

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АБДУЛЛАДЖАНОВА НОДИРА ГУЛОМЖАНОВНА**

**EURHORBIAСEAE ОИЛАСИГА КИРУВЧИ ВА ТАРКИБИДА ТАННИН  
САҚЛОВЧИ БОШҚА ИСТИҚБОЛЛИ ЎСИМЛИКЛАР  
ПОЛИФЕНОЛЛАРИ ҲАМДА УЛАР АСОСИДА ДОРИ  
ВОСИТАЛАРИНИ ЯРАТИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

**ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент – 2015**

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

Абдулладжанова Нодира Гуломжановна Euphorbiaceae оиласига кирувчи ва таркибида таннин сақловчи бошқа истикболли ўсимликлар полифеноллари ҳамда улар асосида дори воситаларини яратиш .....	5
Абдулладжанова Нодира Гуломжановна Полифенолы растений сем. Euphorbiaceae и других перспективных танидоносных растений и создание на их основе лекарственных средств.....	27
Abdulladjanova Nodira Gulomjanovna Polyphenols of the Euphorbiaceae plant family and other perspective tannin containing plants and creation on their basis of medicines.....	53
Эълон қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	75

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АБДУЛЛАДЖАНОВА НОДИРА ГУЛОМЖАНОВНА**

**EURHORBIAСЕAE ОИЛАСИГА КИРУВЧИ ВА ТАРКИБИДА ТАННИН  
САҚЛОВЧИ БОШҚА ИСТИҚБОЛЛИ ЎСИМЛИКЛАР  
ПОЛИФЕНОЛЛАРИ ҲАМДА УЛАР АСОСИДА ДОРИ  
ВОСИТАЛАРИНИ ЯРАТИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

**ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент – 2015**

**Докторлик диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида 30.06.2015/В2015.2.К114 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](http://www.ziyoNet.uz)) жойлаштирилган.

**Илмий  
маслаҳатчи:**

**Мавлянов Саидмухтар Максудович**  
кимё фанлари доктори, профессор

**Расмий  
оппонентлар:**

**Зайнутдинов Умаржон Насрутдинович**  
кимё фанлари доктори, профессор

**Арипова Тамара Уктамовна**  
тиббиёт фанлари доктори, профессор

**Салимов Баходир Тахирович**  
кимё фанлари доктори

**Етакчи  
ташкilot:**

А.С.Султонов номидаги Ўзбекистон кимё-фармацевтика  
илмий тадқиқот институти

Диссертация химояси Биоорганик кимё институти ва Ўзбекистон Миллий Университети ҳузуридаги 16.07.2013.К/В/Т.13.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2015 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ соат \_\_\_ да ўтадиган мажлисида бўлади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек 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 Улуғбек кўч., 83. Тел. 262 35 40, факс: (99871) 262 70 63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

Автореферат 2015 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ да тарқатилди.  
(2015 йил \_\_\_\_\_ даги № \_\_\_ рақамли реестр баённомаси).

**А.С.Тураев**

Фан доктори илмий даражасини берувчи илмий кенгаш раиси, к.ф.д., профессор

**Б.Н.Бабаев**

Фан доктори илмий даражасини берувчи илмий кенгаш илмий котиби, к.ф.д.

**А.А.Ахунов**

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

## КИРИШ (Докторлик диссертацияси аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Ҳозирда дунё тиббиёт амалиётида қўлланилаётган 30 фоиздан ортиқ дори воситалари табиий бирикмалар асосида яратилган ва улар орасида полифенол бирикмалари салмоқли ўрин эгаллайди. Полифеноллар организмда холестерин миқдорини камайтиргани, юрак қон-томир системасини мустаҳкамлагани, иммунитетни кучайтиргани, антибактериал, антигипоксик, антиоксидант хоссаларга, шунингдек, вирусларга, яллиғланишга ва хавфли ўсмаларга қарши фаолликка эга бўлгани, организмга осон сингиши ва салбий таъсирлари жуда кам бўлганлиги боис, қатор касалликларни даволашда ишлатилиб келинмоқда.

Бутун инсоният оламига хавф солувчи одамнинг иммунитет танқислиги вируси (ОИВ) ва грипп инфекцияларининг дунё бўйлаб кенг тарқалиши натижасида ер юзидаги кўплаб аҳолининг бу касаллик билан оғриш эҳтимоллиги ортиб бормоқда. ОИВ келтириб чиқарадиган ОИТС касаллиги бугунги кунда барча мамлакатлар учун глобал муаммога айланди. Сўнгги йилларда таннин номи билан маълум бўлган полифенолларнинг вирусларга, жумладан, ОИВга нисбатан самарали қаршилик кўрсатиш фаоллигига эгаллиги ва бу бирикмалар вирусларнинг репликациясига қаршилик кўрсатиб, организмда интерферон индукциялаш хусусиятига эгаллиги аниқланди. Скрининг натижаларига кўра, Марказий Осиёда ўсувчи *Anacardeaceae*, *Geraniaceae*, *Malvaceae*, *Punicaceae* ва *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи ўсимликлардан ажратиб олинган полифеноллар вирусларга қарши юқори фаолликни намоён қилиб, уларнинг 10 мкг/мл концентрациядаги композицияси ОИВ-1 репликациясини 80 фоизгача пасайтирди. Замонавий тиббиётда вирусли касалликларни даволашда қўлланилаётган аксарият дори воситалари синтетик табиатга эга бўлиб, улар айрим ножўя таъсирларни намоён қилади. Бу эса табиий бирикмалар асосида вирусларга қарши дори воситалари яратиш лозимлигини ҳамда ушбу муаммони ҳал этиш учун полифенолларнинг янги истиқболли манбаларини излаб топиш, бирикмаларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаолликларини ўрганиш масаласи долзарб эканлигини кўрсатади.

Ўзбекистон Республикасининг 2013 йил 23 сентябрдаги 39-сон «Одамнинг иммунитет танқислиги вируси келтириб чиқарадиган касаллик (ОИВ инфекцияси) тарқалишига қарши курашиш тўғрисида»ги Қонуни ҳамда Вазирлар Маҳкамасининг 2014 йил 10 сентябрдаги 255-сон қарори билан тасдиқланган «2014-2016 йилларда Ўзбекистон Республикасида ОИВ инфекцияси тарқалишига қарши курашиш соҳасидаги Давлат Дастури»да белгиланган вазифаларни муайян даражада амалга оширишга мазкур диссертация тадқиқоти хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланиши устувор йўналишларига боғлиқлиги.** Мазкур диссертация республика фан ва технологиялари ривожланишининг қуйидаги устувор йўналишларига мос

равишда бажарилган: ИТД-11 «Маҳаллий табиий ва синтетик хом ашё асосида дори воситалари ишлаб чиқаришнинг юқори самарадор технологияларини яратиш».

### **Диссертация мавзуси бўйича халқаро илмий тадқиқотлар шарҳи.**

Дунёнинг етакчи илмий тадқиқот марказлари ва университетларида, жумладан Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University (Япония), College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University (Япония), Centro de Edafología y Biología Aplicada del (Испания), Molekulare Botanik, Universität Ulm (Германия), Department of Chemistry & Biochemistry Miami University (Оксфорд, АҚШ), International association Groupe Polyphénols (Франция), К.А.Тимирязев номидаги ўсимликлар физиологияси институтиларида (Россия) полифенолларнинг кимёвий ва биологик хоссаларини ўрганиш бўйича кенг қамровли изланишлар олиб борилмоқда.

Табиий бирикмаларнинг кенг тарқалган синфи бўлган таннинларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаолликларини аниқлаш юзасидан олиб борилган илмий тадқиқотлар натижасида кейинги йилларда жаҳонда, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: “таннин”лар тўғрисидаги тушунчалар “эллаготаннин”лар тўғрисидаги янги кимёвий ва стереокимёвий маълумотлар билан бойитилиб, халқ табобатида фойдаланувчи ўсимликлардан 500 дан ортиқ соф бирикмалар ажратиб олинган ва уларнинг биологик фаолликлари аниқланган (Okayama University, Matsuyama University); *in vitro* шароитида ферментатив оксидланиш йўли билан галло- ва эллаготаннинлар синтези амалга оширилган ва мономер галлотаннинлардан димер эллаготаннинлар олинган (*Universität Ulm*); эллаготаннинларнинг организмдаги биологик самарадорлиги ва метаболизми очиб берилган (Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura); таннин-протеин комплексининг кимёси ўрганилган, полифеноллар кимёси ва уларни таҳлил этишнинг классик усуллари билан қизиқувчилар учун “Tannin Handbook” онлайн қўлланмаси жорий этилган (Miami University); дунё бўйича табиий полифеноллар соҳасида қўлга киритилган илмий натижаларни фойдаланувчиларга тақдим этиш ва ахборот алмашилиш мақсадида халқаро полифеноллар гуруҳи ассоциациаси ташкил этилган (Groupe Polyphénols).

Ҳозирги вақтда ўсимликлардан таннинлар ва уларнинг ҳосилаларини ажратиб олиш, полифенолларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаоллиги ўртасидаги «структуравий-функционал» боғлиқликни аниқлаш, таннинларнинг вирусларга қарши таъсир кўрсатиш механизмини очиб бериш, галло- ва эллаготаннинларни синтетик усул билан олишга қаратилган устувор йўналишдаги илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** XX аср охирларида Т.Yoshida, Т.Okuda ва бошқа бир қатор япон олимлари томонидан Euphorbiaceae оиласига кирувчи ўсимликларнинг таннинларини ўрганиш ишлари жадал олиб борилиб, улардан бир қаторда янги димер ва олигомер эллаготаннинлар ажратиб олинган. Таннинларнинг антиоксидантлик

хоссасига ҳамда вирусларга, шу жумладан, ОИВга қарши самарали фаолликка эгаллиги аниқланган.

Сўнгги йилларда Л.Н.Гвазаева, М.Д. Алания томонидан *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи *E. glareosa* туридан - glareин А, Т. Yoshida, Y. Amakura, Y. Liu, Т. Okuda томонидан *E. humifusa* туридан эуформисин М1, М2 ва М3 каби янги димер гидролизланувчи таннинлар ажратиб олинган. Z.Z. Ibraheim, A. Ahmed, W.M. Abdel-Mageed томонидан *E. peplus* L. ва *E. aphylla* ўсимликларидан метилгаллат, кемпферол, кверцетин, кверцетин-3-О-(2'',3''-дигаллоил)- $\alpha$ -L-рамнозид, эллаг кислотасининг 3,4,3'-три-О-метил-4'-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиди ва эллаг кислотасининг 3,4,3'-три-О-метил-4'-рутинозиди ажратиб олиниб, уларнинг оғриқ қолдирувчи, яллиғланиш ва бактерияларга қарши фаолликка эгаллиги маълум бўлди. Е.А.Карпова, Е.П.Храмовалар томонидан олиб борилган тадқиқотларда эса *Euphorbiaceae* оиласи айрим вакилларининг флавоноидлари қиёсий ўрганилиб, улардан кверцетиннинг галлат-галактозиди ажратиб олинган.

Ўзбекистонда маҳаллий ўсимликлардан полифеноллар ажратиб олиш, уларнинг ҳосилаларини синтез қилиш ҳамда биологик фаоллигини ўрганиш соҳасидаги илк изланишлар академик О.С.Содиқов раҳбарлигида олиб борилган. Биоорганик кимё институтида к.ф.д. А.Каримжанов томонидан Ўзбекистонда ўсувчи бир неча манзарали, доривор ўсимликлар, рангли узум навлари ва турли мевалардан антоцианлар ажратиб олинган ва озиқ-овқат саноатига табиий бўёқ сифатида тадбиқ этилган. Катехин ва проантоцианидинларнинг кимёвий тузилишларини аниқлашга к.ф.н. Ш.Ю.Исламбеков, к.ф.д., проф. З.А.Кулиев каби олимлар катта ҳиссаларини қўшганлар. Профессорлар А.И.Исмаилов ва Н.О.Барам томонидан ғўза илдиз пўстлоғидан ажратиб олинган госсипол ва унинг ҳосилалари асосида турли вирусли касалликларни (герпес, хламидия, гепатит) даволашда қўлланилаётган «Мегосин», «Гозалидон», «Рагосин» каби дори препаратлари яратилиб, тиббиёт амалиётига жорий этилган.

Лекин, Республикада табиий полифеноллар- таннинлар асосида вирусларга қарши дори воситалари ҳали яратилмаган.

**Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий ишлари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг МР-41 «Ўсимлик полифенолларининг вирус репликациясини ингибирлаш механизми» Ўзбекистон-Россия лойиҳаси (2008-2010 й.й.), А-10-065 «Ўсимлик полифеноллари асосида гриппга қарши дори воситасини яратиш ва унинг вирусларга қарши фаоллигини таҳлил этиш» (2006-2008 й.й.), А-10-122 «Маҳаллий ўсимлик полифеноллари асосида ОИТСга қарши фаолликка эга бўлган Гетасан ва Пунитан дори воситаларини яратиш» (2006-2008 й.й.), ФА-А12-Т160- «Маҳаллий ўсимлик полифеноллари асосида гриппга (Рутан, Госситан) ва ОИТСга (Гетасан, Пунитан) қарши фаолликларга эга бўлган дори воситалари яратиш» (2009-2011 й.й.), ИФА 2012-6-6 «Маҳаллий ўсимлик хом ашёси полифеноллари асосида гриппга (Рутан, Госситан) ва

ОИТСга (Гетасан) қарши дори воситалари ишлаб чиқаришни ташкил этиш» (2012-2013 й.й.), А-11-Т-051 «ОИТСга қарши фаолликка эга бўлган Эуфорбин дори воситасини яратиш» (2012-2014 й.й.) мавзусидаги амалий ва инновацион лойиҳалар таркибий қисмига киритилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** - маҳаллий ўсимликлар полифеноллари асосида вирусларга қарши самарали дори воситалари яратишдан иборат.

Белгиланган мақсадга эришиш учун қуйидаги **тадқиқот вазифалари** қўйилган:

*Euphorbiaceae* оиласининг 29 тури вакилларида соф бирикмалар ажратиб олиш йўллари излаб топиш;

бирикмаларнинг тузилишини кимёвий ва спектрал усуллар ёрдамида исботлаш;

ажратиб олинган бирикмалар орасидан юқори биологик фаолликка эга бўлганларини аниқлаш;

бирикмаларнинг кимёвий тузилишлари ва биологик фаолликлари ўртасидаги боғлиқликни ўрганиш;

Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан, Эуфорбин субстанциялари, стандарт намуналари ва дори шаклларига Вақтинчалик Фармакопея Мақолаларини (ВФМ) расмийлаштириш;

Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин дори воситаларини яратиш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи ўсимликларнинг 29 та тури олинган.

**Тадқиқот предмети**- полифеноллар, гидролизланувчи таннинлар.

**Тадқиқот усуллари.** Ишни бажариш жараёнида технологик (қаттиқ жисм–суюқлик, суюқлик-суюқлик тизимларидаги экстракция, чўктириш, қуритиш жараёнлари), кимёвий (кислотали ва босқичли гидролиз, метиллаш ва метанолиз реакциялари), физик-кимёвий (УБ-, ИҚ-, ЯМР-спектроскопия, Q-TOF LC-MS-спектрометрия) ва аналитик (қоғоз ва юпқа қатламли хроматография, спектрофотометрик, фотоэлектроколориметрик, юқори самарали суюқлик хроматография) усуллар ҳамда *in vitro* ва *in vivo* шароитдаги фармако-токсикологик тадқиқот усуллардан фойдаланилди.

**Тадқиқотнинг илмий янгилigi** қуйидагилардан иборат:

илк бор *Euphorbia* туркуми ўсимликларининг 29 та туридан 70 дан ортиқ, шу жумладан, 8 та янги модда - гексагидроксидифеноил-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопиранозид)- диэфери, 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза, 1,3-дигидродигаллоил-4-валонеил-β-D-глюкоза ажратиб олинган, моддаларнинг физик-кимёвий константалари ҳамда тузилишлари кимёвий ва замонавий спектрал усуллар ёрдамида исботланган;



ажратиб олинган моддалар антирадикал, антиоксидант хоссаларга ҳамда вирусларга қарши фаолликка эгаллиги топилган;

моддаларнинг антиоксидантлик фаолликлари В ва С ҳалқалардаги гидроксил гуруҳлар сонига, гидроксил гуруҳларнинг бир-бирига нисбатан жойлашиш ҳолатига ва С ҳалқанинг тўйинганлик даражасига боғлиқлиги аниқланган;

1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза ва 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза ОИВнинг самарали ингибитори эканлиги исботланган;

Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин дори воситалари учун барча зарур меъёрий техник ҳужжатлар тайёрланган, дори шакллари яратилган.

**Тадқиқотнинг амалий натижаси.** Гетасан, Пунитан ва Эуфорбиннинг ОИВ-1 га, Рутан ва Госситаннинг грипп вирусига қарши юқори фаолликка эгаллиги аниқланган. Бу бирикмалар вирусларга қаршилик кўрсатиш фаоллиги билан бир қаторда, организмда интерферон индукциялаш хусусиятига ҳам эга бўлиб, бунда α-, β- ва γ- интерферонлар йиғиндиси ҳосил қилган.

Рутан ва Госситан тўғридан-тўғри вирулицид хусусиятига эга бўлиб, интерферон индукцияловчи ва вирусларга қаршилик кўрсатувчи машҳур дори воситалари Амиксин, Зовиракс, Ремантадин препаратларига нисбатан 1,5-2 баравар юқори фаолликни намоён қилган.

Давлат Фармакопея талабларига мувофиқ Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин субстанцияларининг физик-кимёвий доимийликлари ўрганилиб, стандарт намуналари танланган.

Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин субстанцияларининг тўлиқ клиника олди фармако-токсикологик текширувлар ўтказилиб, уларнинг эбриотоксик, тератоген, иммунотоксик ва мутаген хоссаларга эга эмаслиги аниқланган.

Рутан 0,025, Госситан 0,025, Гетасан 0,01, Пунитан 0,01 ва Эуфорбин 0,025 дозага эга бўлган дори шакллари - таблеткалар яратилган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги.** Ажратиб олинган моддаларнинг тузилиши ва биологик фаолликларини замонавий усуллар (кимёвий, физик-кимёвий, аналитик ҳамда *in vitro* ва *in vivo* шароитдаги фармако-токсикологик тадқиқот усуллари) асосида таҳлил этилганлиги ва изланишлар натижаларининг ишлаб чиқаришга жорий қилинганлиги; тадқиқотлар натижаларининг республика ва халқаро миқёсдаги илмий конференцияларда муҳокама этилганлиги, шунингдек тажрибалар натижаларининг Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссияси томонидан тан олинган илмий нашрларда чоп этилганлиги; Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг патенти олинганлиги.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқотда олинган натижаларнинг назарий аҳамияти шундан иборатки, Ўзбекистонда ўсувчи *Euphorbiaceae* оиласи ўсимликларининг 29 та тури полифеноллари ўрганилиб, улардан аввалдан маълум бирикмалар билан бир қаторда, янги гидролизланувчи таннинлар ажратиб олинди. Полифенолларни ажратиб олиш ва уларни идентификация қилишнинг физик-кимёвий усуллари, бирикмаларнинг физикавий ва кимёвий характеристикалари ушбу соҳадаги янги илмий изланишлар учун услубий қўлланма вазифасини бажариши мумкин. Полифенолларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаолликлари ўртасидаги аниқланган «структура-функционал» боғлиқлик маълум бир биологик фаолликка эга бўлган полифенолларни мақсадли излаш имкониятини беради.

Диссертация натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, маҳаллий ўсимлик хом ашёлари асосида вирусларга қарши Рутан, Госситан, Гетасан дори воситалари яратилди. Рутан дори воситаси клиник синовлардан муваффақиятли ўтди. Рутан субстанцияси (ВФС 42 Уз–2515-2014), стандарт намунаси (ВФС 42 Уз–2514-2014), дори шакли (ВФС 42 Уз–2516- 2014) Вактинчалик Фармакопея Мақолалари ва қўлланиш йўриқномаси Фармакологик Қўмита томонидан тасдиқланди. Госситан ва Гетасан дори воситаларининг клиник синовларини ўтказиш учун рухсат берилди.

**Тадқиқот натижаларининг жорий килиниши.** Гриппга қарши фаолликка эга бўлган Рутан ва Госситан, ОИВга- қарши фаолликка эга бўлган Гетасан ва Пунитан дори воситаларини яратиш борасидаги олинган илмий натижалар бўйича Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг 4 та ихтирога патенти олинган: «Гриппга қарши фаолликка эга бўлган восита» (№ IAP 04524, 31.07. 2012), «Гриппга қарши таъсирга эга бўлган восита» (№ IAP 04521, 31.07. 2012), «ОИВга қарши фаолликка эга бўлган восита» (№ IAP 04523, 31.07. 2012), «ОИВга қарши фаолликка эга бўлган восита» (№ IAP 04522, 31.07. 2012);

Рутан стандарт намунаси, субстанцияси ва таблеткаларини тиббиёт амалиётида қўлланилиши учун рухсат берилганлиги тўғрисидаги Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармасининг Шаҳодатномаси (01-14 - SON SHAHODATNOMA, 08 may, 2014 у.) ва рўйхатдан ўтказилганлик Гувоҳномаси (DV/M 00339/09/15) олинган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Тадқиқотнинг асосий натижалари қуйидаги Халқаро ва Республика миқёсидаги илмий анжуманларда апробациядан ўтган: “23<sup>rd</sup> IUPAC-2002. International Symposium on the Chemistry of Natural Products” (Florence, Italy, 2002); «Проблема инфекции в клинической медицине» (Санкт-Петербург, Россия, 2002); «Ўзбекистонда кимё таълими, фани ва технологияси» (ЎЗМУ, Тошкент, 2002); акад. С.Ю.Юнусов хотирасига бағишланган ёш олимлар конференцияси (ЎМКИ, Тошкент, 2003); “International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds” (Tashkent, 2003, Ankara, Turkey, 2005.);

«Биоорганик кимё муаммолари» (Наманган, 2003, 2006, 2009); «International workshop on biotechnology commercialization and security» (Tashkent, 2003); «XVIII<sup>th</sup> Turkish National Congress» (Kars, Turkey, 2004); ёш олимларнинг анъанавий илмий конференцияси (ЎзР ФА, Тошкент, 2004); «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, Россия, 2005); «Табиий хом ашёлар асосида дори воситаларининг олиниши, таҳлили ва қўлланилишидаги ютуқлар» (Тошкент Фармацевтика Институту, 2006); «Фармацияда таълим, фан ва ишлаб- чиқариш интеграцияси» (Тошкент, 2007); «XIII conference of Polish biophysics Society» (Lodz, Poland, 2007); «Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ» (Нукус, 2008); «Актуальные проблемы естественных наук» (СамДУ, Самарканд 2008); «Международный симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2004, 2009, 2012, 2015); Биоорганик кимё муаммолари (Тошкент, 2010, 2013), «18<sup>th</sup> meeting European association for red cell research» (Вроцлав, Польша, 2011), «Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Крым, Украина, 2011), «Актуальные проблемы экологии» (Гродно, Беларусь, 2012), «Экспериментальная и теоретическая биофизика» (Пушино, Россия, 2014).

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 72 та илмий иш, жумладан миллий журналларда 7 та ва нуфузли хорижий журналларда 5 та илмий мақола, шунингдек, илмий анжуманларда 56 маъруза тезислари нашр қилинган ҳамда 4 та патент олинган.

**Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши.** Диссертация кириш, 4 та боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати (214 та манба) ва иловалардан иборат. Диссертация матни 182 бет, 6 та чизма, 1 та расм, 15 та схема ва 17 та жадвалдан иборат.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурияти асосланган, тадқиқот мақсади ва вазифалари ҳамда объект ва предметлари тавсифланган, Ўзбекистон Республикаси фан ва технологияси тараққиётининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, тадқиқот натижаларининг ишончлилиги асослаб берилган, олинган натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Биринчи боб «Таннинлар, уларнинг классификацияси, полифеноллар структурасини аниқлашнинг спектрал усуллари,

**таннинларни ажратиб олиш йўллари ҳамда уларни таҳлил қилишнинг хроматографик усуллари»**да, мавзу бўйича адабиётларнинг батафсил таҳлили ва муаммонининг ўрганилганлик даражаси ёритилган. Унда полифеноллар хусусан, таннинлар, уларнинг классификацияси, ўсимликлардан ажратиб олиш усуллари, тузилишларини аниқлашнинг спектрал (УБ-, ИҚ-, ПМР-, ЯМР  $^{13}\text{C}$  -спектроскопия, масс-спектрометрия) усуллари, таннинлар ажратиб олишнинг турли йўллари ҳамда таҳлил қилиш усуллари борасида маҳаллий ва хорижий олимлар томонидан амалга оширилган тадқиқотлар натижалари батафсил ёритилган.

Иккинчи боб **«*Euphorbiaceae* оиласига кирувчи ўсимликлар полифеноллари»**да тадқиқот бўйича олинган натижалар таҳлил этилган. *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи маҳаллий 29 та ўсимлик турларининг ер устки ва остки қисмлари полифеноллари қиёсий ўрганилиб, улардан индивидуал бирикмалар ажратиб олинган. Ўсимликларнинг алоҳида қисмлари таркибидаги полифеноллар таркибини ўрганиш мақсадида уларнинг гуллаган вақтида йиғиб, қуритилган хом ашёсидан фойдаланилган. Дастлаб хом ашёни липофил бирикмалардан тозалаб олиш учун хлороформ билан экстракция қилиб, сўнгра хом ашёни қуритиб, 70 фоизли ацетон билан уч марта экстракция қилинган. Олинган экстрактларни роторли буғлатгич ёрдамида қуйилтириб, сувли концентратни этилацетат билан ишлов берилган. Этилацетатли фракцияни роторли буғлатгичда қуйилтириб, гексан билан чўктирилган. Ўсимликларнинг алоҳида органларида олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги ҳолатлар кузатилган: полифеноллар асосан илдизларда тўпланган бўлиб, уларнинг миқдори 2.1-13.2 фоизни, баргларида 1.88-6.67 фоизни, пояларида эса 0.03-3.0 фоизни ташкил этган. Сифат реакциялари натижасида полифеноллар йиғиндиси таркибида флавоноллар, фенолоксидлар ва таннинлар синфига таалуқли бирикмалар борлиги кузатилган. Кейинги тадқиқотларни полифеноллар энг кўп миқдорни ташкил қилган ўсимлик илдизи фенол бирикмаларини ўрганиш билан давом эттирилган. Полифеноллари йиғиндисини алоҳида бирикмаларга ажратиш мақсадида силикагел колонкада хлороформ-метанол (17:3; 17:4; 17:5) системаларда ювиб, 3 та фракцияга бўлинган. Биринчи фракциядан фенолоксидлар ажратиб олинган. Қоғозли хроматография натижасида (1-система: н-бутанол-сирка кислота-сув 4:1:5, 2-система: н-бутанол-сирка кислота-сув 40:12:28) иккинчи фракция таркибида кам миқдорда флавоноллар синфига, учинчи фракцияда эса таннинлар синфига таалуқли бирикмалар борлигига гувоҳ бўлинган. Иккинчи фракцияни полиамид колонкада хлороформ – метанол (9:1; 8:2) системаларда қайта хроматография қилиб, индивидуал бирикмалар ажратиб олинган. Физик-кимёвий таҳлил натижаларини адабиётларда берилган маълумотлар билан солиштириш натижасида, бу моддаларни- кемпферол, кверцетин, кемпферол-3-глюкозид, мирицитин, изомирицитрин эканлиги исботланган. Учунчи фракцияни эса силикагел колонкада турли эритувчилар системасида қайта хроматография

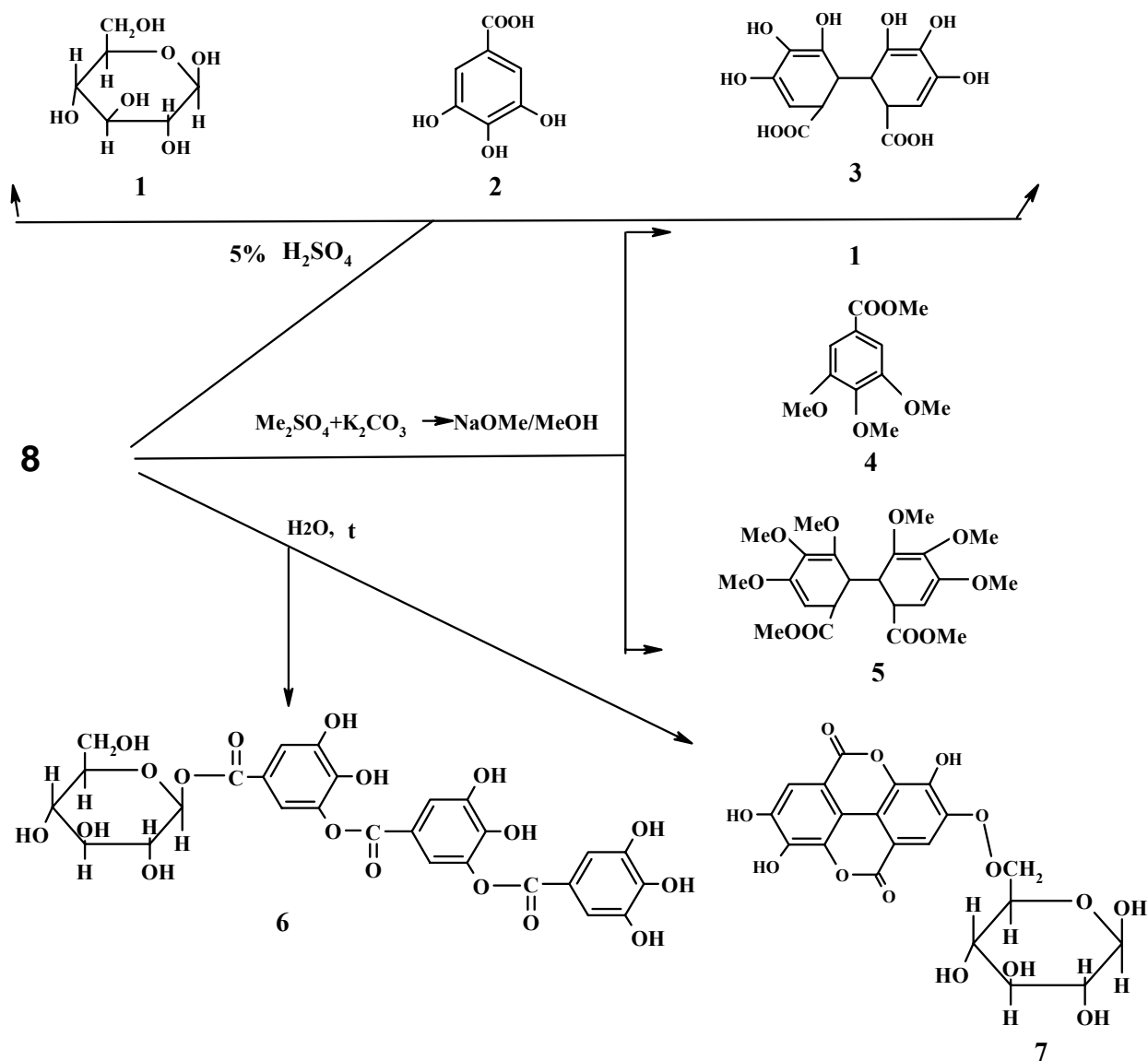
қилиб, индивидуал бирикмаларга бўлинган. Физик-кимёвий усуллар воситасида уларнинг тузилишлари аниқланган.

Ўрганилган ўсимликлардан 70 дан ортиқ фенол бирикмалар ажратиб олиниб, улардан 8 таси аввал адабиётларда келтирилмаган янги бирикмалар эканлиги исботланган.

*Euphorbiaceae* оиласи ўсимликларидан ажратиб олинган янги бирикмалар.

1-модда - *Euphorbia sequieriana* Neck. дан ажратиб олинган оқ аморф кукун.  $[\alpha]_D^{20} -20^0$  (с=1.0, MeOH),  $R_f$  0.55 (1-система).; УБ-спектр (EtOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 220, 280; MS  $m/z$ : 1117  $[M-H]^-$ .

1-модданинг мономер таркиби ва кимёвий тузилишини аниқлаш мақсадида 1-схема бўйича қатор кимёвий жараёнлар олиб борилди. 5%  $H_2SO_4$  иштирокидаги кислотали гидролиз маҳсулотларида глюкоза (1), галл (2) ва эллаг кислоталари (3) ҳосил бўлди.



1-схема. 1-модданинг кимёвий парчаланиш маҳсулотлари

Диметилсульфат ( $\text{Me}_2\text{SO}_4$ ) ва сувсиз  $\text{K}_2\text{CO}_3$  иштирокида метиллаб, ҳосил бўлган реакция маҳсулоти перметилатни  $\text{NaOMe/MeOH}$  иштирокида ишқорий метанолиз қилиш натижасида эса метил-три-О-метилгаллат (4) (ЮҚХ,  $R_f$  0.75, 3-система: бензол-ацетон 4:1) ва диметил-гексаметоксидифенат (5) (ЮҚХ,  $R_f$  0.36, 1-система) ҳосил бўлди. Сув иштирокида  $90^\circ\text{C}$  ҳароратда, 5 соат давомида олиб борилган босқичли гидролиз маҳсулотлари таркибида 1-О-тригаллоил- $\beta$ -D-глюкопираноза (6) ва эллаг кислота глюкозиди (7) ҳосил бўлганлиги аниқланди.

Протонлар билан спин-спин таъсирлари тўла сўндирилган шароитдаги 1-модданинг ЯМР  $^{13}\text{C}$  -спектрида глюкоза, галл ва эллаг кислотаси учун характерли бўлган сигналлар мавжуд (1-жадвал). 93.6 ва 96.5 м.у. даги интенсив сигналлар глюкозанинг С-1 углерод атомига тегишли бўлиб, бу эллаготаннин таркибида аномер маркази  $\beta$ -конфигурацияга эга бўлган иккита глюкоза молекуласи борлигини билдиради. Биринчи глюкозанинг С-1 ва С-2 ҳамда иккинчи глюкоза молекуласининг С-6 углерод атомларига тегишли сигналларнинг кучли майдонга силжиши ва 93.6, 76.7, 63.4 м.у. соҳаларда кузатилиши ушбу ҳолатларда жойлашган углерод атомларининг галлоилланганлигидан далолат беради. Спектрда тригаллоил гуруҳининг учта карбонил гуруҳига тегишли бўлган сигналларни 164.4, 166.3, 168.8 м.у. соҳада кузатиш мумкин.

#### 1-жадвал

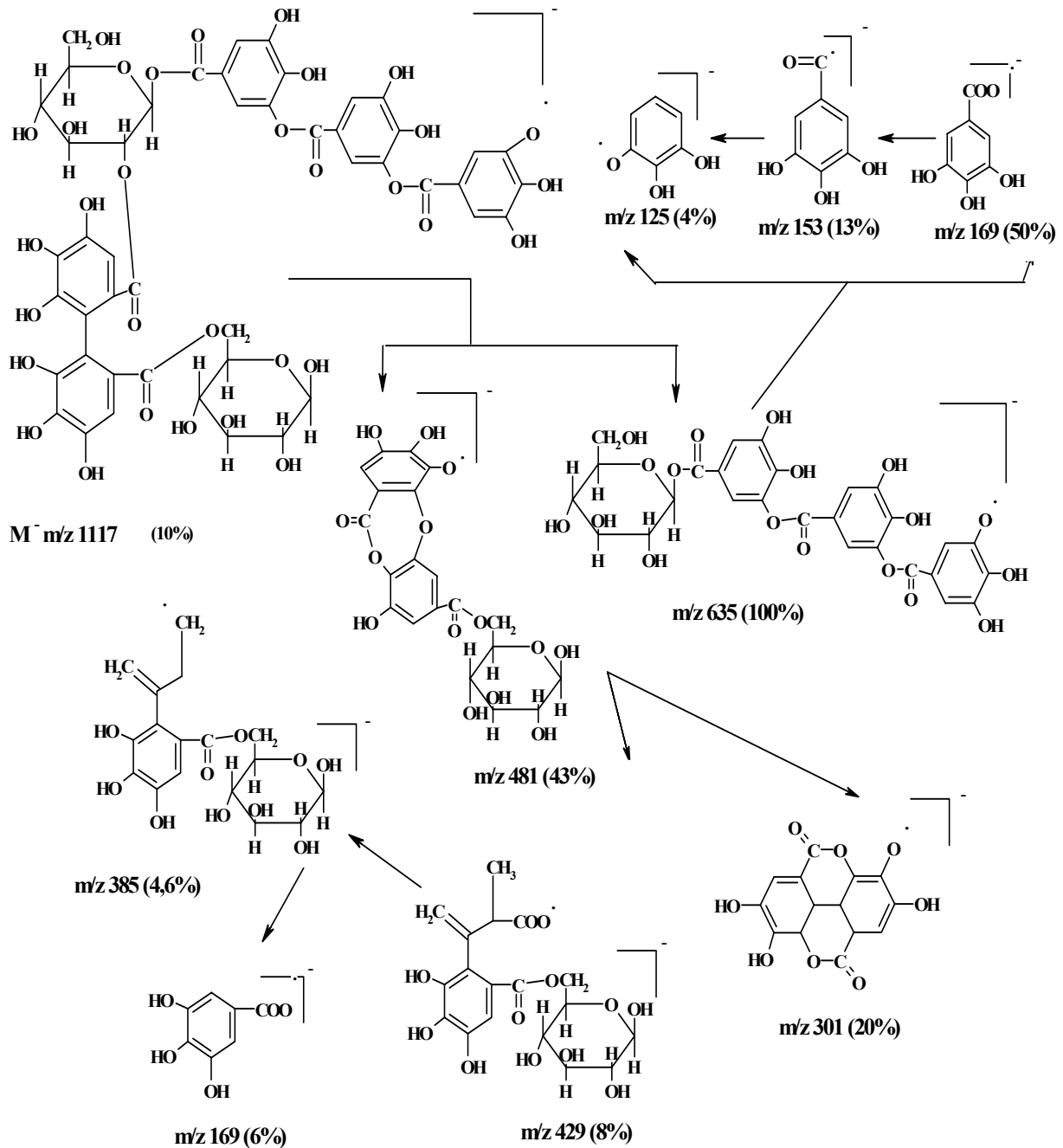
#### 1-модда углерод атомларининг ЯМР $^{13}\text{C}$ – спектридаги кимёвий силжишлари ( $\delta$ , 100 МГц, ацетон- $\text{d}_6+\text{D}_2\text{O}$ , м.у.)

С атоми	Тригаллоил-гр.			Гексагидроксидифеноил-гр.		Глюкоза	
						I	II
С-1	120.4	120.4	120.4	115.5	115.8	93.6	96.5
С-2	110.1	110.1	110.1	125.8	126.4	76.7	74.2
С-3	145.9	145.9	145.9	107.8	108.1	75.2	73.0
С-4	139.3	139.3	139.3	145.8	145.8	69.6	69.6
С-5	145.9	145.9	145.9	136.6	136.4	74.3	75.1
С-6	110.1	110.1	110.1	144.4	144.5	63.2	63.4
С-7	168.8	166.3	164.4	167.6	168.0		

Ушбу гуруҳнинг С-1 углерод атомларига тегишли сигналлар эса 120.4 м.у. да намоён бўлди. С-2 ва С-6 ҳамда С-3 ва С-5 углерод атомлари сигналлари бир хил соҳада намоён бўлиб, мос равишда 110.1 ва 145.9 м.у. соҳада нисбатан интенсив сигналлар берди. С-4 углерод атомининг экранлашуви ва диамагнит силжиши натижасида 139.3 м.у. да резонансланди. Спектрда шунингдек гексагидроксидифеноил (ГГДФ)-гуруҳининг 14 та углерод атомларига тегишли сигналларни ҳам кузатиш мумкин. ГГДФ-гуруҳ кимёвий силжишлари таҳлили шундан далолат берадики, эллаготаннин таркибидаги иккита глюкоза молекулалари ўзаро ГГДФ-гуруҳ орқали боғланган. Ўринбосар тутган С-4, С-4', С-5, С-5' ва С-6, С'-6 углерод атомлари мос равишда 145.8, 136.4-136.6 ва 144.4-144.5 м.у. соҳаларда резонансланди.

Ўринбосар тутмаган C-3 ва C-3' углерод атомлари сигналлари эса 107.8 ва 108.1 м.у. соҳада намоён бўлди.

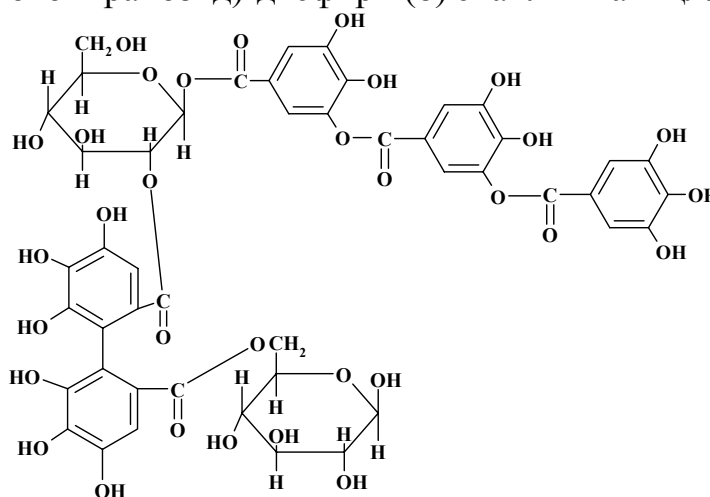
LC-MS Q-TOF масс-спектрометрининг манфий ионлашиш шароитида олинган 1-модданинг масс-спектрометрик фрагментация маҳсулотларида  $m/z$  1117 ( $[M-H]^-$ ) га тенг бўлган соҳада молекуляр ион сигнали кузатилди (2-схема).



## 2-схема. 1- модданинг масс- спектрометрия фрагментацияси

Спектрда  $m/z$  635 ва 481 га тенг бўлган манфий иккиламчи ионлар сигналининг мавжудлиги эллаготанниндаги гексагидроксифеноил- ва тригаллоил-гуруҳ тутган икки глюкоза молекулалари ўртасидаги мураккаб

эфир боғининг узилганлигидан далолат беради. Кейинчалик иккиламчи манфий ионларнинг фрагментларга парчаланиши натижасида ҳосил бўлган  $m/z$  301, 169, 153, 125 га тенг бўлган манфий ион сигналлари галлоил- ва гексагидроксидифеноил-гуруҳларнинг стандарт усул бўйича фрагментланишига мос келиб, эллаг ва галл кислоталарига хос бўлган сигналлар ҳисобланади. Кимёвий ва спектрал тадқиқотлар натижаларини таҳлил қилиш ва адабиёт маълумотлари билан солиштириш натижасида 1-моддани гексагидроксидифеноил-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопиранозид)-диэфири (8) эканлиги аниқланди.



8

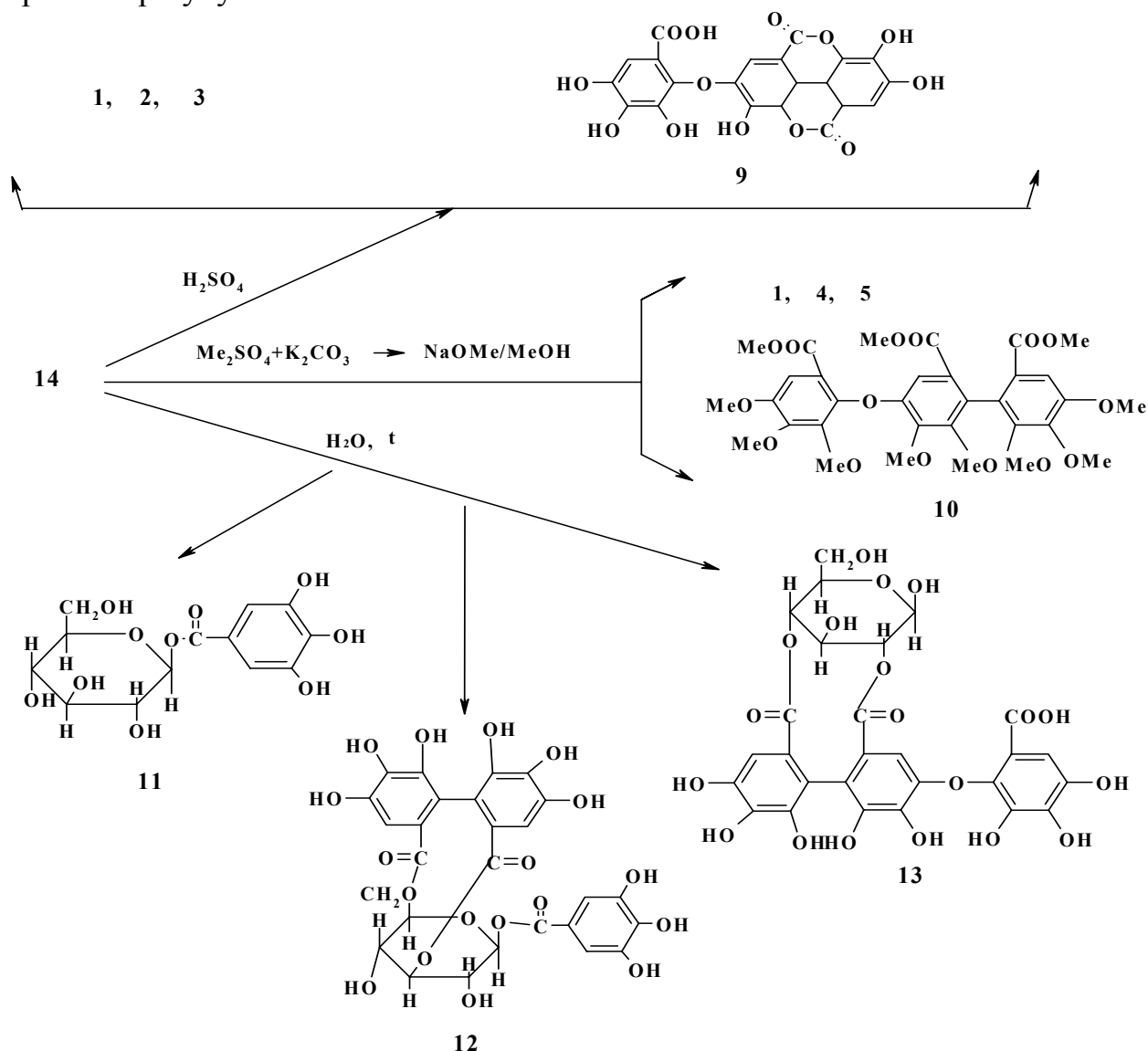
2-модда *E. rosularis* (A. Teod) дан ажратиб олинган сариқ аморф кукун,  $C_{48}H_{32}O_{31}$ ,  $M_r = 1104$ ,  $R_f$  0.42 (1-система).  $[\alpha]_D^{20} +56.2^0$  (с 0.5, MeOH). УБ-спектр ( $\lambda_{max}$ , lg  $\epsilon$ , нм, MeOH): 223 (4.85), 278 (4.49).

2-модданинг мономер таркиби ва кимёвий тузилишини аниқлаш мақсадида 3-схема бўйича қатор кимёвий жараёнлар олиб борилди. Кислотали гидролиз маҳсулотлари таркибида глюкоза (1), галл (2), эллаг (3) кислоталаридан ташқари валонеил кислота дилактони (9) ҳосил бўлди (3-схема). Метиллаш ва метанолиз натижасида эса метил-три-О-метилгаллат (4), диметил-гексаметоксидифенат (5) ва триметил-окта-О-метилвалонат (ЮҚХ,  $R_f$  0.27, 3-система) (10) ҳосил бўлди. Босқичли гидролиз маҳсулотларида 1-О-галлоил-β-D-глюкопираноза (11), 1-О-галлоил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкопираноза (12), 2,4-валонеил-β-D-глюкопираноза (13) аралашмаси борлиги кузатилди.

ИҚ-спектрада  $3345-3350\text{ см}^{-1}$  соҳада ОН-гуруҳига,  $1710-1730\text{ см}^{-1}$  да -СОО- гуруҳига,  $1510-1620\text{ см}^{-1}$  да ароматик ҳалқага,  $1010-1020\text{ см}^{-1}$  қанд қисмига тегишли сигналлар кузатилди. ПМР ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр маълумотларининг таҳлили шуни кўрсатадики, спектрада галлоил- ва валонеил-гуруҳларига тегишли протон ва углерод атомлари сигналларидан ташқари гексагидроксидифеноил-гуруҳининг 2 та протон ва 14 та углерод атомлари учун характерли резонанс сигналлар мавжуд. ПМР-спектрнинг кучсиз майдонида 6.16 м.у. да глюкозанинг Н-1 аномер протонига тегишли дублет сигнал, 5.89, 4.83, 4.39, 4.43 м.у. ларда мос равишда Н-2, Н-3, Н-4 ва Н-5 протонларга тегишли сигналлар кузатилди. Кучсиз майдоннинг 4.79 ва



4.54 м.у. ларидаги дублет дублет кўринишидаги сигналлар иккита Н-6 протонлари учун хос.



### 3-схема. 2-модданинг кимёвий парчаланиш маҳсулотлари

Кучсиз майдонда 6.45 ва 6.64 м.у. соҳадаги дублет сигналлар гексагидроксиДФеноил-гуруҳининг Н-3 ва Н-3' протонларига тегишли. 7.22, 7.10, 7.02 м.у. даги синглет сигналлар эса валонеил-гуруҳ протонлари учун характерлидир. Шунингдек 7.10 ва 7.14 м.у. соҳада галлоил-гуруҳ протонларига тегишли синглет сигналлар кузатилди. 2-модданинг ЯМР  $^{13}C$  - спектрида 1-модда спектрларидан фарқли равишда глюкоза, галлоил-ва гексагидроксиДФеноил-гуруҳ сигналлари билан биргаликда валонеил-гуруҳ учун характерли бўлган сигналлар ҳам кузатилди (2-жадвал). Валонеил-гуруҳнинг С-1, С-1' ва С-1'' атомларига тегишли резонанс сигналлар мос равишда 114.2, 122.0 ва 113.1 м.у. соҳада намоён бўлди. 144-145 м.у. даги интенсив сигналлар С-4 ва С-6 углерод атомларига, 106.9, 111.1 ва 137.1 м.у. соҳадаги сигналлар эса С-3, С-3' ва С-3'' атомларига тегишли. Глюкозанинг С-1, С-3, С-5 (92.5, 75.2, 73.1 м.у.) кимёвий силжишлари таҳлили аномер марказнинг  $\beta$ -конфигурацияга эгалигидан далолат беради. 74.2, 70.8 ва 63.2

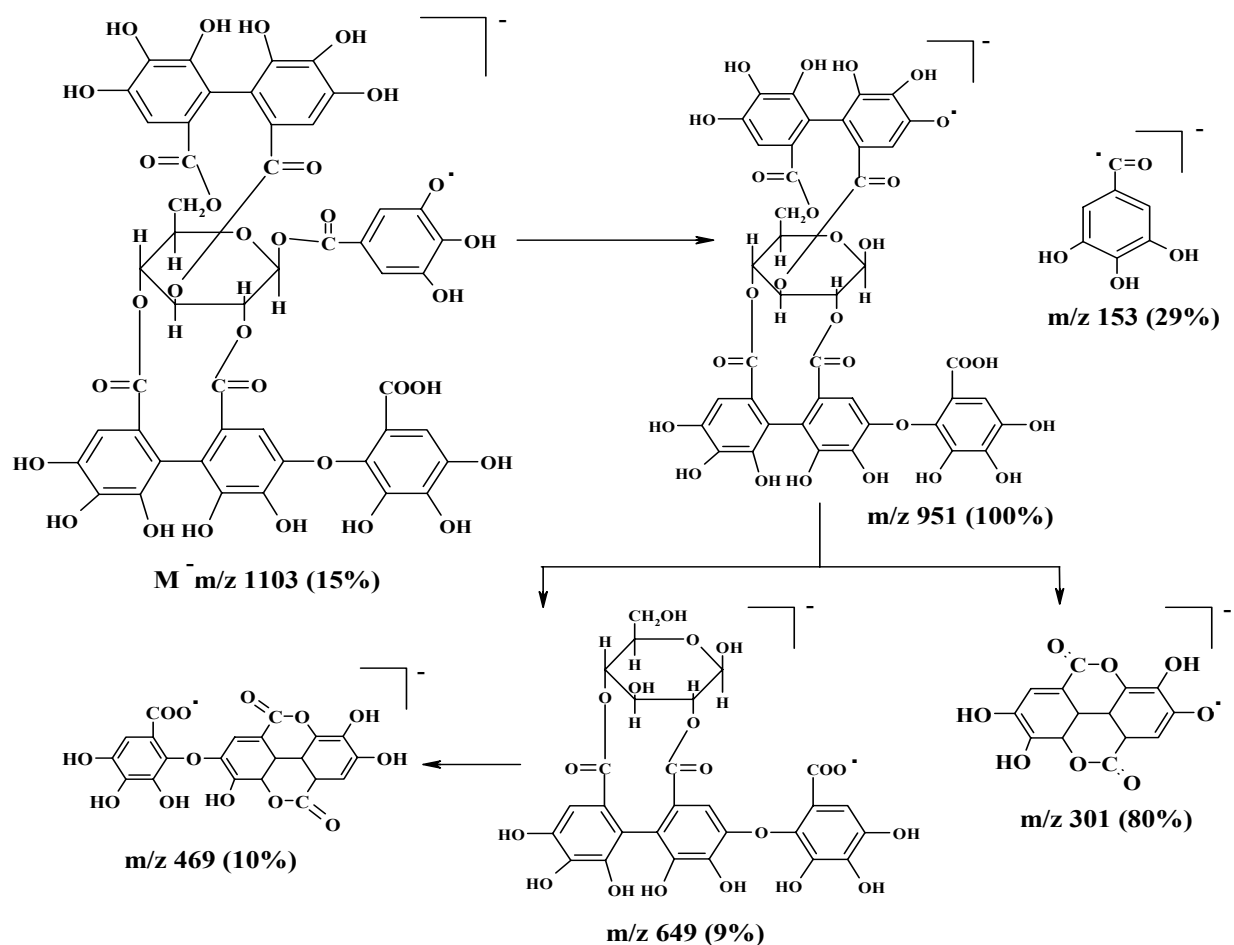
м.у. да глюкозанинг С-2, С-4 ва С-6 атомлари кимёвий силжишлари улардаги ОН-гурухларнинг галлоилланганлигини билдиради.

2-жадвал

2-модда углерод атомларининг ЯМР  $^{13}\text{C}$  –спектридаги кимёвий силжишлари ( $\delta$ , 100 МГц, ацетон  $-d_6 + D_2O$ , м.у.)

С атоми	Галлоил-гр.	Гексагидроксидифеноил-гр.		Валонеил-гр.			Глюк.
		А	В	С			
С-1	120.4	115.6	116.3	114.2	122.0	113.1	92.5
С-2	110.2	125.4	125.4	126.3	132.2	141.3	74.2
С-3	145.8	108.6	109.8	106.9	111.1	137.1	75.2
С-4	139.1	144.8	145.3	145.1	151.6	143.4	70.8
С-5	145.8	136.6	136.6	135.7	135.6	143.7	73.1
С-6	110.2	144.8	145.9	144.4	148.7	110.5	63.2
С-7	165.3	165.4	166.8	168.2	168.3	163.1	

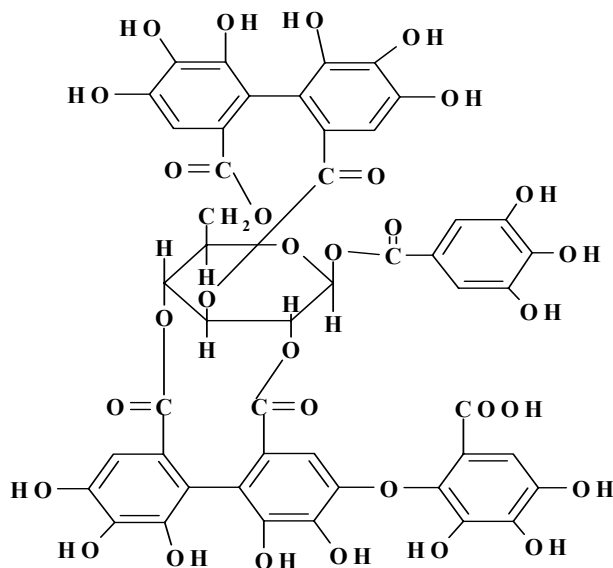
2-модданинг масс-спектрида  $m/z$  1103 га тенг бўлган молекуляр ионнинг иккита фрагментга:  $m/z$  951 ва 153 га эга бўлган ионларга парчаланганлигини кузатиш мумкин (4-схема).



4-схема. 2- модданинг масс-спектрометрия фрагментацияси

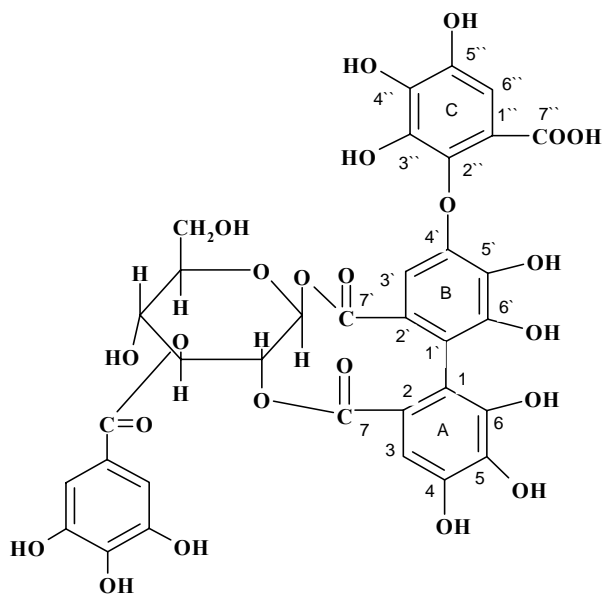
Бу эллаготанниндаги глюкоза ва галл кислотаси ўртасидаги мураккаб эфир боғининг узилганлигидан далолат беради.  $m/z$  951 га эга бўлган молекуляр ион кейинчалик  $m/z$  649 ва 301 га тенг бўлган фрагментларга парчаланadi. Спектрда  $m/z$  469 га тенг бўлган интенсив ион сигналининг кузатилиши  $m/z$  649 га тенг бўлган иккиламчи ионнинг парчланиб, валонеил-гурухнинг ажралиб чиққанлигини тасдиқлайди.

Олинган натижаларни умумлаштириб, уларни адабиёт маълумотларига солиштириш натижасида 2-моддани 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил- $\beta$ -D-глюкоза (14) эканлиги аниқланди.

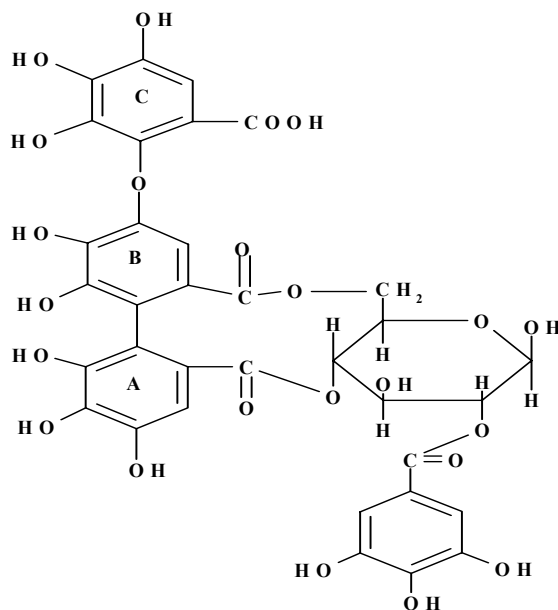


### 14

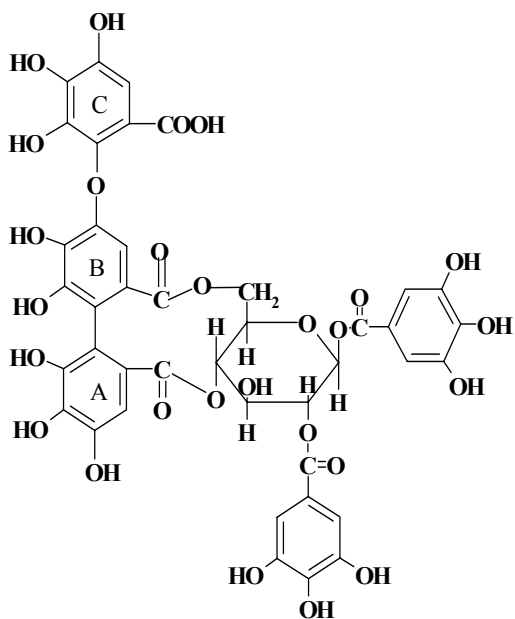
Қолган янги бирикмаларнинг кимёвий тузилишлари ҳам юқоридагифизик ва кимёвий усуллар воситасида таҳлил этилиб аниқланди:



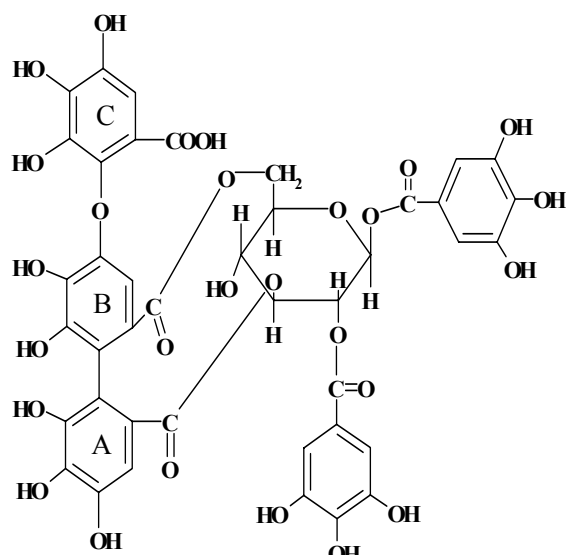
3-О-галлоил-1,2-валонеил- $\beta$ -D-глюкоза  
(*E. helioscopia* L.)



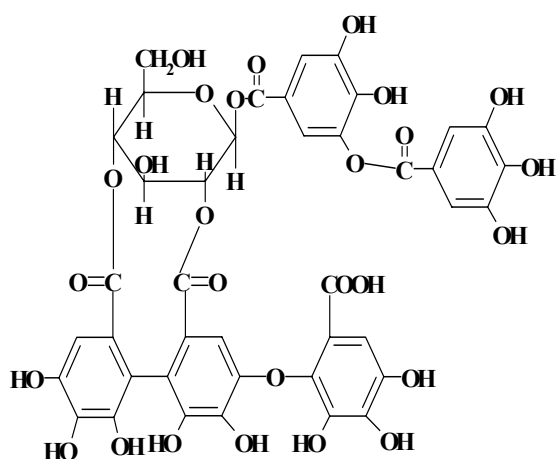
2-О-галлоил-4,6-валонеил- $\beta$ -D-глюкоза  
(*E. turkestanica* Rgl.)



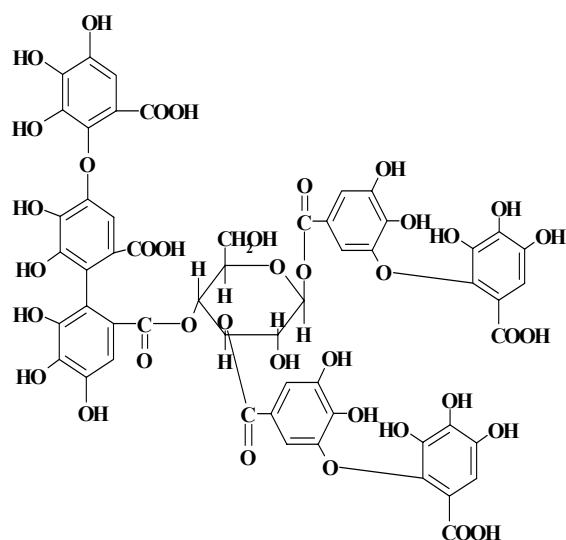
1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза  
(*E.jaxartica* Prokh.)



1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкоза  
(*E.triodonta* Prokh.)

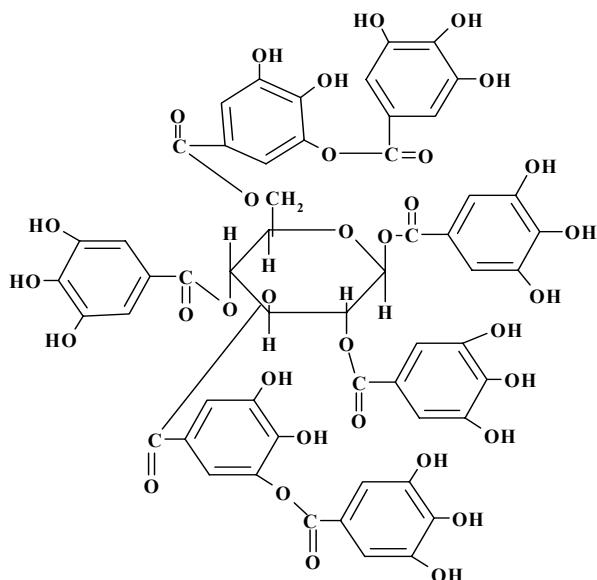


1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (*E. Kudrjashevii* (Pazij) Prokh.)

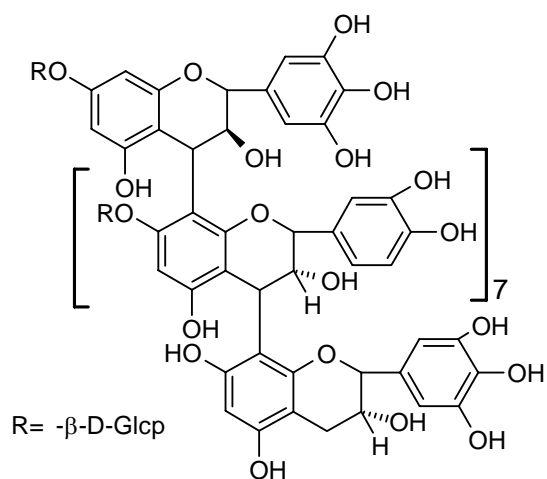


1,3-О-дигидродигаллоил-4-валонеил-β-D-глюкоза (*E.glomerulans* Prokh.)

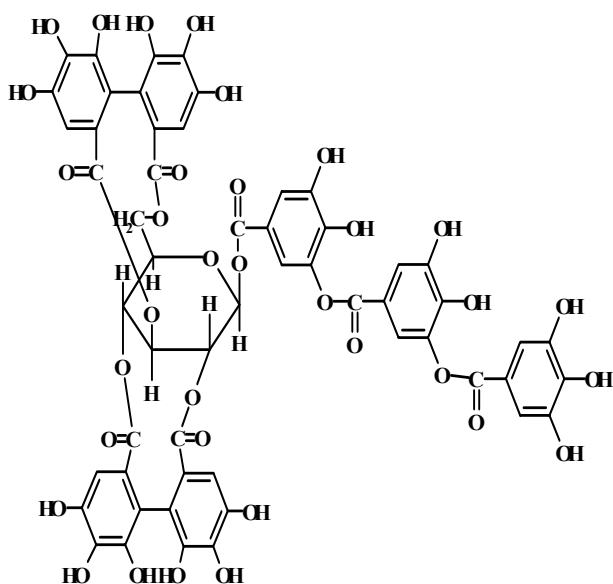
Таннинларга бой бўлган истикболли ўсимликлар полифеноллари асосида дори воситалари яратиш тадқиқотнинг асосий вазифалари қаторига кириб, бунда проф. С.М.Мавлянов томонидан Anacardeaceae, Malvaceae, Geraniaceae, Punicaceae каби оилаларга кирувчи ўсимликлардан ажратиб олинган полифеноллар –Рутан (*Rhus coriaria* L), Госситан (*Gossypium hirsutum* L.), Гетасан (*Geranium sanguineum*) ва Пунитан (*Punica granatum*) воситалари киради. Ушбу полифеноллар асосида дори воситалари яратиш мазкур диссертация иши доирасида бажарилган.



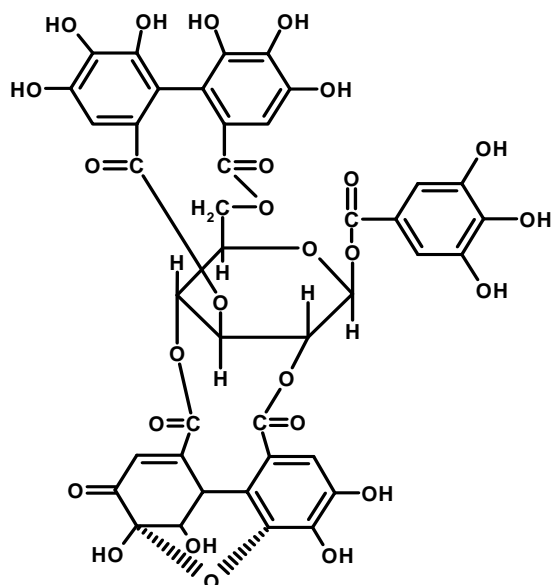
Рутан



Госситан



Гетасан



Пунитан

Учинчи боб «Ажратиб олинган полифенолларнинг биологик фаолликлари»да бирикмаларнинг антиоксидант, антирадикал ва вирусларга қарши фаолликларини аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари баён этилган. Ажратиб олинган моддаларнинг антирадикал ва антиоксидант хоссалари Биоорганик кимё институтининг «Тадқиқотларнинг физик-кимёвий усуллар» лабораториясида б.ф.д., проф. Б.С.Салахутдинов, б.ф.д., проф. М.И.Асроров бошчилигидаги «Молекуляр биофизика» лабораторияси ходимлари ҳамда Польша Биофизика институти илмий ходими б.ф.д., проф. М.В.Замараевалар томонидан ўрганилган. Полифенол бирикмалар 1.25, 6.25 мг/мл дозаларда ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) барқарор эркин

радикалига нисбатан антирадикал хусусиятни намоён қилиб, биомембраналарда липид ва оксилларнинг оксидаланишини олдини олган. Полифенолларнинг ДФПГ билан ҳар хил муҳитдаги кимёвий реакцияси жараёнида антирадикал фаоллиги ўрганилиб, эркин валентликни қайтариш реакциясининг тезлик доимийликлари аниқланган. Тажрибалар шундан далолат берганки, ДФПГ молекуласининг асосий қисми дастлабки 5 дақиқа давомида қайтарилиб, полифенолларнинг  $t_{50}$  яъни ДФПГ концентрациясини 50% га камайтириш учун сарф қилган вақтлари 36-96 сек. ни ташкил этган. Олинган натижалар асосида шундай хулосага келинган: моддаларнинг антиоксидантлик фаолликлари уларнинг тузилишига, яъни В ҳалқадаги гидроксил гуруҳлар сонига боғлиқ бўлиб, уларнинг сони ортган сари антиоксидант фаоллиги ҳам кучайиб боради. Шунингдек, гидроксил гуруҳлар бир-бирига нисбатан *орто*-ҳолатда жойлашган бирикмалар *мета*-ҳолатдагиларга нисбатан юқори фаолликка эга бўлади. Бундан ташқари антиоксидант ва антирадикал фаоллик бевосита С ҳалқанинг тўйинганлик даражасига боғлиқ бўлиб, С-2 ва С-3 углерод атомлари ўртасида қўшбоғ тутган ҳамда С-3 ҳолатда ОН- гуруҳга эга бўлган бирикмалар - флавоноллар эркин радикалларга қарши юқори фаолликни намоён қилган. Аммо, таннинларда умуман бошқача ҳолат кузатилган. Хусусан, гидролизланувчи таннинларнинг асосий таркибий қисмини гидроксибензой кислота ҳосиласи - галл кислотаси ва унинг оксидланиш маҳсулотлари ташкил этганлиги боис, улар *орто*- ва *пара*- ҳолатларда эркин радикалларга нисбатан кичик, *мета*-ҳолатда эса юқори фаолликни намоён қилган. Буни фенол ҳалқасида жойлашган ягона карбоксил гуруҳининг *орто*- ва *пара*-ҳолатларга таъсир кўрсатувчи электронларни итариш хусусияти билан тушунтириш мумкин. Шунинг учун 3,4,5-ҳолатларда ОН гуруҳига эга бўлган галл кислотаси ва унинг ҳосилалари юқори антиоксидант фаолликка эга бўлган.

Шунингдек Рутаннинг табиий ва сунъий биологик мембраналарда мембранатроп таъсири ўрганилган. Тадқиқотлар шундан далолат берадики, гидролизланувчи таннин мембрана ичига кириш хоссасига эга бўлиб, у ҳужайра ичида молекуляр структура - ион каналларини шакллантиради. Ушбу молекуляр структуралар селектив потенциалга ва липид таркибига боғлиқлик каби асосий характеристикаларга эга.

*Полифенолларнинг вирусларга қарши фаолликлари.* *Euphorbiaceae* оиласи ўсимликларидан ажратиб олинган турли кимёвий тузилишга эга бўлган 8 та янги бирикмаларнинг ОИВга қарши фаолликлари Россия Тиббиёт Академияси Д.И.Ивановский номидаги Вирусология илмий текшириш институтида проф. Э.В.Карамов бошчилигида ўрганилган. Текширилган барча бирикмалар СЕМ SS ҳужайралар учун деярли бир хил цитотоксик хоссага эга бўлиб, 50% ли токсик доза ( $TD_{50}$ ) 117-300 мкг/мл атрофида бўлган (3-жадвал). Вирусларга қарши фаолликларини аниқлаш мақсадида СЕМ SS ҳужайраларига ОИВ-1/<sub>BRU</sub> референс-штаммнинг кўп миқдордаги инфекцияси ( $1000TCID_{50}$ ) юқтирилган. Олиб борилган изланишлар натижасида тўртта бирикма - 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксиДФеноил- $\beta$ -D-глюко-

пираноза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкопираноза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза ОИВ-инфекциясига етарли даражада самарали ингибиторлик қилиши аниқланган. Уларнинг 50% ли эффектив дозаси (ED<sub>50</sub>) мос равишда 0.29, 3.1, 8.8 ва 0.36 ни ташкил қилган. Текширилган бирикмаларнинг истиқболлилиги уларнинг терапевтик индекси (IS) билан белгиланиб, терапевтик индекси 1034 ва 472 бўлган 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза ҳамда 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза истиқболли бирикмалар қаторига киритилган.

### 3-жадвал

#### Полифенолларнинг цитотоксик ва эффектив дозалари ҳамда терапевтик индекслари

№	Бирикма	TD <sub>50</sub> МКГ/МЛ	ED <sub>50</sub> МКГ/МЛ	IS TD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
1	1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза	300	0.29	1034.0
2	1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза	145	3.1	46.8
3	2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза	170	0.36	472.0
4	1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкоза	135	27.0	5.0
5	3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза	117	8.8	13.3
6	1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза	170	25.0	6.8
7	1,3 дигидродигаллоил-4-валонеат-β-D-глюкоза	145	27.5	5.3
8	гексагидроксидифеноил-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопираноза)-диэфири	215	23.5	9.1

Юқори антивирус фаолликка эга бўлган бирикмаларнинг ОИВга қарши таъсир кўрсатиш механизмлари ўрганилган. СЕМ SS хужайраларига ВИЧ-1<sub>BRU</sub> штаммининг кўп миқдордаги инфекцияси (1000TCID<sub>50</sub>) юқтирилган ва текширилувчи бирикмалар субтоксик концентрацияларда турли вақт ораликларида қўшиб борилган. 72 соатдан сўнг тажриба ва назорат (бирикмаларсиз) намуналардан ОИВ-1 антигени бўлган р24 нинг миқдорини аниқлаш учун намуналар олинган. Референс бирикмалар сифатида вирус ва хужайра ўртасидаги ўзаро таъсири ингибитори- декстран сульфат 5000 ҳамда тескари транскриптаза ингибитори- азидотимидиндан (АЗТ) фойдаланилган. Шу хилдаги тажрибалар давомида текширилувчи бирикмаларнинг ингибиторловчи таъсири билан боғлиқ бўлган вируснинг репликатив даври босқичини аниқлаш мумкин. Олинган натижалар шундан далолат бердики, 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза вируснинг хужайрага киришига тўсқинлик қилмади, аммо 0 дан 5

соатгача бўлган вақт оралиғида самарали таъсир кўрсатди (4-жадвал). Бу посттранскрипцион даврга мос келиб, АЗТ бу шароитда 0 дан 3 соатгача бўлган вақт оралиғида ингибитор сифатида таъсир кўрсатган. Натижаларни адабиётларда мавжуд бўлган маълум ингибиторларнинг (тескари транскриптаза (RT), протеаза ва интеграза ингибиторлари) турли вақт оралиқларидаги ОИВга қарши фаолликлари бўйича олинган маълумотлар билан таққослаш орқали, 1-бирикманинг фаоллиги, интегратив жараённинг тўсилиб қолиши билан боғлиқ бўлиши мумкин деган хулосага келинган. Қолган бирикмаларнинг ингибиторловчи фаолликлари худди декстран сульфат 5000 билан бир хил даврда намоён бўлиб, бу шубҳасиз вирус репликацияси бошланғич босқичининг блоклаб қўйилиши билан боғлиқ. Ушбу бирикмаларнинг зарарланган хужайраларга 9 соатдан кейин қўшилиши натижасида инфекциянинг иккинчи бор пасайиши кузатилиб, бу шубҳасиз кўп циклли инфекция давомида ҳосил бўлган янги вирус авлодининг қуршаб олиниши билан боғлиқдир. Вирусларнинг хужайра ичидаги репликацияси мураккаб жараён ҳисобланиб, полифенолларнинг вирусларга қаршилиқ кўрсатиш механизмларини молекуляр даражада мукамал таҳлил қилиш учун янада чуқурроқ тадқиқотлар олиб бориш талаб қилинади.

#### 4-жадвал

#### Бирикмаларнинг ОИВга қарши фаолликлари

Намуна	Вақт (соат)							
	0	1	3	5	7	9	24	36
1	0,147	0,265	0,559	0,726	1,193	1,165	1,123	1,351
2	0,140	1,150	1,295	1,302	1,414	0,693	1,170	1,381
3	0,111	1,289	1,267	1,382	1,408	0,801	1,343	1,413
5	0,128	1,249	1,290	1,316	1,418	0,480	1,295	1,403
Декстран сульфат 5000	0,105	1,148	1,312	1,367	1,370	1,372	1,408	1,392
АЗТ	0,029	0,048	0,244	0,852	0,915	0,943	1,135	1,114

Вирусларга қарши Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин дори воситаларини яратиш. Скрининг натижаларига кўра, Рутан ва Госситан грипп вирусига, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин ОИВга қарши юқори фаолликка эгаллиги ҳамда жуда кам цитотоксик хусусиятини намоён қилиши аниқланган. Тадқиқотлар ОИВ-1<sub>BRU</sub>, А(Н3Н2), (Н1Н1) ва В вирус штаммларида ўтказилган.

Вирусларга қаршилиқ кўрсатиш фаоллигига эга бўлган Рутан, Госситан Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин дори воситасини яратиш мақсадида Давлат Фармакопея талабларига мувофиқ уларнинг физик-кимёвий доимийликлари батафсил ўрганилган, стандарт намуналари ва дори шакллари танланган. Шунингдек, субстанцияларнинг клиника олди фармако-токсикологик тадқиқотлари тўлиқ ўтказилган. Олинган натижалар асосида Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин субстанциялари, стандарт намуналари ва



дори шакллариغا Вақтинчалик Фармакопея Мақоласи (ВФМ) лойиҳалари расмийлаштирилган.

Ўзбекистон Республикаси ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармаси Фармакология Қўмитаси томонидан Рутан, Госситан ва Гетасан дори воситаларига клиник синовлар ўтказиш учун рухсат берилган. Рутан препаратининг клиник синовлари муваффақиятли тугалланган. Рутан 0,025 препарати клиникалар томонидан Ўзбекистон Республикасида рўйхатдан ўтказиш ва тиббиёт амалиётида кенг қўллаш учун тавсия этилган. Шунингдек, Рутан стандарт намунаси, субстанцияси ва таблеткаларини тиббиёт амалиётида қўлланилиши учун рухсат берилганлиги тўғрисида ЎЗР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармасининг Шаҳодатномаси, дори воситасини рўйхатдан ўтказилганлик тўғрисидаги Гувоҳномаси олинган. Рутан субстанцияси, стандарт намунаси ва дори шакллариининг ВФМлари ва қўлланиш йўриқномалари Фармакология Қўмитаси томонидан тасдиқланган. Рутан, Госситан, Гетасан ва Пунитан дори воситаларига Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг 4 та ихтирога патенти олинган.

Тўртинчи боб «**Полифенолларни ажратиб олишда қўлланилган шароит ва услублар**»да тадқиқот объекти ва усуллари, полифеноллар йиғиндисини ажратиб олиш, уларни индивидуал бирикмаларга бўлиш, уларнинг кислотали, ишқорий гидролизи ва метиллаш ҳамда метанолиз реакцияларини ўтказиш шароитлари, реакция маҳсулотларини аниқлашда қўлланилган колонкали, қоғозли ва юпқа қатламли хроматография усуллари ҳамда уларда қўлланилган эритувчилар системалари тўғрисида батафсил маълумотлар берилган.

## ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи 29 та ўсимлик полифеноллари таркиби ўрганилди ва улардан 70 дан ортиқ фенол бирикмалар ажратиб олинди. Полифеноллар асосан ўсимликларнинг илдизларида тўпланган бўлиб, улар флавоноллар, фенолокислоталар ва таннинлардан ташкил топганлиги маълум бўлди.

2. Ажратиб олинган бирикмаларнинг тузилишлари физик-кимёвий усуллар воситасида аниқланди. Улардан 8 таси аввал адабиётларда келтирилмаган янги моддалар бўлиб, булар 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза, 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза, 1,3-О-дигидродигаллоил-4-валонеил-β-D-глюкоза, гексагидроксидифеноил-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкоза)-диэфири эканлиги маълум бўлди.

3. Ажратиб олинган полифенолларнинг юқори антиоксидант ва антирадикал хусусиятига эгаллиги, шу билан бир вақтда биомембраналарни деструкцияга учратмаслиги аниқланди. Олинган натижалар шуни кўрсатдики, моддаларнинг антиоксидантлик фаолликлари молекула таркибидаги гидроксил гуруҳлар сонига, уларнинг бир-бирига нисбатан ўзаро жойлашиш ўрнига ва С ҳалқанинг тўйинганлик ва галлоилланиш даражасига боғлиқлиги маълум бўлди.

4. Euphorbiaceae оиласи ўсимликларидан ажратиб олинган янги бирикмаларнинг вирусларга қарши фаолликка эгаллиги аниқланди. Улар ичидан 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксиДФеноил-β-D-глюкоза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкозалар вирусларга қарши юқори фаолликни намоён қилиб, ОИВ-инфекциясига нисбатан самарали ингибиторлик қилиши маълум бўлди. Ушбу бирикмаларнинг вирусга таъсир кўрсатиш механизмлари ўрганилиб, биринчи бирикма провирус ДНК сининг хужайра геномига интеграциялашув жараёнга, қолган бирикмалар эса вирус ва нишон-хужайранинг ўзаро таъсирига қаршилик кўрсатиши маълум бўлди.

5. Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан ва Эуфорбин дори воситаларини яратиш мақсадида Давлат Фармакопея талабларига мувофиқ субстанциялари, стандарт намуналари ва дори шакллариининг физик-кимёвий ва фармако-токсикологик хоссалари ўрганилди. Олинган натижалар асосида уларга Вақтинчалик Фармакопея Мақолалари лойиҳалари расмийлаштирилди ва ФармКўмитага тақдим этилди. Рутан 0,025, Госситан 0,025, Гетасан 0,01, Пунитан 0,01, Эуфорбин 0,025 дори шакллари яратилди.

6. Ўзбекистон Республикаси ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармаси Фармакология Кўмитаси томонидан Рутан, Госситан, Гетасан дори воситаларининг клиник синовларини ўтказиш учун руҳсат берилди.

7. Рутан дори воситасининг клиник синовлари муваффақиятли тугалланди ва Ўзбекистон Республикасида рўйхатдан ўтказиш ва тиббиёт амалиётида кенг қўллаш учун тавсия этилди. ЎзР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш Бош бошқармаси томонидан Рутан стандарт намунаси, субстанцияси ва таблеткаларини тиббиёт амалиётида қўлланилиши учун руҳсат берилганлиги тўғрисидаги Шаҳодатномаси ва дори воситасини рўйхатдан ўтказилганлик Гувоҳномаси олинди. Рутан субстанцияси, стандарт намунаси ва дори шакллариининг ВФМлари ва қўлланиш йўриқномалари Фармакология Кўмитаси томонидан тасдиқланди. Госситан ва Гетасан дори воситасининг клиник синовлари бошланиш арафасида.

8. Гриппга қарши фаолликка эга бўлган Рутан ва Госситан, ОИВга қарши фаолликка эга бўлган Гетасан ва Пунитан дори воситаларига Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал Мулк Агентлигининг Патентлари олинди.

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

---

**АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**АБДУЛЛАДЖАНОВА НОДИРА ГУЛОМЖАНОВНА**

**ПОЛИФЕНОЛЫ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА EUPHORBIAСЕАЕ И  
ДРУГИХ ТАННИДОНОСНЫХ РАСТЕНИЙ И СОЗДАНИЕ НА ИХ  
ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**02.00.10 – Биоорганическая химия**

**АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ**

**Ташкент – 2015**

**Тема докторской диссертации зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за 30.06.2015/В2015.2.К114**

Докторская диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский) размещен на веб-странице Научного совета по адресу <http://ss.biochem.uz> и Информационно-образовательном портале "ZiyoNet" по адресу [www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)

**Научный  
консультант:**

**Мавлянов Саидмухтар Максудович**  
доктор химических наук, профессор

**Официальные  
оппоненты:**

**Зайнутдинов Умаржон Насрутдинович**  
доктор химических наук, профессор

**Арипова Тамара Уктамовна**  
доктор медицинских наук, профессор

**Салимов Баходир Тахирович**  
доктор химических наук

**Ведущая  
организация:**

Узбекский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. А.Султанова

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г. в \_\_\_\_ часов на заседании научного совета 16.07.2013.К.В.Т.13.01 при Институте Биоорганической химии и Национальном Университете РУз по адресу: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел. 262 35 40, факс: (99871) 262 70 63, e-mail:

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии по адресу г. Ташкент, ул. М.Улугбека, 83.

Автореферат диссертации разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 года.  
(протокол рассылки № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2015 года.)

**А.С. Тураев**

Председатель научного совета по присуждению  
учёной степени доктора наук, д.х.н., профессор

**Б.Н. Бабаев**

Ученый секретарь научного совета по присуждению  
учёной степени доктора наук, д.х.н.

**А.А.Ахунов**

Председатель научного семинара при научном совете  
по присуждению учёной степени доктора наук,  
д.б.н., профессор

## Введение (аннотация докторской диссертации)

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** До 30 процентов лекарственных средств, используемых в современной мировой медицине, созданы на основе природных, в том числе полифенольных соединений. Полифенольные соединения обладают способностью понижать уровень холестерина в организме, укрепляют сердечно-сосудистую систему, повышают иммунитет, обладают антибактериальным, антигипоксическим, противовирусным, противовоспалительным, противоопухолевым и др. действиями. Благодаря легкой усвояемости организмом, отсутствию побочных действий, они используются при лечении ряда заболеваний.

В результате широкого распространения по всему миру, угрожающих человечеству инфекций, как Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и гриппа, увеличивается вероятность заболевания большинства населения Земли этими болезнями. ВИЧ-инфекция, вызывающая СПИД, превращается в глобальную проблему. В последние годы выявлена антивирусная активность таннинов, в частности способность этих соединений индуцировать интерферон в организме, оказывая эффективное ингибиторное воздействие на размножение вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1, HIV-1). В результате скрининга соединений, выделенных из растений сем. *Anacardeaceae*, *Geraniaceae*, *Malvaceae*, *Runicaceae* и *Euphorbiaceae*, произрастающих на территории Центральной Азии, были выявлены полифенолы, обладающие высокой противовирусной активностью, в том числе композиции, подавляющие в концентрации 10 мкг/мл репликацию ВИЧ-1 более, чем на 80%. Все применяемые в современной медицине для лечения вирусных заболеваний лекарственные средства имеют синтетическую природу, и проявляют некоторые побочные действия. Это показывает актуальность и востребованность создания лекарственных средств на основе природных соединений. Для решения этой проблемы необходимо провести изыскание новых перспективных источников полифенолов, выделить и установить химическую структуру соединений, выявить их биологическую активность.

Исследования данной диссертационной работы способствуют к выполнению в определенной степени задач, поставленных в принятом №39 23 сентября 2013 года Законе Республики Узбекистан «О противодействии распространению заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция)» и принятой Кабинетом Министров от 10 сентября 2014 года Решением №255 «Государственная программа в области противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Республике Узбекистан на 2014-2016 гг.».

**Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики.** Настоящая диссертационная работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологии Республики Узбекистан Государственной научной программы ППИ-11 «Разработка технологий производства новых

лекарственных средств на основе местного природного и синтетического сырья».

**Обзор международных научных исследований по теме диссертации.** В мировых научных центрах, включая Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University (Япония), College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University (Япония), Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (Испания), Molekulare Botanik, Universität Ulm (Германия), Department of Chemistry & Biochemistry Miami University (Оксфорд, США), International association Groupe Polyphénols (Франция), Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Россия) ведутся интенсивные исследования по изучению химического состава и биологической активности полифенольных соединений.

В результате исследований, проводимых в мире в области таннинов, являющихся одним из широко распространенных классов природных соединений, по установлению химической структуры и биологической активности, достигнуто следующее: понятие «танины» были дополнены химическими и стереохимическими данными «эллаготаннинов». Из используемых в народной медицине растений были выделены в нативном состоянии более 500 соединений (Okayama University, Matsuyama University), путем ферментативного окисления в условиях *in vitro* осуществлен синтез галло- и эллаготаннинов, из мономерных галлотаннинов получены димерные эллаготаннины (Universität Ulm), исследованы биодоступность и метаболизм эллаготаннинов в организме (Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura), изучен химизм комплекса таннин-протеин, для интересующихся химией полифенолов и классическими методами их исследования создано онлайн пособие «Tannin Handbook» (Miami University), для ознакомления с достижениями в области природных полифенолов, обмену информацией создана международная ассоциация. (Groupe Polyphénols).

В настоящее время проводятся работы по выделению из растений танинов, получению их производных, установлению зависимости биологической активности от химической структуры, выявлению механизма противовирусной активности, получению галло- и эллаготаннинов путём синтеза, которые являются приоритетным направлением в научных исследованиях.

**Степень изученности проблемы.** В конце XX века T.Yoshida, T.Okuda и ряд других японских ученых начали интенсивные исследования танинов растений семейства *Euphorbiaceae*. Наряду с известными мономерными гидролизуемыми таннинами, были выделены ряд новых димерных и олигомерных эллаготаннинов. Было установлено их строение, выявлена их высокая антиоксидантная, противовирусная, в том числе анти-ВИЧ-активность. В последние годы Л.Н.Гвазаева, М.Д.Алания из *E. glareosa*, входящего в сем. *Euphorbiaceae* выделили глареин-А, T.Yoshida, Y.Amakura, Y.Liu, T.Okuda из *E. humifusa* эуформисин М1, М2 и М3, являющихся новыми гидролизуемыми димерными танниннами. Z.Z.Ibraheim, A.Ahmed, W.M.Abdel-Mageed из *E. pephus L.* и *E. aphylla* выделили метилгаллат, кемпферол, кверцетин, кверцетин-3-О-

(2'',3''-дигаллоил)- $\alpha$ -L-рамнозид, 3,4,3'-три-O-метил-4'-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид эллаговой кислоты, 3,4,3'-три-O-метил-4'-рутинозид эллаговой кислоты, и выявили их болеутоляющую, противовоспалительную, антибактериальную активность. Е.А.Карпова, Е.П.Храмова провели сравнительное изучение флаваноидов некоторых представителей сем. *Euphorbiaceae* и выделили галактозидгаллат кверцетина.

В Узбекистане первые исследования по выделению полифенолов из местных растений, получению их производных, изучению их биологической активности были осуществлены под руководством академика А.С.Садыкова. В Институте Биоорганической химии д.х.н. А.К.Каримджановым из ряда декоративных, лекарственных растений, окрашенных сортов винограда и плодов выделены антоцианы, на их основе созданы и внедрены в производство пищевые красители. Большой вклад в исследовании химии катехинов и проантоцианидинов внесли к.х.н. Ш.Ю.Исламбеков, д.х.н проф. З.А.Кулиев. Проф. А.И.Исмаилов, Н.И.Барам на основе специфического пигмента хлопчатника – госсипола и его производных создали ряд противовирусных средств (антигерпетического, антихламидийного, гепатопротекторного действия) «Мегосин», «Гозалидон», «Рагосин» и др., которые внедрены в производство. Но в то же время, в Республике до сих пор не были созданы противовирусные средства на основе танинов.

**Связь диссертационного исследования с планом научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения.** Диссертационная работа выполнена в Институте Биоорганической химии рамках Государственных научных прикладных и инновационных проектов: МР-41 «Механизмы ингибирования вирусной репликации полифенолами растений» Узбекско-Российского проекта (2008-2010 г.г.), А-10-065- «Создание эффективного лекарственного средства против гриппа на основе полифенолов растительного происхождения и анализ его противовирусной активности» (2006-2008 г.г.), А-10-122 «Разработка лекарственных препаратов Гетасан и Пунитан, обладающих противСПИДовой активностью на основе полифенолов растительного сырья» (2006-2008 г.г.), ФА-А12-Т160 «Разработка лекарственных препаратов противогриппозного (Рутан, Госситан), противСПИДового (Гетасан, Пунитан) действий на основе полифенолов местного растительного сырья» (2009-2011 г.г.), ИФА 2012-6-6 «Организация производства лекарственных средств, противогриппозного (Рутан, Госситан), противСПИДового (Гетасан) действий на основе полифенолов местного растительного сырья» (2012-2013 г.г.), А-11-Т-051 «Разработка лекарственного препарата Эуфорбин, обладающего противСПИДовой активностью» (2012-2014 г.г.).

**Цель исследования.** Создание эффективных противовирусных лекарственных средств на основе полифенолов местного растительного сырья.

**Задачи исследования:**

изыскание путей выделения чистых соединений из представителей 29 видов семейства *Euphorbiaceae*;

определение структуры выделенных соединений методами химического и спектрального анализа;

изучение биологического действия выделенных соединений и выявление среди них веществ, обладающих наиболее высокой активностью;

изучение взаимосвязи между химической структурой соединений и их биологической активностью;

оформление Временных Фармакопейных статей (ВФС) на субстанции, стандартные образцы, лекарственные формы Рутана, Госситана, Гетасана, Пунитана и Эуфорбина;

создание лекарственных средств Рутан, Гетасан, Госситан, Пунитан и Эуфорбин.

**Объект исследования.** 29 растений, входящих в сем. *Euphorbiaceae*.

**Предмет исследования.** Полифенолы, гидролизуемые танины.

**Методы исследования.** При выполнении работы использовались технологические (экстракция в системах твердое тело–жидкость, жидкость–жидкость, процессы осаждения, сушки, хроматографическое разделение), химические (кислотный и ступенчатый гидролиз, щелочное расщепление, метилирование и метанолиз), физико-химические (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия, Q-TOF LC-MS спектрометрия) и аналитические (тонкослойная и бумажная хроматография, ВЕМ, спектрофотометрический, фотоэлектроколориметрический, ВЭЖХ) методы и методы фармако-токсикологических исследований в условиях *in vitro* и *in vivo*.

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

впервые из 29 видов растений рода *Euphorbiaceae* выделено более 70 соединений, из которых 8 оказались новыми, не описанными ранее в литературе веществами: диэфиром гексагидроксидифеноила-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопиранозой), 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидрокси-дифеноил-β-D-глюкозой, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкозой, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкозой, 1,3 дигидродигаллоил-4-валонеат-β-D-глюкозой, структура которых установлена с использованием современных физико-химических методов анализа;

выявлено, что выделенные соединения обладают антирадикальной, антиоксидантной и противовирусной активностью;

установлено, что антиоксидантная активность соединений зависит от количества гидроксильных групп в кольцах «В» и «С», от расположения гидроксильных групп и степени насыщенности кольца «С»;

показано, что 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидрокси-дифеноил-β-D-глюкоза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза являются эффективными ингибиторами ВИЧ-инфекции.

Разработана нормативно-техническая документация на препараты Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан, Эуфорбин, разработаны лекарственные формы.



**Практические результаты исследования.** Выявлена высокая активность Гетасана, Путинана и Эуфорбина против вируса ВИЧ-1; Рутана и Госситана против вируса гриппа. Наряду с прямым противовирусным действием, они проявляют высокую интерферониндуцирующую активность, при этом индуцируют  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -интерфероны.

Показано, что Рутан и Госситан по активности в 1,5-2,0 раза превосходят известные, широко применяемые в современной медицине препараты интерферониндуцирующего и противовирусного действия, как Амиксин, Зовиракс и Ремантадин.

В соответствии с требованиями Гос.Фармакопеи (ГФ XI) исследованы физико-химические свойства Рутана, Госситана, Гетасана, Пунитана и Эуфорбина, подобраны стандартные образцы.

Проведены доклинические фармако-токсикологические исследования субстанций, показано, что они не обладают эмбриотоксическими, тератогенными, иммунотоксическими и мутагенными свойствами.

Созданы лекарственные формы – таблетки Рутана 0,025, Госситана 0,025, Гетасана 0,01, Пунитана 0,01 и Эуфорбина 0,025.

**Достоверность полученных результатов** обосновывается: использованием современных физико-химических методов анализа, подтверждением полученных результатов экспертными оценками специалистов и практической реализацией результатов исследований; обсуждением результатов исследований на республиканских и международных научных конференциях, а также публикациями результатов исследований в рецензируемых научных изданиях, признанных Высшей Аттестационной Комиссией при Кабинета Министров Республики Узбекистан; получением Патентов Агентства по Интеллектуальной собственности РУз.

**Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.** Теоретическая значимость полученных результатов заключается в том, что исследованы полифенолы произрастающих в Узбекистане 29 растений, входящих в сем. *Euphorbiaceae*. Из них, наряду с известными, выделен ряд новых гидролизуемых таннинов. Методы выделения полифенолов и идентификация их физико-химическими методами может служить пособием при проведении новых изысканий в этой области.

Практическая значимость работы заключается в том, что на основе местного растительного сырья созданы препараты противовирусного действия Рутан, Госситан, Гетасан. Препарат Рутан прошел успешные клинические испытания. Утверждены ВФСы на стандартный образец (ВФС 42 Уз–2514-2014), субстанцию (ВФС 42 Уз–2515-2014), лекарственную форму (ВФС 42 Уз–2516-2014) и инструкция по применению. Получено разрешение Фармакологического Комитета на проведение клинических испытаний Госситана и Гетасана.

**Внедрение результатов исследования.** По полученным результатам исследований, в целях создания лекарственных препаратов Рутан и Госситан, обладающих противогриппозной, Гетасан и Пунитан, обладающих анти-

ВИЧ-активностью, получены 4 патента на изобретения Агентства по Интеллектуальной Собственности Республики Узбекистан: «Средство, обладающее противогриппозным действием» (№ IAP 04524, 31.07. 2012), «Средство, обладающее противогриппозным действием» (№ IAP 04521, 31.07. 2012), «Средство, проявляющее анти-ВИЧ-активность» (№ IAP 04523, 31.07. 2012), «Средство, проявляющее анти-ВИЧ-активность» (№ IAP 04522, 31.07. 2012).

Получено разрешение Главного Управления по Контролю Качества Лекарственных средств и Медицинской техники Минестерства Здравоохранения Республики Узбекистан на применение в медицинской практике (01-14-SON SHAHODATNOMA, 08 may, 2014 y.) субстанции, стандартного образца, лекарственной формы Рутана, на них выдано регистрационное удостоверение (DV/M 00339/09/15).

**Апробация результатов исследования.** Основные результаты диссертации представлены и доложены следующих международных и республиканских конференциях: 23<sup>rd</sup> IUPAC-2002. Int. Symposium on the Chemistry of Natural Products (Florence, Italy, 2002); “Проблема инфекции в клинической медицине” VIII съезд Итальянско-Российской ассоциации по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, Россия, 2002); «Химическое образование, наука и технология в Республике Узбекистан» Республиканская научно-практическая конференция (НУУз, Ташкент, 2002); Конференция молодых ученых посвященная памяти академика С.Ю. Юнусова (ИХРВ, Ташкент, 2003); International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Tashkent, 2003, Ankara, Turkey, 2005); «International workshop on biotechnology commercialization and security» (Tashkent, 2003); VI Международный симпозиум по фенольным соединениям (Москва, Россия, 2004, 2009, 2012, 2015); XVIII<sup>th</sup> Turkish National Congres ( Kars, Turkey, 2004); Традиционная научная конференция молодых ученых (АН РУз, Ташкент, 2004); «Биотехнология: состояние и перспективы развития» III Московский международный конгресс (Москва, Россия, 2005); «Достижения в выделении, исследовании и применении лекарственных средств на основе природного сырья» научно-практический форум посвященный к 100-летию рождения проф. Р.Л.Хазановича (ФарМИ, Ташкент, 2006); «Проблемы биоорганической химии» научно-практическая конференция (Наманган, 2003, 2006, 2009); «Интеграция образования, науки и производства в фармации» научно-практический форум, посвященный к 70-летию ТашФарМИ (Ташкент, 2007); XIII conference of Polish biophysics Society (Lodz, Poland, 2007); «Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ» Республиканская научно-практическая конференция (Нукус, 2008); «Актуальные проблемы естественных наук» Республиканская научно-практическая конференция (СамГУ, 2008); «Актуальные проблемы развития биоорганической химии» (ИБОХ, Ташкент, 2010, 2013), 18<sup>th</sup> meeting European association for red cell research (Польша, 2011), научно-практическая конференция «Биологические активные

вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Крым, Украина, 2011), Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологии» (Республика Беларусь, 2012), Международная конференция молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика» (Пушино, Россия, 2014).

**Опубликованность результатов исследования.** Основное содержание работы изложено в 74 печатных работах: 17 научных статьях (5 в зарубежных журналах), 4 Патентах РУз, в тезисах 53 докладов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав собственных исследований, выводов, списка цитированной литературы (214 источников), текста на 182 страницах, приложений, 17 таблиц, 15 схем и 7 рисунков.

## ОСНОВНЫЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

В **введении** обоснована актуальность и востребованность темы диссертации, сформулированы цель и задачи, выявлены объект и предмет исследования, определено соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, изложены научная новизна и практические результаты исследования, обоснована достоверность полученных результатов, раскрыта теоретическая и практическая значимость полученных результатов, приведены список внедрений в практику результатов исследования и сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Танины, их классификация, спектральные методы определения структуры полифенолов, пути выделения танинов и хроматографические методы их анализа»** приведены сведения о современном состоянии изученности полифенолов и, в частности, танинов. Приведена классификация танинов, методы выделения из растений, способы разделения их на отдельные соединения, установление строения с использованием спектральных (УФ-, ИК-, ПМР-, ЯМР  $^{13}\text{C}$  - спектроскопия, масс-спектрометрия) методов анализа. Обсуждены результаты исследований как отечественных, так и зарубежных учёных.

Во второй главе диссертации **«Полифенолы растений сем. *Euphorbiaceae*»** приведены данные о сравнительном изучении состава полифенолов из надземной части и корней 29 видов растений сем. *Euphorbiaceae*. Для этого образцы растений были собраны в фазу цветения и высушены в тени. Последовательной экстракцией различных органов растений (корни, листья, стебли) хлороформом, 70%-ным водным ацетоном, сгущением водно-ацетоновых фракций под вакуумом, многократной обработкой водных остатков этилацетатом, перегонкой этилацетатных фракций, добавлением к сгущенным экстрактам гексана, выделены суммы полифенольных соединений. Выявлено, что полифенолы накапливаются в

основном, в корнях растений, где их количество колеблется в пределах 2.1% - 13.2%, в листьях 1.88 % - 6.67%, а в стеблях 0.03% - 3.0%. Качественными реакциями в составе суммы полифенолов выявлено наличие соединений, относящихся к классу флавонолов, фенолокислот и танинов. С использованием бумажной хроматографии показано, что полифенолы отдельных органов по качественному составу почти не отличаются друг от друга, а отличаются по количественному содержанию отдельных компонентов. Так если флавонолы составляют большую часть суммы полифенолов листьев, то танины являются основными компонентами суммы полифенолов корней растений. Поэтому дальнейшие исследования нами продолжены над соединениями корней растений, где локализовано наибольшее количество полифенолов. Хроматографированием суммы полифенолов корней растений на колонках с силикагелем в системах растворителей хлороформ-метанол (17:3; 17:4; 17:5), выделены 3 фракции. Из первой фракции были выделены фенолокислоты. Бумажной хроматографией (система растворителей-1: н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:5, система растворителей-2: н-бутанол-уксусная кислота-вода 40:12:28) выявлено, что первая фракция содержит фенолокислоты, вторая – флавонолы, третья - танины. Фенольные соединения, содержащиеся во второй фракции, хроматографированы на колонке с полиамидом. В качестве элюента использованы системы хлороформ-метанол (9:1; 8:2) и выделены индивидуальные соединения. Сравнением результатов физико-химических методов исследований с данными, приведенными в литературе, выявлено, что эти вещества являются известными флавонолами - кемпферолом, кверцетином, кемпферол-3-глюкозидом, мирицитином, изомирицитрином. Этих соединений в надземной части растений значительно больше, чем в корнях.

После рехроматографирования третьей фракции в различных системах растворителей на силикагелевой колонке, выделен ряд индивидуальных соединений. С помощью физико-химических методов исследований установлено их строение.

Из всех изученных видов растений выделено более 70 соединений фенольной природы, 8 из которых оказались новыми, ранее не описанными в литературе веществами.

*Новые соединения, выделенные из растений сем. Euphorbiaceae.* Вещество 1- выделено из *Euphorbia sequieriana Neck.*, аморфный порошок белого цвета.  $[\alpha]_D -20^0$  (с 1.0, MeOH); УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 220, 280; MS  $m/z$ : 1117 [M-H].

Для определения состава и установления структуры вещество 1 подвергнуто ряду химических превращений согласно по схеме 1. В продуктах кислотного гидролиза с 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> обнаружены глюкоза (1), галловая (2) и эллаговая кислоты (3). Метилирование вещества с диметилсульфатом и безводным K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> приводит к образованию перметилата, после щелочного гидролиза метанольным раствором метоксида натрия образовались метил-

три-О-метилгаллат (4) (ТСХ,  $R_f$  0.75, система растворителей-3: бензол-ацетон 4:1) и диметил-гексаметоксидафенат (5) (ТСХ,  $R_f$  0.36, система-1). В продуктах частичного гидролиза вещество 1 (нагревание в воде при  $90^{\circ}\text{C}$ ) образуются 1-О-тригаллоил- $\beta$ -D-глюкопираноза (6) и глюкозид эллаговой кислоты (7).

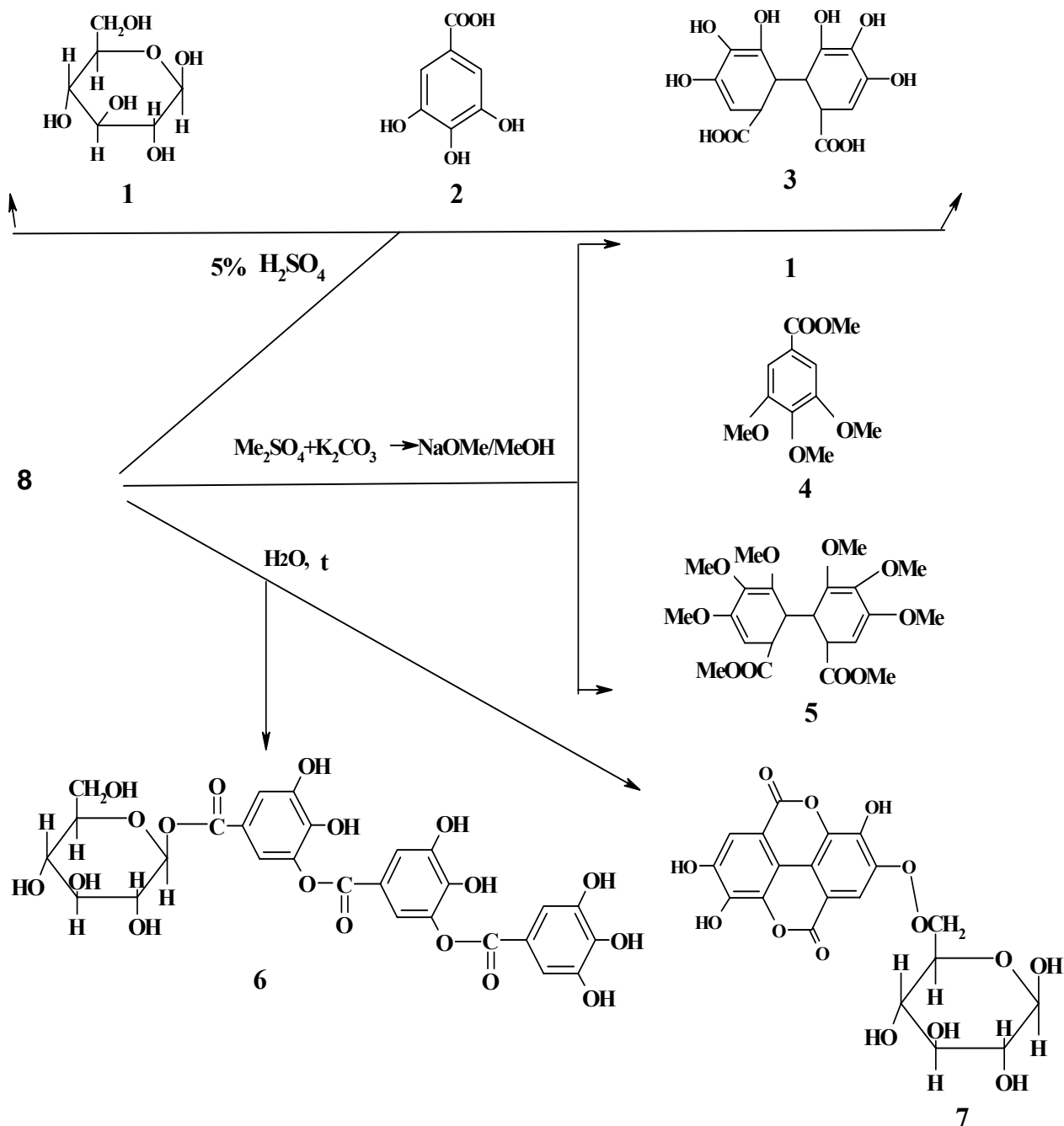


Схема 1. Химические превращения вещество 1

В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  вещества 1, полученного в условиях полного подавления спин-спинового взаимодействия с протонами, обнаруживаются сигналы, характерные для глюкозы, галловой и эллаговой кислоты (табл.1). Интенсивные сигналы при 93.6 и 96.5 м.д., относящиеся к углеродным атомам С-1 указывают то, что в составе эллаготаннина присутствуют два

сахарных остатка, при которых аномерные центры имеют  $\beta$ -конфигурацию. Смещение в более сильное поле и проявление в области 93.6, 76.7, 63.4 м.д. сигналов, относящихся к атомам С-1 и С-2 первого глюкозного центра и С-6 второго глюкозного центра указывают на ацилирование углеводных остатков в этих положениях. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  присутствуют сигналы трех остатков галловой кислоты: сигналы углеродных атомов карбонильных групп при 164.4, 166.3, 168.8 м.д., а сигнал С-1 углеродных атомов тригаллоильной группы наблюдается при 120.4 м.д.. Сигналы углеродных атомов С-2 и С-6, а также С-3 и С-5 совпадают и дают относительно интенсивные сигналы при 110.1 и 145.9 м.д., соответственно. Углеродный атом С-4 этого остатка экранируется и в результате диамагнитного сдвига резонирует при 139.3 м.д. В спектре также имеются сигналы 14 углеродных атомов гексагидроксидифеноильной группы. Анализ химических сдвигов углеродных атомов гексагидроксидифеноильной (ГГДФ) группы показывает, что в молекуле вещества 1 два атома глюкозы связаны между собой при помощи ГГДФ-группы. Замещенные углеродные атомы ГГДФ- группы С-4, С-4', С-5, С-5' и С-6, С'-6 резонируют при 145.8, 136.4-136.6 и 144.4-144.5 м.д., соответственно. Незамещенные углеродные атомы С-3 и С-3' проявляются в области 107.8 и 108.1 м.д. Сигналы углеродных атомов С-7 и С-7' карбонильных групп дают интенсивные сигналы при 167.6 и 168.0 м.д.

**Таблица 1**

**Химические сдвиги ( $\delta$ , 100 МГц, ацетон  $-d_6 + D_2O$ , м.д.) сигналов углеродных атомов в спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  вещества 1**

Атомы С	Тригаллоильная-гр.			ГГДФ-гр.		Глюкоза	
						I	II
С-1	120.4	120.4	120.4	115.5	115.8	93.6	96.5
С-2	110.1	110.1	110.1	125.8	126.4	6.7	74.2
С-3	145.9	145.9	145.9	107.8	108.1	75.2	73.0
С-4	139.3	139.3	139.3	145.8	145.8	69.6	69.6
С-5	145.9	145.9	145.9	136.6	136.4	74.3	75.1
С-6	110.1	110.1	110.1	144.4	144.5	63.2	63.4
С-7	168.8	166.3	164.4	167.6	168.0		

Эти данные подтверждаются данными масс-спектрометрического распада вещества 1, полученным на приборе LC-MS Q-TOF при отрицательной ионизации. Как видно из схемы 2, молекулярный ион с  $m/z$  1117 ( $[M-H]^-$ ) расщепляется на два фрагмента с  $m/z$  635 и 481. Это указывает на разрыв сложноэфирной связи между двумя молекулами глюкозы, связанных с гексагидроксидифеноильным и три-галлоильным фрагментами. Наличие в масс-спектре сигнала с  $m/z$  635 свидетельствует об этерифицировании глюкозы тригалловой кислотой, а сигналы с  $m/z$  481 и 429

фрагментации эллаговой кислоты, связанной с глюкозой. Вторичный ион с  $m/z$  635 далее расщепляется на фрагменты с  $m/z$  169, 153 и 125, который соответствуют стандартному пути фрагментации галловой кислоты. Отрицательные ионы с  $m/z$  301 и 153 соответствуют отрыву от молекулы гексагидроксифеноильного и галлоильного фрагмента, который согласуется с литературными данными. Наличие в масс-спектре интенсивного осколочного ионного сигнала с  $m/z$  301, образованного при распаде вторичного иона с  $m/z$  481, свидетельствует о том, что в составе вещества 1 содержится эллаговая кислота.

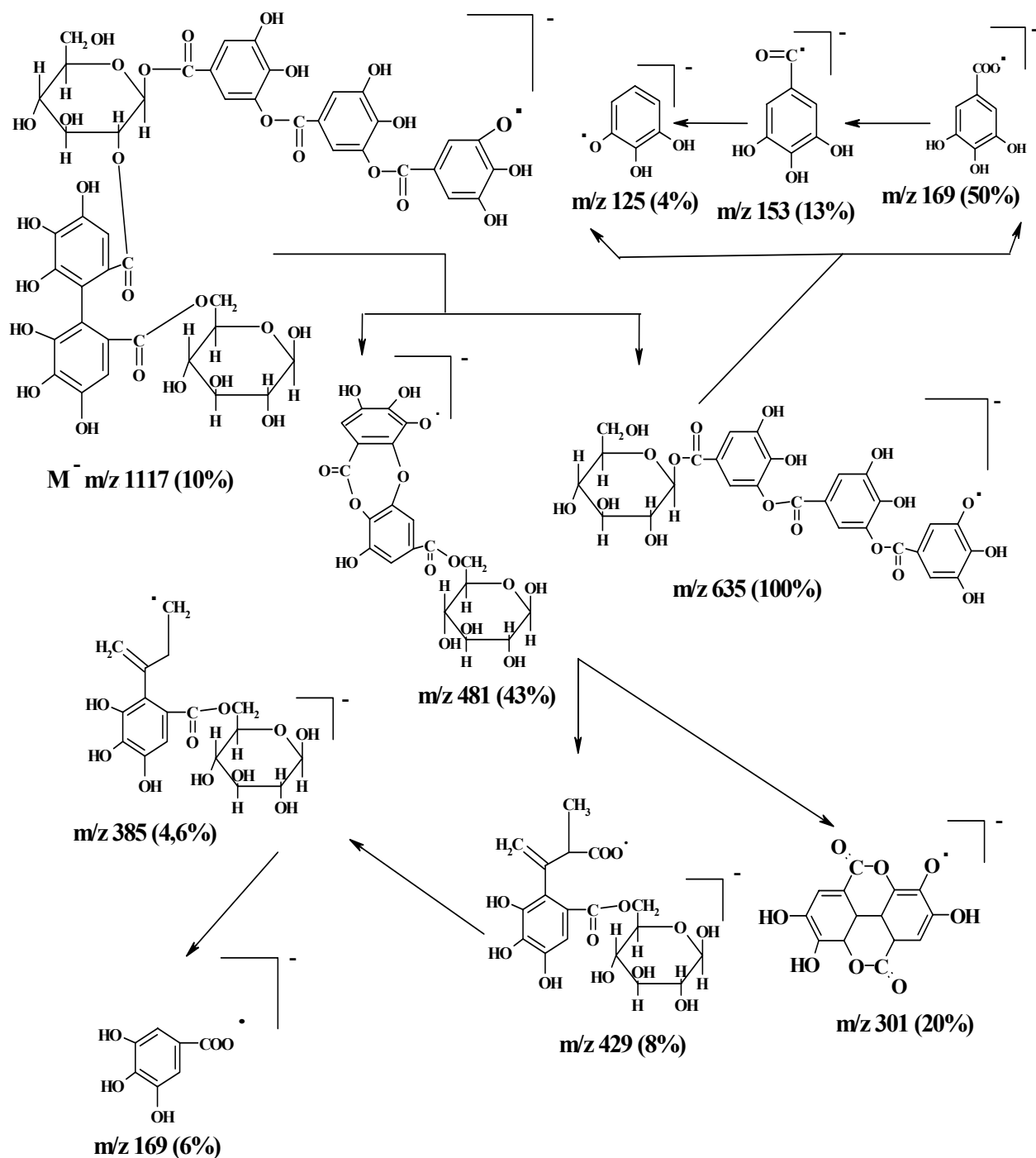
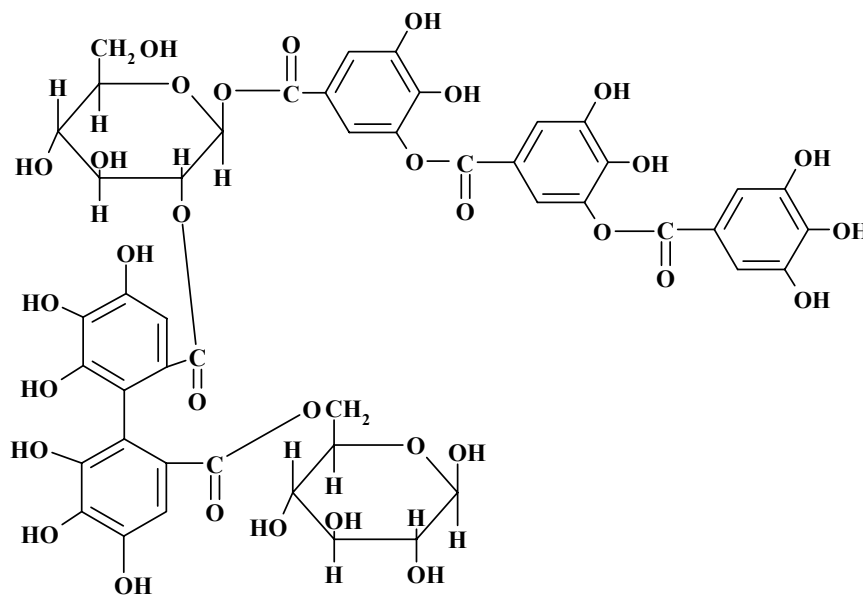


Схема 2. Возможные пути фрагментации вещество 1

На основании анализа химических продуктов и спектральных констант и сравнения их с литературными данными установлено, что вещество 1 является диэфиром гексагидроксидифеноила-6-(O-β-D-глюкопиранозидо)-2-(O-1-O-тригаллоил-β-D-глюкопиранозидо) (8).



8

Вещество 2— выделено из *E. rosularis* A.Theod, желтый аморфный порошок,  $C_{48}H_{32}O_{31}$ ,  $M_r = 1104$ ,  $R_f 0.42$  (система-1).  $[\alpha]_D^{+56.2^0}$  (с 0.5, MeOH); УФ-( $\lambda_{max}$ , lg  $\epsilon$ , нм, MeOH): 223 (4.85), 278 (4.49).

Строение вещества 2 также установлено на основании анализа химических превращений и спектральных данных. Результаты изучения продуктов химических превращений приведены на схеме 3.

В отличие от вещества 1, в продуктах кислотного гидролиза вещества 2, кроме галловой (2) и эллаговой (3) кислоты обнаружены дилактон валониевой кислоты (9), а при метилировании получен триметил-окта-О-метил-валонат (ТСХ,  $R_f 0.27$ , система-3: бензол-ацетон 4:1) (10). Частичный гидролиз привел к образованию смеси 1-О-галлоил-β-D-глюкопиранозы (11), 1-О-галлоил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкопиранозы (12) и 2,4-О-валонеил-β-D-глюкопиранозы (13).

В ИК-( $\nu_{max}$ , КВг,  $cm^{-1}$ ) спектре имеются полосы поглощения в области 3345-3350  $cm^{-1}$  (ОН), 1710-1730  $cm^{-1}$  (-COO-), 1510-1620  $cm^{-1}$  (аром. кольцо), 1010-1020  $cm^{-1}$  (сахарная часть).

По данным ПМР- спектра при 6.16 м.д. проявляется сигнал аномерного протона глюкозы в виде дублета. Это подтверждает, что аномерный центр имеет β-конфигурацию. Резонансные сигналы при 5.89, 4.83, 4.39 и 4.43 м.д., характерны для протонов глюкозы Н-2, Н-3, Н-4 и Н-5, соответственно. При слабом поле наблюдаются два дублета сигналов, соответствующие протонам Н-6 глюкозы при 4.79 и 4.54 м.д. В ПМР-спектре в слабом поле наблюдаются сигналы, характерные для Н-2, Н-6 протонов галлоильной группы при 7.10,



7.14 м.д., Н-3, Н-3' протонов гексагидроксидиноильной группы при 6.45, 6.64 м.д., Н-3, Н-3', Н-6'' протонов валониевой группы при 7.22, 7.10, 7.02 м.д (соответственно).

Анализ ЯМР  $^{13}\text{C}$  -спектров показывает, что в отличие от спектра 8, в спектре вещества 2 наряду с резонансными сигналами глюкозы, галловой и гексагидроксидиноильной группы наблюдаются сигналы, характерные для остатков валониевой кислоты (табл.2).

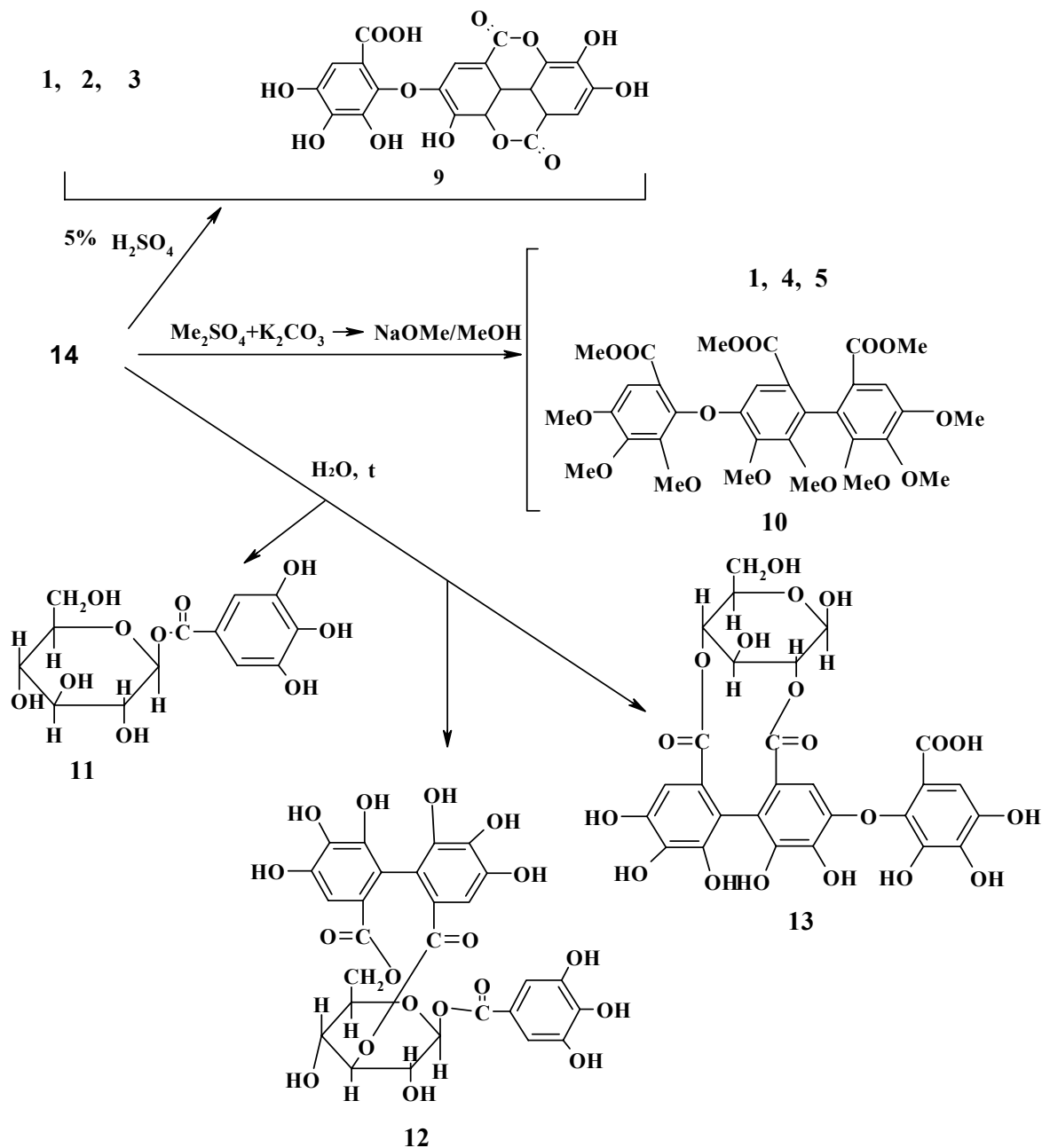


Схема 3. Химические превращения вещества 2

Химические сдвиги углеродных атомов С-1, С-3, С-5 (92.5, 75.2, 73.1 м.д., соответственно) глюкозы подтверждают, что аномерный центр имеет  $\beta$ -конфигурацию. Химические сдвиги атомов С-2, С-4 и С-6 глюкозы при 76.77, 69.61 и 63.37 м.д. соответственно, подтверждают, что в них ОН

группы галлоилированы. Аналогичная картина, как в веществе 1, наблюдается в значениях сдвигов сигналов углеродных атомов галловой и эллаговой кислоты.

**Таблица 2**

**Химические сдвиги ( $\delta$ , 100 МГц, ацетон  $-d_6+D_2O$ , м.д.) сигналов углеродных атомов в спектре ЯМР  $^{13}C$  вещества 2**

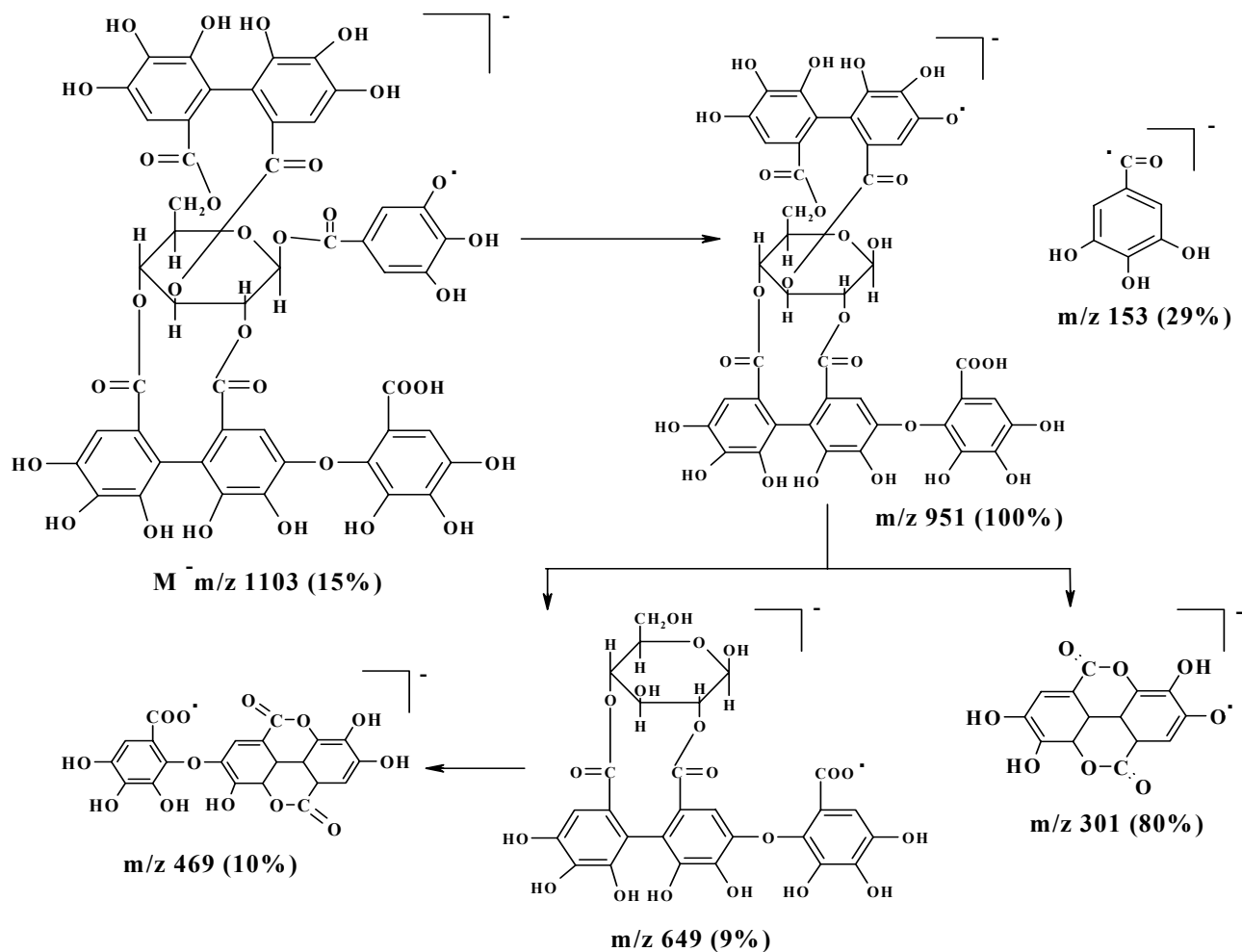
Атомы С	Галлоильная-гр.	ГГДФ-гр.		Валонеильная-гр.			Глюкоза
				А	В	С	
С-1	120.4	115.6	116.3	114.2	122.0	113.1	92.5
С-2	110.2	125.4	125.4	126.3	132.2	141.3	74.2
С-3	145.8	108.6	109.8	106.9	111.1	137.1	75.2
С-4	139.1	144.8	145.3	145.1	151.6	143.4	70.8
С-5	145.8	136.6	136.6	135.7	135.6	143.7	73.1
С-6	110.2	144.8	145.9	144.4	148.7	110.5	63.2
С-7	165.3	165.4	166.8	168.2	168.3	163.1	

Резонансные сигналы от С-1, С-1' и С-1'' углеродных атомов валониевой кислоты проявляются при 114.2, 122.0 и 113.1 м.д., соответственно. Интенсивные сигналы при 144-145 м.д. относятся к С-4 и С-6 углеродным атомам валониевой кислоты. Химические сдвиги углеродов С-3, С-3' и С-3'' проявляются в области 106.9, 111.1 и 137.1 м.д. Анализ ЯМР  $^{13}C$ -спектров показывает, что значения химических сдвигов валониевой кислоты совпадают с литературными данными.

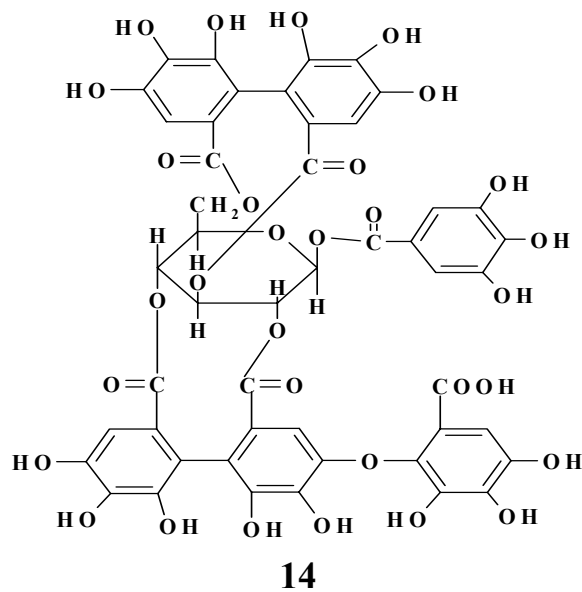
Масс-спектрометрические исследования вещества 2 также проводили на масс-спектрометре Q-TOF LC-MS, в условиях отрицательной ионизации. Полученные результаты приведены на схеме 4.

Как видно схемы, молекулярный ион вещества 2 с  $m/z$  1103, расщепляется на два фрагмента с  $m/z$  951 и 153. Это указывает на разрыв сложноэфирной связи между глюкозой и галлоильной группой, который и согласуется с литературными данными. Вторичный ион с  $m/z$  951 далее расщепляется на фрагменты с  $m/z$  649 и 301. Наличие в масс-спектре интенсивного осколочного ионного сигнала с  $m/z$  469, образованного при распаде вторичного иона с  $m/z$  649 свидетельствует о том, что в составе вещества 2 содержится валонеильная группа, соответствующая молекулярной формуле  $C_{21}H_{10}O_{13}$ .

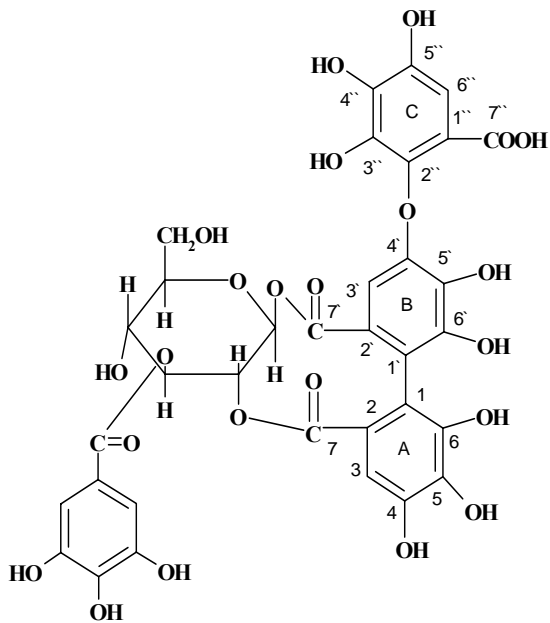
На основании химических и спектральных данных установлено, что вещество 2 является 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксифеноил- $\beta$ -D-глюкопиранозой (14).



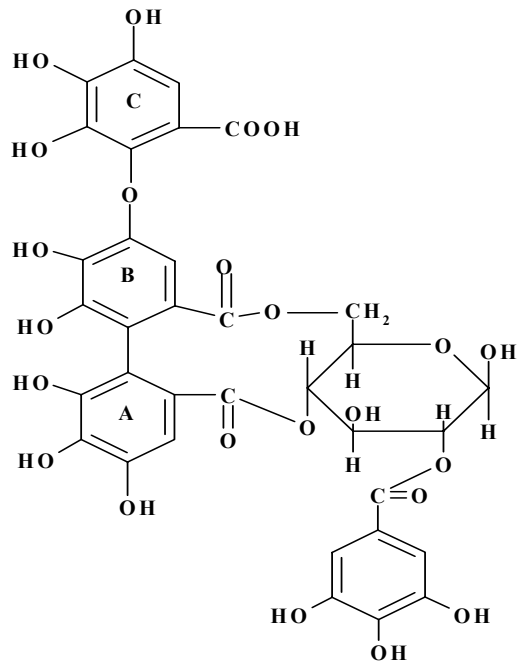
**Схема 4. Возможные пути фрагментации вещества 2**



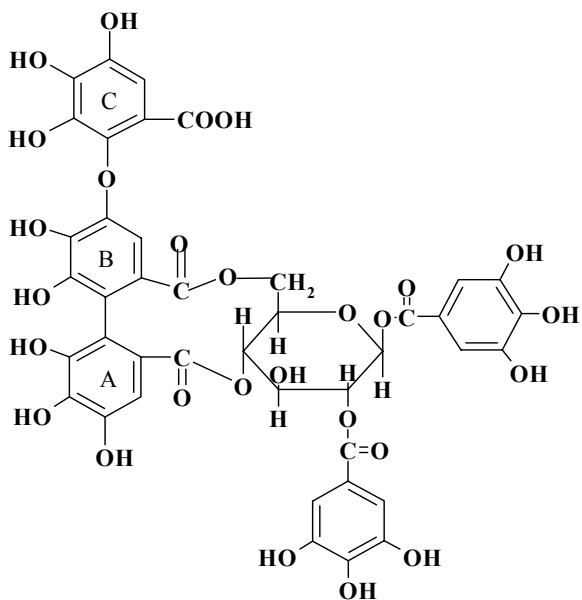
Аналогичным путем доказано строение остальных новых соединений.



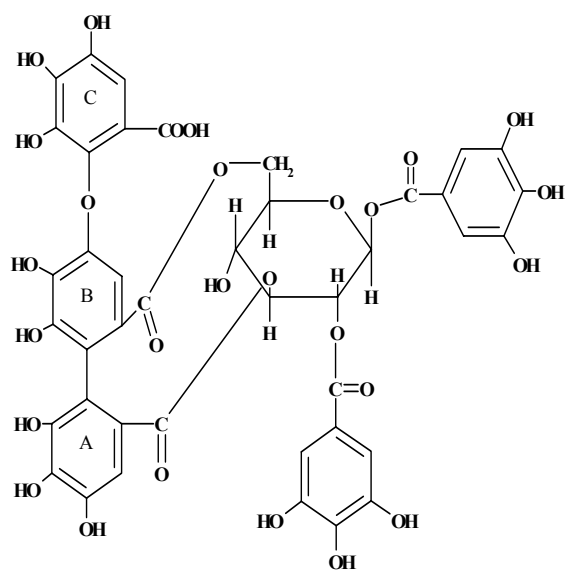
3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-  
глюкоза (*E. helioscopia* L.)



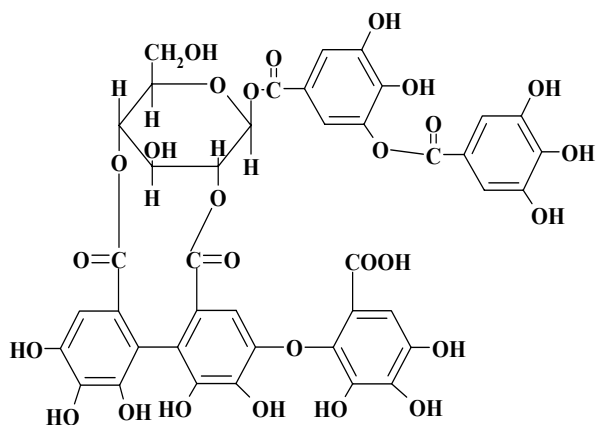
2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-  
D-глюкоза  
(*E. turkestanica* Rgl.)



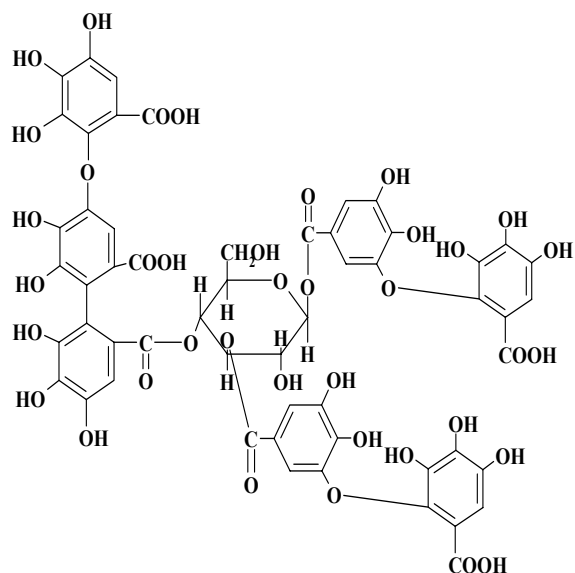
1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-  
D-глюкоза (*E. jaxartica* Prokh.)



1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-  
D-глюкоза (*E. triodonta* Prokh.)

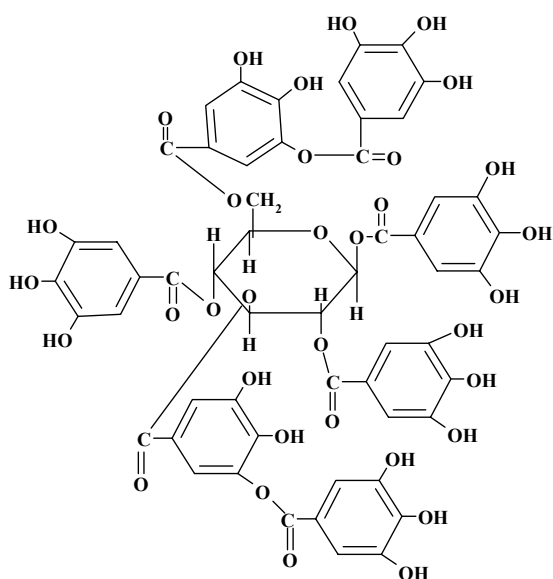


1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (*E. Kudrjashevii* (Pazij) Prokh.)

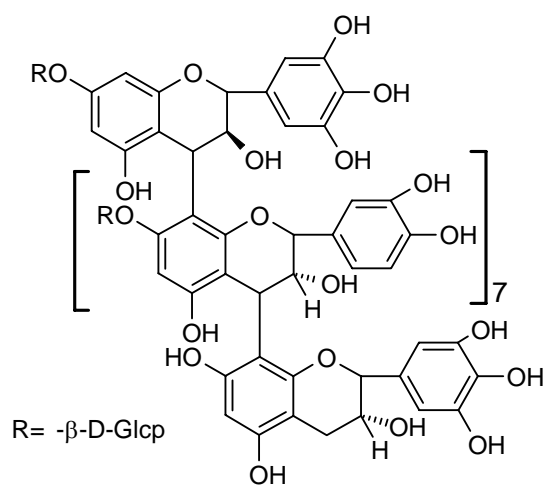


1,3-О-дигидрогаллоил-4-валонеат-β-D-глюкоза (*E. glomerulans* Prokh.)

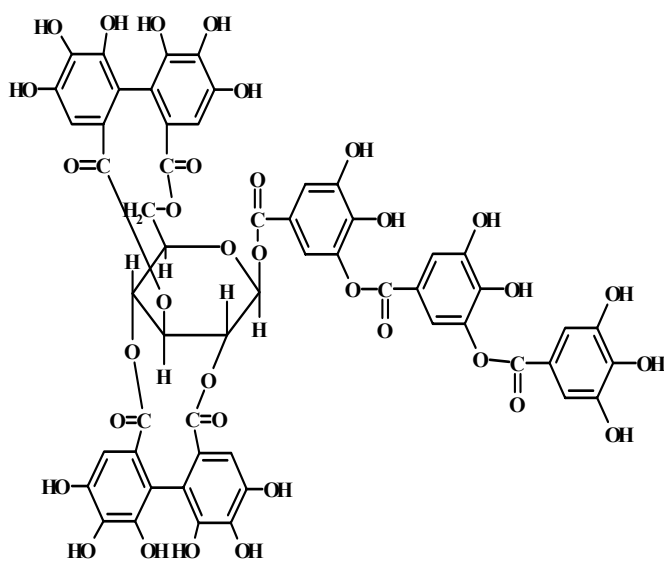
Одной из основных задач работы является создание эффективных противовирусных средств на основе перспективных таннидоносных растений. Это полифенолы – Рутан (*Rhus coriaria* L.), Госситан (*Gossypium hirsutum* L.), Гетасан (*Geranium sanguineum*), Пунитан (*Punica granatum*), выделенные из растений сем. *Anacardeaceae*, *Malvaceae*, *Geraniaceae*, *Punicaceae*. Их химическая структура была исследована ранее проф. Мавляновым С.М. Скрининг этих соединений на биологическую активность показал, что они обладают высокой противовирусной активностью. Создание на их основе лекарственных препаратов выполнены в рамках данной диссертационной работы.



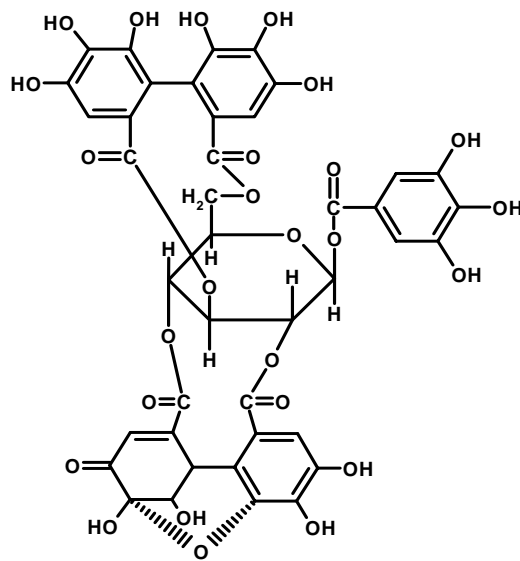
Рутан



Госситан



Гетасан



Пунитан

Третья глава диссертации «**Биологическая активность выделенных полифенолов**» посвящена изучению биологического действия выделенных полифенолов. Их антирадикальная и антиоксидантная активность изучены в лаборатории «Физико-химических методов исследований» проф. Б.С.Салахутдиновым, сотрудниками лаборатории «Молекулярной биофизики» под руководством проф. М.И.Асрарова, сотрудником Института Биофизики (Польша) проф. М.В.Замараевой.

Показано, что полифенолы в дозах 1.25, 6.25 мг/мл проявляют антирадикальную активность по отношению к стабильному свободному радикалуДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил), предотвращают окисление липидов и белков в биологических мембранах.

Изучены антирадикальная активность (АРА) и значение констант скоростей реакцийДФПГ с полифенолами в различных средах. Анализ кинетических кривых показывает, что большая часть молекулДФПГ восстанавливается в первые 5 минут реакции.  $t_{50}$  – время необходимое для снижения исходной концентрации стабильных радикалов при реакции их с изучаемыми препаратами на 50% составляет 36-96 сек.

Выявлено, что антиоксидантная активность вещества зависит от их строения, точнее от числа гидроксильных групп кольца В, то есть по мере увеличения их количества антиоксидантная активность вещества также усиливается. Подобно этому соединения, в которых гидроксильные группы расположены в *орто*-положении имеют более высокую активность, чем в *мета*-положении.

Помимо этого, антиоксидантная и антирадикальная активность непосредственно связана со степенью насыщенности С кольца. Соединения,

имеющие двойную связь  $>C2=C3<$ , ОН-группу в положение С-3 проявляют более высокую антирадикальную активность в отношении свободных радикалов.

Но в танинах наблюдается совершенно другое. В частности, основную часть гидролизуемых танинов составляет производные гидроксибензойной кислоты – галловая кислота и продукты ее окисления. Поэтому в *орто*- и *пара*-положении они проявляют в отношении свободных радикалов относительно низкую, в *мета*-положении высокую активность. Это можно объяснить наличием в фенольном кольце карбоксильной группы, отталкивающих электроны в *орто*- и *пара*-положении. Поэтому галловая кислота и ее производные, имеющие гидроксильные группы в 3,4,5-положениях обладают высокой антиоксидантной активностью.

Исследовалось мембранотропное действие препарата рутан. Установлено, что гидролизуемый танин способен проникать в мембраны и формировать там молекулярные структуро-ионные каналы. Были охарактеризованы основные свойства этих структур – селективность, потенциалзависимость и зависимость от липидного состава.

*Противовирусная активность полифенолов.* Новые соединения, выделенные из растений сем. *Euphorbiaceae* исследованы против вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в НИИ Вирусологии имени Д.И. Ивановского РАМН, под руководством проф. Э.В.Карамова. Все исследованные соединения имеют примерно одинаковую цитотоксичность для клеток СЕМ SS, 50%-ная токсическая доза находится в пределах 117 – 300 мкг/мл.

В исследовании антивирусной активности клетки СЕМ SS заражали референс-штаммом ВИЧ-1/BRU с множественностью инфекции 1000 TCID<sub>50</sub>. Уровень ингибирования инфекции в контрольных и опытных вариантах оценивали по содержанию р24 антигена методом ИФА. В результате этих исследований было выявлены четыре соединения, достаточно эффективно ингибирующих ВИЧ-инфекцию (1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкопираноза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкопираноза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза). 50%-ная эффективная доза (ED<sub>50</sub>) составляла 0.29, 8.8, 0.36 и 3.1 соответственно.

Перспективность изучаемых соединений оценивается по терапевтическому индексу (индекс селективности IS). На основании полученных результатов можно выделить два наиболее перспективных соединения с IS 1034 и 472: 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-глюкоза и 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (табл. 3).

Исследование механизма анти-ВИЧ активности проводилось для соединений, обнаруживших более высокий антивирусный эффект по сравнению с другими.

**Таблица 3**

**Терапевтический индекс (IS) исследованных соединений  
растительных полифенолов**

№	Соединение	TD <sub>50</sub> мкг/мл	ED <sub>50</sub> мкг/мл	IS TD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
1	1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза	300	0.29	1034.0
2	1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза	145	3.1	46.8
3	2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза	170	0.36	472.0
4	1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкоза	135	27.0	5.0
5	3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза	117	8.8	13.3
6	1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза	170	25.0	6.8
7	1,3 дигидродигаллоил-4-валонеил-β-D-глюкоза	145	27.5	5.3
8	диэфир гексагидроксидифеноила-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопиранозидо)	215	23.5	9.1

Клетки CEM SS заражали штаммом ВИЧ-1<sub>BRU</sub> с множественностью инфекции 1000TCID<sub>50</sub> и исследуемое соединение добавляли в субтоксических концентрациях в различные временные интервалы. По истечении 72 часов из опытных и контрольных (без препарата) образцов отбирали пробы для оценки продукции р24 антигена ВИЧ-1. В качестве референсных соединений использовали декстран сульфат 5000 – ингибитор вирус-клеточного взаимодействия, азидотимидин – ингибитор процесса обратной транскрипции. В эксперименте такого рода возможно определить стадию репликативного цикла вируса, уязвимую для ингибирующего действия исследуемых соединений. Результаты исследований свидетельствуют о том, что 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкопиранозид не препятствует проникновению вируса в клетку-мишень, но проявляет эффективность в интервале от 0 до 5 часов (табл. 4). Это соответствует посттранскрипционному периоду, так как AZT в тех же условиях проявляет ингибирующий эффект в период от 0 до 3 часов от начала инфекции. Сопоставляя полученные данные с имеющимися литературными сведениями в отношении временных интервалов анти-ВИЧ активности известных ингибиторов (ингибиторы RT, ингибиторы протеазы и интегразы) можно сделать заключение, что активность соединения вероятнее всего связано с



блокированием интегративного процесса. Процесс интеграции провирусной ДНК в клеточный геном является многокомпонентным событием и зависит от действия как клеточных, так и вирусных ферментов. Для идентификации молекулярного механизма требуются более детальные исследования. Что касается остальных соединений, то их ингибирующая активность проявляется в тот же период, что и у Декстран сульфата 5000, и, очевидно, связана с блокированием начальных стадий репликации вируса. При добавлении этих соединений к инфицированным клеткам через 9 часов отмечается вторая волна снижения инфекции, что очевидно объясняется блокированием проникновения нового вирусного потомства при многоцикловогой инфекции. Получить устойчивые варианты в вирус-клеточной системе СЕМ SS-ВИЧ-1<sub>BRU</sub> к данному соединению не удалось.

**Таблица 4**

**Анти-ВИЧ активность соединений, добавляемых в различные временные интервалы после инфекции**

Образец	Время от начала инфекции (час)							
	0	1	3	5	7	9	24	36
1	0,147	0,265	0,559	0,726	1,193	1,165	1,123	1,351
2	0,140	1,150	1,295	1,302	1,414	0,693	1,170	1,381
3	0,111	1,289	1,267	1,382	1,408	0,801	1,343	1,413
5	0,128	1,249	1,290	1,316	1,418	0,480	1,295	1,403
Декстран сульфат 5000	0,105	1,148	1,312	1,367	1,370	1,372	1,408	1,392
АЗТ	0,029	0,048	0,244	0,852	0,915	0,943	1,135	1,114

*Создание противорвирусных препаратов Рутан, Госситан, Гетасан, Пунитан и Эуфорбин.* Выявлена высокая активность Рутана и Госситана против гриппа (штаммы гриппа А(Н3N2), (Н1N1) и В (01 и 02), а Гетасана, Пунитана и Эуфорбина против ВИЧ-инфекции. Исследования по активности против ВИЧ-1 проведены в штамме вируса ВИЧ-1<sub>BRU</sub>. Определены средние цитотоксические и эффективные дозы этих соединений, найдены их терапевтические индексы.

С целью создания лекарственных средств Рутана, Госситана, Гетасана, Пунитана и Эуфорбин в соответствии с требованиями ГФ XI (Гос.Фармакопеи) изучены их физико-химические параметры, подобраны стандартные образцы и лекарственные формы. Проведены полные доклинические фармако-токсикологические исследования, изучены эбриотоксические, тератогенные, иммунотоксические и мутагенные свойства субстанций. На основе полученных данных оформлены проекты ВФС на субстанции, стандартные образцы и лекарственные формы препаратов. Получено разрешение ГУККЛС и МТ МЗ РУз на проведение клинических испытаний Рутана, Госситана и Гетасана. Успешно завершены клинические

испытания таблеток «Рутан 0,025». ГУККЛС и МТ МЗ РУз дано разрешение на применение стандартного образца, субстанции и лекарственной формы Рутана в медицинской практике (Шаходатнома). Утверждены ВФСы на стандартный образец, субстанцию и лекарственную форму Рутана и инструкция по его применению. На лекарственное средство получено регистрационное удостоверение. Получены Патенты Республики Узбекистан на изобретения - на Рутан, Госситан, Гетасан и Пунитан.

В четвертой главе диссертации «**Использованные методы и условия выделения полифенолов**» описаны объект и методы исследования, выделение сумм полифенолов, разделение их на индивидуальные компоненты, установление строения соединений с использованием кислотного и ступенчатого гидролиза, щелочного расщепления, метанолиза, метилирования, бумажной и колоночной хроматографии с применением различных систем растворителей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые изучен состав полифенолов 29 растений, входящих в сем. *Euphorbiaceae*. Из них выделено более 70 фенольных соединений. Выявлено, что полифенолы локализуются, в основном, в корнях растений, и представлены флавонолами, фенолокислотами и танинами.

2. С помощью физико-химических методов определено строение выделенных веществ. 8 из них оказались новыми, не описанными ранее в литературе соединениями и являются диэфиром гексагидроксидифеноила-6-(О-β-D-глюкопиранозидо)-2-(О-1-О-тригаллоил-β-D-глюкопиранозой), 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидрокси-дифеноил-β-D-глюкозой, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкозой, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1,2-ди-О-галлоил-3,6-валонеил-β-D-глюкозой, 1-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкозой, 1,3 дигидродигаллоил-4-валонеат-β-D-глюкозой.

3. Выделенные соединения, обладая высокой антиоксидантной и антирадикальной способностью, в тоже время не вызывают деструкцию биомембран. Установлено, что антиоксидантная активность выделенных веществ зависит от числа гидроксильных групп в составе молекулы, от места их взаимного расположения, а также от степени насыщенности и галлоилирования кольца С.

4. Соединения, выделенные из растений сем. *Euphorbiaceae* 1-О-галлоил-2,4-валонеил-3,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза, 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкоза, 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза проявляя наибольшую противовирусную активность в сравнении с другими соединениями, оказывают эффективное ингибирующее действие на ВИЧ-инфекцию. Изучив механизм противодействия этих соединений вирусам, выявлено, что противовирусная

активность первого соединения связана с блокированием интегративного процесса провирусной ДНК в клеточный геном, а остальные соединения препятствуют взаимодействию вируса с клеткой-мишенью.

5. В соответствии с требованиями ГФ XI изучены физико-химические параметры Рутана, Госситана, Гетасана, Пунитана и Эуфорбина. Подобраны стандартные образцы и лекарственные формы. Проведены полные доклинические фармако-токсикологические исследования. На основе полученных данных оформлены проекты ВФС на субстанции, стандартные образцы и лекарственные формы препаратов: Рутан 0,025, Госситан 0,025, Гетасан 0,01, Пунитан 0,01, Эуфорбин 0,025.

6. Получено разрешение ГУККЛС и МТ МЗ РУз на проведение клинических испытаний Рутана, Госситана, Гетасана.

7. Успешно завершены клинические испытания Рутана и получено разрешение на его широкое применение в клинической практике. Получено разрешение ГУККЛС и МТ МЗ РУз (Шаходатнома) на применение стандартного образца, субстанции и лекарственной формы Рутана в медицинской практике. Утверждены ВФСы на стандартный образец, субстанцию и лекарственную форму Рутана и инструкция по его применению. На лекарственное средство получено регистрационное удостоверение. Препараты Госситан и Гетасан находятся на стадии клинических испытаний.

8. Получены Патенты Республики Узбекистан на Рутан и Госситан как протвогриппозных средств, Гетасан и Пунитан – как лекарственных средств с анти-ВИЧ-действием.

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

---

**INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY**

**ABDULLADJANOVA NODIRA GULOMJANOVNA**

**POLYPHENOLS OF THE *EUPHORBIACEAE* PLANT FAMILY  
AND OTHER PERSPECTIVE TANNIN CONTAINING PLANTS  
AND CREATION ON THEIR BASIS OF MEDICINES**

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

**ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION**

**Tashkent – 2015**

**The subject of doctoral dissertation is registered at Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of Republic of Uzbekistan under number 30.06.2015/B2015.2.K114**

Doctoral dissertation is carried out at the Institute of Bioorganic chemistry of Academy of Sciences of Republic of Uzbekistan.

The full text of doctoral dissertation is placed on web page of Scientific council 16.07.2013.K.V.T.13.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry and the National University of Uzbekistan to the address <http://ss.biochem.uz>

Abstract of dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English) is placed on web page to address <http://ss.biochem.uz> and on Information-educational portal "ZiyoNet" to address [www.ziyo.net](http://www.ziyo.net).

**Scientific Consultant:**

**Mavlyanov Saidmukhtar Maksudovich**  
doctor of sciences in chemistry, professor

**Official opponents:**

**Zaynutdinov Umarjon Nasrutdinovich**  
doctor of sciences in chemistry, professor

**Aripova Tamara Uktamovna**  
doctor of sciences in medicine, professor

**Salimov Bakhodir Takhirovich**  
doctor of sciences in chemistry

**Leading institution:**

Uzbek Chemical-Pharmaceutical Scientific-  
Investigation Institute named after A.S. Sultanov

Defense will take place on «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 at \_\_\_ at the meeting of the Scientific council 16.07.2013.K.V.T.13.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry and the National University of Uzbekistan at the following address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63

Doctoral dissertation is registered in library at the Institute of Bioorganic Chemistry, it is possible to review it in library (100125, Tashkent, 83 M. Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63), e-mail: [bahrom-nur@rambler.ru](mailto:bahrom-nur@rambler.ru)

Abstract of dissertation sent out on «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 year  
(mailing report \_\_\_\_\_ on «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 year)

**A.S.Turaev**

Chairman of Scientific council  
on award of scientific degree of doctor of sciences  
doctor of sciences in chemistry, professor

**B.N.Babaev**

Scientific secretary of Scientific council  
doctor of sciences in chemistry

**A.A.Ahunov**

Chairman of Scientific seminar at Scientific council  
on award of scientific degree of doctor of sciences  
doctor of sciences in biology, professor

## Introduction (annotation of doctoral dissertation)

**Topicality and demand of the subject of dissertation.** Up to 30 percent of the drugs used in modern world medicine are based on natural compounds, including polyphenolic compounds. Polyphenolic compounds possess properties as to lower cholesterol in the human organism, strengthen cardiovascular system, enhance immunity, antibacterial, anti-hypoxic, anti-viral, anti-inflammatory, antitumor etc. Thanks to the easy digestibility of the body, the lack of side effects, they are used in the treatment of diseases. Due to their easy digestibility in a human organism and lack of side effects, they are used in a treatment of several diseases.

As a result of widespread throughout the world, threatening all of humanity infections such as Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) and influenza infections increases the likelihood of disease the majority of the world population of these diseases. In recent years, the antiviral activity of tannins revealed, particularly the ability of these compounds to induce interferon, showing an effective inhibitory effect on the multiplication of human immunodeficiency virus (HIV-1, HIV-1). As a result of screening of compounds isolated from plants *Annacardeaceae*, *Geraniaceae*, *Malvaceae*, *Punicaceae* and *Euphorbiacea* growing in the Central Asia, have been identified polyphenols with a high anti-viral activity, including composition which can inhibit HIV-1 replication more than 80%, in a concentration of 10  $\mu\text{g/ml}$ . All medical products applied in a modern medicine for treating viral diseases are medicines of synthetic nature, and have some side effects. This shows the urgency and relevance of creating drugs based on natural compounds. To solve this problem it is necessary to search for new promising sources of polyphenols, isolation and determination their chemical structures, revealing their biological activity.

The research of this dissertation contribute to perform a certain tasks and objectives in the Law of the Republic of Uzbekistan №39 against HIV infection in September 23, 2013 and Resolution №255 in September 10, 2014 State anti-HIV Programme for 2014-2016 yy. adopted by the Cabinet of Minister.

**Conformity of the research to priority directions of development of of science and technologies of the Republic of Uzbekistan.** The present work was carried out in accordance with the priority directions of science and technology of the Republic of Uzbekistan State scientific program PPI-11 "Development of technologies for the production of new drugs based on local natural and synthetic raw materials."

**Review of international scientific researches on the dissertation theme.** Research centers of the world, including Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Okayama (Japan), College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University (Japan), Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (Spain), Molekulare Botanik, Universität Ulm (Germany), Department of Chemistry & Biochemistry, Miami University (USA), International association Groupe Polyphénols (France), Institute of Plant Physiology named after K.A. Timiryazev

(Russia) carry out studies of chemical and biological properties of plant polyphenols.

As a result of researches carrying out in the world in the field tannins, which is one of the most common classes of natural compounds, in establishing their chemical structure and biological activity was achieved the following: the term "tannins" have been supplemented by chemical and stereochemical data of "ellagotannins." From plants used in folk medicine have been isolated more than 500 compounds in the native state (Okayama University, Matsuyama University), by enzymatic oxidation of the *in vitro* synthesized gallo- and ellagotannins, from monomer gallotannins yielded dimeric ellagotannins (Universität Ulm), and investigated the bioavailability metabolism of ellagotannins in a human organism (Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura), studied chemistry of complex tannin-protein, for those interested in the chemistry of polyphenols and classical methods of investigation developed an online guide «Tannin Handbook» (Miami University), to review the achievements in the field of natural polyphenols, the exchange of information set up an international association (Groupe Polyphénols).

Currently, carryinf out researches out on the isolation of plant tannins, obtaining their derivatives, revealing structure activity relationship (SAR), the investigation of the mechanism of antiviral activity, synthesizing gallo- and ellagotannins, which are a priority for research.

**Degree of study of the problem.** At the end of XX century, T.Yoshida, T.Okuda and a number of other Japanese scientists began intensive study of tannin plants of the family *Euphorbiaceae*. Along with known monomeric hydrolysable tannins, were isolated a number of new dimeric and oligomeric ellagotannins. It was determined their structure and revealed their high antioxidant and antiviral activity, including anti-HIV activity. In recent years, L.N.Gvazaeva, M.D. Alania isolated a new dimeric hydrolysable tannin – glarein-A, T.Yoshida, Y.Amakura, Y.Liu, T.Okuda isolated from *E. humifusa* euphormisin M1, M2, M3 which are new dimer hydrolyzable tannins. Z.Z.Ibraheim, A.Ahmed, W.M.Abdel-Mageed isolated from *E.peplus* L. and *E. aphylla* metilgallat, kaempferol, quercetin, quercetin-3-O- (2', 3' '- digalloil) - $\alpha$ -L- rhamnoside, 3,4,3'-tri-O-methyl-4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ellagic acid and 3,4,3'-tri-O-methyl-4'-rutinoside ellagic acid, revealed their analgesic, anti-inflammatory, antibacterial activity. E.A.Karpova, E.P.Khramova carried out a comparative study of flavonoids in some representatives of *Euphorbiaceae* plant family and isolated galactoside-gallat quercetin.

In Uzbekistan, the first researches on isolation of polyphenols from local plants, obtaining their derivatives, the studying of their biological activity have been carried out under the leadership of academician A.S.Sadykov. In the Institute of Bioorganic Chemistry, by prof. A.K.Karimdjanov from a number of decorative, medicinal plants, colored grapes and fruits isolated anthocyanins, and on the basis of their developed and implemented the production of food dyes. Great contribution to the study of the chemistry of catechins and proanthocyanidins made

by Ph.D. Sh.Yu.Islambekov, Dr. Sc. prof. Z.A.Kuliev, Prof. A.I.Ismailov, N.I.Baram, on basis of specific pigment of cotton - gossypol and its derivatives have manufactured a number of antiviral agents (antiherpetic, chlamydia, hepatoprotective drugs) "Megosin", "Gozalidon", "Ragosin" et al., which introduced to production. But at the same time, in the Republic has not yet been created antiviral agents based on tannin.

**Connection of dissertational research with the plans of scientific- research-works.** This thesis is done under the state of scientific projects: MP-41, "Mechanism of inhibition of viral replication by plant polyphenols" Uzbek-Russian project (2008-2010 years), A-10-065- "Creating an effective drug against influenza based on plant polyphenols and analysis of its antiviral activity "(2006-2008 years), A-10-122" Development of drugs Getasan and Punitan having activity against AIDS based on plant polyphenols"(2006-2008 years), FA - A12-T160 "The development of anti-influenza drugs (Rutan, Gossitan) anti-AIDS (Getasan, Punitan) action based on polyphenols from local plants" (2009-20011 years), IFA 2012-6-6 "Organization of manufacture of medicines anti-flu (Rutan, Gossitan) and anti AIDS (Getasan) action based on polyphenols from local plants" (2012-2013 years), A-11-T-051"Development of the medicine Euphorbin with anti-AIDS activity" (2012- 2014 years).

**Purpose of the research.** Creation of effective antiviral drugs based on polyphenols from local plants.

**Tasks of research:**

Finding ways of isolating pure compounds from the representatives of 29 species of the *Euphorbiaceae* plant family.

Determining the structures of the isolated compounds by chemical and spectral analysis;

Studying of the biological effect of isolated compounds and identify among them the compounds with the highest activity;

Studying of the structure-activity relationship;

Studying of physical-chemical and pharmaco-toxicological properties of substances, standard samples and drug forms of Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan and Euphorbin;

Making Temporary Pharmacopeial articles for substance, standard samples and drug forms of Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan and Euphorbin;

Creation of drugs Rutan, Getasan, Gossitan, Punitan and Euphorbin.

**Object of study.** 29 plants belonging to the *Euphorbiaceae* plant family.

**Subject of research** is the polyphenols.

**Methods of research.** In research, were used technological (solid-liquid, liquid-liquid extraction systems, sedimentation processes, drying, chromatographic separation), chemical (acid and step hydrolysis, the alkaline cleavage, methanolysis, defining terminal fragments proanthocyanidins), physic-chemical (UV -, IR, NMR Q-TOF LC-MS spectroscopy) and analytical (thin-layer and paper chromatography, WUM, spectrophotometric, photoelectrocolorimetric,



HPLC) methods and methods for pharmaco-toxicological studies of the *in vitro* and *in vivo* were used in research.

**Scientific novelty** of the research study is as follows:

For the first time studied polyphenols 29 species of the *Euphorbia* plants family. From those plants were isolated more than 70 compounds the structures of which is determined by using modern physical and chemical methods. Among the isolated compounds, 8 compounds were found as new compounds not previously dated in the literature. Determined, they are diester of hexahydroxydiphenoyl-6-(O-  $\beta$ -D-glucopyranosido)-2-(O-1-O-trigalloyl- $\beta$ -D-glucopyranose), 1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6- hexahydroxydiphenoyl - $\beta$ -D-glucose, 3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl -4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl -3,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1-O-bisgalloyl-2,4-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1, 3 -dihydrodigalloyl-4- valoneat-  $\beta$  -D-glucose.

The studies of biological properties of isolated compounds have shown their antiradical, antioxidant and antiviral activities. It is shown that the new compounds form *Euphorbia* plants 1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6- hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucose, 3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl -4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose are highly active and effective inhibitory effect on HIV infection.

Developed Normative analytical documentations (hereinafter NAD) for the medicines Rutan, Gossitan, Punitan, Euphorbin and for their drug forms.

**Practical value of the results.** Revealed a high activity of Getasan, Punitan and Euphorbin against the HIV-1 virus; Rutan and Gossitan against the influenza virus. Along with an antiviral action, they show a high interferon-inducing activity, wherein induce  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -interferons.

It is shown that Rutan and Gossitan's activity is 1.5-2.0 times higher than the known drugs interferon and antiviral action as Amixin, Zovirax and Rimantadine, widely used in modern medicine.

In accordance with the requirements State Pharmacopoeia (SPh XI) studied their physical and chemical properties of Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan and Euforbin, selected standard samples.

Carried out the pre-clinical pharmaco-toxicological research of substances, and it is shown that they do not have embryo-toxic, teratogenic, immunotoxic and mutagenic effects.

Developed drug forms tablets of – Rutan 0.025, Gossitan 0.025, Getasan 0.01, Punitan 0.01 and Euphorbin 0,025.

**The validity of the obtained results verified:** the using of modern physical and chemical methods of analysis; confirmation of the results by experts of experts and practical implementation of research results; discussion of the research results at national and international scientific conferences and publication of research results in peer-reviewed scientific publications of the Supreme attestation commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan; Obtaining a patent of Agency on Intellectual Property of Uzbekistan.

**The scientific and practical significance of the results of research.** The theoretical significance of the results is that the polyphenols of 29 plants belonging to the family of *Euphorbiaceae* growing in Uzbekistan were studied. From them, along with well-known compounds, isolated a number of new hydrolysable tannins. Methods of isolation and identification of polyphenols, the physico-chemical methods can serve as a guide in carrying out a new research in this area.

The practical significance of the work lies in the fact that created the medicines with antiviral action Rutan, Gossitan, Getasan based on local plants. The clinical trials of drug Rutan were successfully completed. Approved NAD for the standard sample (NAD 42 Uz-2514-2014), substance (NAD 42 Uz-2515-2014), drug form (NAD 42 Uz-2516- 2014) and instructions for use. Permission to conduct the clinical trials on Gossitan and Getasan was received from Pharmacological Committee.

**Implementation of the research results into practice.** On the basis of obtained results of research and in order to create drugs Rutan and Gossitan with anti-flu, Getasan and Punitan with anti-HIV activity, received four patents for inventions of Agency on Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan "Agent possessing anti-flu action" (№ IAP 04 524, 31.07. 2012), "Agent possessing anti-flu action" (№ IAP 04521, 31.07. 2012), "Agent possessing anti-HIV activity" (№ IAP 04523, 31.07. 2012), "Agent possessing anti-HIV activity" (№ IAP 04522, 31.07. 2012).

The permission of the Head Department of drug and medical equipment quality control under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan (hereinafter HDDMEQC) received for use in medical practice (№01-14, CERTIFICATE, 08 may, 2014 y.) substance, a standard sample of the drug form of Rutan, they issued registration Certificate (Guvohnoma DV / M 00339/09/15).

**Approbation of work.** The main results of the thesis were presented and reported the following international and national conferences: 23<sup>rd</sup> IUPAC-2002. Int. Symposium on the Chemistry of Natural Products (Florence, Italy, 2002); "The problem of infections in clinical medicine" VIII Congress of Italian-Russian Association for Infectious Diseases (St. Petersburg, Russia, 2002); "Chemical Education, Science and Technology of the Republic of Uzbekistan" Republican scientific-practical conference (National University of Uzbekistan, Tashkent, 2002); Conference of young scientists dedicated to the memory of academician S.Y. Yunusov (IChPS, Tashkent, 2003); 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Tashkent, 2003); «International workshop on biotechnology commercialization and security» (Tashkent, 2003); VI International Symposium on phenolic compounds (Moscow, Russia, 2004); XVIII Turkish National Congress (Kars, Turkey, 2004); Traditional scientific conference of young scientists (Uzbek Academy of Sciences, Tashkent, 2004); "Biotechnology: state and prospects of development» III Moscow International Congress (Moscow, Russia, 2005); 6-th International Symposium of the chemistry of Natural compounds (SCNS) (2005. Ankara, Turkey, 2005); "Developments in the isolation, study and use of medicines, based on natural raw materials' Scientific

and practical forum devoted to the 100th anniversary of the birth of prof. R.L.Khazanovich (Tashkent pharmaceutical medical institute, Tashkent, 2006); "Problems of Bioorganic Chemistry" scientific-practical conference (Namangan, 2006); "Integration of education, science and industry in the pharmacy," Scientific and practical forum devoted to the 70th anniversary Tashkent pharmaceutical medical institute (Tashkent, 2007); XIII conference of Polish biophysics Society (Lodz, Poland, 2007); "Physiologically active compounds based on natural resources and technology of inorganic substances" Republican Scientific and Practical Conference (Nukus, 2008); "Actual problems of natural sciences" Republican Scientific and Practical Conference (Samarkand State University, 2008); "VII International Symposium for phenolic compounds: fundamental and applied aspects of the" International Scientific Forum (Moscow, 2009); "Problems of Bioorganic Chemistry» VI National Conference (Namangan, 2009); "Actual problems of Bioorganic Chemistry" (IBCh, Tashkent, 2010); 18<sup>th</sup> Meeting European association for red cell research (Poland, 2011); "Biologically active substances: fundamental and applied problems of production and application" Scientific-practical Conference (Ukraine, 2011); VIII International Symposium "Phenolic compounds: fundamental and applied aspects" (Moscow, 2012), VIII International scientific-practical conference "Actual problems of ecology" (Republic of Belarus, 2012), International scientific conference "Actual problems of development of Bioorganic Chemistry" ( Tashkent, 2013); International Conference of Young Scientists "Experimental and Theoretical Biophysics" (Pushchino, 2014), Moscow 2015 and others.

**Publication of research results.** The main content of the research have been published in 74 publications: 17 scientific articles (5 in foreign journals), 4 patents of Uzbekistan, 53 abstracts.

**The structure and volume of the dissertation.** The thesis consists of an introduction, four chapters, conclusions, list of references, 182 pages of text, applications, 17 tables, 15 charts and 6 pictures.

## MAIN CONTENT OF DISSERTATION

**In the introduction** described the actuality and demand title of the thesis, formulated the main purpose and tasks, revealed objects of the research, revealed the appropriate research priority areas of Science and Technology of the Republic of Uzbekistan, presented the novelty of the scientific and scientific and practical significance of the results, proved the accuracy of the results obtained, revealed theoretical and practical importance of the obtained results, listed of implementing the results of research and information about the published work and the structure of the thesis.

In the first chapter of the thesis "**Tannins, classification, spectral methods of determining structures of polyphenols, methods of isolation of tannins and chromatographic methods of analysis**" provides information about the current

state of knowledge on polyphenols, in particular tannins. The classification of tannins, extraction methods from plants, methods of separating them into individual compounds, establishing the structure using spectral (UV, IR,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C}$  - NMR- spectroscopy, mass spectrometry) analysis methods. Results of studies of both domestic and foreign scientists are reviewed.

In the second chapter of the thesis "**Plant polyphenols of *Euphorbiaceae***" provided the comparative study of the content of the polyphenols from the aerial parts and roots of 29 species of plants *Euphorbiaceae*. For the samples of plants were harvested at the flowering stage and dried in shade. Sequential extraction of various plant organs (roots, leaves, stems) in chloroform, 70% aqueous acetone, concentration of water-acetone fractions under vacuum, multiple treatment of water residuals with ethyl acetate, evaporating of the ethyl acetate fractions and by adding hexane to the condensed extracts, the sum of polyphenolic compounds were isolated. It revealed that polyphenols are accumulated basically in the roots of plants, where the number ranges from 2.1% - 13.2%, in the leaves of 1.88% - 6.67%, and 0.03% in the stems - 3.0%. As a result of qualitative reactions in the sum of polyphenols revealed the presence of compounds belonging to class of flavonols, phenolic acids and tannins. By using paper chromatography showed that in the individual parts of plants, the qualitative of polyphenol composition does not differ from each other and differs in the quantitative content of the individual components. So if the flavonols comprise the main part of the amount of polyphenols in leaves, the tannins are the main components of the amount of polyphenols of plant roots.

Therefore, further research we continued on the compounds of plant roots, where localized highest amount of polyphenols. By chromatography of sum of polyphenols from plant roots on a silica gel column using the solvent system chloroform-methanol (17: 3, 17: 4, 17: 5), isolated 3 fractions. From the first fraction were isolated phenolic acids. Paper chromatography (solvent system 1: n-butanol-acetic acid-water 4: 1: 5 solvent system 2: n-butanol-acetic acid-water 40:12:28) showed that the first fraction contains phenolic acids, second - flavonols, third - tannins. The phenolic compounds from the second fraction were subjected to column chromatography with polyamide. As eluent was used the system chloroform-methanol (9: 1, 8: 2) and isolated individual compounds.

By comparing the results of physical and chemical methods of research with the data presented in the literature revealed that these compounds are known flavonols - kaempferol, quercetin, kaempferol-3-glucoside, miritsitine, izomiritsitrine. These compounds in upground plant parts are considerably more than in the roots.

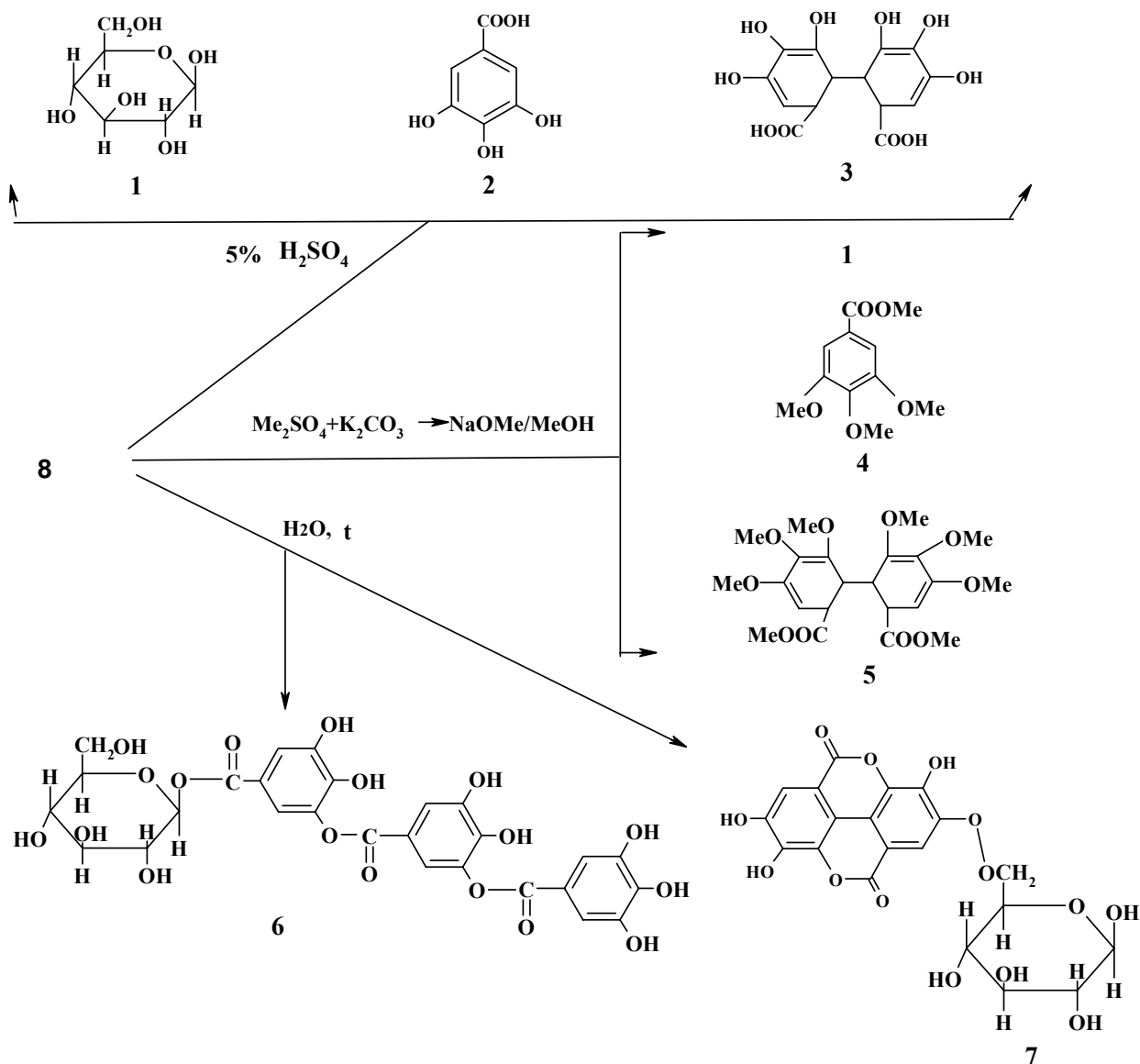
After repeat chromatography of third fraction in various solvent systems on silica gel column, isolated number of individual compounds. By the physical and chemical methods of investigation determined their structure.

From all the studied species of plants isolated more than 70 phenolic compounds, 8 of them were found as a new compounds, not previously described in the literature.

The new compounds isolated from *Euphorbiaceae* plant family.

Compound 1 – isolated from *Euphorbia sequieriana* Neck., amorphous white powder.  $C_{47}H_{42}O_{32}$ ,  $[\alpha]_D -20^0$  (c 1.0, MeOH); ; UV-spectrum (EtOH,  $\lambda_{max}$ , nm): 220, 280; MS  $m/z$ : 1117  $[M-H]^-$  ;

To determine the composition and structure compound 1 subjected to a series of chemical reactions according to Scheme 1. The acid hydrolysis products of 5%  $H_2SO_4$  detected glucose (1), gallic (2), and ellagic acids (3). Methylation of compound with dimethylsulfate and anhydrous  $K_2CO_3$  leads to form a permetilate, after alkaline hydrolysis with methanolic solution of sodium methoxide formed methyl tri-O-metilgallat (4) (TLC,  $R_f$  0.75, solvent system - 3: benzene-acetone 4: 1) and dimethyl hexamethoxidifenat (5) (TLC,  $R_f$  0.36, system - 1). In the products of partial hydrolysis of compound 1 (heating in water at  $90^0C$ ) are yielded 1-O-trigalloil-O- $\beta$ -D-glucopyranose (6) glucoside of ellagic acid (7).



Scheme 1. Chemical transformation of compound 1

The NMR  $^{13}\text{C}$  spectrum of the compound 1, obtained in the complete suppression of spin-spin coupling with protons detected signals, characteristic to glucose, ellagic and gallic acids (Table 1). Intensive signals at 93.6 and 96.5 ppm, correspond to the carbon atoms C-1 indicate presence of two sugar moiety in ellagotannins composition which the anomeric centers have the  $\beta$ -configuration. Appearance at 93.6, 76.7, 63.4 ppm signals and shifting to a strong field, correspond to the atoms C-1 and C-2 of the first center of glucose and C-6 of second glucose center indicated to the acylation of the carbohydrate moiety at these positions.

The  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum contains signals of three residues of gallic acid: the signals of carbon atoms of carbonyl groups at 164.4, 166.3, 168.8 ppm, and the signal of C-1 carbon atoms in trigalloyl group observed at 120.4 ppm. The signals of carbon atoms C-2 and C-6 and C-3 and C-5 are matched and provide relatively intense signals at 110.1 and 145.9 ppm, respectively. The carbon atom C-4 of this moiety is screened and as a result of diamagnetic shift resonates at 139.3 ppm. Also in spectrum have signals of 14 carbon atoms of hexahydroxydiphenol (HHDP)-group. Analysis of the chemical shifts of carbon atoms in hexahydroxydiphenol group indicates that in molecule of compound 1 two atoms of glucose linked via hexahydroxydiphenol group. The substituted carbon atoms of hexahydroxydiphenol group C-4, C-4', C-5, C-5' and C-6, 6-S' resonate at 145.8, 136.4-136.6 and 144.4-144.5 ppm, respectively. Unsubstituted carbon atoms of C-3 and C-3' observed at 107.8 and 108.1 ppm. Signals of carbon atoms C-7 and C-7' carbonyl groups show intense signals at 167.6 and 168.0 ppm.

**Table 1**

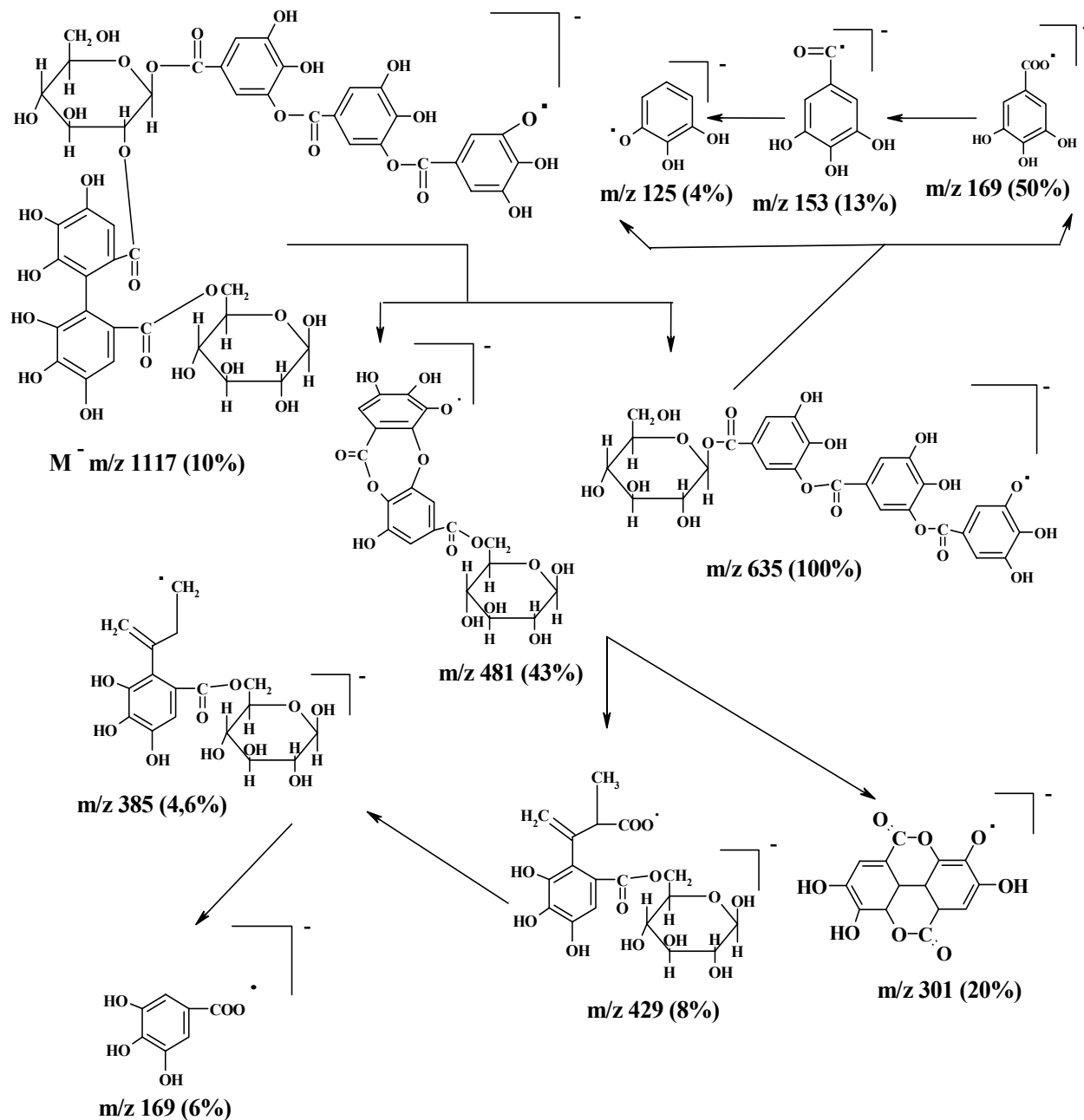
**Chemical shifts ( $\delta$ , 100 MHz, acetone  $-d_6 + \text{D}_2\text{O}$ , ppm) of the signals of carbon atoms in the NMR  $^{13}\text{C}$  spectrum of the substance 1**

Atoms C	Trigalloyl groups			Hexahydroxydiphenoyl groups		Glucose	
						I	II
C-1	120.4	120.4	120.4	115.5	115.8	93.6	96.5
C-2	110.1	110.1	110.1	125.8	126.4	6.7	74.2
C-3	145.9	145.9	145.9	107.8	108.1	75.2	73.0
C-4	139.3	139.3	139.3	145.8	145.8	69.6	69.6
C-5	145.9	145.9	145.9	136.6	136.4	74.3	75.1
C-6	110.1	110.1	110.1	144.4	144.5	63.2	63.4
C-7	168.8	166.3	164.4	167.6	168.0		

These data are confirmed by the mass spectrometry fragmentation of compound 1 performed using LC-MS Q-TOF in the negative ion mode. The signal of the molecular ion in the mass spectra at  $m/z$  1117 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ ) corresponds to trigalloyl-hexahydroxydiphenol-diglycoside of ellagotannin with the molecular formula  $\text{C}_{47}\text{H}_{41}\text{O}_{32}$ . The negative secondary ions at  $m/z$  301 and 153 correspond to

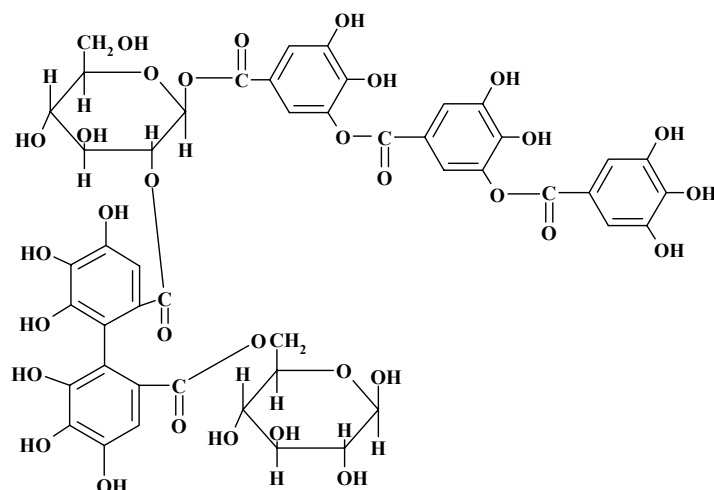
the separation of molecules from hexahydroxydiphenol and galloyl fragments, and the signals at  $m/z$  481 and 429 - fragmentation of ellagic acid linked to glucose.

In mass spectra the signal at  $m/z$  635 indicates the presence of esterified glucose of trigalloyl acid. Signals at  $m/z$  169, 153, 125 correspond to the standard fragmentation of gallic acid.



**Scheme 2. Possible ways of fragmentation of compound 1**

On the basis of analysis of chemicals and spectral constants and their comparison with the literature data revealed that compound 1 is a diester hexahydroxydiphenol-6-(O-β-D-glucopyranoside)-2-(O-1-O-trigalloyl-β-D-glucopyranoside) (8).



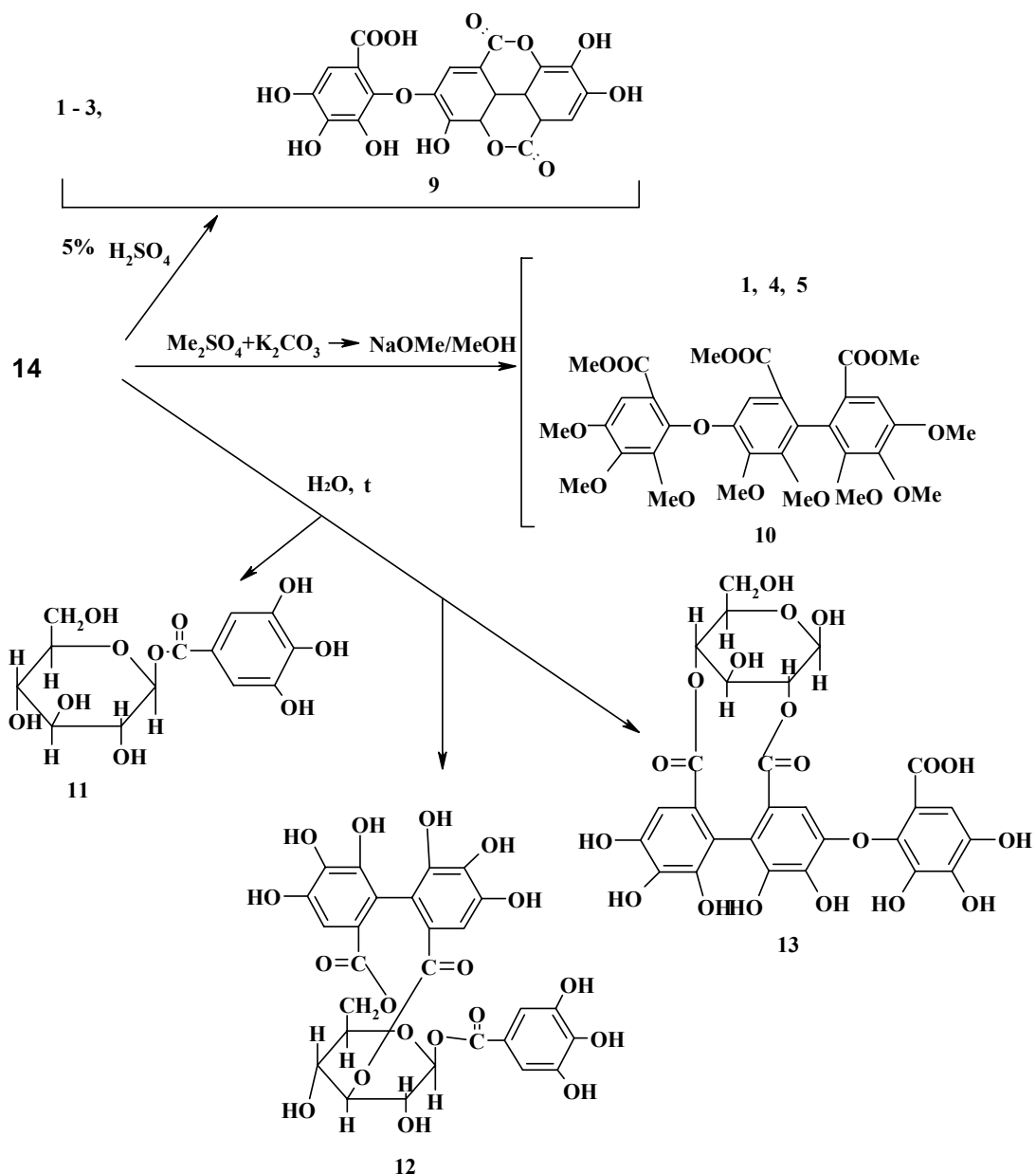
## 8

Compound 2 - isolated from *E. rosularis* *A.Theod*, yellow amorphous powder,  $C_{48}H_{32}O_{31}$ ,  $[\alpha]_D^{+56.2^0}$  (0.5, MeOH); UV-spectrum (EtOH,  $\lambda_{max}$ , nm): 218, 275; The structure of the compound 2 is also established based on the analysis of chemical reactions and spectral data ( $^{13}C$ -NMR and mass spectra). Results of study of the products of chemical transformations shown in Scheme 3. In contrast to the compound 1, in the products of acid hydrolysis of the compound 2 found dilactone of valonic acid (9) except gallic acid and ellagic acid, the methylation lead to yield trimethyl-octa-O-methyl-valonic acid (TLC, Rf 0.27, system 3: benzene-acetone 4: 1) (10). Partial hydrolysis resulted in formation of a mixture of 1-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (11), 1-O-galloyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucopyranose (12) 2,4-O-valoneil-  $\beta$ -D-glucopyranose (13).

In  $^1H$  NMR spectrum observed in a weak field signals characteristic to H-2, H-6 protons of galloyl group at 6.98, 7.07 ppm, H-3, H-3' protons of hexahydroxydiphenoyl group at 6.45 and 6.64 ppm, H-3, H-3', H-6'' protons of valoneoyl group at 6.48, 6.22 and 7.11 ppm (respectively).

Analysis of NMR  $^{13}C$  spectra shows that in contrast to the spectrum (8), the spectrum of the compound 2 in addition to the resonance signals of glucose, gallic and hexahydroxydiphenoyl –groups, observed the signals typical to valonic acid (Table 2). Chemical shifts of the carbon atoms C-1, C-3, C-5 (92.5, 75.2, 73.1 ppm, respectively) in glucose confirm that the anomeric center has  $\beta$ -configuration. The chemical shifts of atoms C-2, C-4 and C-6 in glucose at 76.77, 69.61 and 63.37 ppm respectively, confirm that OH groups have galloyl residues. A similar picture as in compound 1, observed significant shifting signals of carbon atoms of ellagic and gallic acids, resonance signals of C-1, C-1' and C-1'' carbon atoms valoniev acid appear at 114.2, 122.0 and 113.1 m. d., respectively. Intensive signals at 144-145 ppm correspond to the C-4 and C-6 carbon atoms valoniev acid. The chemical shifts of carbon-3, C-3', and C-3'' observed at 106.9, 111.1 and 137.1 ppm. Analysis of NMR  $^{13}C$  spectra shows that the chemical shifts valoniev acid coincide with the literature data.





**Figure 3. The chemical transformation of compound 2**

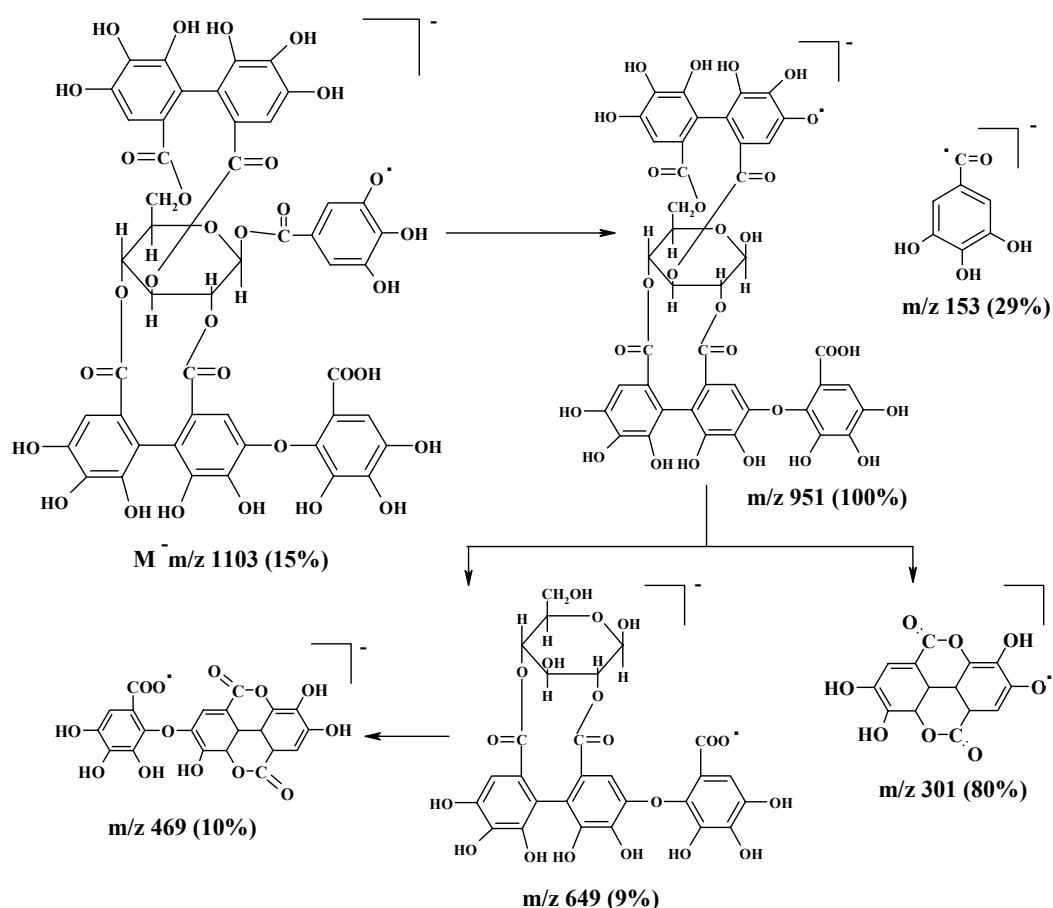
Mass spectrometric studies of compound 2 also performed on mass spectrometer Q-TOF LC-MS, in negative ionization mode. The results are shown in Scheme 4. As seen in the scheme, the molecular ion of compound 2 at  $m/z$  1103 is broken up into two fragments at  $m/z$  951 and 153. This indicates that the breaking of the ester bond between glucose and galloyl group, which is consistent with the literature data.

Secondary ion at  $m/z$  951 further broken up into fragments at  $m/z$  649 and 301. The presence in the mass spectra of the intensive fragmentation ion signal at  $m/z$  469, formed by the decay of the secondary ion  $m/z$  at 649 indicates that the composition of the compound 2 contains valoneyl group corresponding to molecular formula C<sub>21</sub>H<sub>10</sub>O<sub>13</sub>.

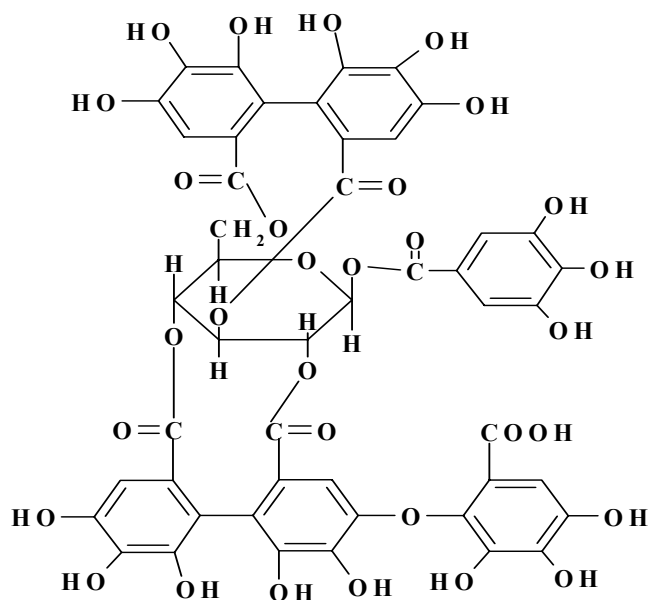
**Table 2**

**Chemical shifts ( $\delta$ , 100 MHz, acetone  $-d_6 + D_2O$ , ppm) of the signals of carbon atoms in the NMR  $^{13}C$  spectrum of the substance 2**

Atoms C	galloyl group	HHDP-gr.		valoneoyl-gr.			glucose
				A	B	C	
C-1	120.4	115.6	116.3	114.2	122.0	113.1	92.5
C-2	110.2	125.4	125.4	126.3	132.2	141.3	74.2
C-3	145.8	108.6	109.8	106.9	111.1	137.1	75.2
C-4	139.1	144.8	145.3	145.1	151.6	143.4	70.8
C-5	145.8	136.6	136.6	135.7	135.6	143.7	73.1
C-6	110.2	144.8	145.9	144.4	148.7	110.5	63.2
C-7	165.3	165.4	166.8	168.2	168.3	163.1	

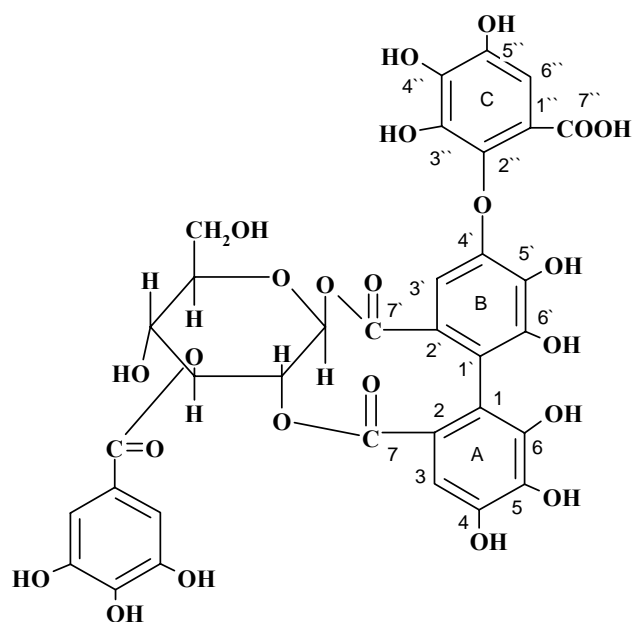


Summing up all spectra data and chemical decomposition, as well as determining the molecular weight, and comparing these data with the literature data, the chemical structure of a compound established as 1-O-galloyl-2,4-valoneil-3,6-hexahydroxydiphenol- $\beta$ -D-glucopyranose (14).

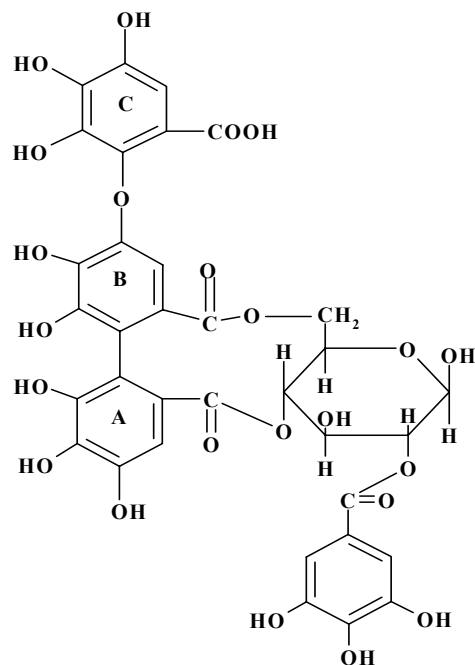


14

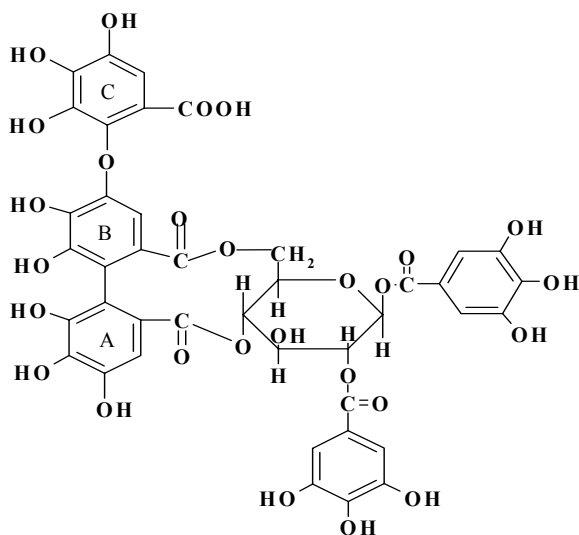
By these methods, established the structure of other new compounds.



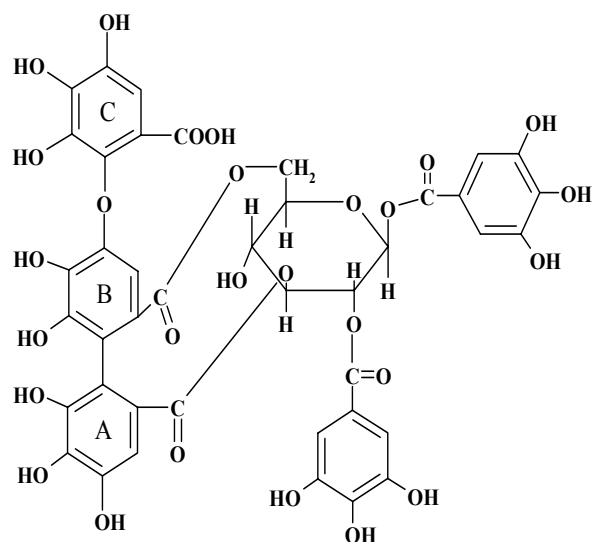
3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose (*E. helioscopia* L.)



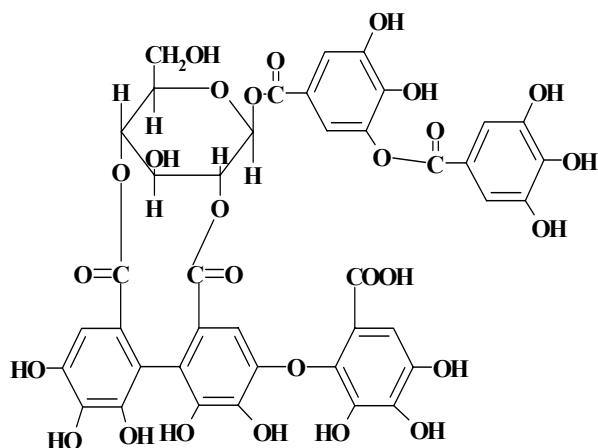
2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose (*E. turkestanica* Rgl.)



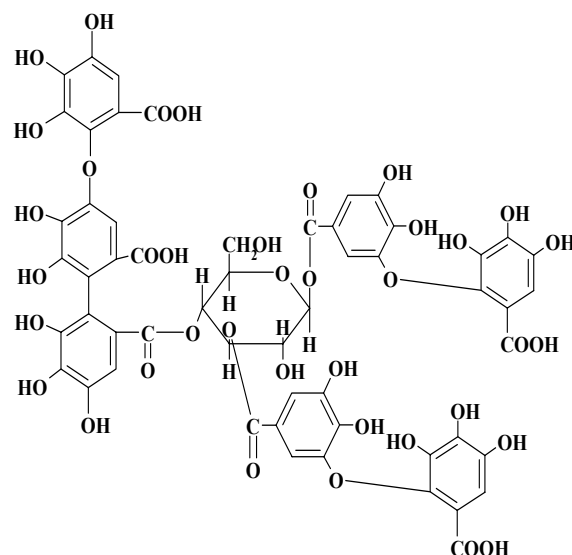
1,2-di-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose (*E.jaxartica* Prokh.)



1,2-di-O-galloyl-3,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose (*E.triodonta* Prokh.)

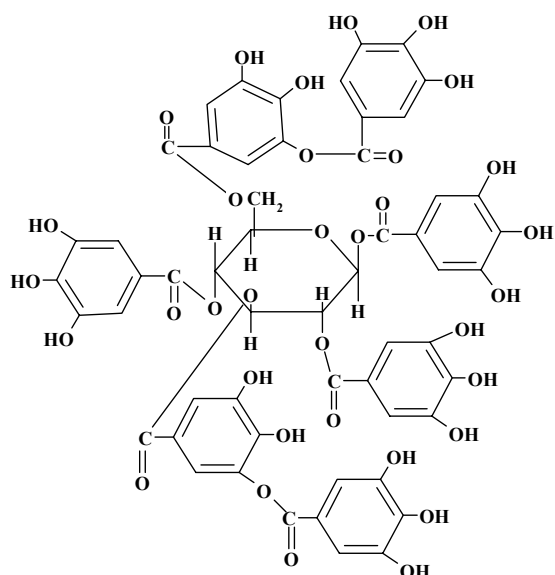


1-O-bisgalloyl-2,4-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose (*E. Kudrjashevii* (Pazij) Prokh.)

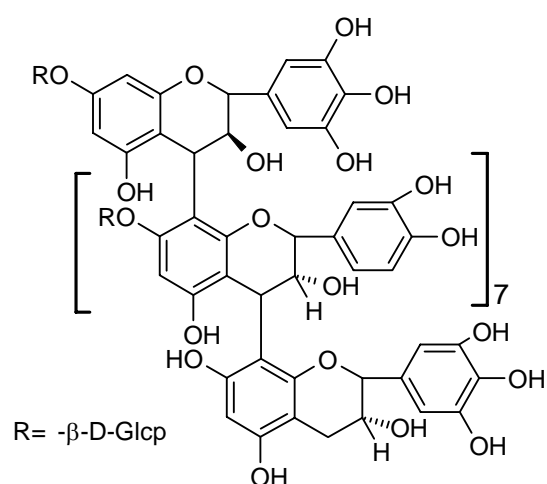


1,3-dihydrodigalloyl-4-valoneat- $\beta$ -D-glucose (*E.glomerulans* Prokh.)

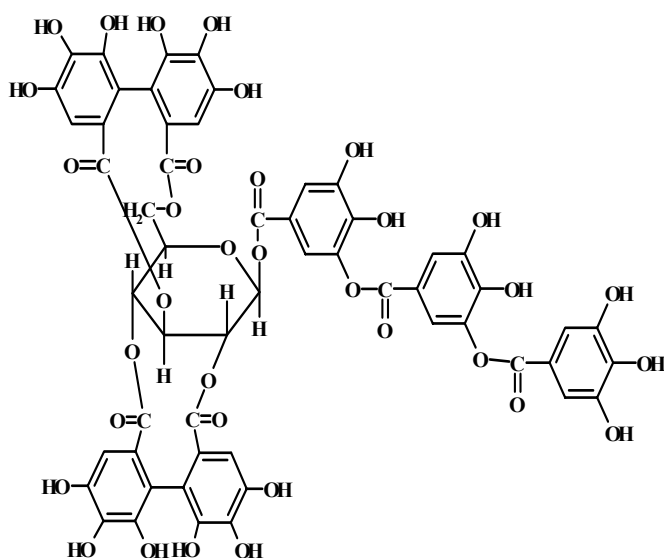
One of the main tasks of the research is the creation of effective antiviral drugs based on promising tannin containing plants. These are polyphenols - Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan isolated from Anacardeaceae, Malvaceae, Geraniaceae, Punicaceae plant families. Previously, their chemical structure has been studied by prof. Mavlyanov S.M. Screening of these compounds for biological activity showed that they have high antiviral activity. Creation on the basis of their drugs are made in the framework of this research thesis.



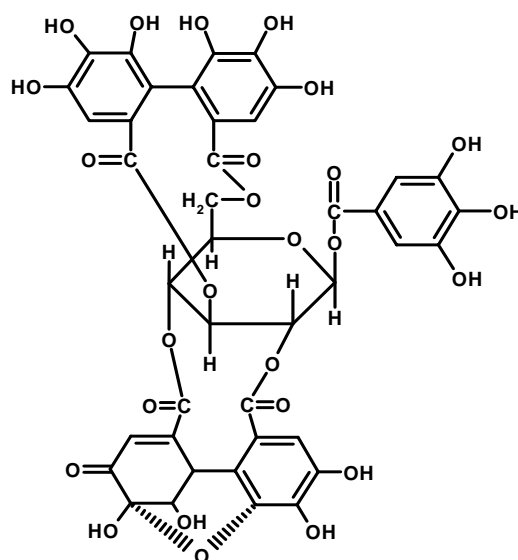
Rutan



Gossitan



Getasan



Punitan

The third chapter of the thesis is devoted to the study of the “**Biological activity of isolated polyphenols**”. Their antiradical and antioxidant activities were studied at the laboratory of “Physical-chemical methods of investigation” by prof. B.S.Salakhutdinov, researchers of Laboratory of “Molecular biophysics” supervising by prof. M.I.Asrorova, researchers of the Institute of Biophysics (Poland) prof. M.B.Zamaraeva. It is shown that polyphenols isolated from euphorbias at doses of 1.25, 6.25 mg/ml show antiradical activity relation of the stable free radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), prevents oxidation of proteins and lipids in biological membranes. In studying the effect of these drugs on hemolysis of erythrocytes, it showed that at concentrations up to 200μM, they

do not possess hemolytic activity. At low concentrations (10  $\mu\text{M}$ ) drugs prevent partial hemolysis observed in control samples.

Studied *antiradical activity* (ARA) and the rate constants of reactions of DPPH with polyphenols in different environments. Analysis of the kinetic curves indicates that the majority of molecules of DPPH reduced in the first 5 minutes of reaction, after the reduction reaction proceeds more slowly. These findings are consistent with the literature. It is known that tannins, unlike low molecular weight compounds (a-tocopherol, ascorbic acid, low molecular weight phenols and al.) have both fast and slow acting ARA, may therefore kinetic curves do not lie on a straight coordinates. Apparently, in this case take place as a direct reaction to study drugs DPPH molecules with formation of inactive products (first order kinetics) and reactions associated with the ability of the molecules to form DPPH intermediate donor-acceptor complexes that react with the novel molecules DPPH.  $t_{50}$  - the necessary time to reduce initial concentration of stable radicals in the reaction of a study with drugs for 50% needed 36-96 seconds.

It was revealed that the antioxidant activity of a compound depends on their structure, or more precisely the number of hydroxyl groups of the ring "B", i.e., increasing the number of them the antioxidant activity of a compound is also enhanced. Likewise, compounds wherein the hydroxyl groups are in the *ortho*-position have a higher activity than in the *meta*- position. In addition, antioxidant and antiradical activity is directly related to the degree of "C" ring saturation. Compounds having a double bond  $>\text{C}2=\text{C}3<$ , OH group in the C-3 position show higher antiradical activity against free radicals.

It was studied membranotropic effect of the drug Rutan. It is found that the hydrolysable tannin can penetrate the membrane and form molecular structures - ion channels. It was characterized fundamental properties of these structures - selectivity, potential-dependence and dependence on the lipid composition. It was found the ability of hydrolysable tannin to block the  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent chlorine current in the cell membrane, without affecting the activity of  $\text{Ca}^{2+}$  channels. These results suggest the presence of diuretic properties of the drug Rutan, comparable with known diuretics.

*Antiviral activity of polyphenols.* Anti-HIV activity of the compounds isolated from euphorbias investigated against human immunodeficiency virus (HIV) in the Institute of Virology named after D.I. Ivanovsky RAMS, supervising by prof. E.V. Karamov. All the tested compounds are about the same cytotoxicity for cell CEM SS, 50% toxic dose is in the range 117-300 *mcg/ml*.

In a study of the antiviral activity in CEM SS cells infected reference strain HIV-1/BRU at a multiplicity of infection 1000  $\text{TCID}_{50}$ . The level of inhibition of infection in the control and experimental variants was assessed p24 antigen content by immune-enzyme analysis. These studies revealed four compounds which effectively inhibit HIV infection (1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl - $\beta$ -D-glucose, 3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose). 50% effective dose was 0.29; 8.8; 0.36 and 3.1, respectively.

The prospect of the studied compounds is estimated at therapeutic index (selectivity index IS). Based on these results it can be distinguished two most promising compounds with IS from 1034 to 472: 1-O-galloyl-2,4-valoneil-3,6-hexahydroxydiphenol- $\beta$ -D-glucose - 1034.0; 2-O-galloyl-4,6-valoneil- $\beta$ -D-glucose (Table 3).

**Table 3**

**The therapeutic index (IS) of studied polyphenolic compounds from plant**

N <sup>o</sup>	Compounds	TD <sub>50</sub> μg/ml	ED <sub>50</sub> μg/ml	IS TD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
1	1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl - $\beta$ -D-glucose	300	0.29	1034.0
2	1,2-di-O-galloyl -4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose	145	3.1	46.8
3	2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose	170	0.36	472.0
4	1,2-di-O-galloyl -3,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose	135	27.0	5.0
5	3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose	117	8.8	13.3
6	1-O-bisgalloyl-2,4-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose	170	25.0	6.8
7	1, 3 -dihydrodigalloyl-4- valoneat- $\beta$ -D-glucose	145	27.5	5.3
8	hexahydroxydiphenoyl-6-(O- $\beta$ -D-glucopyranosido)-2-(O-1-O-trigalloyl- $\beta$ -D-glucopyranose)	215	23.5	9.1

Investigation of the mechanism of anti-HIV activity of the compounds was carried out with compounds which found a higher antiviral effect compared to the others ((Table 4).

As reference compounds used dextran sulfate 5000 - an inhibitor of virus-cell interaction, azidothymidine (AZT) - an inhibitor of reverse transcription. The research results indicate that 1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucopyranose does not prevent the entry of the virus into the target cell, but exhibit efficacy in the range of from 0 to 5 hours. This corresponds posttranscriptional period, as AZT in the same conditions exhibits an inhibitory effect in the period from 0 to 3 hours from the start of the infection. Comparing the data with the available literature data with respect to the time slots of anti-HIV activity of the known inhibitor (RT, protease inhibitors and integrase), we can conclude that the activity of the compound is likely to block the integrative process. The process of integration of proviral DNA into the cellular genome is a multicomponent case and depends on the action of both cellular and viral enzymes. To identify the molecular mechanisms require more detailed studies. For the remaining compounds, their inhibitory activity is shown in the same period as that of the dextran sulfate 5000, and evidently due to the blocking of the initial steps of viral replication. By adding these compounds to the infected cells after 9 hours

observed reduction in the second wave of infection, it is obviously explained by blocking the penetration of new viral progeny in multicyclic infections. Obtaining resistant variants of the CEM SS-HIV-1<sub>BRU</sub> in the virus-cell system was not successful.

**Table 4**

**Anti-HIV activity of the compounds added at various time intervals after infection**

Sample	Time after infection (hours)							
	0	1	3	5	7	9	24	36
1	0,147	0,265	0,559	0,726	1,193	1,165	1,123	1,351
2	0,140	1,150	1,295	1,302	1,414	0,693	1,170	1,381
3	0,111	1,289	1,267	1,382	1,408	0,801	1,343	1,413
5	0,128	1,249	1,290	1,316	1,418	0,480	1,295	1,403
Dextran sulphate 5000	0,105	1,148	1,312	1,367	1,370	1,372	1,408	1,392
AZT	0,029	0,048	0,244	0,852	0,915	0,943	1,135	1,114

*Creation of anti-virus drugs Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan and Euphorbin.* It were revealed the high activities of Rutan and Gossitan against influenza (strains of influenza A(H3N2), (H1N1) and B (01 and 02), and Getasan, Punitan and Euphorbin against HIV infection. Studies on activity against HIV-1 tested in a strain of the virus HIV-1<sub>BRU</sub>. Determined the average cytotoxic and effective doses of these compounds, and found their therapeutic indexes.

In order to create drugs Rutan, Gossitan, Getasan, Punitan and Euphorbin in accordance with the requirements of the SPh XI (State Pharmacopoeia) studied their physical and chemical parameters, selected standard samples and drug forms. Carried out total pre-clinical pharmaco-toxicological researches, studied embryotoxic, teratogenic, immunotoxic and mutagenic properties of substances. On the basis of obtained data developed the NAD for substance, standard samples and drug forms of medicines.

The permission HDDMEQC received to carry out the clinical tests for Rutan, Gossitan, Getasan. The clinical tests of the "Rutan 0,025" tablets are successfully completed. On substance, the standard sample and drug form of Rutan received permission of HDDMEQC for the manufacture and use in medical practice (Certificate). By HDDMEQC approved (registered) NAD on the substance, standard sample and drug form of Rutan. Developed applications for patents on these drugs. Received patents of Uzbekistan for invention - Rutan, Gossitan, Getasan and Punitan.

The fourth chapter of the thesis is devoted to the "**Used methods and conditions of isolation of polyphenols**", described the object and research methods, the isolation of the sum of polyphenols, separation them into individual components, determining of the structure of compounds by using an acid and



stepped hydrolysis and alkaline decomposition, methanolysis, methylation, paper and column chromatography using a variety of solvent systems.

## CONCLUSION

1. For the first time 29 plants belonging to the family Euphorbiaceae were studied for content of polyphenols. More than 70 phenolic compounds were isolated from them. It was revealed that the polyphenols mainly are localized in the roots of plants, and presented as flavonols, phenolic acids and tannins.

2. The structures of isolated compounds were determined by using the physical and chemical methods. 8 of them were found as new compounds, formerly not described in the literature, such as: diester of hexahydroxydiphenoyl-6-(O- $\beta$ -D-glucopyranosido)-2-(O-1-O-trigalloyl- $\beta$ -D-glucopyranose), 1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucose, 3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl-3,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1-O-bisgalloyl-2,4-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,3-dihydrodigalloyl-4-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose.

3. Isolated compounds possessed a high antioxidant and anti-radical activities and at the same time do not cause destruction of biological membranes. It is revealed that the antioxidant activity of isolated compounds depends on the number of hydroxyl groups in the molecule, of their locational position, and the degree of saturation and galloyl groups in ring C.

4. New compounds isolated from plants of Euphorbia obtain antiviral activity. It was revealed that 1-O-galloyl-2,4-valoneoyl-3,6-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucose, 3-O-galloyl-1,2-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 2-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose, 1,2-di-O-galloyl-4,6-valoneoyl- $\beta$ -D-glucose have an effective inhibitory effect on HIV infection due to their high antiviral activity comparing with other compounds. As a result of studying a mechanism of action of these compounds with viruses, revealed that the antiviral activity of the first compound blocked integrating process of the viruse, and the other compounds inhibits the contact between viruses and target cell.

5. In accordance with the requirements of the SPh XI (State Pharmacopoeia) the physical and chemical parameters of Rutan, Gossitan, Getasana, Punitan, Euphorbin were studied and selected standard samples and drug forms of them. The total pre-clinical pharmaco-toxicological researches were run. On the basis of obtained data developed the projects of Temporary Pharmacopoeial Articles for the substance, standard samples and drug forms of medicines: Rutan 0.025, Gossitan 0.025, Getasan 0.01, Punitan 0.01, Euphorbin 0.025.

6. The permission of HDDMEQC was obtained to run the clinical trials for Rutan, Gossitan, and Getasan.

7. The clinical tests of the Rutan were successfully completed and approved for using in a clinical practice. Permission (Certificate) from HDDMEQC for using the standard sample, substance and drug form of Rutan in a medical practice was obtained. The HDDMEQC approved (registered) Temporary Pharmacopeial Articles on the substance, standard sample, drug form and instruction for usage of Rutan. The registration certificate for the medical product was received. At the current time, medicines Gossitan and Getasan are in a clinical-testing stage.

8. The patents of the Republic of Uzbekistan were received for Rutan and Gossitan as anti-flu drugs, for Getasan and Punitan as drugs with anti-HIV action.

## ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙЎАТИ

### Список опубликованных работ

#### List of published works

#### I бўлим (I часть; I part)

1. Abdulladjanova N.G., Mavlyanov S.M., Abdullaev SH.V., Dolimov D.N.. Colorimetric method for determination of hydralyzable tannins // The journal of the American leather chemists association. April 2002. Vol.XCVII. NO.4. 160. (№1. Web of Science IF- 0.71).

2. Abdulladjanova N.G., Mavlyanov S.M., Abdullaev SH.V., Dolimov D.N. Method of tannin extract production from euphorbia ferganensis B.Fedtsch // The journal of the American leather chemists association. May 2002. Vol.XCVII. NO.5. 203. ((№1. Web of Science IF - 0.71).

3. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н. Полифенолы некоторых плодовых растений, выращиваемых в Узбекистане // Химия природ. соедин. –Ташкент, 2003. -№ 5. С. 371. (02.00.00. №1).

4. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н. Полифенолы некоторых растений сем. Euphorbiaceae // Химия природ. соедин. -Ташкент, 2003. -№4. С.322. (02.00.00.№1).

5. Абдулладжанова Н.Г. Фенольные компоненты растений *Euphorbia lipskyi* Prokh., *E. Micronulatus* Prokh., *E.sequieriana* Neck., *E.Sewertzovii* Herd., *E.anisopeta* Prokh.// Доклады АН РУз., -№2, 2006, 63-64. (02.00.00. №2).

6. Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы и органические кислоты некоторых сортов растения *Punica Granatum* L //Доклады АН РУз, №2, 2007. С. 63-65. (02.00.00.№2).

7. Salakhutdinov B.A., Tukfatullina I.I., Ziyatdinova R.Kh., Tokhtaeva E.K., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Dalimov D.N., Aripov T.F. The antioxidant and antiradical properties of tannins extracted from different plant source //Uzbek biological Jornal, 2008, №2, P. 3-9. (03.00.00. №1).

8. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Олигомерные проантоцианидины сем. *Euphorbiaceae* // Доклады АН РУз, 2010, №5, с.65-68. (02.00.00.№2).

9. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Новые полифенольные соединения сем. *Euphorbiaceae* // Доклады АН РУз, 2011, №3, С.60-62. (02.00.00.№2).

10. Olchowik E., Sciepek A., Mavlyanov S., Abdullajanova N., Zamaraeva M. Antioxidant capacities of polyphenols from sumac (*Rhus typhina* L.) leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage // Biomedicine & Preventive Nutrition. 2012. V.2, -№2, P. 99-105. (№1. Web of Science IF- 2.068).

11. Olchowik E., Lotkowski K., Mavlyanov S., Abdullajanova N., Ionov M., Bryszewska M., Zamaraeva M. Stabilization of erythrocyte against oxidative and hypotonic stress by some tannins isolated from sumac (*Rhus typhina* L.) leaves and

grape seeds (*Vitis vinifera* L.) // Cellular & Molecular Biology Letters. 2012, V. 17, P. 333-348. (№1.Web of Science IF - 1.95).

12. Borisova M.P., Kataev A.A., Mavlyanov S.M., Abdullajanova N.G. Effects of Hydrolysable Tannins on Native and Artificial Biological Membranes // Membrane and Cell Biology, 2015, Vol. 9, No.1, P. 53–60. (№1.Web of Science IF - 0.164).

13. Патент UZ № IAP 04523. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В., Абдулладжанова Н.Г., Корнилаева Г.В., Сидорович И.Г., Хаитов Р.М. «Средство, проявляющее анти-ВИЧ-активность». 31.07. 2012.

14. Патент UZ № IAP 04522. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В., Абдулладжанова Н.Г., Корнилаева Г.В., Сидорович И.Г., Хаитов Р.М. «Средство, проявляющее анти-ВИЧ-активность». 31.07. 2012.

15. Патент UZ № IAP 04521. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В., Абдулладжанова Н.Г. «Средство, обладающее противогриппозным действием». 31.07. 2012.

16. Патент UZ № № IAP 04524. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В., Абдулладжанова Н.Г. «Средство, обладающее противогриппозным действием». 31.07. 2012.

### **II бўлим (II часть; II part)**

17. Пирниязов А.Ж., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Долимов Д.Н. Метод выделения препарата РУТАН из растительного сырья // «Проблемы биоорганической химии» III Республиканская конференция химиков. –Наманган, 2001. С. 119-121.

18. Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Pirniyazov A.J., Dalimov D.N., Salikhov Sh.I. Polyphenols of some plants of Uzbekistan and its activites // 23rd IUPAC-2002. Int. Symposium on the Chemistry of Natural Products. -Florence-Italy, 2002. p.195.

19. Пирниязов А.Ж., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Долимов Д.Н., Исанбоев Ч.И., Выпова Н.Л. Рутан- эффективное противовирусное средство растительного происхождения // Вестник ГулГУ. -№1. 2002. Б. 26-31.

20. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Пирниязов А.Ж., Шамуратов Б.А., Далимов Д.Н. Противовирусные препараты на основе полифенолов растительного происхождения // Проблема инфекции в клинической медицине. VIII съезд Итало-Российского общества по инфекционным болезням. -Санкт-Петербург, Россия. 2002. 192 с.

21. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Пирниязов А.Ж., Далимов Д.Н. Оптимизация методов выделения лекарственных препаратов из растительного сырья // Республиканская научно-практическая конференция «Химическое образование, наука и технология в Республике Узбекистан». -Ташкент, Национальный Университет Узбекистана. 2002. 180 с.

22. Пирниязов А.Ж., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н. Оптимизация метода выделения полифенолов из растительного сырья // Конференция молодых ученых ИХРВ им. акад. С.Ю.Юнусова посвященная памяти акад. С.Ю.Юнусова. –Ташкент, 2003. 49 с.

23. Abdulladjanova N.G., Mavlyanov S.M., Dalimov D.N. Tannin substances of some plants of Euphorbiaceae // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2003, p. 122.

24. Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Dalimov D.N. Polyphenols of plants origin and development of medicines on their base // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2003. p. 60.

25. Pirniyazov A.J., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Dalimov D.N.. Polyphenols of grape seeds // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent. 2003. p. 71

26. Абдулладжанова Н.Г., С.М.Мавлянов, Д.Н.Далимов. Дубильные вещества некоторых видов растений Euphorbeaceae.//«Проблемы биоорганической химии» IV Республиканская конференция химиков. - Наманган. 2003. –С.72-74.

27. Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Pirniyazov A.J., Dalimov D.N., Kamaev F.G. The botanical origins of tannins and their application in medicinal preparations // International workshop on biotechnology commercialization and security. – Tashkent. 2003. p. 63-64.

28. Salakhutdinov B.A., Tukvatulina I.I., Ziyatdinova R.K., Abdulladjanova N.G. Antioxidant activities of the tannin line isolated from local raw materials // International workshop on biotechnology commercialization and security. -Tashkent. 2003. p. 65-66.

29. Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы некоторых растений входящих в семейство Euphorbiaceae // Форум молодых ученых АН РУз. –Ташкент. 2004. С. 83-84.

30. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Пирниязов А.Ж., Шамуратов Б.А., Далимов Д.Н. Полифенолы растительного происхождения и создание на их основе лекарственных средств // VI Международный симпозиум по фенольным соединениям. - Москва, Россия. 2004. 123 с.

31. Abdulladjanova N.G. Some phenolic compounds of Euphorbiaceae plants // XVIIIth Turkish National Congress. -Kars, Turkey. 2004. p. 131.

32. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Пирниязов А.Ж., Далимов Д.Н., Салахутдинов Б.А., Курмуков А.Г. Полифенолы некоторых танинсодержащих растений и создание на их основе лекарственных средств // Третий Московский Международный конгресс

«Биотехнология: состояние и перспективы развития». - Москва, Россия. 2005. Ч.1. 51 с.

33. Abdulladjanova N.G. Phenolic compounds of some kinds Euphorbia species // 6-th International Symposium of the chemistry of Natural compounds (SCNS). - Ankara- Turkey. 2005. p. 36.

34. Pirniyazov A.J., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Dalimov D.N., Kamaev F.G. The polyphenols of Grape seeds // 6-th International Symposium of the chemistry of Natural compounds (SCNS). - Ankara, Turkey. 2005. p. 55.

35. Абдулладжанова Н.Г. Местные перспективные богатые полифенолами сырьевые источники // Научно-практический форум посвященный 100-летию со дня рождения проф. Р.Л. Хазановича, на тему «Достижения в области выделения, исследования и применения лекарственных средств на основе природного сырья». ФарМИ. –Ташкент, 2006. 22 с.

36. Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы растений входящих в семейство Euphorbiaceae // Проблемы биоорганической химии, научно-практическая конференция. – Наманган. 2006. С. 67-69.

37. Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы Punica Granatum L // Проблемы биоорганической химии, научно-практическая конференция. Наманган. 2006. С. 70-72.

38. Абдулладжанова Н.Г. Основные факторы, определяющие состав полифенолов растений // Проблемы биоорганической химии, научно-практическая конференция. – Наманган. 2006. С. 73-76.

39. Salikhov Sh.I., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Pirniyazov A.J., Dalimov D.N., Salakhutdinov B.A., Kurmukov A.G. Polyphenols of some tannin containing plants and creation on their base drug remedies // New research on Biotechnology and Medicine. Nova Science. - New York, 2006. P. 109-117.

40. Кариева Ё.С., Юнусова Х.М., Абдулладжанова Н.Г. Исследования по разработке мягкой лекарственной формы Рутана //«Интеграция образования науки и производства в Фармации" Научно-практический форум посвященный 70-летию Таш.ФарМИ. –Ташкент. С. 224.

41. Olchowik E., Mavlyanov S., Abdulladjanova N., Turecka K., Zamaraeva M. Polyphenol extracts of the plant origin with antioxidant and radical scavenging activities // Abstracts of the XIII conference of Polish biophysics Society. - Lodz, 2007. p. 46.

42. Салихов Ш.И., Ким Р.Ю., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Земляницына И.В., Алланазарова З.Х. Определение противогриппозной активности препаратов на основе полифенолов растительного сырья // Медицинский журнал Узбекистана. 2007. - №5. С. 64-67.

43. Olchowik E., Mavlyanov S., Abdulladjanova N., Turecka K., Њсiерuk A., Zamaraeva M. Antyoksydacyjne wią̄cziwōnci polifenoli z līsci sumaka (*Rhus typhina*) // *WŁONY BIOLOGICZNE Monografia pod redakcją Janiny Gabrielskiej i Pawła Misiaka. Wrocław (Польша). 2008. P. 267-271.*

44. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Кузнецова Н.Н. “Разработка лекарственного препарата противоопухолевого действия на базе местного растительного сырья // Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ. Республиканская научно-практическая конференция. – Нукус, 2008. 16 с.

45. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы –перспективные источники для создания лекарственных средств противовирусного действия // Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ. Республиканская научно-практическая конференция. – Нукус. 2008. 10 с.

46. Салахутдинов Б.А., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Далимов Д.Н. Природные антиоксиданты полифенольной природы и перспективы их использования // Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ. Республиканская научно-практическая конференция. – Нукус. 2008. 17 с.

47. Абдулладжанова Н.Г. Динамика накопления дубильных веществ в представителях семейства *Euphorbiaceae* // Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ. Республиканская научно-практическая конференция. – Нукус. 2008. 18 с.

48. Абдулладжанова Н.Г. Изучения фенольных соединений рода *Euphorbiaceae* // Физиологически активные соединения на основе растительных ресурсов и технология неорганических веществ. Республиканская научно-практическая конференция. – Нукус. 2008. 19 с.

49. Абдулладжанова Н.Г. Новые представители полифенолов растений входящих в семейство *Euphorbiaceae* // «Актуальные проблемы естественных наук» Научно-практический форум молодых ученых Республики. Самарканд, 2008. 7 б.

50. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Карамов Э.В. Эффективные противовирусные средства на основе полифенолов растительного происхождения. // Материалы VII международного симпозиума по фенольным соединениям. – Москва. 2009. 243 с.

51. Olchowik E., Mavlyanov S., Abdulladjanova N., Њсiерuk A., Zamaraeva M. Inhibition oxidative modification of erythrocyte proteins and lipids with tannins from *rhus typhina* // *Advanced course Mechanisms and determination of free radical mechanism oxidative protein modification. –Turkey. 2009. P. 87-88.*

52. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Карамов Э.В. Создание лекарственных средств на основе полифенолов растительного происхождения. // VI Республиканская конференция посвященная проблемам Биоорганической химии. – Наманган. 2009. 6 с.

53. Шамуратов Б.А., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Салихов Ш.И., Выпова Н.Л. Изучение противовирусной активности госситана.//VI Республиканская конференция, посвященная проблемам биоорганической химии. – Наманган. 2009. 8 с.

54. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Изучение перспективных биологически активных компонентов рода *Euphorbia*. // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. ИБОХ. -Ташкент. 2010. 27 с.

55. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Олигомерные проантоцианидины сем. *Euphorbiaceae* // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. ИБОХ. –Ташкент. 2010. 32 с.

56. Мавлянов С.М., Н.Г. Абдулладжанова, Салихов Ш.И., Далимов Д.Н., Карамов Э.В. Создание лекарственных средств на основе полифенолов растительного происхождения // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. ИБОХ. –Ташкент. 2010. 8 с.

57. Olchowik E., Lotkowski K., Mavlanov S., Abdulladjanova N., Ionov M., Bryszewska M., Zamaraeva M. Stabilization of erythrocyte against oxidative and hypotonic stress by some tannins isolated from sumac leaves (*Rhus typhina*) and grape seeds (*Vitis vinifera*) // 18<sup>th</sup> meeting European association for red cell research. -Wrocław – Piechowice, Poland. 2011. p.37.

58. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н., Камаев Ф.Г. Новые проантоцианидины *Vitis vinifera*. // Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. – Украина, Новый Свет, АР Крым. 2011. С. 237-238.

59. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Гидролизуемые танины растений рода *EUPHORBIA*. // Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. –Украина, Новый Свет, АР Крым. 2011. С. 235-236.

60. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г. Конденсированные танины растений рода *EUPHORBIA*. // Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. –Украина, Новый Свет, АР Крым. 2011. С.233-234.

61. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Зиявитдинов Ж.Ф., Салихов Ш.И. Масс-спектрометрический метод установления структур новых эллаготаннинов сем. *Euphorbiaceae* // VIII Международный симпозиум



«Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты». – Москва. 2012. С. 6-11.

62. Olchowik E., Świącicka I., Mavlyanov S., Abdulladjanova N., Zamaraeva M. Hemotin- neutralizing activity of tannins from sumac leaves (*Rhus typhina* L.) // VIII Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологии». - Респ.Белорусь. 2012. С. 125-126.

63. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Пирниязов А.Ж., Далимов Д.Н., Курмуков А.Г., Салихов Ш.И. Провидин- препарат антигипоксического действия // Актуальные проблемы биоорганической химии, ИБОХ. – Ташкент. 2013. 66 с.

64. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Карамов Э.В. Полифенолы растений Центральной Азии и создание на их основе препаратов противовирусного действия // Актуальные проблемы биоорганической химии. ИБОХ. –Ташкент. 2013. 65 с.

65. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И. Новые соединения растений сем. Euphorbiaceae // Актуальные проблемы биоорганической химии. ИБОХ. – Ташкент. 2013. 64 с.

66. Изотова Л.Ю., Абдулладжанова Н.Г., Ибрагимов Б.Т. Тетраморфизм гидрата галловой кислоты // Актуальные проблемы биоорганической химии. ИБОХ. –Ташкент. 2013. 60 с.

67. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Зиявитдинов Ж.Ф., Карамов Э.В. Полифенолы растений Центральной Азии и их противовирусная активность // Развитие Биоорганической химии в Узбекистане. –Ташкент. 2013. С. 131-150.

68. Абдуллаева Г.Т., Абдулладжанова Н.Г., Комилов Э.Дж. Взаимосвязь между химической структурой и антиоксидантной активностью фенольных соединений на модели митохондрий. // Международная конференция молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика». Сборник тезисов. -Пушино. 2014. 146 с.

69. Абдуллаева Г.Т., Абдулладжанова Н.Г., Асраров М.И. Действие пирогаллола на Fe<sup>2+</sup>/аскорбат-зависимое набухание митохондрий печени крыс. // Международная конференция молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика». -Пушино. 2014. 145 с.

70. Перспективные новые полифенолы из растений Узбекистана // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. Сборник материалов IX Международного симпозиума. - Москва, 2015. С. 7-12.

71. Абдуллаева Г.Т., Абдулладжанова Н.Г., Тожикулова О.Ж., Эргашев Н.А., Асраров М.И. Действие полифенола Рутан на перекисное окисление липидов на модели набухания митохондрий. // Международная конференция

молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика». - Пушкино. 2015. С. 69-70.

72. Абдуллаева Г.Т., Комилов Э.Ж., Тожикулова О.Ж., Абдулладжанова Н.Г., Асраров М.И. Рутан полифенолининг митохондрийя циклоспорин А сезувчи пора ҳолатига таъсири. // Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы биологии и экологии». Ташкент. 2015. С. 14-16.

Автореферат « Ўзбекистон кимё журналы» тахририятида тахрирдан  
ўтказилди (26.11.2015 йил).

**Босишга рухсат этилди: 25.11.2015**  
**Бичими 60x84 1/8. «Times Uz» гарнитураси.**  
**Офсет усулида босилди. Шартли босма табағи 4,5.**  
**Нашр босма табағи 4,5. Тиражи 100. Буюртма: №63**

**«Top Image Media» босмахонасида чоп этилди.**  
**Тошкент шаҳри, Я.Ғуломов кўчаси, 74-уй**

