего его в листьях (1,98%), репродуктивных органах (0,84—1,87%) и меньше всего в стеблях (0,15% от воздушно-сухой массы растений).

На основе производного лагохилина создан эффективный водорастворимый отечественный кровоостанавливающий препарат «Лагоден», являющийся натриевой солью лагохирзиновой кислоты. В настоящее время в Республике гемостатические препараты не производятся. Основной арсенал кровоостанавливающих препаратов являются импортными.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа. Диссертационная работа выполнена в рамках плана научно-исследовательских работ и прикладных проектов Института биоорганической химии согласно Государственной научно-технической программе П-15.20 «Создание и разработка гемостатика для внутривенного введения – Лаговин из местного растительного сырья» (2003-2005), А-10-053 «Создание и разработка гемостатического средства местного действия, в виде рассасывающиеся пленки из коллагена» (2006-2008), ФА-А12-Т175 «Разработка технологии лекарственных форм противовоспалительного препарата «ГЛАС», местного гемостатического препарата «Глилагин» и гемостатика для внутривенного введения (2009-2011), ИФА 2012-6-4 «Освоение технологии получения лекарственной формы гемостатика - «Лаговин» для внутривенного введения, проведение клинических испытаний и выпуск опытной партии» (2012-2014), ФА-И11-ТО11 «Освоение

технологии производства гемостатика – Глилагина и разработка технических условий получения лагохилина» (2015-2016).

Целью исследования является синтез производных лабдановых дитерпеноидов, супрамолекулярных комплексов на основе глицирризиновой кислоты и ее солей, низкомолекулярного полимерного носителя, определение физико-химических свойств, а также разработка новых гемостатиков.

Задачи исследования:

выделение и очистка дитерпеноида лагохилина из растения *Lagochilus Inebrians*, химическая модификация и изучение физико-химических характеристик;

выделение и очистка глицирризиновой кислоты из корня солодки, разработка опытно-промышленного регламента получения моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты;

получение супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК и МАСГК в различных соотношениях и изучение физико-химических и спектральных характеристик, реологических свойств водных растворов в зависимости от соотношения образующих комплексы компонентов с целью установления природы взаимодействующих сил между компонентами;

определение гемостатических свойств полученных производных лагохилина и супрамолекулярных комплексов, для выявления зависимости структура – активность, структура – соотношение компонентов образующих супрамолекулярные комплексы и передача наиболее активных для углубленных фармако-токсикологических исследований;

методами математического моделирования определить наиболее вероятную структуру полученных соединений;

разработка проектов лабораторного и опытно-промышленного регламентов технологии получения субстанции наиболее активных разрабатываемых гемостатиков;

стандартизация субстанций гемостатиков «Глилагин» и «Лаговин», разработка их лекарственных форм для перорального применения (таблетки) «Глилагин» и для внутривенного введения «Лаговин».

Разработка проектов ВФС на субстанции и лекарственные формы гемостатиков «Глилагин» и «Лаговин» и передача их в Главное Управление по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники МЗ РУз.

подготовка НТД для получения разрешения и проведение клинических испытаний в клиниках МЗ РУз в качестве оригинальных гемостатических препаратов.

Объектами исследования являются растения *Lagochilus Inebrians* и *Glycyrrhiza Glabra*. Глицирризиновая кислота, лагохинин и его ацетильные, бензилиденные и изопропилиденные производные, N-поливинилпирролидон, супрамолекулярные комплексы.

Предметом исследования являются физико-химические, реологические свойства биологически активных соединений, биологическая

активность и стандартизация лекарственных форм, создание гемостатических препаратов.

Методы исследования. В диссертации для выделения и очистки индивидуальных ди и тритерпеноидов применены методы экстракции, высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии; для установления химической структуры новых соединений применены физико-химические методы исследований: ультрафиолетовая, инфракрасная спектроскопия и спектроскопия ЯМР, квантово-химические расчетные методы с использованием пакетов программ Chem Office 9.0 и Hyper Chem; для стандартизации применены фармакопейные методы контроля качества лекарственных средств и биологические методы.

Научная новизна работы заключается в следующем:

синтезированы новые ароматические ацетали лагохилина и установлено влияние катализаторов на выход конечного продукта;

определена взаимосвязь гемостатической активности ацетильных и изопропилиденовых производных лагохилина от природы заместителей и количества свободных гидроксильных групп;

получены новые супрамолекулярные комплексы глицирризиновой кислоты и её моноаммониевой соли с лагохилином;

установлена мицеллярная структура, устойчивость и термодинамические свойства супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты, её солей с лагохилином в водных растворах и определена количественная зависимость биологической активности от соотношения и от химической структуры комплексообразующих компонентов;

определением реологических свойств водных растворов комплексных соединений, доказано включение лекарственного препарата в мицеллу, как правило, с выигрышем энергии образования;

доказана энтропия системы (самоорганизация мицеллярных образований), которая зависит от структурных и функциональных особенностей гостевой молекулы, оказывающей стабилизирующее действие на процессы структурирования мицелл, состоящих из молекул глицирризиновой кислоты.

Практические результаты исследования. Разработаны две новые субстанции гемостатических препаратов и их лекарственные формы в виде перорального (таблетки) и внутривенного (ампулы на 2мл 0,15% раствор) применения. Осуществлен выпуск опытной партии субстанций «Глилагин» и «Лаговин». Налажен выпуск опытной партии лекарственных форм: «Таблетки Глилагин-0,005г» и «0,15% раствор Лаговина». Получено разрешение на проведение клинических исследований гемостатика в виде инъекционной формы Лаговин (0,15% раствор) и Глилагин (таблетки). Налажен выпуск промежуточного технического продукта получения глицирризиновой кислоты.

Достоверность полученных результатов подтверждается тем, что они получены с применением современных физико-химических методов,

практическая реализация результатов, представление результатов на республиканских и международных научных конференциях, публикации результатов исследований в рецензируемых научных изданиях и получением патентов.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что выделены лагохилин и глицирризиновая кислота, синтезированы ряд производных лагохилина, получены новые супрамолекулярные комплексные соединения на их основе. Изучена гемостатическая активность производных лагохилина и установлена её зависимость от химической структуры. Структуры соединений подтверждены использованием физико-химических и расчетных методов. При изучении реологических свойств комплексов, установлено, что их мицеллярные состояния стабилизированы за счет гидрофобно-гидрофобных взаимодействий и водородных связей.

Практическая значимость работы заключается в том, что на основе полученных супрамолекулярных комплексов созданы эффективные отечественные кровоостанавливающие средства «Глилагин» и «Лаговин», разработаны лабораторные и промышленные регламенты, а также проекты ВФС на лекарственные формы «Таблетки Глилагин-0,005г», «Лаговин 0,15% раствор», которые позволяют организовать промышленный выпуск гемостатических препаратов.

Внедрение результатов исследований:

В результате выделения биологически активных терпеноидов из растения, определения структуры и активности, на основе разработки эффективных гемостатиков:

разработан отечественный гемостатический препарат внутривенного применения Лаговин, получен патент (04.12.2013, № IAP 04806) на изобретения Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан. Гемостатик рекомендован для применения при паренхиматозных кровотечениях;

на основе «Глилагина» создана гемостатическая коллагеновая пленка, получен патент (13.10.2015, № IAP 05109) на изобретение Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан. Разработанная отечественная лекарственная форма применена для предотвращения сосудистых и капиллярных кровотечений;

разработана и утверждена «Временная фармакопейная статья» на субстанцию «Глицирам» (18.10.2013. ВФС 42 Уз 2369-2013), проведены клинические испытания таблеток препарата в качестве противовоспалительного средства. Полученный препарат даст возможность Республике импортзамещение препаратов аналогичного действия.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования изложены в виде презентации и прошли апробацию на 7 республиканских и 5 международных конференциях, в т.ч. «Биология-наука XXI века» (Пушино, 2005); «6th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Анкара, 2005); «Современные проблемы биохимии и эндокринологии»

(Ташкент, 2006); «Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения» (Ташкент, 2006); «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 2009); «Проблемы органической химии» (Москва, 2009); «Renewable Wood and Plant Resorches: Chemistry, Technology, Phrmacology, Medicine» (Санкт-Петербург, 2011); «International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Урумчи, 2011); «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2013); «Актуальные проблемы развития биоорганической химии» (Ташкент, 2013);

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 40 научных работ. Из них 11 научных статей, в том числе 9 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, получено 2 патента на изобретение, утверждены 2 промышленных регламента и 1 ВФС.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, списка использованной литературы, приложений. Объем диссертации составляет 182 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

В первой главе диссертации «**Структура, биологические свойства ди- и тритерпеноидов растений рода *Lagochilus Inebrians* и *Glycyrrhiza Glabra***» приводится обзор литературных данных об ареале растений вида Лагохилус, химическом составе, методах модификации и выделения производных лагохилина. Приведены также данные о полисахаридах, пектинах, гликозидах и тритерпеноидах солодки, об основном действующем веществе растения – глицирризиновой кислоте, структуре, трансформации, биологической активности и коллоидно-химических свойствах её солей и комплексов с лекарственными веществами.

Во второй главе диссертации «**О системе гемостаза и гемостатические препараты**» приведены литературные данные о системе гемостаза, нарушениях системы, о гемостатических препаратах и механизме их действия.

В третьей главе диссертации «**Материалы, условия и современные методы исследования, биологическая активность**» приведены материалы, реактивы, приборы, системы тонкослойной хроматографии, методики выделения и очистки лагохилина и глицирризиновой кислоты (и её солей),

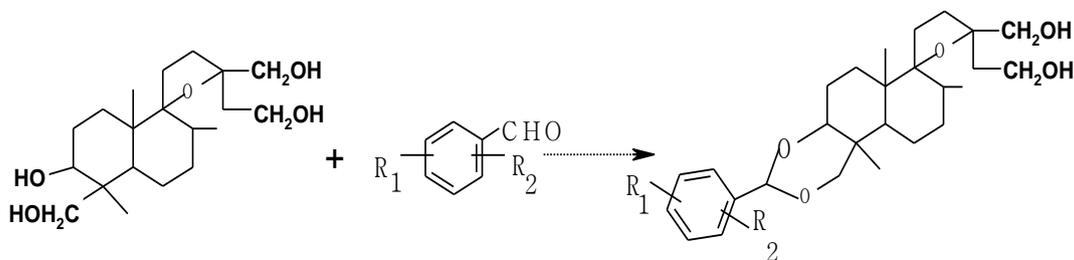
получения их производных, а также методы количественного определения и гемостатической активности, использованные при выполнении диссертационной работы.

В четвертой главе диссертации «**Выделение лагохилина ГК и её солей, синтез производных лагохилина**» обсуждены данные по усовершенствованию выделения дитерпеноида лагохилина из растения Лагохилус опьяняющий и технологической схемы выделения ГК и её солей из ТКК, кристаллической структуре моногидрата лагохилина и синтезу его ароматических ацеталей.

Усовершенствование выделения лагохилина из растения Лагохилус опьяняющий заключается в том, что дихлорэтан для экстракции используется 13-14 раз (оптимально 10 - 11 раз), что приводит к экономии электроэнергии, расхода растворителя и общего времени экстракции.

Лагохилин перекристаллизовывают из ацетона и при перекристаллизации из различных растворителей получают 2 вида кристаллов: безгидратной и моногидратной формы. Рентгеноструктурные данные были получены в лаборатории физико-химические методы анализа под руководством профессора Ибрагимова Б.Т. Монокристалл лагохилина в виде моногидрата был получен из смесей растворителей: ацетон:толуол:этанол. Структура монокристалла была определена методом рентгеноструктурного анализа (РСА).

Синтезы на основе лагохилина с ароматическими альдегидами, логически изменяющейся структурой до настоящего времени не были изучены. Поэтому было интересно изучить реакцию лагохилина с рядом ароматических альдегидов и выявить оптимальные условия синтеза. Синтез осуществлен по нижеследующей схеме:



Где R_1 и R_2 – OH, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-Br$. (II.1- II.8)

Схема 1. Общая схема синтеза ароматических ацеталей лагохилина

Показано, что при синтезе ароматических ацеталей лагохилина, содержащие различные алкоксильные группы в качестве заместителей в ароматическом кольце целесообразно использование в качестве катализатора конц. H_2SO_4 , а когда заместителями являются OH – группы, безводного сульфата меди. Все полученные ароматические ацетали лагохилина очищали методом колоночной хроматографии. Некоторые физико-химические характеристики приведены в таблице 1. Структуру синтезированных соединений подтверждали данными ИК и ПМР-спектров.

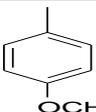
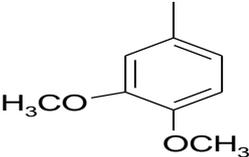
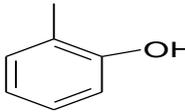
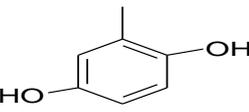
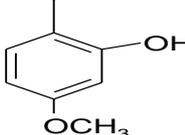
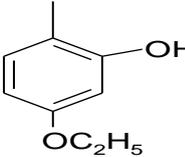
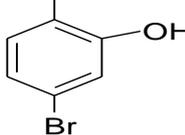
В ИК-спектрах синтезированных соединений в области $3300-3400\text{ см}^{-1}$ обнаруживается широкая полоса, относящаяся к валентным колебаниям гидроксильных групп в положениях 15,16 молекулы лагохилина, которые

участвуют в образовании меж- и внутримолекулярных водородных связей, а валентные колебания гидроксильных групп фенольных соединений обнаруживаются в области 3200 см^{-1} (соединения 4-8).

В спектрах ПМР соединений 4- 8, в области 0,80-0,90 м.д. имеются синглетные сигналы протонов метильных групп при C_8 и C_{10} , а в области 1,0 м.д. сигнал протонов метильной группы при C_4 молекулы лагохилина. В области 3,4-4 м.д. обнаруживаются сигналы протонов $-OCH_2-$ групп при C_{15} , C_{16} и C_{18} , а в области 5,5 м.д. – сигнал третичного протона $CH-$ группы.

Таблица 1

Некоторые физико-химические характеристики 3,18-бензилиден-15, 16-диокси-9,13-эпоксилабданов

№	Ar	Rf*	Катализатор	$T_{пл}, C^0$	Выход %
2		0,73	H_2SO_4 (конц.)	-	55
3		0,26	H_2SO_4 (конц.)	-	60
4		0,50	$CuSO_4$ (безвод.)	136-137	35
5		0,38	$CuSO_4$ (безвод)	138-139	27
6		0,45	$CuSO_4$ (безвод)	150-151	25
7		0,41	$CuSO_4$ (безвод)	167-168	30
8		0,40	$CuSO_4$ (безвод)	173-174	36

*Система: метанол:ацетон (2:1)

Далее были синтезированы ацетильные производные лагохилина. В литературе имеются много сведений о синтезе тетраацетильного производного лагохилина. Но очень мало сведений о синтезе моно-, ди- и триацетильных производных; они в основном были выделены из растительных источников. Поэтому нами было синтезировано тетраацетил-производное лагохилина и мягким гидролизом продукта получены моно-, ди-

и триацетильные производные, которые были разделены методом колоночной хроматографии.

Эффективность и биодоступность большинства биологически активных веществ, проявляется в водной среде (человеческий организм состоит из 60-75% из структурированной воды), поэтому нам важно было кроме выделения, получения солей и производных ГК выяснить фундаментальные вопросы, в частности физико-химические характеристики водных растворов полученных супрамолекулярных комплексов. Полученные результаты этих работ могут послужит основанием разработки высокотехнологичных эффективных гемостатиков широко спектра действия.

Для увеличения биодоступности того или иного биологического активного вещества, используют различные химические приемы: получение соответствующих солей (если это не затрагивает основную биологическую функцию вещества); ковалентная или нековалентная модификация с доступными, разрешенными в медицинской практике полимерными транспортными агентами; получение супрамолекулярных комплексов с такими низкомолекулярными носителями (лигандами), как циклодекстрины, краун эфиры. В последние десятилетия широко используют амфифильные природные соединения, в частности ГК и её соли. В качестве носителя для получения новых лекарственных (транспортных) форм известных лекарств (нестероидных противовоспалительных средств, простагландинов, урацилов) и других биологически активных веществ была предложена 18β -глицирризиновая кислота (ГК). Исходной предпосылкой этого подхода является представление об обязательном наличии в структуре комплексообразователя как гидрофильной (связывающей основное лекарственное вещество), так и гидрофобной (отвечающей за транспорт) части. Так как лагохилин и полученные его изопропилиденовые, ацетильные и бензилиденовые производные плохо растворимы в воде, в качестве солюбилизирующего агента были выбраны ГК и её некоторые моно- соли (аммониевая, калиевая, литиевая).

Исходя из изложенного выше, в начале обсудим методы выделения ГК, технологии очистки, подбора условий получения солей ГК и их супрамолекулярных комплексных соединений с лагохилином. Методам выделения ГК из корня солодки посвящено большое количество работ. Основная суть их заключается в том, что на начальном этапе технологического процесса получают качественный экстракт и сгущают последний до нужной кондиции.

Нами было апробировано получение сырого технического продукта без сгущения экстракта- методом сернокислого осаждения. Получают техническую ГК (ТГК) с выходом до 9-11% и с содержанием ГК от 25% до 45%. Некоторые физико-химические характеристики ТГК приведены в таблице 2.

Таблица 2

Некоторые физико-химические характеристики ТГК

№	Наименование показателей	Данные анализа
1	Внешний вид	Аморфно – твёрдый, крупно зернистый порошок темно-бурого цвета
2	Вкус	Приторно-сладкий с горчинкой
3	Количественное содержание ГК в %	40±5%
4	Влажность в %	5,5±1,5
5	Общая зола в %	11,4±0,75

Совместно с ООО «АгроБиоКимё» разработан «TSh 19783536-02:2013» ТГК. По разработанной технологии переработки солодкового корня на производственном цеху ЧП «Баходир ва К» (г. Беруни, Республика Каракалпакстан) получено 1,5 тонны ТГК.

Далее на основе ТГК получали ГК и её соли. Данный технологический процесс заключается в экстракции ГК ацетоном с последующим осаждением её в виде трехзамещенных солей, после чего кислотным гидролизом получают монозамещенные соли с чистотой 72-75%.

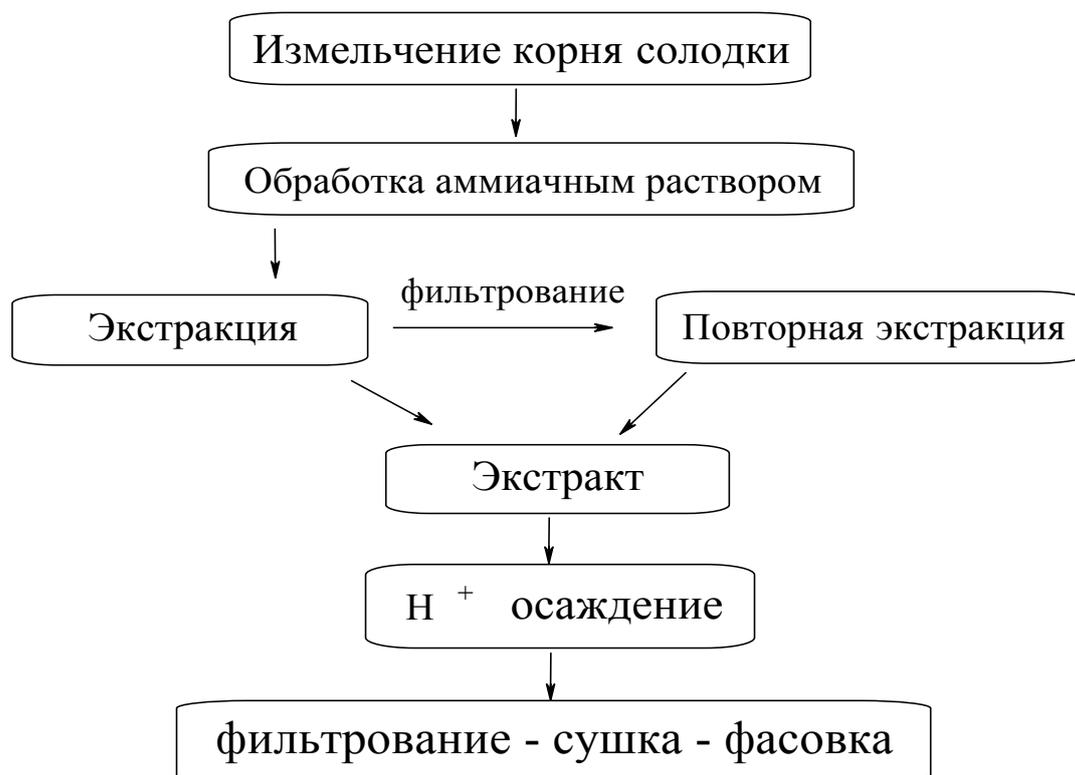


Схема 2. Технологический процесс выделения ТГК из корня солодки



Схема 3. Технологическая схема выделения ГК и её солей из ТГК

Полученная ГК и её соли охарактеризованы физико-химическими и спектральными данными. В таблице 3 приведены их некоторые физико-химические характеристики.

Таблица 3

Некоторые физико-химические константы ГК и её солей

№	Вещества	Внеш вид, М.М.	Т.кип, °С	R _f [*]	[α] _D , 0,5%	ИК (ν, см ⁻¹)	УФ (нм)
32	ГК	Порошок белого цвета, 840	210-213	0,07(II) 0,14(V)	+48	1042, 1656, 2873, 2948,	251
33	МАСГК +3H ₂ O	Порошок светло желтого цвета, 894	225-227	0,32 (VII) 0,06 (I)	+40	1042, 1655, 2948, 3239,	251
34	МКСГК	Порошок белого цвета со светло-желтым оттенком, 878	280-284	0,30 (VII) 0,26(II) 0,12(VI)	+36	1043, 1657 2948,3404	254
35	МЛСГК	Порошок белого цвета, 878	250-253	0,30 (VII) 0,26(II)	+36	1037, 1664 2941, 3410	251

*Система: I -этанол:хлороформ (1:3), II -метанол:хлороформ (1:3), III -вода:ацетонитрил:ацетон (3:4:2), IV -этанол:хлороформ (1,5:3), V -метанол:ацетон (2:1), VI -вода:ацетонитрил:ацетон (1:1:1).

Чистоту ГК и её солей оценивали методом ВЭЖХ в изократическом режиме с применением диодно-матричного и УФ детектора. Для этого навеску препарата растворяют 0,5% ного раствора уксусной кислоты. Подвижная фаза состоит из 35 объема ацетонитрила, 0,5 объема ледяной уксусной кислоты и 64,5 объема бидистиллированной воды. Скорость потока устанавливают 0,75-1,0 мл/мин, детектирование проводят при длине волны 254 нм, время анализа 16- 17мин.

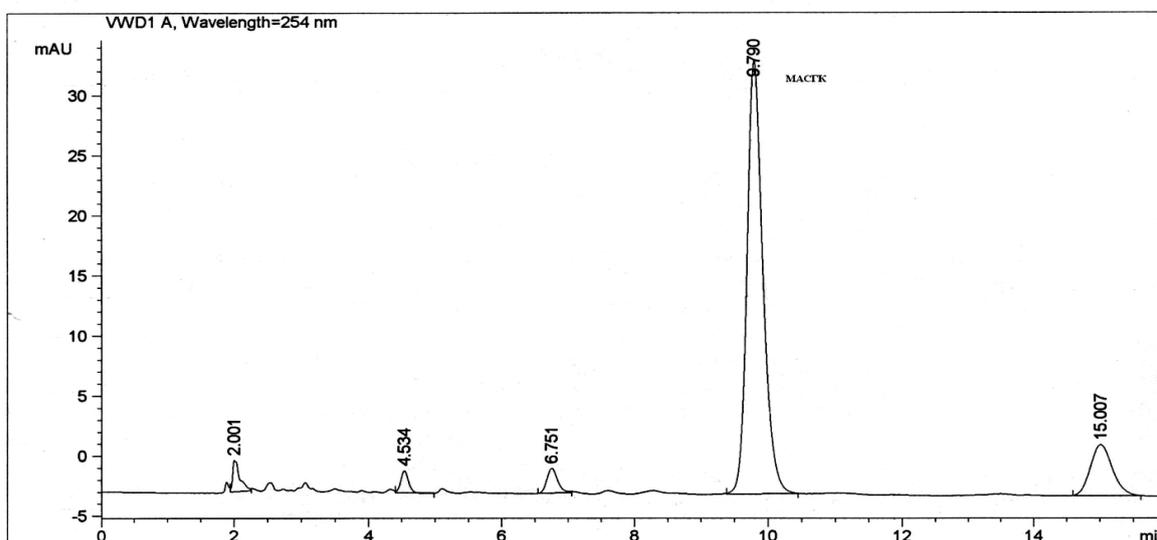


Рис- 1. Хроматограмма МАСГК 80-85% чистоты

Из данной хроматограммы видно, что кроме основного пика имеются пики сопутствующих веществ. По данным ¹H-ЯМР спектроскопии, сопутствующими веществами являются: 18α-Н изомер ГК и частично гидролизованные производные 18α- и 18β глицирризиновой кислоты и глицирретовая кислота. Общая сумма площадей пиков составляет 17±2,5%. Дальнейшая очистка ГК достигается растворением его в ацетоне и

осаждением в виде тризамещенной соли и гидролизом последней ледяной уксусной кислотой. После перекристаллизации получают продукт с чистотой 90-92%.

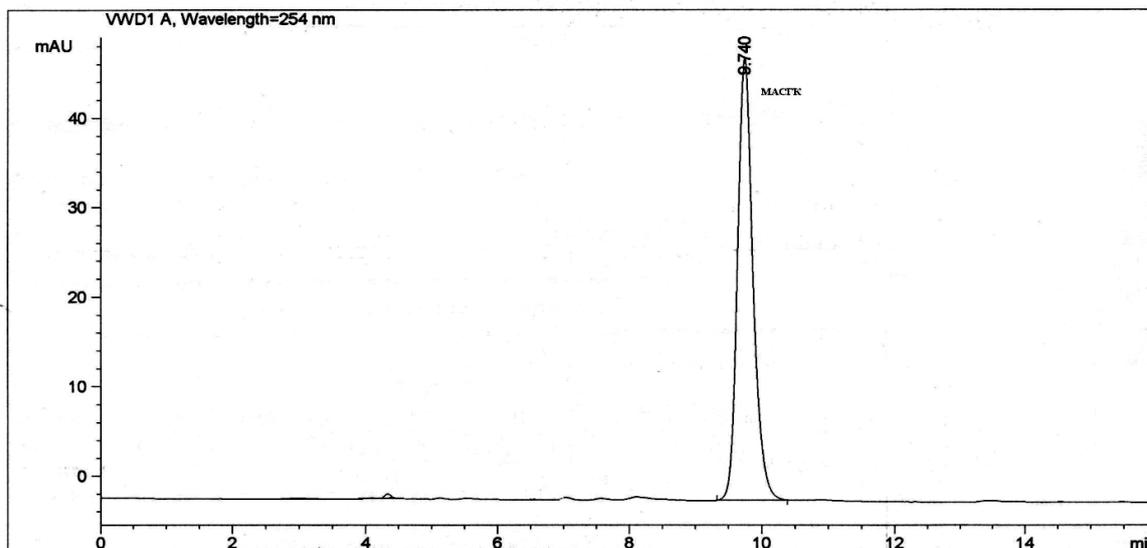
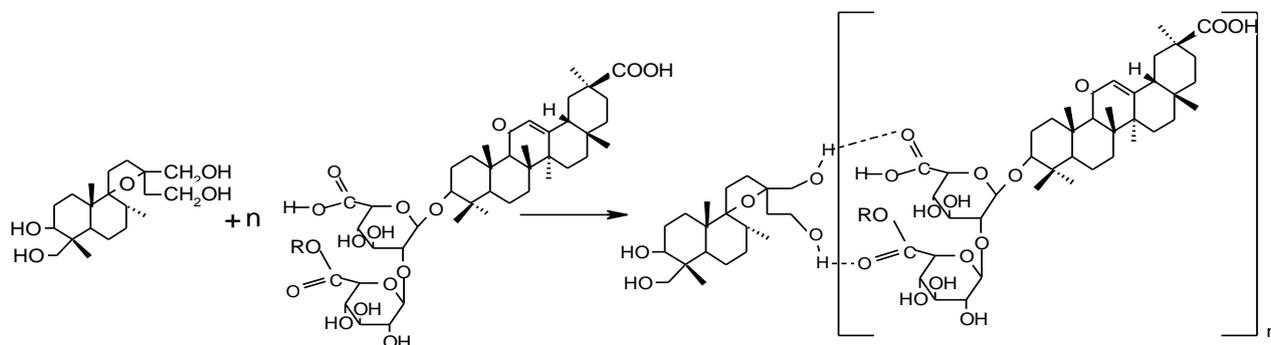


Рис- 2. Хроматограмма 100% ного МАСГК

Сопутствующие вещества близкие по строению очень трудно отделяются. Поэтому 100% чистота ГК достигается с помощью препаративного колонного разделения (рис. 2). Биологическая активность полученных образцов МАСГК различной степенью чистоты: 70-75%, 80-82%, 90-92% и 100% практически не отличаются. При очистке происходит потеря продукта, и выход конечного относительно первоначального продукта снижается до 25-30%. Поэтому мы использовали ГК и её солей с чистотой 80-82%.

В пятой главе диссертации «**Супрамолекулярные комплексы, физико-химические и реологические свойства**» обсуждены экспериментально полученные данные по спектральному подтверждению строения, определению физико-химических констант и изучению реологических свойств супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК и её солями.



Где R: H (5-7), H₄N (8-10), K (11-13)

Схема 4. Общая схема получения супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК и её моноаммонийной и монокалийевой солями

Таблица 4

**Некоторые физико-химические константы комплексов Лагохилина с
ГК, МАСГК, МКСГК.**

№	Комплексы	Внеш вид, М.М.	Т.кип, °С	R _f [*]	[α] _D , 0,5%	ИК (ν, см ⁻¹)	УФ (нм)	Выход, %
36	Л-ГК 1:2	Пор. Белый 2036	173-175	0.74(V)	+12	1044, 1082 1728, 2942	251	93,8
37	Л-ГК 1:4	Пор. Белый 3716	175-178	0.73(V)	+16	1044, 1080 1730, 2945	251	92,5
8	Л-ГК 1:9	Пор. Белый 7916	180-183	0.73(V)	+14	1044, 1081 1732, 2947	251	93,7
39	Л-МАСГК 1:2	Светло-желтый порошок, 2144	197-200	0.72(V)	+24	1042, 1660 2943, 3384	250	90,0
40	Л-МАСГК 1:4	Светло-желтый порошок, 3932	202-204	0.72(V)	+20	1042, 1662 2945, 3385	250	84,7
41	Л-МАСГК 1:9	Светло-желтый порошок, 8402	205-207	0.71(V)	+22	1042, 1663 2946, 3386	250	88,7
42	Л-МКСГК 1:2	Светло-желтый порошок, 2112	215-517	0,18(I) 0,1(II)	+24	1043, 1079 1655, 3410,	251	93,2
43	Л-МКСГК 1:4	Светло-желтый порошок, 3868	220-222	0.17(I) 0.1(II)	+12	1079, 1658, 2945, 3417	251	94,1
44	Л-МКСГК 1:9	Светло-желтый порошок, 8258	225-227	0.17(I) 0.1(II)	+16	1043, 1660, 1948,3430,	251	93,5

*Система: I — этанол : хлороформ (1:3), II — метанол : хлороформ (1:3), V — метанол:ацетон (2:1),

Все полученные соединения (табл. 4) являются оптически активными, правовращающими комплексами и выход супрамолекулярных комплексов составляет от 84 до 93%, температура плавления веществ сопровождается разложением.

В УФ спектре полученных соединений наблюдаются полосы поглощения с максимумом при 251-254 нм в среде вода:спирт (50:50), соответствующие к *p-p*^{*} переходу сопряженной двойной связи при С кольце скелета агликоновой части молекулы ГК и её солей.

В ИК спектрах полученных соединений наблюдаются характерные для карбонильных групп ГК и её солей валентные колебания при 1670-1650 см⁻¹ со смещением полос поглощения на высокочастотную область (60-55см⁻¹) относительно к исходным компонентам. Это указывает на то, что карбонильные группы ГК и её солей участвуют в образования супрамолекулярных комплексов с лагохилином. Уширение сигнала валентных колебаний гидроксильных групп лагохилина и ГК при 3430-3380 см⁻¹ также указывает на процесс комплексообразования.

В спектре ПМР (ацетон:D₂O) комплекса ГК:Л (2:1) обнаружены следующие резонансные частоты: сигнал в области 0,5 м.д. относится к протонам С-СН₃ при С₁₇; дублет в области 0,7-0,8 м.д. относится к протонам СН-СН₃ при С₄ и С₁₀ молекулы лагохилина.

Сигнал в области 1,0 м.д. относится к протонам СН-СН₃ при С₄ в молекуле ГК. Синглетный сигнал в области 1,3 м.д. относится к протонам С-СН₃ при С₂₀. Нерасщепленный сигнал в области 1-2 м.д. относится ко всем

протонам скелета молекулы лагохилина. Сигнал протонов в области 2,8-3,0 м.д. относится к протонам метильных групп растворителя. Сложный сигнал в области 3,0-4,5 м.д. относится ко всем протонам CH_2O , CHO , имеющихся в молекулах лагохилина и ГК. Синглетный сигнал в области 5,0–4,5 м.д. относится к олефиновым протонам при C_{12} .

На сегодняшний день, механизм гелеобразования и солюбилизации ГК остается во многом непонятным и мало описанным в литературе. Поэтому установление основных физико-химических свойств гидрогелей низкомолекулярных природных соединений в различных агрегатных состояниях и причин проявления высокой биологической активности супрамолекулярных комплексов на основе ГК является актуальным.

Данный этап работы выполнено совместно с учеными кафедры «Химии полимеров» химического факультета Национального Университета Узбекистана (профессорами У.Н. Мусаевым и М.Г. Мухамедиевым). Процессы структурообразования в растворах можно также охарактеризовать изучением их вязкости. Если в растворах происходят процессы ассоциации растворенных веществ, то вязкость растворов резко возрастает. Поэтому с целью выявления ассоциированности молекул супрамолекулярных комплексов была определена вязкость их водных растворов. Из рис. 4. видно, что водный раствор молекулярного комплекса ГК с лагохилином в соотношении 2:1 обладает очень высокой вязкостью характерной для ассоциируемых систем. При этом с увеличением температуры приведённая вязкость раствора уменьшается. Этот факт свидетельствует о разрушении ассоциатов. Однако для водного раствора молекулярного комплекса ГК с лагохилином (9:1) увеличение температуры приводит к возрастанию вязкости.

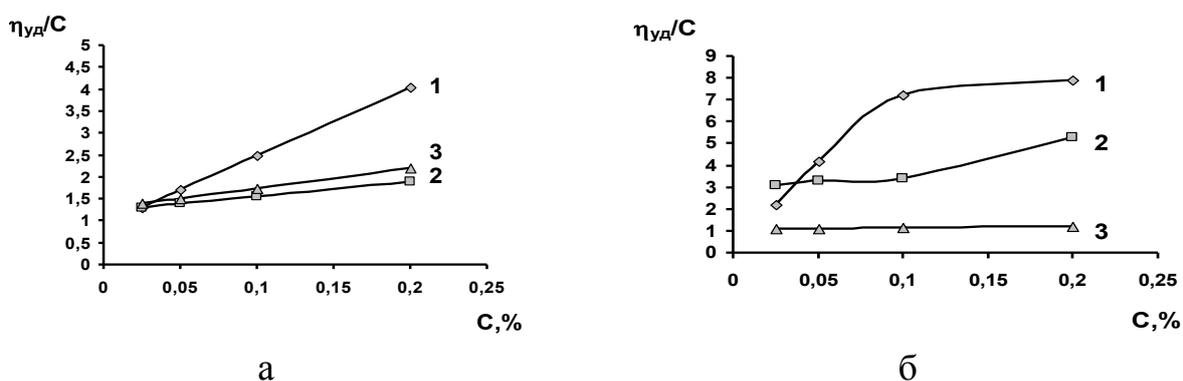


Рис.4. Зависимость приведённой вязкости водного раствора молекулярного комплекса ГК с лагохилином 2:1(а) и 9:1 (б) от концентрации при T=298K(1), T=303K(2), T=308K(3)

По-видимому, эти изменения обусловлены различным соотношением гидрофильно-гидрофобных взаимодействий для разных составов. Определением вязкости водных растворов МАСГК, супрамолекулярных комплексов ГК и её моноаммониевой соли с лагохилином установлено, что включение в состав комплексов гидрофильных соединений приводит к уменьшению, а гидрофобных соединений (лагохилин) к увеличению вязкости их водных растворов по сравнению с вязкостью МАСГК. Эти

данные свидетельствуют о том, что при стабилизации супрамолекулярных комплексов лагохилина основную роль играют водородные связи и гидрофобно-гидрофобные взаимодействия. Для подтверждения этого предположения нами методом математического моделирования по программе «HyperChem 9,0» и «Chem-Draw» были рассчитаны энергии образования супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК в «абсолютной среде» (рис.4).

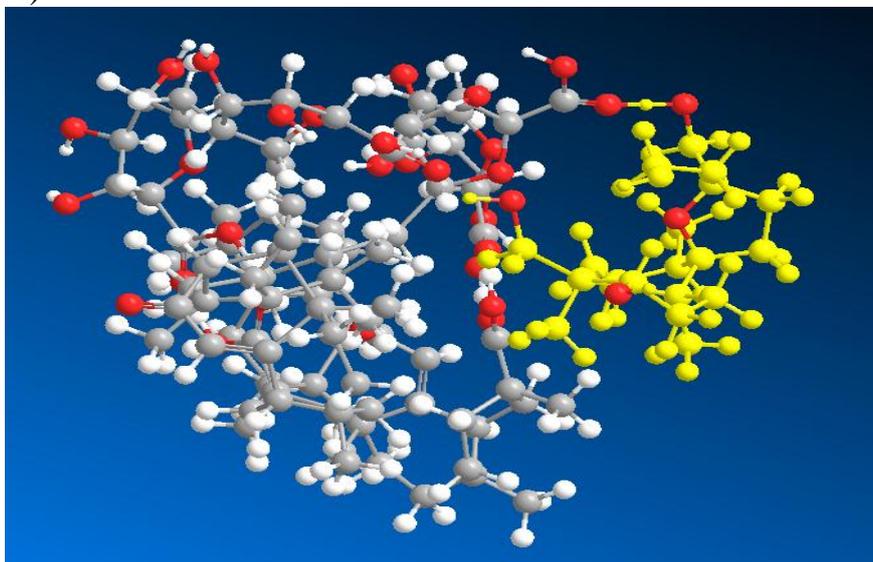


Рис 4. Кольцеобразное состояние Глилагина. Энергия обр. 787 kcal/mol

Наименьшей энергией обладают водородные связи между гидроксильными группами лагохилина в положениях 15 и 18 и гидроксилами карбоксильной группы ГК. В шаровидной модели видно, что лагохилин находится за пределами образованного кольца ГК. Исследование реологии водных растворов супрамолекулярных комплексов показало, что включение гидрофобных органических соединений в состав супрамолекулярных комплексов ГК и её моноаммониевой соли приводит к усилению, а гидрофильных органических соединений-к затруднению мицеллообразования в водных растворах.

Поэтому наиболее вероятно, что молекулы гостя находятся между слоями ГК и её солей, которые находятся в мицеллярном состоянии (Рис 5). Изучение структуры методом математического моделирования в модели одного слоя, показало, что такое состояние супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК, намного устойчивее и энергетически выгоднее, чем в кольцеобразном состоянии.

Энергия образования связей в мицеллярном состоянии в виде слоя в два раза меньше, чем у кольцеобразного вида. Таким образом, квантово-химические расчеты состояния супрамолекулярных комплексов ГК и её солей с лагохилином показывают явную энергетическую несостоятельность (невыгодность) модели супрамолекулярного комплекса кольцеобразного типа. Полагаем, что комплекс лагохилина с двумя молекулами ГК является промежуточным при переходе образования мицелл различного структурного типа (сферические, бислойные, эллипсоидные).

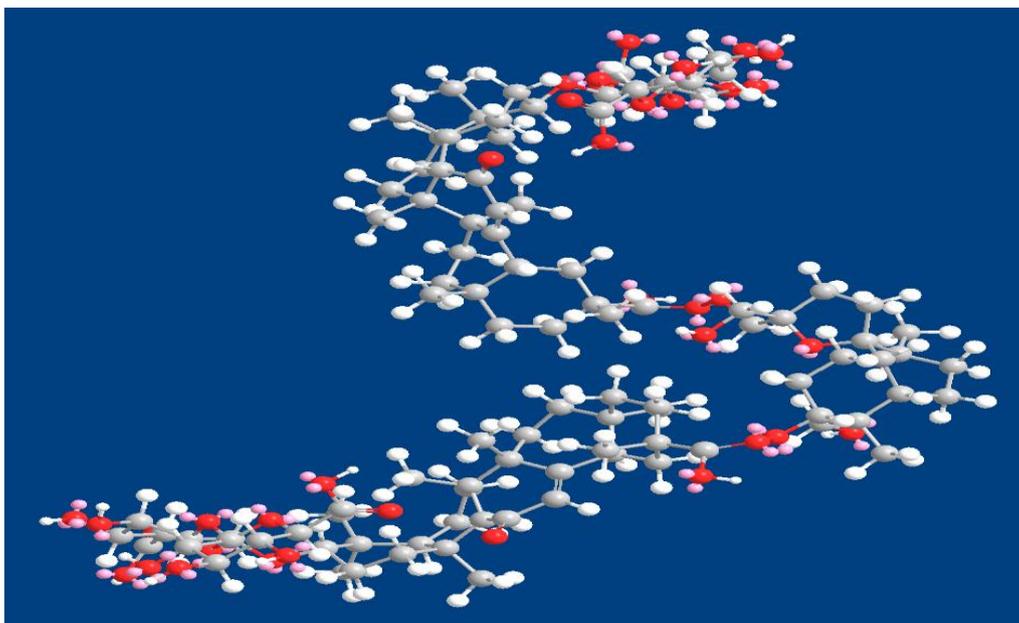
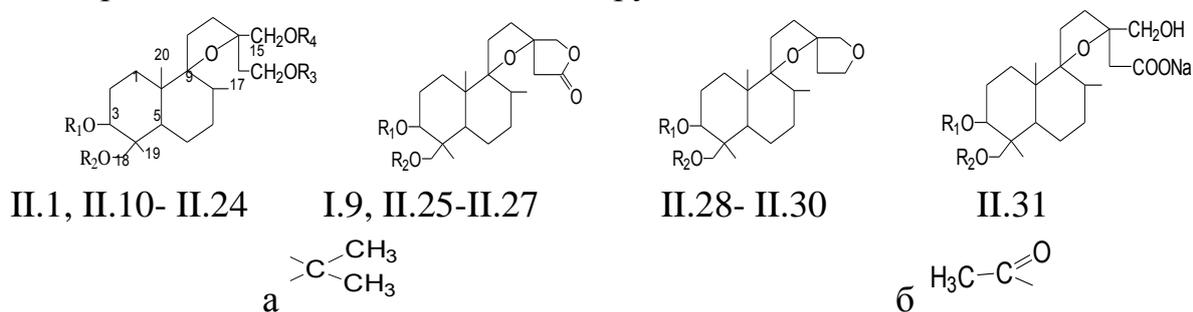


Рис 5. Мицеллярное состояние Глилагина. Энергия обр. 304. kcal/mol.

Определением ККМ водных растворов комплексов ГК и её солей с лагохилином и другими веществами было показано, что ККМ молекулярного комплекса МАСГК с гидрофобным веществом лагохилином ниже, чем у самого МАСГК. Следовательно, включение в состав молекулярного комплекса лагохилина оказывает стабилизирующее действие на процесс структурирования молекул МАСГК.

В шестой главе диссертации «Исследование гемостатической активности супрамолекулярных комплексов» приведены полученные данные по определению гемостатической активности производных лагохилина, молекулярных комплексов лагохилина с ГК, МАСГК и N-винилпирролидоном, изучению влияния препарата «Лаговин» на процесс свёртывания крови в опытах *in vitro* и его токсических свойств.

Гемостатическая активность всех соединений определена в лаборатории Фармакологии ИБОХ АН РУз под руководством к.б.н. Выповой Н.Л.



По химической структуре синтезированные производные лагохилина можно подразделить на 3 группы: I. лагохилин, его изопропилиден- и ацетильные производные (II.1, II.10-II.24); II. ангидро-лагохилины (II.9, II.25 II.27); III. дитерпеноидные лактоны (II.28-II.30). Эталон для сравнения - гемостатическая активность препарата «Лагоден» (100%). Все исследованные соединения обладают в той или иной мере гемостатической активностью (таблица-5).

Таблица 5

Гемостатическая активность лагохилина и его производных

№п\п	Заместители				Гемостатическая активность	
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	%	сек
П.1	Н	Н	Н	Н	67	130,0±12,6
П.10	а		Н	Н	40	157,0±14,8
П.11	а		а		0	268,1±19,8
П.12	а		б	б	33	163,7±13,5
П.13	а		б	Н	32	165,0±14,7
П.14	б	Н	Н	Н	83	115,0±11,4
П.15	Н	Н	Н	б	82	116,0±10,8
П.16	Н	Н	б	б	83	115,0±10,5
П.17	б	б	Н	Н	84	114,0±10,6
П.18	б	Н	Н	б	83	115,0±10,6
П.19	б	Н	б	Н	83	115,0±11,0
П.20	Н	б	б	Н	83	115,0±11,0
П.21	Н	б	б	б	81	117,0±10,6
П.22	б	б	Н	б	83	115,0±11,2
П.23	б	б	б	Н	81	117,0±10,5
П.24	б	б	б	б	17	211,0±16,0
П.9	Н	Н	-	-	60	148,0±13,5
П.25	а	а	-		51	179,0±16,5
П.26	Н	б	-	-	68	129,0±13,0
П.27	б	Н	-	-	67	130,0±13,0
П.28	Н	Н	-	-	57	141,0±13,7
П.29	б	б	-	-	66	131,0±12,6
П.30	а		-	-	33	140,0±13,0
П.31	Контроль				100	98,0±10,0

*P < 0,01 по отношению к контролю

Рассматривая данные приведенные в таблице 5, следует отметить, 0,5% раствор лагохилина в персиковом масле проявляет 67% активности по сравнению с препаратом сравнения. При замещении гидроксильных групп при C₃ и C₁₈ на изопропилиден в молекуле лагохилина гемостатическая активность понижается до 40%, а дальнейшее замещение гидроксильных групп при C₁₅ и C₁₆ на изопропилиденовые приводит к полной потери гемостатической активности (соединение П.11).

Ангидролагохилин проявляет относительно слабую гемостатическую активность (57%), то замещение гидроксильных групп при C₃ и C₁₈ изопропилиденовой группой приводит к уменьшению гемостатической активности до 33% (П.30). Замещение гидроксильных групп при C₁₃ и C₁₈ в молекуле лагохирзина на ацетильные группы (соед. П.26, П.27), особому изменению их гемостатической активности, не приводит (67%). Введение

изопропилиденовой группы в молекулу лагохирзина снижает гемостатическую активность до 51% (П.25), а вот раскрытие лактонного кольца с образованием соответствующей натриевой соли 3,16,18-тригидрокси – 9,13 – эпоксилабдан 15 овой кислоты приводит к резкому возрастанию гемостатической активности 100% (П.31).

Сравнение гемостатической активности лагохилина (П.1), ангидролагохилина (П.286), лагохирзина (П.9) при использовании водно-спиртовых растворов, указывает, что наибольшей активностью обладает лагохилин 67%, лагохирзин 60% и ангидролагохилин 57%.

Таким образом, показано, что замещение двух или трёх гидроксильных групп молекулы лагохилина на ацетильные группы относительно не влияет на кровоостанавливающую активность, лишь полное замещение гидроксильных групп к ацетильным группам, приводит к уменьшению гемостатической активности. Введение изопропилиденовых групп отрицательно сказывается на гемостатической активности, что, возможно, связано с усилением гидрофобности молекулы лагохилина.

С целью выявления наиболее оптимального соотношения компонентов, определена специфическая гемостатическая активность полученных супра-молекулярных комплексов лагохилина с ГК и её солями (табл. 6).

Полученные данные показывают, что исследованные комплексы позволяют, в зависимости от природы и соотношения компонентов, сократить время кровотечения в 2-4 раза. Высокую гемостатическую активность проявляли супрамолекулярные комплексы МАСГК с лагохилином. С целью создания отечественного местного гемостатического препарата, наиболее активный комплекс (МАСГК:Л=2:1), условно названный «Глилагин»ом, рекомендован для углублённых фармакологических исследований.

Таблица 6

Время кровотечения у крыс через 60 минут после внутрибрюшинного введения супрамолекулярных комплексов. (M±m; n=5)

№	Препарат	Время кровотечения		
		сек.	%	P
1	Контроль, мг/кг	360±20	100	-
32	ГК:Л; 2:1, мг/кг	160±13	45	<0,01
33	МАСГК: Л; 2:1, мг/кг	85±61	24	<0,01
34	ГК:Л; 4:1, мг/кг	165±14	46	<0,01
35	МАСГК:Л; 4:1, мг/кг	100±10	28	<0,01
36	ГК:Л; 9:1, мг/кг	185±16	51	<0,01
37	МАСГК:Л; 9:1, мг/кг	120±12	33	<0,01

Для субстанции «Глилагина» разработан проект ВФС, проведены необходимые доклинические фармако-токсикологические и специальные эксперименты по изучению гемостатической активности.

На основании полученных результатов по субстанции «Глилагина» разработан состав лекарственной (перорально, таблетки по 0,005г) формы «Глилагина». Проведены все требующиеся стандартные эксперименты для создания проекта временной фармакопейной статьи (ВФС).

Применение пероральных лекарственных форм (л/ф) для остановки паренхиматозных кровотечений во многих случаях не эффективно из-за длительности времени достижения желаемого гемостатического действия. Поэтому, обычно используют внутривенные формы препаратов. В Республике производится единственный водорастворимый кровоостанавливающий препарат для внутривенного применения Лагоден (производный Лагохилина). Но способ его получения требует большие энергетические затраты, применения дорогостоящих растворителей, катализаторов и состоит из пяти стадий синтеза с низким выходом конечного продукта (10-12% от исходного). Поэтому актуальным является вопрос создания водорастворимого, эффективного, недорогого гемостатика на основе лагохилина. При этом технология получения субстанции препарата должна быть простой, непожароопасной и недорогой.

Известно, что многие разрешенные к применению в медицинской практике полимерные носители лекарственных средств изменяют физико-химические свойства основной субстанции, в частности они усиливают их водорастворимость. Одним из таких веществ является N-поливинилпирролидон (ПВП).

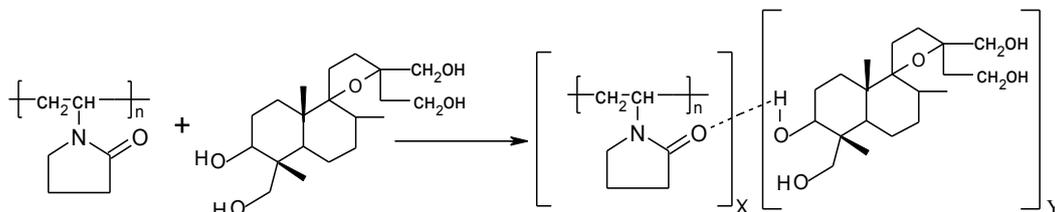


Схема 5. Получение супрамолекулярных комплексов лагохилина с N-поливинилпирролидоном

Низкомолекулярный ПВП, в виде раствора применяется в качестве детоксиканта и выводится из организма в течение 2-3 дней полностью. Нами был использован низкомолекулярный ПВП с м.м. 8000 ± 2000 Д. Комплексы получали по схеме 5. Получены супрамолекулярные комплексы поливинилпирролидона с лагохилином в соотношениях 1:5, 1:10, 1:15 и 1:20. Но из них более устойчивым и более активным оказался комплекс в соотношений 1:15 (таб-7). Новый супрамолекулярный комплекс Лагохилина с ПВП, условно названный нами «Лаговин» («лаго» - из слова «лагохилин», «вин» - из слова винилпирролидон), объединил в себе все положительные свойства компонентов - обладает комплексным терапевтическим действием и не уступает по гемостатической эффективности Лагодену и Дицинону. Физико-химические параметры

приведены в таблице 7. Кроме того, получение Лаговина является технологически довольно простым, а выход конечного продукта более 90%.

Таблица 7

Некоторые физико-химические свойства комплексов ПВП с лагохилином

№	Комплекс	T пл °С	Растворимость в воде %	ИК см ⁻¹	Выход %
38	ПВП:Л 5:1	95-96	100 не устойчив	1666 C=O, 2960 C-N 3436-3422 –ОН	95-97
39	ПВП:Л 10:1	96-97	100 не устойчив	1661 C=O, 2951 C-N 3431-3426 –ОН	94-96
40	ПВП:Л 15:1	98-100	100	1662 C=O, 2955 C-N 3435-3420 –ОН	92-95
41	ПВП:Л 20:1	99-100	100	1667 C=O, 2958 C-N 3433-3428 –ОН	91-94

Фармако-токсикологические испытания субстанции и лекарственной формы проведены в лаборатории Фармакологии ИБОХ АН РУз, а биохимические эксперименты на кафедре Биохимии биологического факультета НУУз под руководством д.б.н. проф. Далимовой С.Н.

Стимулирование процесса свертывания крови и плазмы в опытах *in vitro* было исследовано при различных концентрациях Лаговина (табл. 8). Приведенные данные показывают, что при оптимальной концентрации (0,5%) Лаговин активизирует I и II фазы свертывания крови.

Таблица 8

Время свертывания цельной крови и плазмы при добавлении к ней препарата Лаговин (M±m; n= 6)

Препараты	Концентрация, %	Время свертывания, сек.		
		1мл крови +0,1мл препарата	0,1мл плазмы + 0,1мл CaCl ₂ + 0,1мл препарата	0,2мл плазмы + 0,2мл препарата
Физ. Раствор	0,9	150,0±10,0	110,0±6,5	Не свернулась
CaCl ₂	0,0277	-	-	78,0±6.6
Лаговин	0,1	100,0±10,0*	78,0±6,5*	Не свернулась
Лаговин	0,5	75,0±5,0*	60,0±4,0*	65,0±5,0
Лаговин	1,0	165,0±16,0	75,0±5,0*	96,0±8,0

*P < 0,01 по отношению к контролю

В седьмой главе диссертации «Стандартизация субстанций и лекарственных форм гемостатических препаратов» приводятся результаты по разработке и стандартизации лекарственных средств, субстанции и лекарственных форм. На этапе стандартизации субстанции «Глилагин» была учтена особенность химических свойств молекулы действующего вещества - Лагохилин. Лагохилин представляет собой дитерпеноид с четырьмя гидроксильными группами, но не имеющий в своем составе ярко выраженной хромофорной группы и это создает, в свою очередь, затруднение при его количественном определении стандартными спектральными методами. Исходя из этого, совместно с сотрудниками ИХРВ АН РУз, был разработан метод его количественного определения ПМР- спектроскопией.

Теоретические расчеты показывают, что содержание лагохилина в субстанции равно 17,18%. Методом ПМР спектроскопии было определено содержание лагохилина в препарате «Глилагин» равное $17,5 \pm 1,13\%$, что хорошо согласуется с теоретическими выкладками. Однако ПМР спектроскопия не используется в фармакопейном анализе и, исходя из этого, был предложен биологический метод количественного определения. Было установлено, что препарат в терапевтической дозе должен останавливать капиллярное кровотечение в интервале 60-100 сек и уменьшать время кровотечения в 4-5 раз быстрее по сравнению к контролю.

Была разработана технологическая схема получения субстанции «Глилагин». Выход конечного продукта по предложенной схеме составил 93-97% от теоретического. Полученные результаты по хроматографическому анализу показывает, что субстанция «Глилагин» не содержит следов органических растворителей.

Одним из важных показателей конечного продукта является определение остаточного количества органических растворителей использованных в процессе его получения. Этот анализ проводили на приборе ГХ Clarus-400 Perkin Elmer (США) (рис. 6).

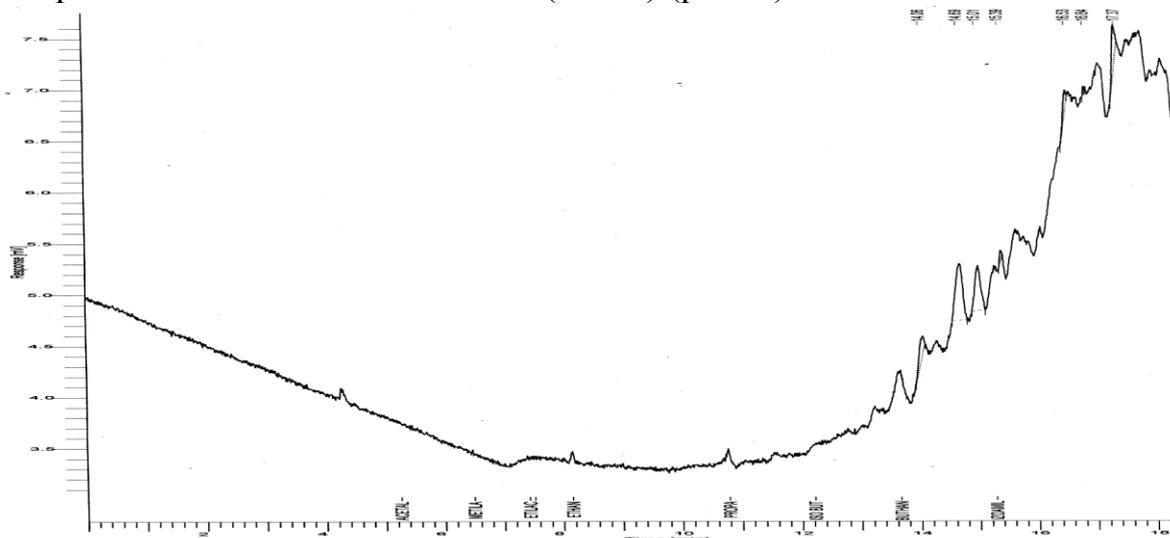


Рис 6. Хроматограмма субстанции Глилагина

По итогам исследования фармакологических свойств субстанции, совместно с доцентом Ташкентского фармацевтического Института А.М Усуббаевым, разработана лекарственная форма «Таблетки Глилагин 0,005».

Состав таблеток (масса таблетки – 0,1 г.):

Глилагин – 0,005 г., Микрористаллическая целлюлоза – 0,082г, Крахмал картофельный - 0,012г, Кальция стеарат – 0,001 г,

Разработан и утвержден (совместно с ООО «Tash Farm A.I.») промышленный регламент производства таблеток Глилагина. Разработаны проекты ВФС на субстанцию и л/ф, проведены доклинические фармако-токсикологические исследования, и решением Фармакологического комитета Главного Управления по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники МЗ РУз («ГЛИГ №84/6.П/62.Уз.2012/381»), препарат направлен на клинические испытания в следующих лечебных учреждениях МЗ РУз:

1. Институт гематологии и переливания крови;
2. 3-ая клиника Ташкентской Медицинской Академии;
3. 7-Ташкентская городская клиника.

Полученные положительные отзывы и заключения по гемостатической активности препарата «Таблетки Глилагин 0,005» переданы в Фармакологический Комитет.

Для количественного определения субстанции «Лаговин»а также был выбран метод ПМР- спектроскопии. Спектральные данные показали, что субстанция содержит $6,1 \pm 0,3\%$ д/в (теор. содер. 6,25%). Учитывая вышеизложенные соображения, в качестве фармакопейного метода также был предложен биологический метод количественного анализа Лаговина. Было установлено, что препарат в терапевтической дозе должен останавливать капиллярное кровотечение в интервале 70-90 сек и уменьшать время кровотечения в 4-5 раз по сравнению с контролем.

Разработана технологическая схема получения субстанции «Лаговин», которая позволяет получить продукт с выходом 93-95%, от теоретического.

Состав лекарственной формы Лаговина (0,15% раствор):

Субстанция - 1,5 г, вода для инъекции – до 1л

Проведены полные доклинические фармако-токсикологические исследования препарата, подобрана доза л/ф (Лаговин 0,15% раствор). Разработаны ВФС для субстанции и лекарственной формы «Лаговина». В 2012 году на базе ЧП «Иммуномед» осуществлен розлив препарата в количестве 2500 ампул, в 2016 году в АО «Узхимфарм» проведен розлив в количестве 6000 ампул.

На основе проведенных исследований по изучению физико-химических свойств Лаговина была разработана спецификация л/ф препарата. После успешных испытаний на базе Научно-исследовательского



Института Гематологии и переливания крови МЗ РУз, препарат Лаговин решением ГУККЛС и МТ МЗ РУз ЛАГВ № 71/2.ПС/66.Уз.2015/660. проходит 2-ой этап клинических испытаний в Республиканском Научном центре онкологии и в Городском Онкологическом диспансере.

Разработанный препарат Лаговин не уступает по эффективности Лагодену, действует в относительно малой дозе и отличается высокой технологичностью получения.

На основе разработанной технологии получения ТГК разработана субстанция противовоспалительного препарата Глицирам. Разработана спецификация на субстанцию и лекарственную форму «Таблетка Глицирам 0,05г». Получено разрешение Фармакологического Комитета на проведение клинических испытаний по ограниченной программе на базе кафедры «Факультетской и госпитальной терапии» лечебного факультета Ташкентской медицинской академии МЗ РУз. Положительный отчет ТМА передана в Фармакологический Комитет МЗ РУз для получения разрешения на промышленный выпуск препарата. Разработан и утвержден Промышленный регламент «Таблетки Глицирам 0,05г».

ВЫВОДЫ

1. Впервые с использованием катализаторов синтезированы ароматические ацетали лагохилина. Показано, что при наличии в ароматическом кольце гидроксильных групп в качестве катализатора необходимо использовать безводный сульфат меди, а для алкоксильных групп - серную кислоту.

2. Определена взаимосвязь активности ацетильных и изопронилиденовых производных лагохилина от природы заместителей и числа свободных гидроксильных групп. Установлено, что замещение двух из четырёх гидроксильных групп молекулы лагохилина на ацетильные группы не влияет на кровоостанавливающую активность, однако полное замещение приводит к потере гемостатической активности.

3. С использованием методов супрамолекулярной химии получены комплексы лагохилина с глицирризиновой кислоты и ее солями. Структурные особенности супрамолекулярных комплексов охарактеризованы ИК-, ЯМР- спектрами и методами математического моделирования, определены некоторые физико-химические константы.

4. Определением реологических свойств водных растворов супрамолекулярных комплексов показано, что они образуют мицеллы различного строения, которые стабилизированы за счет гидрофобно-гидрофобных взаимодействий и водородных связей.

5. Разработана технология получения технической глицирризиновой кислоты из корня солодки, на основе которого получена субстанция противовоспалительного препарата. Проведены стандартизация субстанции и лекарственной формы «Глицирам». Разработана и утверждена ВФС, проведены клинические испытания препарата.

6. Сравнительная оценка гемостатического действия супрамолекулярных комплексов лагохилина с ГК и её солей показала высокую активность комплекса МАСГК: лагохилин (Глилагин) при соотношении 2:1.

7. Проведены полные доклинические фармако-токсикологические исследования субстанции и лекарственной формы препарата «Глилагин». Разработаны проекты ВФС, утвержден промышленный регламент на лекарственную форму.

8. Получены водорастворимые комплексы лагохилина с N-поливинилпирролидоном. Установлено, что наиболее активным и стабильным в растворе является комплекс в соотношении 1:15 (Лаговин).

9. Разработаны гемостатические препараты: «таблетки Глилагин-0,005г» для перорального применения и «0,15% раствор Лаговин» для внутривенного введения, получены 2 патента на изобретение. Эти препараты разработаны на основе местного сырья и рекомендуются в качестве гемостатиков для остановки паренхиматозных кровотечений.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREE OF
DOCTOR OF SCIENCES 14.07.2016.K/B/T.13.01 AT THE INSTITUTE OF
BIOORGANIC CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF
UZBEKISTAN, THE INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT
SUBSTANCES**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

MATCHANOV ALIMJON DAVLATBOEVICH

**SYNTHESIS OF THE DERIVATIVES OF LABDANE DITERPENOIDS,
GLYCYRRHIZIC ACID, AND THE DEVELOPMENT OF EFFECTIVE
HEMOSTATIC DRUGS**

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

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

Tashkent – 2017

The subject of doctoral dissertation is registered by №30.09.2014/B2014.5.K74 at Hidger Attestation Commission under Cabinet of Ministers of Republic of Uzbekistan.

Doctoral dissertation is carried out at the Institute of Bioorganic Chemistry.
The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English) is placed on web page to address information-educational portal «ZiyoNet» to address www.ziyo.net/uz

Scientific consultant: **Dalimov Davranbek Nigmanovich**
doctor of chemical sciences, professor

Official opponents: **Azizov Umarxon Muxtarovich**
doctor of chemical sciences, professor

Dusmatov Aziz Fayzamatovich
doctor of pharmaceutical sciences, dotcent

Abdulladjanova Nodira Gulomjanovna
doctor of chemical sciences

Leading organization: **Tashkent Pharmaceutical Institute**

Defence will take place on «___» February 2016 at ___ at meeting of the Scientific council 14.07.2016./K/B/T.13.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan, the Institute of the Chemistry of Plant Substances at the following address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63.

Doctoral dissertation is registered in the information centre at institute of Bioorganic Chemistry which is available 100125, Tashkent, Mirzo-Ulugbek str., 83.Ph.: 262-35-40, fax: (99871) 262-70-63. e-mail: asrarov54@mail.ru

Abstract of the dissertation sent out on «___» February 2017 y.
(mailing report №___ on ___ February 2017 y.)

Sh.I.Salikhov

Chairman of scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.B.S., akademik

M.I.Asrarov

Scientific secretary of scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.B.S., professor

A.A.Akhunov

Chairman of scientific seminar under scientific council on award of scientific degree of doctor of sciences, D.B.S., professor

INTRODUCTION (annotation to the doctoral thesis)

The topicality and relevance of the dissertation topic. Today, in the world of surgery with stoppage of diffuse bleeding atients of 30% of cases lead to fatal end. According to statistics, each year about 30 million people on Earth die with various bleeding. Prevention of leeding in the early postoperative period, with complex surgical interventions requires expensive hemostatic agents. Analysis of the literature indicates that still there is no effective l hemostatic agents for topical and intravenous use, which could be used with sufficient guarantee of the effect of reliability. All this demonstrates the needs for further searches for hemostatics with of general and topical actions.

In the years of Independence of our Republic solving problems of development and implementation of effective medicinal preparation on the basis of local plant raw material, performed by an expanded high-level events have led to certain results. On the basis of this low molecular weight natural compounds have been created effective drugs, in particular: antiarrhythmic «Allapinin», hemostatic «Lagoden», anti-nicotinic drug «Tabeks» «Anabasine hydrochloride» antiherpetic «Megosin», antiviral drug «Ragosin» and others. Although most of these natural substances possess high biological activity, but development of promising drugs on the basis of these agents is limited due to their adverse properties such as toxicity, high dose, poor water solubility, low availability, etc.

Today in the world, on the basis of biological active plant substances, including the development on the basis of labdane diterpenoids and triterpenoids new hemostatic agents has become a topical task. Production of supramolecular complexes of glycyrrhizinic acid and its salts diterpenoid lagohilin, to create new hemostatic agents based on lagochilin, synthesis and determination of biological activities of labdane diterpenoids, determining the rheological properties, the study of the structure-activity to search for new potential bioactive natural compounds; evidence of the mechanisms of action of hemostatic agents is relevant.

This dissertation research serves to a certain extent the tasks provided for the Resolution of the President of the Republic of Uzbekistan N PR-916 from 15 July 2008 yare "On additional measures to stimulate innovative projects and technologies in production", as well as other legal documents adopted in this area .

Compliance of the research to the priority areas of science and technology in the Republic.

This study was performed according to the priority directions of development of science and technology of the Republic VI. "Medicine and Pharmacology".

Review of foreign scientific research on the topic of the thesis.¹ Research aimed at the search, isolation of biologically active terpenoids from plants, determination of structure activity and development effective hemostatics on their basis are carried out in the leading research centers and higher educational

¹ <http://lektrava.ru/encyclopedia/zaytsegub-oppanyayushchiy>, <http://floruz.uz/content/lagochilus-pubescens-vved>. <http://www.niscair.res.in> / Science Communication / Abstracting Journals.

institutions of the world, including the Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University, (USA), University of Mansoura (Egypt), Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (China), the Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Russia), Institute of Chemistry of Plant Compounds, and National University (Uzbekistan).

As a result of research carried out in the world on a search, isolation of biologically active terpenoids from plants, determination of structure activity and development effective hemostatics on their basis (Department of Pharmacy Practice, Southwestern Oklahoma State University); studied hemostatic properties of n-butyl-2-cyanoacrylate and used in oral and maxillofacial surgery, without changing the level of anticoagulation (University of Mansoura, Egypt); The chemical composition of plants *Lagochilus ilicifolius*, 10 compounds have been isolated, identified by spectral analysis, of which three compounds were isolated for the first time those were not previously found in the composition of plants in the genus *Lagochilus* (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine); investigations of triterpene saponins from licorice plant, creating molecular complexes based on HA and its derivatives, and various flavonoids licorice plants (VILAR) are being carried out; determination of physical and chemical, as well as spectral properties of saponins and flavonoids from licorice root, standardization of raw materials and preparations are also engaged (Samara State Medical University).

In the world for the search, isolation of biologically active terpenoids from plants, determination of structure activity and development of effective hemostatics on their basis on a number of priorities are conducted studies, including synthesis and determination of biological activities of labdane diterpenoids structure activity study to find new potential bioactive natural compounds; the study of the rheological properties of biologically active complex compounds; study the mechanisms of action of hemostatic agents.

The degree of knowledge of the problem. Plants of genus *Lagochilus* has long been famous for their valuable therapeutic properties and are among the most well-known medicinal plants of the East. One of the most common species of the genus *Lagochilus* is *Lagochilus inebrians* «*Lagochilus* intoxicating». It has been established that it comprises a main active ingredient – lagochilin. However, unsustainable use of wild stocks of *Lagochilus* led to the fact that currently the plant included in the Red Book.

Search, study of structure and biological properties of di- and triterpenoids extracted from plant and animal origins were carried out by foreign scientists such as H.A. Scheraga, M. Khalili, A. Liwo, Y. Zhang, R.F. Murray, H.W. Harper, D.K. Granner, P.A. Mayes and A.F. Gammerman.

In the CIS countries, studies related to the composition and biological activity of lagochilin derivatives from the plants of the genus *Lagochilus inebrians* as a whole are conducted by scientists S.P. Botkin, I.P. Pavlov, and G.V. Lazurevskiy. The school of G.A. Tolstikov as a head is actively working on the study of complex compounds based on glycyrrhizinic acid and its salts, physical

and chemical characterization and mechanisms of action of the obtained compounds.

Plant *Lagohilus* intoxicating subjected to thorough chemical analysis thanks to the works of scientists I.E Akopov, A.S. Sadykov, T.P. Pulatova, M.I. Ikramov, I.I. Ibragimov, T.R. Abduraxmanov, S. Auelbekov., M.M. Abramov, U.N. Zaynutdinov, D.N. Dalimov. It is shown that the leaves and flowers of the plant *Lagochilus* contain diterpenoid – lagochilin. Lagochilin content in above-ground organs of the plant is distributed unevenly. Most of it is in the leaves (1.98%), reproductive organs (0.84-1.87%) and the least in the stems (0.15% of the absolute air-dry plant mass).

On the basis of lagochilin derivative, an effective domestic water-soluble hemostatic drug «Lagoden», a sodium salt of lagochirzinic acid, has been developed. Currently, hemostatic drugs are not produced in the Republic. The main arsenal of hemostatic treatments are imported.

Relation of dissertation topic with the research works of research institutions where the work was done. The dissertation research has been carried out within the framework of the plan of research works for applied projects of the Institute of Bioorganic Chemistry in accordance with, the State scientific and technical program. P-15.20 «Creation and development of intravenous hemostatic - Lagovin from local herbs» (2003-2005), A-10-053 «Creation and development of hemostatic drug, in the form of absorbable collagen film, having a topical effect» (2006-2008), FA-A12-T175 «Development of technology of drug forms of an anti-inflammatory drug «GLAS», a topical haemostatic preparation «Glilagin» and an haemostatic for intravenous administration (2009-2011), IFA 2012-6-4 «Mastering of technology for obtaining of haemostatic – «Lagovin» for intravenous, clinical trials and production of a pilot batch» (2012-2014), and FA-I11-TO11 «Mastering of technology for the production of haemostatic – Glilagin and development of technical conditions for obtaining of lagochilin» (2015-2016).

The aim of the study is the synthesis of labdane diterpenoid derivatives, supramolecular complexes on the basis of glycyrrhizic acid and its salts, low molecular weight polymeric carrier, the study of physical and chemical properties and the development of new hemostatics.

Research Tasks:

isolation and purification of diterpenoid lagochilin from the plant *Lagohilus* intoxicating, chemical modification and the study of physical and chemical characteristics;

isolation and purification of glycyrrhizic acid (GA) from the plant *Glycyrrhiza Glabra*, the development of experimental-industrial regulations for obtaining of monoammonium salt of glycyrrhizic acid (MASGA) of 80% purity and the production of an experimental batch;

obtaining supramolecular complexes of lagochilin with GA and MASGA in various ratios and the study of physicochemical and spectral characteristics, rheological properties of aqueous solutions, depending on the ratio of forming complex components to determine the nature of the forces of interaction between the components in an aqueous medium;

study of hemostatic properties of the synthesized derivatives of lagochilin and supramolecular complexes to reveal the dependence structure - activity, structure - the ratio of the main components of supramolecular complexes and transfer the most active ratios for the depth pharmacotoxicological studies;

determination by the methods of calculation chemistry the most probable structures of the studied compounds (mathematical modeling of the structure of Glilagin);

development of the projects of laboratory and experimental-industrial regulations of the technology for obtaining of the hemostatic substance «Glilagin» and hemostatic substance for intravenous use «Lagovin»;

standardization of hemostatic substances «Glilagin» and «Lagovin», development of a dosage form for oral administration (tablets) «Glilagin» and for intravenous «Lagovin».

development of the projects of temporary pharmacopeia articles (TPA) for the substances, dosage forms of hemostatics «Glilagin» and «Lagovin» and their transfer to the Chief Directorate for quality control of medical drugs and medical equipment Ministry of Health of Uzbekistan.

preparation of technical documentation for authorization and conducting of clinical trials in hospitals of Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan as original hemostatic agents.

The objects of research are plants *Lagochilus Inebrians* and *Glycyrrhiza Glabra*. Glycyrrhizic acid, lagochilin and its acetylic, benzylidenic and isopropylidenic derivatives, N-polyvinylpyrrolidon, supramolecular complexes.

The subject of research is the physicochemical, rheological properties, biological activity and standardization of dosage forms of glycyrrhizic acid, its salts, and the creation of hemostatic agents.

Methods of research. In the thesis were used methods of extraction, high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) for the isolation and purification of individual di- and triterpenoids; for the determination of the chemical structures of the new compounds were applied physicochemical methods of research, including UV, IR and NMR spectroscopy, quantum-chemical calculation methods using Chem Office 9.0 software packages and Hyper Chem; for the standardization were applied pharmacopeia methods of quality control of medicines and biological methods.

The scientific novelty of the work is as follows:

New aromatic acetals of lagochilin have been synthesized and the influence of catalysts on the yield of end product has been shown;

Hemostatic activity relationships of acetyl and isopropylidene derivatives of lagochilin depending on the nature of substituents and the number of free hydroxyl groups were determined.

received supramolecular complexes of glycyrrhizic acid and monoammonium salt of glycyrrhizic acid with lagochilin;

the structure, stability and thermodynamic properties of supramolecular complexes of glycyrrhizic acid and its salts with lagochilin in aqueous solutions

were studied. Substantial dependence on the ratio of the complex forming components and the chemical structure of the guest molecule were determined;

proved inclusion of drug (guest molecules, in particular, molecules of lagochilin) to a micelle, which typically takes place with an energy gain of enthalpy of formation;

determined entropy of the system (self-organization of micellar structures) depending on the structural and functional features of the guest molecule, which has a stabilizing effect on the process of structuring of the micelles consisting of glycyrrhizic acid molecules.

Practical results of the investigation. Developed two new hemostatic drugs and substances developed their drug formulations in the form of oral (tablets) and intravenous (2 ml ampules of 0.15% solution) application. The pilot batches of the substances of «Glilagin» and «Lagovin» have been implemented. The production of experimental batches of dosage forms of «Tablets Glilagin-0,005g» and «0.15% solution of Lagovin» have been organized. Permissions for the clinical trials of the hemostatic Lagovin in the intravenous form (0.15% solution) and Glilagin (tablets) have been obtained. Production of the intermediate technical product to produce glycyrrhizic acid has been set.

The reliability of the obtained results is confirmed by the fact that they are obtained with the use of modern physicochemical methods of research. Confirmation of the obtained results are proved by the experts evaluations, and by practical implementation of the research results, discussion of the research results at national and international conferences, and the publication of the research results in peer-reviewed scientific publications and by obtaining patents.

The scientific and practical significance of the results of investigation. The scientific significance of the results of investigation is that a number of derivatives of lagochilin and glycyrrhizic acid have been isolated and studied, new supramolecular complexes on their basis have been synthesized. The biological activity of the lagochilin derivatives and the dependence of the activity on the chemical structure have been studied. Their identification and structure elucidation by the physicochemical and calculation methods. Studying the rheological properties of the complex compounds found that micellar states of complex compounds are stabilized by hydrophobic-hydrophobic interactions and hydrogen bonds.

The practical significance of the work is that based on synthetic supramolecular complexes effective domestic hemostatic agents «Glilagin» and «Lagovin» have been developed ". Laboratory and industrial regulations and TPA projects of the substances «Glilagin» and «Lagovin», «Tablets Glilagin-0,005 g» and «Lagovin 0.15% solution» have been developed, which are used for industrial production of hemostatic agents.

Implementation of the research results:

on the basis of the results obtained from scientific investigations on isolation of biologically active terpenoids from plants, determination of structure activities and development of effective hemostatics on their basis:

developed local hemostatic Lagovin for intravenous usage and received a patent for the invention of the Republic of Uzbekistan on Intellectual Property Agency (04.12.2013, № IAP 04806), which is used in the pharmaceutical industry to create an effective domestic hemostatic in medicine. As a result of the investigation the obtained hemostatic was used as the main component for creating a drug for intravenous administration which is undergoing clinical trials. Bottling the drug was performed on the base of «Uzhimfarm» joint-stock company (bottling Act of 02.15.2016);

hemostatic collagen film on the basis of Glilagin, having hemostatic and tissue regenerating activities have been created and received a patent for the invention of the Republic of Uzbekistan on Intellectual Property Agency (13.10.2015, № IAP 05109), which was used in surgical interventions of various etiologies. As a result the investigation the developed local medicinal form was used for the prevention of vascular and capillary bleeding;

Temporary Pharmacopeia article on glyceram preparation substance has been developed and approved (18.10.2013. TPA 42 Uz 2369-2013). Clinical trials of «Glyciram tablets 0.05 g» as an anti-inflammatory drug have been carried out. The obtained preparation will enable to substitute imported drugs with the same action in the Republic of Uzbekistan.

Approbation of the results of investigation. The results of the investigation were set out in the form of lectures and were presented on 7 national and 5 international conferences, including 9th Pushchino School-Conference for Young Scientists «Biology is the Science of XXI Century» (Pushchino city, 2005); «6th International Symposium Chemistry of Natural Compounds» (Anqara, 2005); in Materials of scientific-practical conference «Modern problems of biochemistry and endocrinology» (Tashkent, 2006); Republican scientific-practical conference «Actual problems of biology, ecology and soil science» (Tashkent, 2006); International conference on «Actual Problems of Chemistry of Natural Compounds» (Tashkent, 2009); All-Russian Conference on Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences Institute of Organic Chemistry (Moscow, 2009); International Conference «Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine», (Saint-Petersburg, 2011); «International Symposium Chemistry of Natural Compounds» (Urumqi, 2011); 6th All-Russian Conference «Clinical Hemostasis and hemorheology in Cardiovascular Surgery», (Moscow, 2013); International conference «Actual problems of development of Bioorganic Chemistry» (Tashkent, 2013);

Publication of the research results. In total 40 papers have been published on the thesis theme. Of these, 11 scientific papers, including 9 in national and 2 in international journals recommended by the Higher Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan for the publication of basic scientific results of doctoral theses, received 2 patents for invention, 2 industrial regulations and 1 TPA.

The structure and volume of the thesis. Structure of the thesis consists of introduction, seven chapters, conclusion, list of references, and appendixes. The volume of the thesis is 182 pages.

THE MAIN CONTENT OF THE WORK

In the introduction the urgency and relevance of the study, the purpose and objectives of the study are described and is characterized by the object and the subject, compliance of the research indicated by the priority areas of Science and Technology of the Republic are shown, the scientific novelty and practical results of the study are revealed, the scientific and practical significance of the results, implementation of the results research, information on published works and the thesis structure are given.

In the first chapter of the thesis titled «**The chemical composition of plants of the genus Lagochilus**» an overview of published data on species of Lagochilus plants, vegetation, and chemical composition are provided. Chemical modification techniques and isolating the lagochilin are also described. Data on the plant Licorice, licorice root, chemical composition, the main active principles of licorice GA and its salts are also provided. Chemical transformation, the biological activity of the derivatives of GA, structure. One chapter is devoted to the discussion of various applications of hemostatics, briefly about the mechanisms of their action.

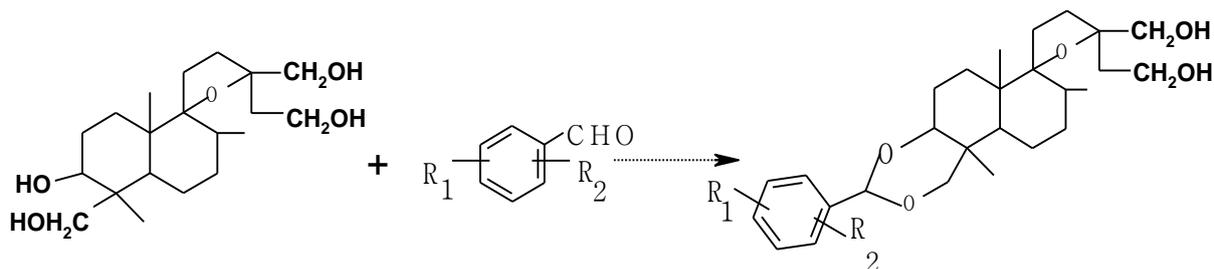
In the second chapter of the thesis titled «**About hemostasis system and hemostatic preparations**» is given reference data about hemostasis system, system failure, about hemostatic preparations and their mechanisms of action.

In the third chapter of the thesis “**Material conditions and modern research methods, biological activity**” are given methods, materials, reagents used during carrying out of dissertation work. Instruments and systems used for the identification by the method of thin-layer chromatography.

In the forth chapter of dissertation “**Isolation Lagochilin, GA and its salts, synthesis derivatives of Lagochilina**” is given investigation on isolation of lagochilin diterpenoid from the plant Lagochilus Inebrians. There are enough data in the literature about isolation of lagochilin based on followed extraction by ethyl alcohol, dichloroethane and water. For the basis we have taken isolation method of lagochilin with dichloroethane, primary basic treatment of plant, which was improved. Improving of the method was in the usage of dichloroethane 13-14 times without regeneration, whereas 10 or 11 times were the optimum for the usage. This saved electricity, amount of solvent, total time and the yield of end technical product. Lagochilin is re-crystallized from the acetone and during re-crystallization from different solvents can be obtained two kinds of crystals of lagochilin, anhydrous and monohydrated forms. X-ray data was obtained in the laboratory of physicochemical methods of analysis lead by professor Ibragimov B.T.

Improvement of the method lies in the fact that dichloroethane was used 13-14 times without regeneration and the most optimum was the use of the solvent without regeneration of 10 or 11 times. Thus, there is an energy, the amount of solvent, the total time of extraction and the yield of desired final product are saved. Lagochilin is recrystallized in acetone and recrystallization in various solvents can give two kinds of crystals of lagochilin: a) anhydrous and b) monohydrated forms. X-ray diffraction data were obtained in the laboratory of physicochemical methods

of analysis led by Professor Ibragimov B.T. Monocrystal of lagochilin as a monohydrate was obtained from mixtures of solvents: acetone: toluene: ethanol. A single crystal structure was studied by X-ray diffraction (XRD).



where R_1 and R_2 - OH, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-Br$. (II.1- II.8)

Scheme 1. The general scheme of the synthesis of the aromatic acetals of lagochilin

Table 1

Some physicochemical characteristics of 3,18-benzylidene-15,16-dioxy-9,13-epoxylabdans

№	Ar	Rf	Catalyst	$T_{melt.} C^{\circ}$	Yield %
2		0,73	H_2SO_4 (conc.)	-	55
3		0,26	H_2SO_4 (conc.)	-	60
4		0,50	$CuSO_4$ (anhydrous)	136-137	35
5		0,38	$CuSO_4$ (anhydrous)	138-139	27
6		0,45	$CuSO_4$ (anhydrous)	150-151	25
7		0,41	$CuSO_4$ (anhydrous)	167-168	30
8		0,40	$CuSO_4$ (anhydrous)	173-174	36

* System: methanol: acetone (2: 1)

Syntheses on basis of lagochilin with aromatic aldehydes, logically changing the structure have not been studied so far. It was therefore interesting to study the reaction of lagochilin with a number of aromatic aldehydes and reveal the conditions of synthesis of the main product. It was shown that the synthesis of the aromatic acetals of lagochilin containing different alkoxy groups as substituents on the aromatic ring of the feasibility of the use of concentrated H_2SO_4 as catalyst but when the substituents are OH groups – anhydrous copper sulfate.

All the obtained aromatic acetals of lagochilin were purified by column chromatography. The structure of the synthesized compounds were confirmed by IR and NMR spectra. Some physicochemical characteristics are shown in Table 1.

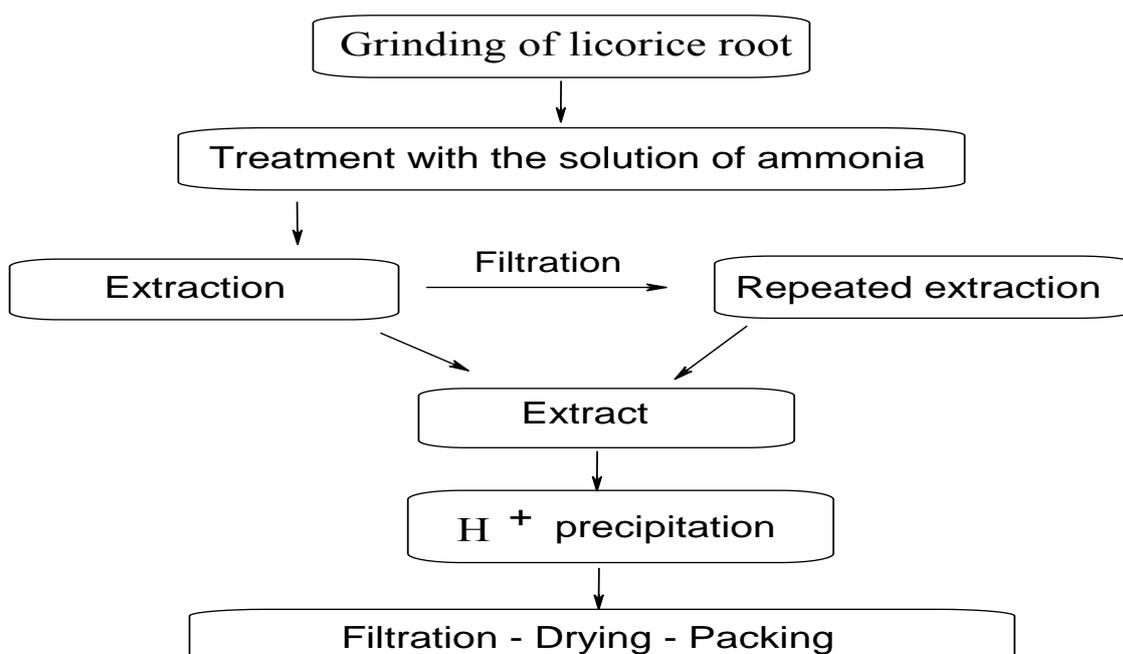
In the IR spectra of the synthesized compounds in the 3300-3400 cm^{-1} ranges a broad band fluctuations attributable to the stretching vibrations of hydroxyl groups at positions of 15,16 of the molecules of lagochilin that participate in the formation of inter- and intramolecular hydrogen bonds were detected, and the valence vibrations of hydroxyl groups of phenolic compounds found in the vicinity of 3200 cm^{-1} (compounds 4-8).

In the ^1H -NMR spectra of 4-8 compounds there are singlet signals of protons of methyl groups at C8 and C10 in the range of 0.80-0.90 ppm, and the signals of protons of methyl group at C4 of the molecule of lagochilin in the range of 1 ppm. In the range of 3,4-4 ppm the signals of protons of $-\text{OCH}_2$ groups at C15, C16 and C18, and in the region of 5.5 ppm - Quaternary proton signals of CH group were detected.

Next acetyl derivatives of lagochilin were synthesized. There are much data in the literature about the synthesis of tetra acetyl derivative of lagochilin. But very little is known about the synthesis of mono, di and three acetyl derivatives, they were mostly isolated from plant sources. Therefore, the synthesis method of tetra acetyl derivative and gradual hydrolysis of the product obtained as well as their separation by column chromatography were investigated.

The efficacy and bioavailability of the majority of biologically active substances is shown in the aquatic environment (human body consists of 60-75% of the structured water), so it was important to highlight except isolation the preparation of salts, derivatives of GA to find out the fundamental issues of physicochemical characteristics of aqueous solutions of synthetic supramolecular complexes. The results of these studies can serve as the main basis of high-tech development of effective hemostatics having wide spectrum of action.

As above mentioned, in order to increase the bioavailability of a biologically active substance different chemical methods are used: obtaining of the relevant salts (if it does not affect the basic biological function of the substance); covalent or non-covalent modification with accessible permitted in medical practice polymeric transport agents; obtaining supramolecular complexes with low molecular weight carriers (ligands) such as cyclodextrins, crown ethers, and in the last decade, natural amphiphilic compounds, in particular the GA and its salts are widely used. As a carrier for the production of new medicinal (transport) forms of known drugs (non-steroidal anti-inflammatory agents, prostaglandins, uracils) and other biologically active substances 18β - glycyrrhizic acid has been proposed. The premise of this approach is the idea of the obligatory presence in the structure of a complex forming agent both in hydrophilic (binding the primary drug) and hydrophobic (responsible for transport) parts. Since our object is lagochilin and synthesized by us isopropylidene, benzylidene and acetyl derivatives are poorly soluble in water. Therefore, as a solubilizing agent, we selected GA and some of its mono salts (ammonium, potassium, lithium).



Scheme 2. The technological process of isolation of TGA from licorice root

Based on the above mentioned, in the beginning, we will discuss methods for isolating GA purification technology, selection of synthesizing GA salts and obtaining of supramolecular complexes with lagochilin. To the methods of isolation of GA from licorice root are devoted many papers. The main essence of those lies in the fact that in the initial stage of the process high quality extract is obtained, and the process and condensation until the latter desired condition are studied. A method of obtaining crude technical product of not thickened extract was approved by deposition with sulfuric acid to give technical GA (TGA) with the yield of 9-11% and with the content of GA varying from 25% to 45%.

Some physicochemical characteristics of TGA are shown in Table 2.

Table 2

Some physicochemical characteristics of TGA

№	The name of indicators	Analysis data
1	Appearance	Amorphous - solid coarse powder with dark brown colour
2	Taste	Sugary-sweet with a bitter taste
3	Quantitative content of GA in %	40,0±5,0 %
4	Moisture %	5,5±1,5
5	Common ash in %	11,4±0,7

For TGA jointly with «Agro Bio Kimyo» Ltd. developed «TC 19783536-02: 2013» TGA. 1.5 tons of TGA product were obtained by this technology in the «Bahodir & K» privately owned company, which is specialized on processing of licorice root in Beruni city of the Republic of Karakalpakstan.

Technological process of obtaining GA and its salts from TGA consists in extraction of GA on acetone solvent, followed by precipitation in the form of its tri-substituted salts and acid hydrolysis mono-substituted salts with a purity of 72-

75% are obtained. The obtained GA and its salts were characterized by physicochemical and spectral data. Table 3 summarizes some of their physicochemical characteristics.

Table 3

Some physicochemical constants of GA and its salts

No	Substance	Appearance M.M.	Boiling temp. °C	R _f	/b/D 0,5%	IR cm ⁻¹	UV nm
32	GA	White powder, 840	210-213	0.07(II) 0.14(V)	+48	1042. 1656. 2873. 2948.	251
33	MASGA+3H ₂ O	Pale yellow powder, 894	225-227	0.32 (VII) 0.06 (I)	+40	1042. 1655. 2948. 3239.	251
34	MPSGA	White powder with light yellow shade, 878	280-284	0.30 (VII) 0.26(II) 0.12(VI)	+36	1043. 1657 2948.3404	254
35	MLSGA	White powder, 878	250-253	0.30 (VII) 0.26(II)	+36	1037. 1664 2941. 3410	251

* System: I - ethanol: chloroform (1: 3), II - methanol: chloroform (1: 3), III - water: acetonitrile: acetone (3: 4: 2), IV - ethanol: chloroform (1.5: 3), V - methanol: acetone (2: 1), VI - water: acetonitrile: acetone (1: 1: 1).

The purity of GA and its salts have been evaluated by the method of HPLC in isocratic mode using a diode array detector and UV detector. For this, a sample of the product was dissolved in 1% acetic acid solution. A mobile phase consisted of 35 volumes of acetonitrile, 0.5 volume of glacial acetic acid and 64.5 volumes of bi-distillate water. The flow rate is set 0.75-1.0 ml/min; detection is performed at 254 nm, analysis time 16-17 min.

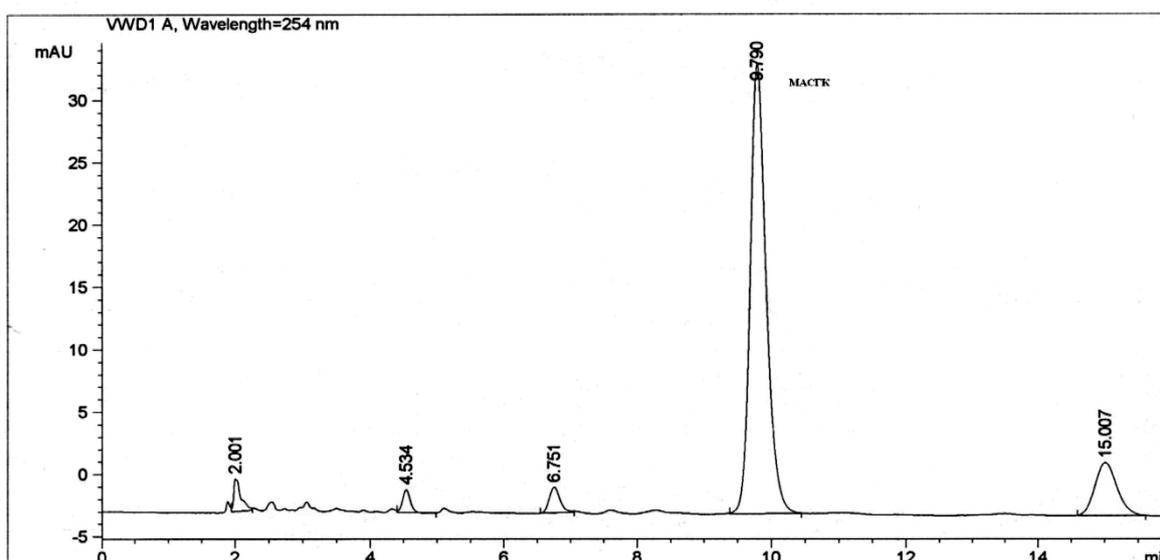
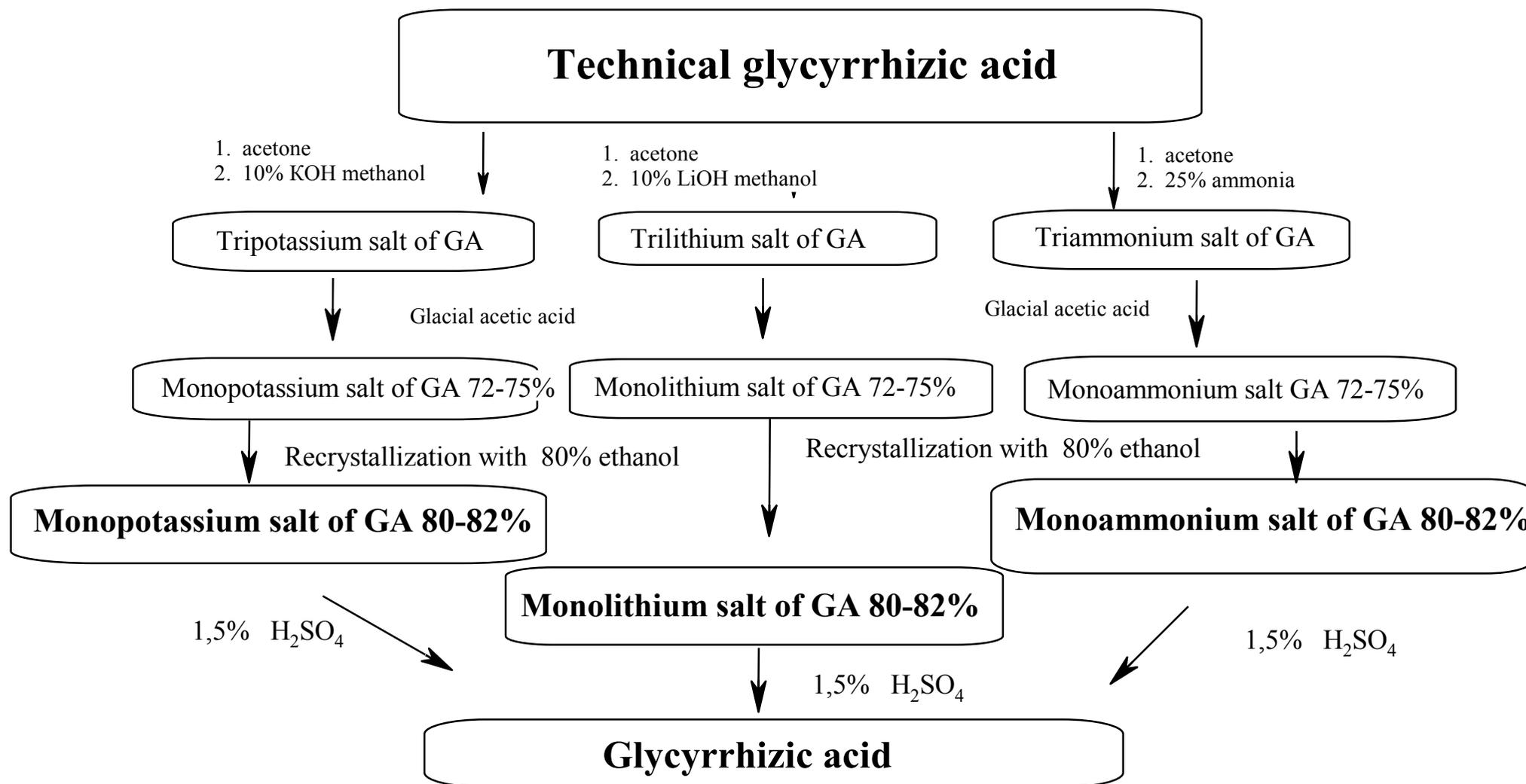


Figure 1. The chromatogram of MASGA of 80-85%

Purity From this chromatogram it is evident that there are associated peaks except the main peak. According to ¹H-NMR spectroscopy, the accompanying substances are: peak corresponding to after the main peak has shown that it is different in the chemical structure of the aglycone, relative to the GA, so it is identified as 18 α -H isomer of GA.



Scheme 5. Technological scheme of isolation of GA and its salts from TGA

The remaining peaks are partially hydrolyzed derivatives of 18 α - and 18 β -glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid, respectively. The total sum of the peak area is 17 \pm 2.5%. Further purification of the GA passes through its dissolution in acetone and precipitation as tri-substituted salts and hydrolysis of the latter from glacial acetic acid. After recrystallization, a product with a purity of 90-92% is obtained..

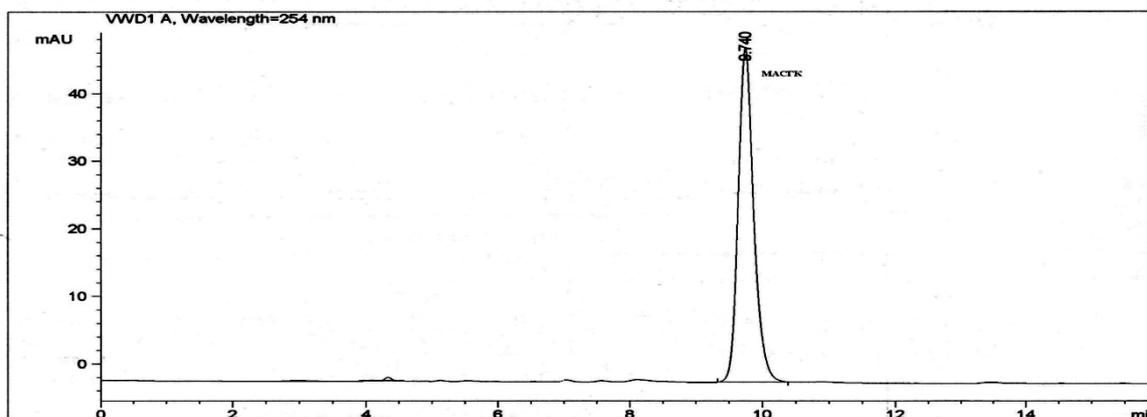
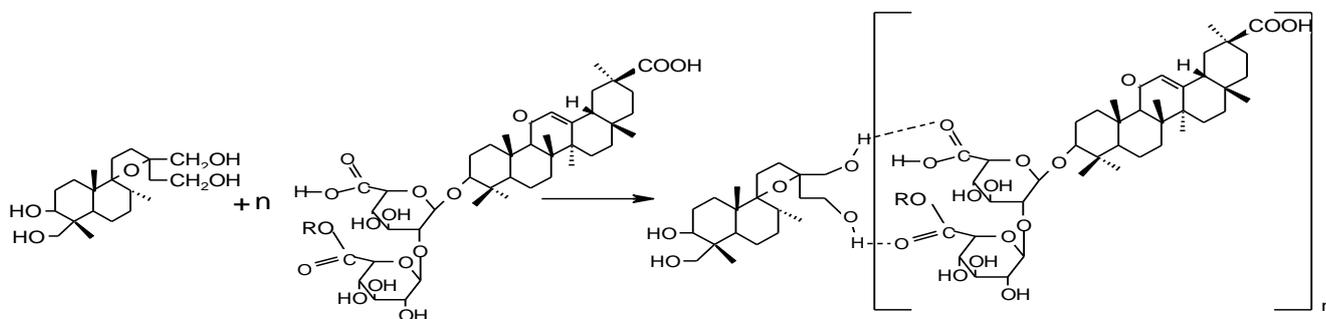


Figure 2. Chromatogram of preparatively isolated 100% MASGA

Related substances similar in structure are very difficult to separate. Therefore, a method for producing of 100% purity is achieved via preparative-column separation. A chromatogram of 100% MASGA is shown in Figure 2. The 100% pure GA is obtained by preparative column separation. 100% GC chromatogram is shown in Figure 6. The biological activities of obtained MASGA with varying degrees of purity: 70-75%, 80-82%, 90-92% and 100% are almost identical. During purification, loss of the product takes place, and the output relative to the original end product is reduced up to 25-30%. Therefore, we used the GA and its salts with a purity of 80-82%.

In the fifth chapter of the thesis "**Supramolecular complexes, physico-chemical and rheological properties**" our further research has been devoted to the preparation of supramolecular complexes of GA and its salts with lagochilin in various molar ratios, the study of their physicochemical and rheological properties. From the data given in Table 4 it is shown that the yield of supramolecular complexes are from 84 to 93%.



where R: H (5-7), H₄N (8-10), K (11-13)

Scheme 6.
General scheme of obtaining the supramolecular complexes of lagochilin with GA and its MASGA MSGA.

All the obtained compounds are the optically active dextrorotatory complexes. In the UV spectrum of the obtained compounds absorption band with a maximum at 251-254 nm in the medium water: alcohol (50:50) corresponding to the p-p* transition of conjugated double connection with the C ring skeleton aglycone moiety of GA and its salts are observed.

Table 4

Some physicochemical constants of Lagochilin complexes with GA, MASGA, MPSGA.

№	Complexes	Appearance M.M.	Boiling temp. °C	R _f	/α / _D 0.5%	IR cm ⁻¹	UV nm	Yield %
36	L-GA 1:2	White powder 2036	173-175	0.74(V)	+12	1044, 1082 1728, 2942	251	93.8
37	L-GA 1:4	White powder 3716	175-178	0.73(V)	+16	1044, 1080 1730, 2945	251	92.5
38	L-GA 1:9	White powder 7916	180-183	0.73(V)	+14	1044, 1081 1732, 2947	251	93.7
39	L-MASGA 1:2	Pale yellow powder, 2144	197-200	0.72(V)	+24	1042, 1660 2943, 3384	250	90.0
40	L-MASGA 1:4	Pale yellow powder, 3932	202-204	0.72(V)	+20	1042, 1662 2945, 3385	250	84.7
41	L-MASGA 1:9	Pale yellow powder, 8402	205-207	0.71(V)	+22	1042, 1663 2946, 3386	250	88.7
42	L-MASGA 1:2	Pale yellow powder, 2112	215-517	0.18(I) 0.1(II)	+24	1043, 1079 1655, 3410,	251	93.2
43	L-MASGA 1:4	Pale yellow powder, 3868	220-222	0.17(I) 0.1(II)	+12	1079, 1658, 2945, 3417	251	94.1
44	L-MASGA 1:9	Pale yellow powder, 8258	225-227	0.17(I) 0.1(II)	+16	1043, 1660, 1948,3430,	251	93.5

* System: I - ethanol: chloroform (1: 3), II - methanol: chloroform (1: 3), V - methanol: acetone (2: 1)

In the IR spectra of the obtained compounds characteristic valence spectra vibrations at 1670-1650 cm⁻¹ characteristic of the carbonyl groups with the frequency shift of GA and its salts in the low-frequency region of 60-55 sm⁻¹ with respect to the original components are observed. This indicates the fact that the carbonyl groups of GA and its salts are involved in the formation of supramolecular complexes with Lagochilin. The broadening signal of the valence vibrations of hydroxyl groups of lagochilin and GA at 3430-3380 cm⁻¹ also indicates the process of complex formation.

In the ¹H-NMR spectrum of the complex of GA:L in the ratio of (2:2) taken in acetone: of D₂O, the following resonance frequencies can be found. The signal in the area of 0.5 ppm refers to the protons of C-CH₃ C17; doublet at 0.7-0.8 ppm region refers to protons of CH-CH₃ in C4 and C10 of lagochilin molecule. Signal at 1.0 ppm refers to protons of CH-CH₃ at C4 in GA molecules. The singlet signal at 1.3 ppm refers to C-CH₃ protons at C20. Unsplitted signal at 1.2 ppm applies to all protons of lagochilin molecule skeletons. The signal of protons in the 2.8-3.0 ppm refers to protons of methyl groups' acetone+deuterated water (solvent). The complex signal at 3.0-4.5 ppm refers to all protons of CH₂O CHO available in

lagochilin molecules and glycyrrhizic acid. The singlet signal at 5.0-4.5 ppm refers to the olefinic protons at C12.

To date, the mechanism of gel formation and solubilization of GA remains largely unknown and little is described in the literature. Therefore, the establishment of basic physicochemical properties of the hydrogels of low molecular weight natural compounds in various states of aggregation and causes of showing high biological activities of supramolecular complexes on the basis of the GA is relevant.

This stage of work was carried out together with the scientists of the Department of «Polymer Chemistry» of the Chemistry Faculty of the National University of Uzbekistan (professors U.N. Musayev and M.G. Mukhamediev). Processes of structure formation in the solutions can also be characterized by studying their viscosity. If in the solutions the process of association of solutes takes place, the viscosity of solutions are sharply rised. Therefore, in order to identify the associativity of molecules of supramolecular complexes viscosity of their aqueous solutions has been studied. From fig. 7-8, it is evident that an aqueous solution of molecular complex of GA with lagochilin in a ratio of 2:1 has a very high viscosity characteristic of the associated systems. At the same time with increasing the temperature, the given viscosity of the solution is decreased. This fact testifies the destruction of the associates. However, for an aqueous solution of a molecular complex of GA with lagochilin (9:1) an increase in temperature leads to an increase in viscosity.

In the case of an aqueous solution of the molecular complex of GA with lagochilin at the ratio of 9:1 we observe a decrease in viscosity with increasing temperature. Apparently, these changes are due to the different ratios of the hydrophilic-hydrophobic interactions for different compositions.

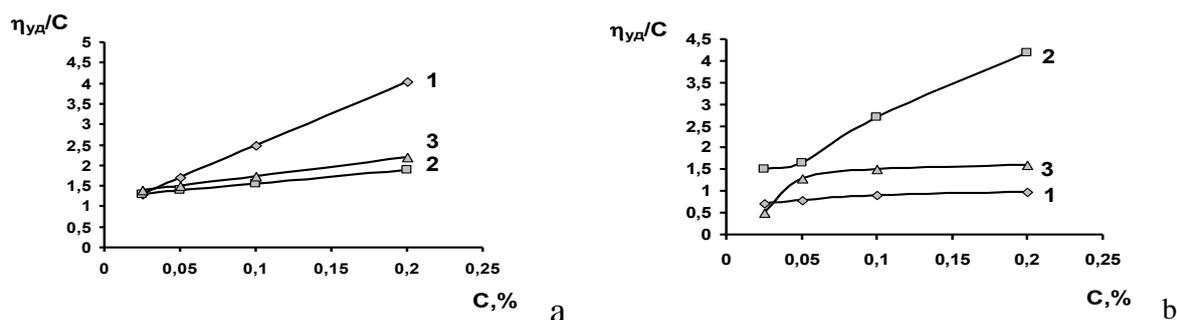


Figure 4. Dependence of the given viscosity of the aqueous solution of the molecular complex of GA with lagochilin 2:1 (a) of 9:1 (b) on the concentration at T = 298K (1), T = 303K (2), and T = 308K (3).

By studying viscosity of aqueous solutions of MASGA, supramolecular complexes of GA and its monoammonium salts with lagochilin found that inclusion of the hydrophilic compounds into the complexes lead to reduction and the hydrophobic compounds (lagochilin) lead to increase the viscosity of their aqueous solutions compared to viscosity of aqueous solutions of MASGA. All these data confirm that in the the stabilization of the supramolecular complexes of

lagochilin the hydrogen bonds and hydrophilic-hydrophobic interactions between molecules of diterpenoid and hydrophilic portion of triterpenoid saponin play the main role. We have studied the energy formation of supramolecular complexes of lagochilin with GA in absolute medium by the method of mathematical modeling calculation on «HyperChem» and «Chem-Draw» programs to confirm the obtained results.

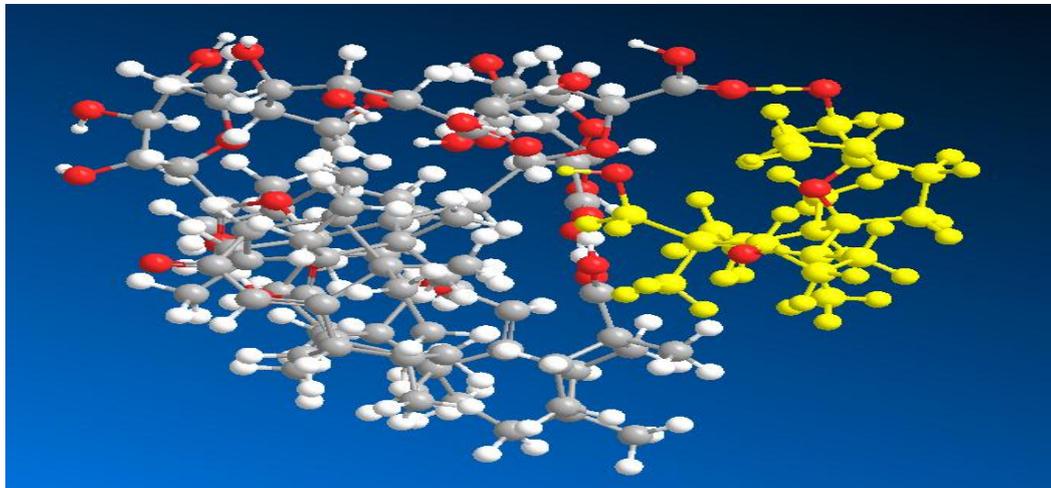


Figure 4. The annular state of Glilagin. Energy 787. kcal/mol

It was shown that hydrogen bonds have the lowest energy of Lagochilin 15 and 18 hydroxy groups with hydroxyls of carboxyl group GA. In spherical molecule is seen that lagochilin is not in the same plane formed by the ring of GA but outside the GA molecule. This is clearly seen in the form of a spherical structure of a supramolecular complex.

Investigation of rheology of aqueous solutions of supramolecular complexes has shown that the inclusion of hydrophobic organic compounds to the supramolecular complexes of GA and its monoammonium salt leads to increase and the hydrophilic organic compounds to the difficulty of micelle formation in aqueous solutions. Therefore, most likely that the guest molecules are located between the layers of GA and its salts that are in the micellar state.

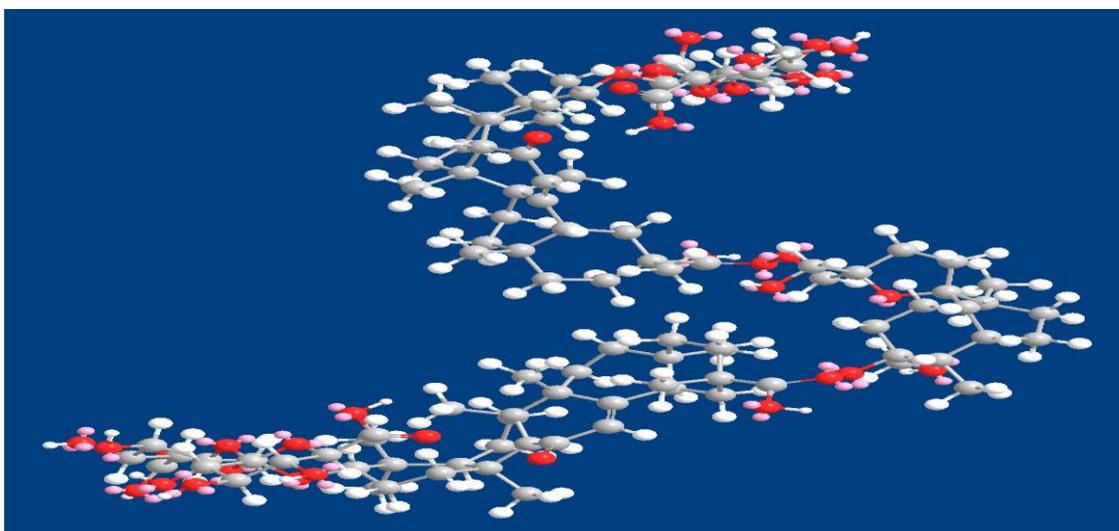


Figure 5. The micellar state of Glilagin. Energy 304. kcal/mol

The study of the structure by the method of mathematical modeling in a single layer model showed that such a state of supramolecular complexes of GA with lagochilin much more stable and energetically profitable than in a ring shaped state. As can be seen the energy formation of bonds in micellar states in the form of a layer two times less than that of the annular type. Thus, quantum-chemical calculation model state of supramolecular complexes of GA and its salts with Lagochilin show a clear failure of the energy (unfavorable) the structure of supramolecular complex of the annular type. We believe that the complex of lagochilin itself between two molecules of GA is an intermediate in the transition micelle formation of different structural types (spherical bilayer, ellipsoidal). Determination of KKM of the aqueous solutions of the complexes of GA and its salts with lagochilin and other substances has been shown that the KKM with the molecular complex of MASGA with hydrophobic substance of lagochilin is lower than that of MASGA. Consequently, the inclusion of lagochilin to a molecular complex has a stabilizing effect on the process of structuring MASGA molecules.

In the sixth chapter of the thesis "**Definition of haemostatic activity of supramolecular complexes**" cited data of hemostatic activities of lagochilin derivatives, which are in chemical structure can be divided into 3 groups: I. lagochilin and its isopropylidene and acetyl derivatives (II.1, II.10- II.24); II. anhydrolagochilins (II.28 II.30); III. diterpenoid lactones (II.9, II.25- II.27) as well as the well-known drug Lagoden (II.39) were studied.

Considering the data presented in Table 5, it can be seen that all the tested compounds in this group have a greater or lesser extent of hemostatic activity. Moreover, it should be noted that 0.5% solution of lagochilin in peach oil exhibits 67% activity compared to the reference drug. By substituting hydroxyl groups at C₃ and at C₁₈ to isopropylidene in the molecule of lagochilin hemostatic activity falls to 40% and further substitution of hydroxyl groups at C₁₅ and C₁₆ to isopropylidene groups led to complete loss of hemostatic activity (Compound II.11).

Anhydrolagochilin exhibits relatively weak hemostatic activity (57%), and the substitution of hydroxyl groups at the C3 and C18 to isopropylidene groups reduces the hemostatic activity to 33% (II.30). Substitution of the hydroxyl groups at C13 and C18 in the molecule of lagochirzin to acetyl groups (comp. II.26- II.27), do not change their special hemostatic activity (67%). Introduction of isopropylidene group to the molecule of lagochirzin decreases its hemostatic activity to 51% (II.25), but the opening of the lactone ring to form the corresponding sodium salt of 3,16,18-trihydroxy-9,13-epoxylabdan-15-oic acid leads to a sharp increase in the hemostatic activity 100% (II.31). Comparison of hemostatic activities of lagochilin (II.1), anhydrolagochilin (II.28), and lagochirzin (II.9) using water-alcohol solutions indicate that the greatest activity has lagochilin 67%, following by lagochirzin 60% and anhydrolagochilin 57%.

Thus, it was shown that the substitution of two or three hydroxyl groups in the molecule of lagochilin to acetyl groups relatively not much affect the hemostatic activity, only complete substitution of hydroxyl groups to acetyl groups leads to

reduction of the hemostatic activity. Introduction of isopropylidene groups adversely affects the display of the hemostatic activity, possibly due to the increased hydrophobicity of lagochilin molecule

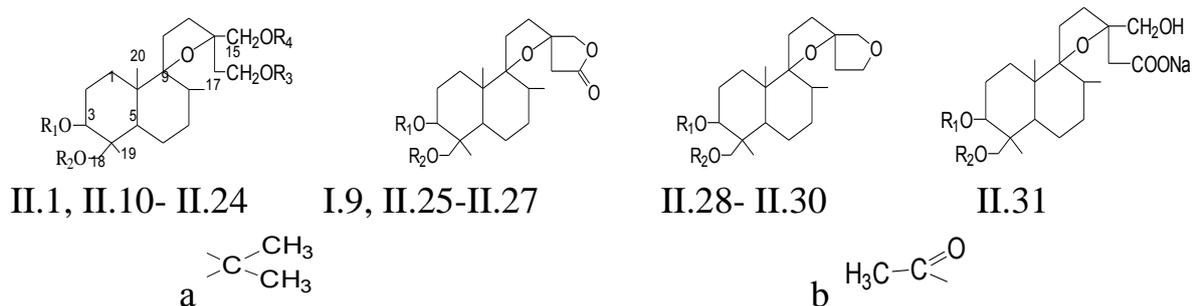


Table 5

Hemostatic activity of lagochilin and its derivatives

№	Substitution				Hemostatic Activity	
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	%	seconds
II.1	H	H	H	H	67	130,0±12,6
II.10	a		H	H	40	157,0±14,8
II.11	a		a		0	268,1±14,8
II.12	a		b	b	33	163,7±13,5
II.13	a		b	H	32	165,0±14,7
II.14	b	H	H	H	83	115,0±11,4
II.15	H	H	H	b	82	116,0±10,8
II.16	H	H	b	b	83	115,0±10,5
II.17	b	b	H	H	84	114,0±10,6
II.18	b	H	H	b	83	115,0±10,6
II.19	b	H	b	H	83	115,0±11,0
II.20	H	b	b	H	83	115,0±11,0
II.21	H	b	b	b	81	117,0±10,6
II.22	b	b	H	b	83	115,0±11,2
II.23	b	b	b	H	81	117,0±10,5
II.24	b	b	b	b	17	211,0±18,0
II.9	H	H	-	-	60	148,0±13,5
II.25	a	a	-		51	179,0±16,5
II.26	H	b	-	-	68	129,0±13,0
II.27	б	H	-	-	67	130,0±13,0
II.28	H	H	-	-	57	141,0±13,7
II.29	b	b	-	-	66	131,0±12,6
II.30	a		-	-	33	140,0±13,0
II.31	Control				100	98,0±10,0

*P<0.01 with respect to control

Further specific hemostatic activity of the obtained supramolecular complexes of Lagochilin with GA and its salts was examined in order to identify the most active ratio of interacting components in the corresponding supramolecular complexes. Investigation of the hemostatic activity of the resulting

complex compounds and initial materials was carried out in the laboratory of Pharmacology of the Institute Bioorganic Chemistry (IBOC) Uzbek Academy of Sciences under supervision of Dr. Vypova N.L.

Table 6

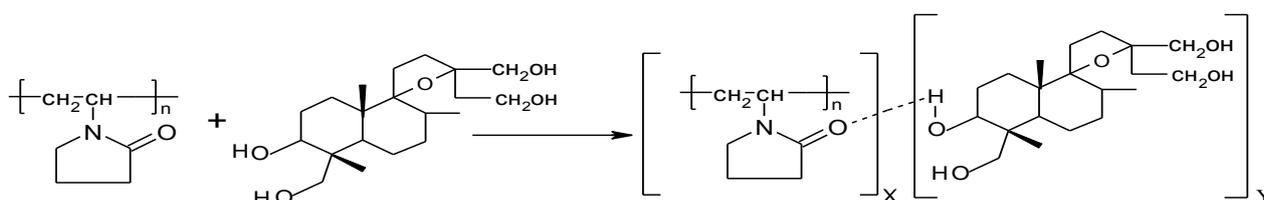
Bleeding time in rats after 60 minutes after intraperitoneal administration of supramolecular complexes. ($M \pm m$; $n = 5$)

№	Preparation	Bleeding time		
		sec.	%	P
1	Control, mg/kg	360±20	100	-
32	GA:L; 2:1, mg/kg	160±13	45	<0.01
33	MASGA:L; 2:1, mg/kg	85±6	24	<0.01
34	GA:L; 4:1, mg/kg	165±14	46	<0.01
35	MASGA:L; 4:1, mg/kg	100±10	28	<0.01
36	GA:L; 9:1, mg/kg	185±16	51	<0.01
37	MASGA:L; 9:1, mg/kg	120±12	33	<0.01

From the data shown in Table 5, the greatest effect was observed with the introduction of supramolecular complexes of MASGA with lagochilin to 85±6 minutes on 24%, to 100±10 min 28% and to 120±12 min 33% - relative to the control.

The ratio also plays an important role in the expression of hemostatic activity. This is well illustrated on the example of MASGA with lagochilin 2:1 ratio the most, which is more active than the ratio of 4:1, which is recommended for in-depth pharmacological research in order to create on its basis a local haemostatic preparation which was named Glilagin. Next, we have developed the project of TPA to the substance Glilagin, and conducted full pharmacotoxicological and special studies on the investigation of hemostatic activity. Based on the obtained results on the substance of Glilagin the composition of drug forms (oral tablets at 0,005 g) of Glilagin is designed. All the required standard investigations to create a project of temporary pharmacopoeia articles (TPA) were carried out.

To stop parenchymatous bleedings, in many cases the use of oral dosage forms (d/f) is not effective, due to longer time to achieve the desired hemostatic action. In this connection, intravenous forms of drugs are used. Earlier in the Republic, only water-soluble hemostatic drug for intravenous usage, Lagoden (derivative of Lagochilin) was produced. But its method of obtaining was difficult, requiring high costs, expensive solvents and catalysts, and consists of five steps of synthesis with a low yield of the final product (10-12% of the original).



Scheme 7. Synthesis was carried out according to the following scheme

Therefore, a problem has been arisen about development of a water-soluble, effective, inexpensive hemostatic on the basis of Lagochilin. Furthermore, the technology for producing the drug substance should be simple, inexpensive and non-combustible.

Table 7

Some physicochemical properties of PVP complexes with lagochilin

№	Complex	Melting temp. °C	Solubility %	IR cm ⁻¹	Yield %
38	PVP:L 5:1	95-96	100 not stable	1666 C=O, 2960 C-N 3436-3422 -OH	95-97
39	PVP:L 10:1	96-97	100 not stable	1661 C=O, 2951 C-N 3431-3426 -OH	94-96
40	PVP:L 15:1	98-100	100	1662 C=O, 2955 C-N 3435-3420 -OH	92-95
41	PVP:L 20:1	99-100	100	1667 C=O, 2958 C-N 3433-3428 -OH	91-94

It is known that many polymeric drug carriers allowed for use in medical practice alter the physicochemical properties of the basic substance. In particular, they increase their water solubility. One such material is polyvinylpyrrolidone (PVP). The low molecular weight PVP in the form of a solution used as detoxicant and is completely excreted from the body within 2-3 days. We have also used a low molecular weight PVP with the MM 8000±2000 D. Synthesis was carried out according to the following scheme. The obtained supramolecular complexes of lagochilin with polyvinylpyrrolidone in the ratios 1:5, 1:10, 1:15 and 1:20 but the more stable and more active ratio was 1:15.

The new complex conditionally named by us - Lagovin (lago- from lagochilin and -vin- from vinylpyrrolidone), a supramolecular complex of Lagochilin with PVP. Lagovin combined all the properties of Lagochilin and PVP, having an integrated therapeutic effect, not inferior in its hemostatic effectiveness as compare to Lagoden and Dicynonum. Furthermore, obtaining of Lagovin is technologically simple and the yield is more than 90%. Pharmaco-toxicological studies of the substance and the dosage form were carried out in the laboratory of Pharmacology IBOC Uzbek Academy of Sciences, and biochemical studies at the Department of Biochemistry, Faculty of Biology National University of Uzbekistan (NUUz) led by prof. Dalimova S.N.

To determine the ability of Lagovin to stimulate the process of blood coagulation, Lagovin solutions in concentrations of 0.1%, 0.5% and 1% were used. Initially in *in vitro* experiments the effect of Lagovin to the blood and plasma coagulation time we investigated. The data presented in Table 8.

Table 8

**Time of whole blood and plasma coagulation by the addition of the drug
Lagovin (M±m; n = 6)**

Preparations	Concentration, %	Time of coagulation, sec.		
		1 ml blood + 0.1 ml drug	0.1 ml plasma + 0.1 ml CaCl ₂ + 0.1 ml drug	0.2 ml plasma + 0.2 ml drug
Physical sol-n	0.9	150,0±10	110,0±6.5	Not coagulated
CaCl ₂	0.0277	-	-	78,0±6.6
Lagovin	0.1	100,0±10.0*	78,0±6.5*	Not coagulated
Lagovin	0.5	75,0±5.0*	60,0±4.0*	65±5.0
Lagovin	1.0	165,0±16.0	75,0±5.0*	96±8.0

*P<0.01 with respect to control

From the data presented in Table 8 is seen that addition of 0.1 ml physiological sodium chloride solution to 1 ml blood caused clotting of blood time in 150±12 sec. Substitution of saline solution with 0.1% solution of Lagovin leads to a reduction in blood clotting time by 34% - to 100±11sec, in 0.5% concentration - to 50% upto 75±6,0 sec and in 1% concentration clotting time increased until 165±16 sec (10%). Obtained pharmacological data show that Lagovin activates I and II phases of blood coagulation by direct action to the blood.

In the seventh chapter of the thesis «**The standardization of substances and medicinal forms of hemostatic drugs**» is one of the important moments in the development of medicinal products is the standardization of the substance and dosage form. During standardization of the Glilagin substance, a number of specific properties of the active substance lagochilin have been taken into account. Lagochilin diterpenoid with four hydroxyl groups, but it does not contain a chromophore group in the molecule that would create a number of difficulties in quantitative determinations of Lagochilin by conventional spectroscopic methods. Taking this into account, in collaboration with the researchers of the Institute of Chemistry of Plant Compounds (ICPC) Uzbek Academy of Sciences have developed a special method using ¹H-NMR spectroscopy.

The quantitative content of the lagochilin in Glilagin preparation according to the ¹H-NMR spectroscopy method is 17.5±1.13%. The theoretical content of lagochilin in the substance is 17,18%. However, this method is not a pharmacopoeia method and therefore a biological method of quantitation was proposed. The drug should stop capillary bleeding time no more than 60-100 seconds, and reduce bleeding time by 4-5 times faster with respect to control.

Technological scheme of obtaining of Glilagin substance has been developed, which includes the steps of training of staff and equipment, the production facilities. Weighing of the initial reagents, the preparation of working solutions, preparation of MASGA and lagochilin solutions, process of obtaining the working substance solution and distillation of the organic solvent. Freeze-drying packaging. In each stage, there is little loss of solvent. The final yield is 93-97% from the theoretical. Module of correlation substance: solvent 1:20. Synthesis time is 15-20 hours. The technological scheme has been drawn to obtain 1kg of Glilagin substance.

One of the characteristic indicators is the excess amount of residual organic solvents used in the synthesis of the product. Analysis was performed on GC Clarus-400 of Perkin Elmer. Nitrogen was used (Helium may also be used) as the carrier gas. Hydrogen was used as igniting gas. Capillary column of 60 m long. Sample introduction system used split gas flow (split 60 ml/min). The obtained chromatogram data shows that Glilagin substance does not contain any organic solvent residues. (Figure 6)

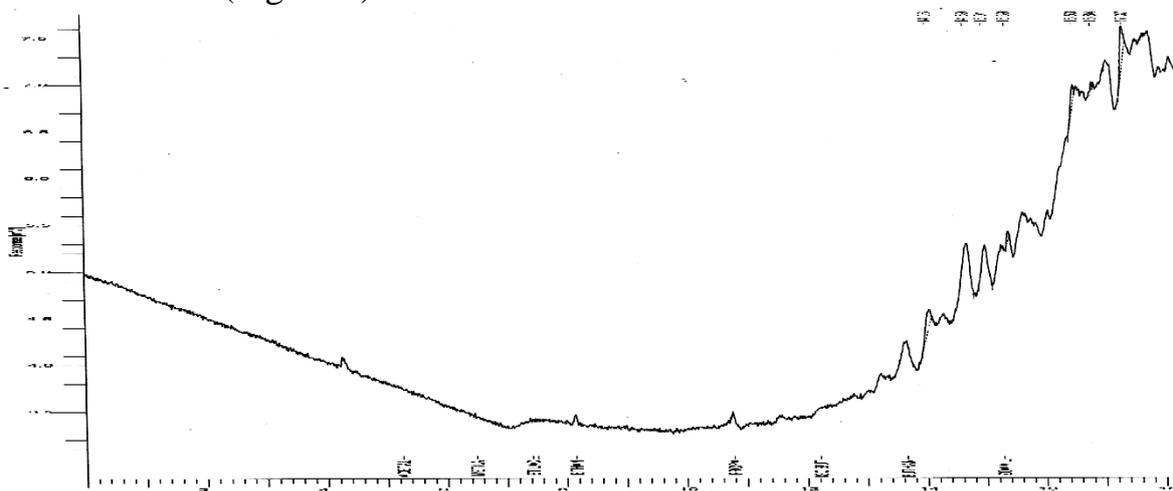


Figure 6. Chromatogram of substances Glilagin

D/f for Glilagin was chosen oral form, as drugs are widely used in the form of tablet, together with Associate Professor A.M. Usubbaev from the Tashkent Pharmaceutical Institute. The dose was tested on the basis of a study of pharmacological properties of Glilagin substance. The content of Glilagin in one tablet is 5 mg, and the tablet weighs 100 mg.

Composition of tablet composition was as follows:

Glilagin (in recalculation on 100% anhydrous substance) - 0.005 g, Microcrystalline cellulose - 0,082 g, Potato starch (highest grade or extra) - 0,012 g, Calcium stearate - 0.001 g, The mass of tablet - 0.1 g

Developed and approved industrial regulation for the production of tablets Glilagin, together with the company «Tash Farm A.I.». Technological scheme for the production of tablets Glilagin, which include training, appropriate equipment and production facilities have been developed. Preparation of raw and auxiliary materials (Glilagin substance, MCC, purified water, potato starch, calcium stearate). Weighing the substance and sieving. Preparation of starch and starch paste preparation. The next stage is to get the mass to produce tablets, which includes a mixing and hydration, wet granulation and drying. Next, dry granulation, powdering. Next, the process of tableting and discard tablets that are not appropriate to the technical documentation. Tableting and dust removal of tablets Glilagin and next stage of filling and packing, the transfer of finished goods to the warehouse. Waste tablets are transferred to the processing of waste products, which includes the processes of grinding and sieving. Then they are reproduced to get Glilagin tablets, starting with the process of mixing and wetting, wet granulation and drying, dry granulation, powdering and tableting process.

Tableting and dust removal of Glilagin tablets, packing, packaging, transfer of ready products to the warehouse.

The TPA projects on the substance and tablets of Glilagin have been developed. Full pre-clinical pharmaco-toxicological investigations have been carried out and by the decision of the Pharmacological Committee of the Chief Department for the quality Control of medicines and medical equipments (CDQCMME) of the Ministry of Health of Uzbekistan «GLIG №84/6.P/62.Uz.2012/381» tablets Glilagin 0,005 g as the original drug is aimed clinical trials to the following clinical bases:

1. Institute of Hematology and Blood Transfusion.
2. 3-Clinics of the Tashkent Medical Academy
3. 7-Tashkent City Hospital

Positive reviews and conclusions have been obtained from all of the clinics. (Conclusions attached). Works on the the standardization of substance and dosage form of Lagovin have been carried out. Dosage form of Lagovin 0.15% solution for intravenous administration of 2 ml vials. ¹H-NMR spectroscopy method for the quantitative determination of the substance of Lagovin was chosen, too. The concentration of lagochilin in the formulation of Lagovin is 6.1±0.3%. The theoretical content of the lagochilin in the composition of the Lagovin substance is 6.25%. However, given the above considerations as a pharmacopoeia method we proposed biological method for quantitative analysis of Lagovin. Lagovin must stop the bleeding time within 70-90 seconds and no more, and reduce bleeding time by 4-5 times faster with respect to the control. The technological scheme for the production of the substance of Lagovin has been developed. It includes equipment preparation processes, raw materials and alkalization, extraction and obtaining of lagochilin in a yield of 1.2-15%. Purification and recrystallization of the latter to produce pure Lagochilin. Next, preparation of PVP and synthesis of Lagovin substances, freeze-drying and packaging of the product. The yield in this case is 93-95% from the theoretical. Dosage composition of Lagovina form as 0.15% solution:



Lagovin substance – 1.5 g, Water for injection - up to 1 liter

On the basis of repeated experiments to study the physical and chemical properties of the d/f of Lagovin specification for the d/f of Lagovin drug was developed. Currently, the drug Lagovin by the decision of CDQCMME PC and the Ministry of Health of Uzbekistan LAGV number

71/2.PS/66.Uz.2015/660 passes the second phase of clinical trials in the Republican Scientific Center of Oncology and in the Clinics of Oncology Center of the City. Phase one clinical trials was successfully carried out in the Research

Institute of «Hematology and Blood Transfusion» Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan.

Based on the above, the drug was developed, not inferior in effective as Lagoden, with practical low dose, technologically receivable. Full pre-clinical pharmaco-toxicological studies were carried out. The dose for the drug was chosen. Dosage form Lagovin as 0.15% solution in 2 ml ampoules. The works on the standardization of substance and dosage form of Lagovin has been carried out. TPA for the substance and dosage form of Lagovin were developed. Laboratory regulations to produce substances and dosage forms have been developed. By the decision of CDQCMME PC and the Ministry of Health of Uzbekistan N29/03-642 from 04.06.13 for the drug forms received approval to conduct clinical trials. In 2012 was carried out bottling of preparation for the clinical trials in the amount of 2500 vials in the private company «Immunomed». Next bottling was made in «Uzhimfarm» in the amount of 6000 vials in 2016.

Next, on the basis of TGA purity, preparation of anti-inflammatory drug substance Glyciram has been developed. By studying its physical and chemical properties the specification to the substance and formulation in the form of “Tablets of glyceram 0.05 g” has been designed. The permission of the Pharmacological Committee to conduct clinical trials on a limited program in the Tashkent Medical Academy at the department of “The faculty and hospital therapy” of the medical faculty of the Tashkent Medical Academy, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan was obtained. The clinics carried out successfully and the “Report” of the drug has been given to the Pharmacological Committee of Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan to obtain permission for industrial production. Industrial regulations for the “Tablets of glyceram 0.05 g” have been developed and approved.

CONCLUSIONS

1. For the first time, aromatic acetals of lagochilin were synthesized with the use of catalysts. It is shown that in the presence of hydroxyl groups in the aromatic ring as a catalyst anhydrous copper sulfate is preferable while for alkoxy groups – sulfuric acid.

2. The relationship of the activity of acetyl and isopropylidene derivatives of lagochilin from the nature of substituents and the number of free hydroxyl groups were shown. It was found that the substitution of two out of four hydroxyl groups to acetyl groups in the molecule of lagochilin do not affect the hemostatic activity, but full substitution of four hydroxyl groups leads to a loss of hemostatic activity.

3. With the use of supramolecular chemistry techniques complexes of lagochilin with glycyrrhizic acid and its salts were obtained. The obtained complexes were characterized by physicochemical constants. Structural features of the obtained molecular complexes described by IR and NMR spectra as well as by the methods of mathematical modeling.

4. By determination of the rheological properties of aqueous solutions of supramolecular complexes it was shown that they form micelles of different

structures which are stabilized by hydrophobic-hydrophobic interactions and hydrogen bonds.

5. The technology for obtaining of technical glycyrrhizic acid from licorice root was developed, on the basis of which an anti-inflammatory drug substance was obtained. The standardization of substance and dosage form of “Glyceram” was carried out. A Temporary Pharmacopeia Article (TPA) was developed and approved, and conducted clinical trials of the drug.

6. Comparative evaluation of hemostatic action of lagochilin supramolecular complexes with glycyrrhizic acid and its salts showed high activity for MASGA:lagochilin complex (Glilagin) at a ratio of 2: 1.

7. Full pre-clinical pharmaco-toxicological studies of the substance and dosage form of the preparation of “Glilagin” were carried out. The TPA project was developed, and industrial regulations on the dosage form were also approved.

8. Water-soluble complexes of lagochilin with N-polyvinylpyrrolidone were obtained. It was found that the most active and stable in the solution is the complex at a ratio of 1:15 (Lagovin).

9. Hemostatic agents “Tablets of Glilagin – 0.005 g” for oral usage and “0.15% solution of Lagovin” for intravenous introduction have been developed. Two patents on drugs were obtained. These drugs were developed on the basis of local raw materials and are recommended as a hemostatic to stop parenchymal bleeding.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть, I part)

1. Тураева Д.Т., Выпова Н.Л., Далимова С.Н., Далимов Д.Н., Матчанов О.Д., Ниязимбетова Д. Влияние препарата Лаговин на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз в сравнении с Дициноном // Вестник НУУз 2005. № 4. -С. 93-95 (02.00.00. №12.).

2. Тураева Д.Т, Выпова Н.Л, Далимова С.Н, Далимов Д.Н, Матчанов А.Д, Ниязимбетова Д.М. Фармакологические свойства нового гемостатического средства резорбтивного действия лаговина // Вестник НУУз. Ташкент. 2005. №4. -С. 99-102 (02.00.00. №12.).

3. Ниязимбетова Д., Матчанов А.Д, Гафуров М.Б., Азимова Н., Далимов Д.Н. К стандартизации новой отечественной гемостатической марли // Вестник НУУз 2005. № 4. -С. 104-106 (02.00.00. №12.).

4. Тураева Д.Т., Выпова Н.Л., Далимова С.Н., Далимов Д.Н., Ниязимбетова Д. О токсических свойствах Лаговина // Вестник НУУз 2005. № 1. -С. 9-11 (02.00.00. №12.).

5. Выпова Н.Л., Ниязимбетова Д., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д, Гафуров М.Б., Азимова Н. К изучению стабильности гемостатических салфеток содержащих Глилагин // Фармацевтический Вестник Узбекистана 2006. №1. -С. 34-36 (02.00.00. №5.).

6. Далимов Д.Н., Салихов Ш.И., Выпова Н.Л., Далимова С.Н., Матчанов А.Д., Тураева Д.Т, Ниязимбетова Д.М. Влияние препарата Лаговин на процесс свертывания крови в опытах *in vitro* // Доклады Академии Наук Республики Узбекистан №1. 2008. -С 43-46 (02.00.00. №8.).

7. Выпова Н.Л, Исломов А.Х, Зайнутдинов У.Н, Далимов Д.Н, Матчанов А.Д Изучение механизма гемостатического действия препарата инебрин на экспериментальной модели гипокоагуляции, вызванной гепарином // УзМУ хабарлари, 2010. №4. -С. 158-163 (02.00.00. №12.).

8. Далимов Д.Н Выпова Н.Л. Матчанов А.Д Саидханов Б.А Алимов М.М. Гафуров М.Б. Исламов А.Х Гемостатики на основе дитерпеноида лагохилина // Вестник НУУз №3/1 Ташкент.. 2015. -С. 208-218 (02.00.00. №12.).

9. Ergashev A., Yakubov G, Matchanov A., Turaeva N. Development of biotechnology of dye & of drug plant indigofera variety «Feruz -1» for the improving of sale lands of the Aral Sea Basin // International Journal of Development Research, 2015. Vol.5. issue 12. -P. 6213-6218 (№5. Global IF - 0,675).

10. Салихов Ш.И., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Выпова Н.Л. Комплекс 3,15,16,18-тетрагидрокси-9,13-эпокси лабдана с поливинилпирролидоном, обладающий гемостатическим действием. Патент на изобретение №IAP 04806 от 04.12.2013.

11. Назыров Ф.Г., Саидханов Б.А., Алимов М.М., Далимов Д.Н., Махмудов К.О., Матчанов А.Д., Азимова М.Т., Нигматов Ш.К.

Гемостатическая пленка на основе коллагена. Патент на изобретение №IAP 05109 от 13.10. 2015.

II бўлим (II часть, II part)

12. Зайнутдинов У.Н., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Исламов А.Х., Тлегенов Р.Т., Бозорова Н.Х., Собирова Ф.А. Сравнительное изучение дикорастущей и культурной форм *Lagochilus Inebrians*. // Химия растительного сырья. 2011. №2. -С. 189–190.

13. Далимов Д.Н, Выпова Н.Л, Матчанов А.Д, Гафуров М.Б, Далимова С.Н, Исламов А.Х, Собирова Ф.А Механизм действия Лаговина на сосудисто тромбоцитарный гемостаз. Узбекский медицинский журнал. №4 2011. -С 111-113.

14. Далимов Д.Н., Выпова Н.Л., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Исламов А., Мухаммадиева А. Изучение срока хранения гемостатической сальфетки, содержащий Глилагин // Вестник ГулГУ. №2. 2010. -С. 15-18.

15. Ешбаев А.А., Айменов Ж.Е., Матчанов А.Д., Исламов А.Х. Результаты сравнительного исследования макро- и микроэлементного состава *Lagochilus Inebrians* *Lagochilus Setalosis* // Вестник КазНУ. 2/1 (64) Алма-ата. 2015г. -С.13-19.

16. Мирсоатов Ж., Бердибоев Э., Матчанов А. Доривор Бозулбанг (*Lagochilus Inebrians*) ўсимлиғни етиштириш агротехникаси//Ўзбекистон Аграр фани хабарномаси. №1 (59). 2015. -Б. 7-10.

17. Musaev U.N., Dalimov D.N., Mukhamedov M.G., Abdushukurova S, Yuldashev X.A., Matchanov A.D., Abdullaev N.D., Levkovich M.G., Some Physiochemical Properties of Derivatives of Monoammoniac Salt of Glycyrrhizic Acid With Various Pharmaceuticals// International Workshop on Biotechnology Commercialization and Security, October 14-17, Tashkent. 2003. -P.80.

18. Выпова Н.Л., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Ниязимбетова Д., Дуйсенов К. Глилагин новое гемостатическое средство местного действия // Академик С.Ю.Юнусов хотирасига бағишланган ёш олимлар илмий анжумани. 18-19 март, Тошкент. 2004. -Б. 66.

19. Bobokulov Kh.M., Matchanov A.D., Dalimov D.N., Levkovich M.G., Abdullaev N.D. Quantative Determination of active Substance in the Preparation by NMR spectroscopy // 6th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, 28-29 june, Ankara-Turkey. 2005. -P. 173.

20. Dalimov D.N., Vipova N.L., Turaev A.S., Matchanov A.D., Filatova A., Niyazimbetova D.M., Tulepov O. Comparative Studying of Glilagel with various Haemostatics of local use//. 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. October 16-18, Tashkent, 2007, -P. 66.

21. Dalimov D.N., Mirzaahmedov Sh Ya., Tromantano E., Ibragimov B.T., Talipov S., Gdaniek M., Tukarsa E., Abdullaev N.D., Levkovich M.G., Gafurov M.B., Matchanov A.D., Yuldashev X.A. Glycyrrhizic Acid Supramolecular Complex and Thier Biological Activity//. 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. October 16-18, Tashkent, 2007. -P. 20-21.

22. Выпова Н.Л., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б. Изучение кровоостанавливающего действия препарата Глилагин в сравнении с известными местными гемостатическими средствами // Создание сырьевых лекарственных ресурсов, субстанции, диагностических, лечебно-профилактических средств и их применение в медицине и ветеринарии. 10 октября. Самарканд. 2008. -С. 60-62.

23. Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Юлдашев Х.А., Ниязимбетова Д., Выпова Н.Л. Новые лекарственные средства на основе моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты // Всероссийская конференция по органической химии. 25-30 октября, Москва. 2009. -С.271.

24. Абдуллаева Г.А., Закирова Н.Т., Матчанов А.Д., Акбаров Х.И., Далимов Д.Н., Тиллаев Р.С. Термодинамика межмолекулярного взаимодействия глицирризиновой кислоты с природными полимерами // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». 20-21 сентября, Ташкент. 2010. -С. 33-34.

25. Мухаммадиев М.Г., Михалчик Т.А., Ким Н.М., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д. Некоторые термодинамические аспекты адсорбционной диспергации в воде супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты с лагохилином // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. 20-21 сентября. Ташкент. 2010. -С 76

26. Далимов Д.Н., Зайнутдинов У.Н., Матчанов А.Д., Холмуродова Л., Исламов А.Х., Матчанов У.Д. Синтез новых гемостатиков на основе моно- и трикалийевой соли глицирризиновой кислоты с лагохилином и лагохирзином // «Интеграция образования, науки и производства в фармации». 19-20 октября, Ташкент. 2010. -С.157-158.

27. Матчанов А.Д., Усуббаев А.М., Исламов А.Х., Далимов Д.Н., Гафуров М.Б., Матчанов У.Д. К количественному определению действующего вещества таблеток Глилагина // Биоорганик киме фани муаммолари. 25-26 ноября, Ташкент. 2011. -С. 136-139.

28. Исламов А.Х., Зайнутдинов У.Н., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Зияев Ш.Т., Собирова Ф.А. Маданийлаштирилган *Lagochilus Inebrians* усимлигининг экстрактив моддалари таркибини урганиш // Биоорганик Кимё Фани муаммолари. 25-26 ноября, Ташкент. 2011. -С. 142-145.

29. Зарипова Г.И., Кузиев Ш., Выпова Н.Л., Матчанов А.Д., Исламов А.Х. Изучение стабильности гемостатических таблеток Глилагина по биологической активности // Конференция молодых ученых, посвященной памяти акад. С.Ю.Юнусова. 17 марта, Ташкент. 2011. -С.121.

30. Dalimov D.N., Matchanov D.A., Vypova N.L., Islamov A.H., Dolimov Sh.I., Sobirova F.A. Water – soluble complexes of Lagochilina and Lagoxirzina // International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Urumchi. Xinjian China, October 16-19, 2011. -P.51.

31. Matchanov A.D., Dalimov D.N., Vypova N.L., Erkabaev A.R., Islamov A.H., Shukurov A.N. Development of Haemostatic Preparations on the Basis of Phito Resources //International Conference «Renewable Wood and Plant

Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine». June 21-24. Saint-Petersburg, Russia. 2011. -P. 159-160.

32. Исламов А.Х., Собирова Ф.А., Зайнутдинов У.Н., Отаргалиев Т., Матчанов А.Д. К изучению состава экстракта растения *Lagochilus Inebrians* // «Актуальные проблемы химии природных соединений». 19 марта, Ташкент. 2012. -С.152.

33. Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Выпова Н.Л., Исламов А.Х. Кровоостанавливающие препараты на основе растительного сырья // «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». 31 января-2 февраля, Москва. 2013. -С 83-84.

34. Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Выпова Н.Л., Исламов А.Х., Собирова Ф.А. Синтез производных лагохилина, супрамолекулярных комплексов и их гемостатическая активность // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». 15-16 ноября, Ташкент. 2013. -С. 36.

35. Выпова Н.Л., Зарипова Г.И., Иногамов У.К., Далимов Д.Н., Зиявитдинов Ж.Ф., Матчанов А.Д., Филатова А.В., Гафуров М.Б. Изучение кровоостанавливающего действия мягких лекарственных средств на основе Глилагина // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». 15-16 ноября, Ташкент. 2013. -С. 84-85

36. Исламов А.Х., Собирова Ф.А., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б., Далимов Д.Н. Водорастворимые комплексы производных лагохилина // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». 15-16 ноября Ташкент. 2013. -С. 129.

37. Выпова Н.Л., Иногамов У.К., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Гафуров М.Б. Изучение кровоостанавливающего действия Линимента Глилагина на модели капиллярно-паренхиматозного кровотечения // «Актуальные проблемы химии природных соединений». 12 марта, Ташкент. 2015. -С. 152.

38. Матчанов А.Д., Далимов Д.Н., Мухамедиев М.Г., Исламов А.Х., Собирова Ф.А. Супрамолекулярные комплексы на основе растительного сырья // «Возобновляемые растительные ресурсы и органическая химия». 17-21 июня. Санкт-Петербург, Репино. 2013. -С.413-414.

39. Матчанов А.Д., Далимов Д.Н., Мухамедиев М.Г., Исламов А.Х., Матчанов У.Д. Синтез и некоторые физико-химические свойства супрамолекулярных комплексов дитерпеноидов и ГК и её солями // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. 21-22 ноября, Наманган. 2014. -С. 12-16.

40. Далимов Д.Н., Выпова Н.Л., Матчанов А.Д., Саидханов Б.А., Алимов М.М., Гафуров М.Б., Исламов А.Х. Кровоостанавливающие средства на основе низкомолекулярных природных соединений // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». 15-16 ноября, Ташкент. 2013. - С. 369-385.

В приложении приведены копии ВФС и проектов ВФС (временных фармакопейных статей), промышленных регламентов, акты внедрения, заключения клинических испытаний.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журнали» тахририятида тахрир қилинди.

Босишга рухсат этилди: 31.01.2017 йил
Бичими 60x45 ¹/₁₆, «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табағи 5. Адади: 100. Буюртма: № _____.

Ўзбекистон Республикаси ИИВ Академияси,
100197, Тошкент, Интизор кўчаси, 68

АКАДЕМИЯ НОШИРЛИК МАРКАЗИ»
Давлат унитар корхонасида чоп этилди.