

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

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

РАХИМОВ РАХМАТИЛЛА НУРИЛЛАЕВИЧ

***EUPHORBIA FRANCHETII (B.FEDTSCH), EUPHORBIA CANESCENS (L.)
ВА EUPHORBIA HUMIFUSA (WILLD.) ЎСИМЛИКЛАРИНИНГ
ПОЛИФЕНОЛЛАРИ ВА УЛАРНИНГ БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ***

02.00.10 - Биоорганик кимё

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

Тошкент – 2019

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавления автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Рахимов Рахматилла Нуриллаевич

***Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.), *Euphorbia humifusa* (Willd.) ўсимликларининг полифеноллари ва уларнинг биологик фаоллиги..... 3**

Рахимов Рахматилла Нуриллаевич

Полифенолы растений *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.), *Euphorbia humifusa* (Willd.) и их биологическая активность.....21

Rakhimov Rakhmatilla Nurillayevich

Polyphenols from *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.) *Euphorbia humifusa* (Willd.) and their biological activities.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works..... 42

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

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

РАХИМОВ РАХМАТИЛЛА НУРИЛЛАЕВИЧ

***EUPHORBIA FRANCHETII (B.FEDTSCH), EUPHORBIA CANESCENS (L.)
ВА EUPHORBIA HUMIFUSA (WILLD.)* ЎСИМЛИКЛАРИНИНГ
ПОЛИФЕНОЛЛАРИ ВА УЛАРИНИНГ БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ**

02.00.10 - Биоорганик кимё

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

Тошкент – 2019

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси
Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.PhD/K21
рақам билан рўйхатга олинган.**

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус ва инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.biochem.uz) ҳамда «Ziynet» Ахборот-таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Абдулладжанова Нодира Гуламжановна
кимё фанлари доктори

Расмий оппонентлар:

Рамазанов Нурмурод Шералиевич
кимё фанлари доктори, профессор

Гафуров Махмуджон Бакиевич
кимё фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

**Ўзбекистон кимё-фармацевтика илмий тадқиқот
институти**

Диссертация химояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик модалари кимёси институти ҳузуридаги DsC.27.06.2017.K/B/T.37.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2019 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади (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 (_____ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.:262 35 40, факс (99871) 262 70 63, e-mail:shsha@mail.ru)

Диссертация автореферати 2019 йил «___» _____ да тарқатилди.
(2019 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

Ш.И.Салихов

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

Ш.А.Шомуротов

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш
илмий котиби, к.ф.д

М.Б.Гафуров

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

КИРИШ (Фалсафа доктори диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда кенг тарқалган юрак-қон томир, қандли диабет, онкологик касалликлар, яллиғланиш жараёнларининг асосий сабабчиси - организмдаги эркин радикаллар миқдорининг меъёрдан ортиб кетиши ҳисобланади. Халқ табобатида ҳамда анаънавий тиббиётда ана шундай патологик ҳолатларни олдини олиш ва даволашда, одатда, ўсимликлардан ажратиб олинган иккиламчи метаболитлар, жумладан полифенол табиатига эга бўлган биоантиоксидантлар қўлланади. Улар кислороднинг фаол шаклларини нейтраллаши натижасида организмни оксидловчи стресслардан ҳимоя қилади, хужайраларнинг оксидланиш-қайтарилиш хоссаларини тартибга солиб, организмни эрта қаришига тўсқинлик кўрсатади. Полифеноллар нафақат оксидланиш жараёнларини изга солиши, балки антимикроб хоссалари туфайли ҳам таъсир доираси кенг дори воситалари яратиш имконини беради. Шунинг учун биологик фаол полифенолларни излаб топиш ва улар асосида самарали дори воситаларини яратиш катта аҳамиятга эга.

Жаҳонда биологик фаол бирикмаларга бой бўлган ўсимлик манбаларини излаб топиш ҳамда кимёвий таркибини аниқлашга катта эътибор қаратилмоқда. Ана шундай ўсимликлар қаторига *Euphorbiaceae* оиласининг катта туркумини ташкил этувчи *Euphorbia* кириб, у ўз ичига 2000 га яқин турни олади. *Euphorbia* тури ўсимликларидан кўп сонли иккиламчи метаболитлар-терпеноид, стероид, флавоноид, таннинлар ажратиб олиниб, доривор ўсимлик сифатида мигрен, гонорея, ичак паразитлари, сўгал ва тери касалликларини даволашда, шунингдек, ўсимлик экстрактлари иситмани тушириш, оғриқ қолдириш, антипролифератив, цитотоксик ҳамда бактерия ва вирусларга қарши самарали восита сифатида кенг қўлланилмоқда.

Мамлакатимизда фармацевтика саноатида импорт ўрнини босувчи, хорижий аналоглари билан рақобатлаша оладиган, маҳаллий дори воситалари ва субстанциялари билан таъминлаш, истиқболли маҳаллий ўсимликлар асосида ножўъя таъсирларга эга бўлмаган, самарали дори воситаларини яратиш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилмоқда. Жумладан, «Мегосин» (герпес), «Гозалидон» (хламидия), «Рагосин» (гепатит), Рутан (грипп) каби дори препаратлари яратилган ва тиббиёт амалиётига жорий этилган. Ўзбекистон Республикасини ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш, доридармонлар нархларини ўсишига йўл қўймаслик бўйича чора-тадбирларни амалга ошириш»¹ юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу борада

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устивор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги фармони

вазифаларни амалга оширишда, биологик фаол бирикмаларни ажратиш, кимёвий таркибини аниқлаш ҳамда улар асосида доривор воситаларини ишлаб чиқиш соҳасидаги ишларни янада жадаллаштириш, маҳаллий хом-ашё ресурсларидан янги самарали дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги, 2017 йил 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармони, 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида» ги қарори, 2018 йил 18 майдаги ПҚ-3729-сон «Ўзбекистон Республикасида грипп ва бошқа ўткир респиратор инфекцияларнинг тарқалишига қарши курашиш тизимини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Япон олимлари Т.Yoshida, Т.Okuda, N.Takhashi ва бошқалар томонидан *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи ўсимликларнинг таннинларини тадқиқ этиш жадал олиб борилди. Улар томонидан олиб борилган изланишлар натижасида *Euphorbia hirta* L., *E.thymifolia*, *E. helioscopia* L., *E.jolkini*, *E.supina*, *E.maculata* L., *E.tirucalli* L., *E. humifusa*, *E.watanbei* ўсимликларидан аввалдан маълум бўлган мономер гидролизланувчи таннинлар билан бир қаторда янги димер ва тример эллаготаннинлар ажратиб олинди. Бирикмаларнинг кимёвий тузилишлари билан бир қаторда, уларнинг антиоксидантлик ва вирусларга, жумладан ОИВга қарши самарали фаолликка эгаллиги ҳам тажриба йўли билан исботлаб берилди. Сўнгги йилларда ушбу оиланинг бошқа турлари таркибидаги полифеноллар чуқур таҳлил қилиб келинмоқда. Жумладан, Л.Н.Гвазаева М.Д. Алания томонидан *E. glareosa* туридан – маълум моддалар билан биргаликда янги glareин А, glareин В таннинлари ажратиб олиниб физик кимёвий усуллар ёрдамида уларнинг кимёвий структураси исботланган. Араб олимлар Z.Z.Ibraheim ва бошқалар томонидан эса *E. aphylla* ва *E.peplus* L. ўсимликларидан галл ва эллаг кислоталарининг метил ҳосилалари ҳамда флавоноид ва уларнинг глюкозидлари ажратиб олиниб, уларнинг яллиғланиш ва бактерияларга қарши фаолликка эга эканлиги аниқланган.

Мамлакатимизда мазкур йўналишда самарали илмий-тадқиқот ишлари олиб борилиб, Биоорганик кимё институти олимлари академик Ш.И.Салихов, профессор С.М.Мавлянов, к.ф.д. Н.Г.Абдулладжановалар томонидан

Ўзбекистонда ўсувчи *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи айрим ўсимликлар полифенолларининг кимёвий таркиби ва биологик фаолликлари аниқланиб, улар асосида вирусларга (грипп, ОИВ-1) қарши дори воситалари яратилган.

Дунёда олиб борилаётган тадқиқотларнинг аксарият қисми полифенолларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаоллиги ўртасидаги боғлиқликни, антиоксидант ва вирусларга қарши фаолликларини аниқлаш ҳамда уларнинг таъсир кўрсатиш механизмини очиқ беришга қаратилган бўлиб, ҳозирги кунгача *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *E.canescens* (L.) ва *E.humifusa* (Willd) ўсимликларининг таннинлари тўғрисида етарлича маълумотлар олинган эмас.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг А-11-Т-051 «ОИТСга қарши фаолликка эга бўлган Эуфорбин дори воситасини яратиш» (2012-2014 й.й.) ҳамда ФА-А-11-Т061 «Махаллий ўсимлик хом ашёси полифеноллари асосида вирусларга қарши дори воситалари яратиш» (2015-2017 й.й.) мавзусидаги амалий лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларининг полифеноллари таркибини ва биологик фаолликларини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

E. franchetii (B.Fedtsch), *E.canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларидан полифеноллар йиғиндисини ажратиб олишнинг оптимал шароитини излаб топиш;

ажратиб олинган полифеноллар йиғиндисини индивидуал бирикмаларга бўлиш;

тадқиқотнинг физик-кимёвий усуллари ёрдамида бирикмаларнинг тузилишини аниқлаш;

ажратиб олинган бирикмаларнинг биологик фаолликларини аниқлаш;

Тадқиқотнинг объекти сифатида *Euphorbiaceae* оиласига кирувчи *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимлик турлари олинган.

Тадқиқотнинг предмети ўсимликлардан ажратиб олинган фенолокси кислоталар, флавоноидлар ва гидролизланувчи таннинлар, уларнинг кимёвий тузилиши, физик-кимёвий хоссалари, кимёвий парчалаш маҳсулотлари ва таннинларнинг биологик фаоллиги ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот бажарилишида бирикмаларни ажратиб олиш ва тозалашнинг қуйидаги усуллари (экстракция, ҳайдаб олиш, колонкали ва юпқа қатламли хроматография, қайта кристаллаш), бирикмалар тузилишини аниқлашнинг физик усуллари (УБ-, ИҚ-спектроскопия, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия), бирикмалар тузилишини аниқлашнинг кимёвий усуллари (кислотали ва босқичли гидролиз, метанолиз реакциялари) ҳамда *in vitro* ва *in vivo* шароитдаги фармако-токсикологик тадқиқот усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларидан 1 та фенол оксикислотаси, 5 та флавонол, 10 та гидролизланувчи таннинлар ажратиб олинган, уларнинг тузилиши аниқланган;

E. franchetii (B.Fedtsch) ўсимлигининг ер устки қисмидан ажратиб олинган 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза янги гидролизланувчи таннин эканлиги исботланган;

E. canescens (L.) ўсимлиги ер устки қисмидан янги гидролизланувчи таннин 1,4,6-три-О-галлоил 2,3-валонеил-β-D-глюкоза ажратиб олинган ва тузилиши аниқланган;

илк бор *E. humifusa* (Willd.) ўсимлигининг ер устки қисмидан ажратиб олинган 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза янги гидролизланувчи таннин эканлиги исботланган;

ажратиб олинган моддалар антиоксидант ва антигипоксантик фаолликка эга эканлиги аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

тадқиқот объектларидан ажратиб олинган 3 та гидролизланувчи таннин янги табиий бирикмалардир ва уларнинг кимёвий тузилиши исботланган;

биологик тадқиқотлар натижасида ажратиб олинган бирикмалар антиоксидант ҳамда антигипоксантик фаолликларга эга эканлиги аниқланган;

фармако-токсикологик тадқиқот натижаларига кўра ажратиб олинган бирикмалар кам захарли бирикмалар синфига кириши исботланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ажратиб олинган моддаларни тадқиқ қилишда замонавий физик-кимёвий ва биологик тадқиқот усулларидан фойдаланилганлиги; тадқиқот натижаларининг республика ва халқаро миқёсдаги илмий конференцияларда муҳокама этилганлиги, тажрибалар натижаларини Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссияси томонидан тан олинган маҳаллий ва халқаро илмий журналларида чоп этилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундаки, маҳаллий *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларнинг полифеноллари таркиби ўрганилиб, улардан фенолоксикислоталар, флавоноллар ва гидролизланувчи таннинлар ажратиб олинган. 3 та янги гидролизланувчи танниннинг физик-кимёвий хоссалари, кимёвий тузилиши, полифенолларни ажратиб олиш ва уларни идентификация қилишнинг физик-кимёвий усуллари ушбу соҳадаги янги илмий изланишлар учун услубий қўлланма вазифасини бажариши мумкин ҳамда табиий бирикмалар кимёсини янги маълумотлар билан бойитиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундаки, ажратиб олинган янги бирикмалар юқори антиоксидант хусусиятга эга бўлиб, 10 мкМ концентрацияда липидларнинг пероксидли оксидланиш жараёнини тўлиқ ингибирлаган, шунингдек, полифенол моддалар нормобарик ва гемик гипоксия моделларида антигипоксик таъсирни намоён қилиб, тажриба

хайвонлари ўртача яшаш даврини назоратга нисбатан узайтирган. Фармакологик текширувлар натижасида ажратиб олинган танинлар кам захарли моддалар қаторига кириши маълум бўлган ва бу улардан тиббиётда антиоксидант ва антигипоксанти дори воситаларни яратишга асос бўлиб хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларининг полифеноллари ва уларнинг биологик фаолликлари бўйича олинган илмий натижалар асосида:

ўсимликлардан ажратиб олинган полифенол бирикмалари ФА-А10-Т053 рақамли «Қандли диабетда оксидатив стресс ҳолатини маҳаллий хом ашёдан олинган табиий бирикмалар билан коррекциялаш услубини ишлаб чиқиш» лойиҳасида *in vitro* шароитда биологик фаол моддаларнинг антиоксидант ҳамда гипогликемик фаолликни намоён этишида таъсирини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академиясининг 2018 йил 17 сентябрдаги 4/1255-2467-сон маълумотномаси). Натижада экспериментал диабетда таннинлар қондаги глюкоза миқдорини гликлазидга нисбатан икки баробар кўпроқ тушириш, юқори антиоксидант ва гипогликемик фаолликни намоён этиш, тўқималар томонидан глюкозани утилизация қилинишида жигар глюкокиназа ферментини қайтариш имконини берган;

полифенол бирикмаларнинг оксиллар билан ўзаро таъсир механизми Белосток университетининг мақсадли илмий тадқиқотларида фойдаланилган (University of Bialystok Institute of Biology Department of Biologyнинг 2018 йил 13 сентябрдаги маълумотномаси). Натижада полифеноллар α -синуклеин билан бириқиб, уларнинг ўзаро агрегацияга учрашини ингибирлаш ва нейродегенератив касалликларни олдини олиш ҳамда даволаш хусусиятига эга бўлган дори воситаларини яратиш имконини берган;

полифенол бирикмаларнинг пероксидли оксидланиш моделларида митохондрияларни ҳимоя қилиб, антиоксидантлик фаоллигини намоён қилиши Хитой Фанлар Академияси Шинжон Физика ва кимё техника институтининг мақсадли илмий тадқиқотида фойдаланилган (Xinjing Engineering Center for Ethnomedicice of Xinjing Technical Institute of Physics and Chemistry of CASнинг 2018 йил 30 августдаги маълумотномаси). Натижада организмнинг турли патологик ҳолатлардаги оксидатив стресс жараёнида полифенол моддалар антиоксидантлик хусусияти ва мембранопротекторлик хоссалари туфайли турли патологик ҳолатларнинг олдини олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 9 та республика илмий-амалий анжуманларида маъруза қилинган ва муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 24 та илмий иши чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фалсафа доктори (PhD) диссертацияларининг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 11 та мақола, жумладан, 2 таси хорижий ва 9 таси республика журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, учта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловадан иборат. Диссертациянинг ҳажми 109 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

Диссертациянинг «*Euphorbiaceae* оиласи ўсимликлари полифеноллари» деб номланган биринчи бобида *Euphorbiaceae* оиласидан ажратиб олинган полифенол бирикмалар, уларнинг тузилишини аниқлашнинг физик-кимёвий усуллари, галло- ва эллаготаннинлар, уларнинг биологик фаолликлари, организмдаги метаболизми тўғрисида дунё адабиёти маълумотлари таҳлил этилган. Таннинларнинг асосий вакилларида ҳисобланган эллаготаннинларнинг конформацион тузилишлари батафсил ёритиб берилган.

Диссертациянинг «*Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.) ва *Euphorbia humifusa* (Willd.) ўсимликларининг полифеноллари» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотчи томонидан амалга оширилган ишлар натижалари муҳокама қилинган. Полифенолларга бой бўлган маҳаллий ўсимлик манбаларини излаб топиш мақсадида республикамизнинг барча вилоятларида кенг тарқалган *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларининг гуллаш даврида териб, қуритилган ер устки қисмлари таркиби тадқиқ этилган.

E. franchetii (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) ўсимликлари полифенолларининг ўсимлик вегетация даври мобайнида миқдорий ўзгариши аниқланди. Олинган натижалардан асосида ўсимликлар ер устки қисмида полифеноллар миқдори ўсимлик гуллаб мева тутиш даврида максимал миқдорда тўпланиши аниқланди.

Полифенол бирикмаларни ўсимликлардан ажратиб олиш ва чиқадиган таннинлар миқдорини ошириш йўллари излаб топиш ҳозирги кунда саноат олдидан турган долзарб муаммолардан биридир. Ўсимлик хом ашёсидан юқори унумга эга бўлган полифенол моддалар ажратиб олиш мақсадида экстракция жараёнига таъсир этувчи айрим омиллар аниқланиб чиқилган. Тадқиқотлар натижасида ҳар уч ўсимлик ер устки қисмидан полифенолларни самарали экстракцияси учун қуйидаги омиллар танлаб олинди: хом ашёни майдалиқ даражаси 5-10 мм, экстрагент 70% ацетон, хом ашё: экстрагент 1:6

нисбатда, экстракция ҳарорати 45⁰С; экстракция давомийлиги 2 соат; 3 маротаба такрорийликда.

Ўсимлик хом ашёсидан полифенолларни ажратиб олиш қуйидагича амалга оширилди: липофил табиатга эга бирикмалардан хом ашёни тозалаш мақсадида хлороформ билан 45⁰С ҳароратда уч марта экстракция қилинди. Сўнг хом ашёни хона ҳароратида, эритувчи учиб кетгунига қадар мўрили шкаф остида қуритиб, 70% сувли ацетон билан 45⁰С да уч марта экстракция қилинди. Олинган экстрактларни бирлаштириб, роторли буғлатгич ёрдамида қуюлтириб, сувли концентрат ажратиб олинди. Сувли концентратни этилацетат билан 1:6 нисбатда ажратиш воронкасида бир неча марта ишлов берилди ва этилацетатли фракцияларни ажратиб олинди. Этилацетатли фракцияни роторли буғлатгичда концентрацияси оширилиб, этилацетатли концентрат олинди. Намликдан қутилиш мақсадида сувсиз натрий сульфат (Na₂SO₄) тузидан солиб, 24 соат қолдирилди. Концентратни филтраб, 1:4 нисбатда хлороформ билан чўктирилди. Чўкмани вакуум-қуритиш шкафида 40⁰С да қуритилди. Қуруқ ўсимлик массасига нисбатан полифеноллар йиғиндиси *E. franchetii* (B.Fedtsch) турида 5.8 %, *E. canescens* (L.) турида - 6.3%, *E. humifusa* (Willd) турида эса - 5.6% ни ташкил этди.

Ажратиб олинган полифеноллар йиғиндисини қоғозли хроматография усулида н-бутанол-сирка кислота-сув 4:1:5 (1-система), н-бутанол-сирка кислота-сув 10:3:7 (2-система), сирка кислотанинг 15% сувли эритмаси (3-система) системаларида текширилганда, *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликлари таркибида мос равишда 8, 10 ва 9 та фенол моддалар синфига кирувчи бирикмалар борлиги маълум бўлди.

Полифеноллар йиғиндисини колонкали хроматография усулида алоҳида бирикмаларга ажратилди. Адсорбент сифатида силикагел, элюент сифатида хлороформ-метанол 17:3 (4-система), хлороформ-метанол 17:4 (5-система) хлороформ-метанол 17:5 (6-система) эритувчилар системасидан фойдаланилди ва учта фракция ажратиб олинди.

Гувоҳ моддалар иштирокидаги қоғозли хроматография натижасида ўсимликларнинг биринчи фракцияси таркибида R_f 0.51, 0.72 (1, 2-системалар) тенг бўлган модда борлиги аниқланди. Биринчи фракцияни вакуум остида хайдаб, қуруқ қолдиқни сув билан эритиб, совутилганда оқ кристалл модда чўкмага тушди. Бу моддани галл кислотаси ёрдамида идентификация қилинди.

Қоғоз хроматографияси ва сифат реакциялари (аммиак буғи, натрий карбонатнинг 5% ли эритмаси) натижасига кўра, иккинчи фракция таркибида флавоноллар синфига кирувчи моддалар борлиги кузатилди. Иккинчи фракцияни алоҳида бирикмаларга ажратиш мақсадида полиамидли колонкага жойлаб, хлороформ-метанол 9:1 (7-система), хлороформ-метанол 8:2 (8-система) эритувчилар системасида ювилди. Натижада *E. franchetii* (B.Fedtsch) ва *E. canescens* (L.) турларидан 3 та, *E. humifusa* (Willd) таркибидан эса 2 та бирикма ажратиб олинди. Ажратиб олинган моддаларнинг физик-кимёвий катталикларини адабиёт маълумотлари билан солиштириш натижасида аввалдан маълум бўлган флавоноллар: кверцетин,

кверцетин-3-О-рамнозид, кверцетин-3-О-галактозид, кемпферол, кемпферол-3-О-глюкозид эканлиги аниқланди

Сифат реакциялари ($\text{FeCl}_3:\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1:1 нисбатдаги сувдаги эритмаси) натижасида учинчи фракция таркибида гидролизланувчи таннинлар синфига кирувчи моддалар борлиги аниқланди. Гидролизланувчи таннинларни теридан махсус тайёрланган голл кукунида 60%→70%, метанол-ацетон-сув 7:2:1; 3:1:1; 5:3:2 эритувчилар системасида бирин-кетин ювиб, алоҳида фракцияларга ажратилди. Ажратилган фракциялар юпка қатламли хроматография (ЮҚХ, силуфол) усули бўйича кузатиб борилди ва ўхшаш фракциялар бир-бирига қўшилди. *E. franchetii* (*B.Fedtsch*) ўсимлиги таркибидан 4 та, *E. canescens* (*L.*) ўсимлигидан 7 та, *E. humifusa* (*Willd.*) ўсимлигидан 4 та индивидуал бирикмалар ажратиб олинди. Ажратиб олинган моддаларнинг физик-кимёвий катталиклари ўрганилиб, уларнинг тузилиши исботланди.

Тузилиши маълум бўлган таннинларнинг таҳлили

Тадқиқот объектларидан ажратиб олинган тузилиши адабиётларда маълум бўлган таннинларни гувоҳ моддалар иштирокидаги ҚХ ва ЮҚХ, спектрал усуллар, кимёвий парчалаш реакциялари махсулотларини текшириш ва олинган натижаларни адабиёт маълумотлари билан солиштириш орқали идентификация қилинди.

3-О-галлоил-4,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза (1). (*E.franchetii* (*B.Fedtsch*)) - оқ рангдаги аморф кукун. $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$, $\text{Mm}=634$, R_f 0.68, 0.33 (1, 2-системалар), УБ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 220, 246. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.у.): 5.87 (1H, д, J=9, глук. H-1), 5.06 (1H, т, J=9, глук. H-2), 5.31 (1H, дд, J=9.0, 10.0, глук. H-3), 4.34 (1H, м, J=10.0, глук. H-4), 5.28 (1H, дд, J=5, 13, глук. H-5), 3.9 (2H, д, J=13, глук. H-6); 7.08, 7.09 (2H, галлоил гурух. (Галл) H-2, H-6); 6.84, 6.70 (2H, гексагидроксидифеноил гурух. (ГГДФ) H-3, H-3`).

Гераниин (2) - (*E. franchetii* (*B.Fedtsch*), *E. Humifusa* (*Willd.*)) - сариқ рангдаги кукун. $\text{C}_{41}\text{H}_{28}\text{O}_{27}$, $\text{Mm}=952$, R_f 0.40 (2-система), УБ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 224, 285. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.у.): 5.40 (1H, д, J=8, глук. H-1), 3.40 (1H, т, J=9, глук. H-2), 3.69 (1H, т, J=10, глук. H-3), 4.77 (1H, т, J=10, глук. H-4), 3.92 (1H, м, J=5, глук. H-5), 5.15 (2H, дд, J=6, 13, глук. H-6); 6.97, 7.02, (2H, галлоил гурух. H-2, H-6); 6.98, 6.57 (2H, гексагидроксидифеноил гурух. H-3, H-3`).

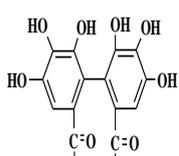
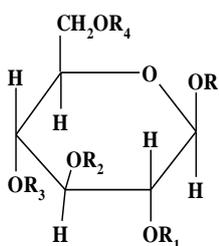
2,3-ди-О-галлоил-β-D-глюкоза (3) - (*E. franchetii* (*B.Fedtsch*), *E. canescens* (*L.*)) - тўқ жигарранг аморф кукун, $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$, $\text{Mm}=484$, R_f 0.25 (1-система). УБ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 217, 276. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.у.): 5.37 (1H, д, J=9, глук. H-1), 4.97 (1H, дд, J=9, 10, глук. H-2), 5.10 (1H, т, J=10, глук. H-3), 3.89 (1H, т, J=10, глук. H-4), 3.67 (1H, дд, J=5, глук. H-5), 3.98 (2H, дд, J=3, 12, глук. H-6); 6.48, 6.32 (2H, галлоил гурух. H-2, H-6).

1,2,3-три-О-галлоил-β-D-глюкоза (4) - (*E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.)) - жигарранг аморф кукун, C₂₇H₂₄O₁₈, ММ=564, R_f 0.36 (2-система), УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 218, 279. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.у.): 5.84 (1H, д, J=8, глюк. Н-1), 4.94 (1H, т, J=8, глюк. Н-2), 5.10 (1H, т, J=9, глюк. Н-3), 3.89 (1H, т, J=10, глюк. Н-4), 3.65 (1H, м, J=5, глюк. Н-5), 3.96 (2H, дд, J=2, 12, глюк. Н-6); 7.01, 6.68, (2H, галлоил гурух. Н-2, Н-6).

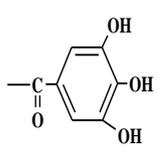
1-О-галлоил-4,6-гексагидрокси-феноил-β-D-глюкоза (5) - (*E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.)) - оқ аморф кукун, C₂₇H₂₂O₁₈, ММ= 562, R_f 0.34 (1-система). УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 226, 280. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.у.): 5.62 (1H, д, J=8, глюк. Н-1), 4.77 (1H, т, J=9, глюк. Н-2), 5.16 (1H, т, J=9, глюк. Н-3), 3.85 (1H, т, J=10, глюк. Н-4), 3.63 (1H, м, J=5, глюк. Н-5), 3.87 (2H, дд, J=13, глюк. Н-6); 6.94, 6.67 (2H, галлоил гурух. Н-2, Н-6); 6.58, 6.46, (2H, гексагидрокси-феноил гр. Н-3, Н-3`).

1,4,6-три-О-галлоил-β-D-глюкоза (6) - (*E. canescens* (L.)) - оқ аморф кукун, C₂₇H₂₄O₁₈, ММ=564, R_f 0.45 (1-система). УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 216, 244. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.у.): 5.90 (1H, д, J=8, глюк. Н-1), 5.08 (1H, т, J=9, глюк. Н-2), 5.31 (1H, т, J=10, глюк. Н-3), 5.13 (1H, т, J=10, глюк. Н-4), 4.33 (1H, м, J=5, глюк. Н-5), 5.2 (2H, дд, J=13, глюк. Н-6); 6.98, 6.65 (2H, галлоил гурух. Н-2, Н-6).

1,2,6-три-О-галлоил-β-D-глюкоза (7) - (*E. canescens* (L.)) рангсиз аморф кукун, C₂₇H₂₄O₁₈, ММ=564, R_f 0.21, 0.53, (1-, 2-системалар). УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 216, 244. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.у.): 5.59 (1H, д, J=9, глюк. Н-1), 4.94 (1H, т, J=9, глюк. Н-2), 5.40 (1H, дд, J=10, глюк. Н-3), 5.09 (1H, т, J=10, глюк. Н-4), 4.34 (1H, м, J=6, глюк. Н-5), 5.27 (2H, дд, J=6, 13, глюк. Н-6); 6.61, 6.40 (2H, галлоил гурух. Н-2, Н-6).



ГГДФ Галлоил



- R, R₁=H; R₂= галлоил; R₃-R₄= ГГДФ (1)
R= галлоил.; R₁-R₃, R₂- R₄=ГГДФ. (2)
R, R₃, R₄=H; R₁, R₂= галлоил. (3)
R, R₁, R₂= галлоил; R₃, R₄=H (4)
R= галлоил.; R₁, R₂= H; R₃- R₄=ГГДФ (5)
R, R₃, R₄= галлоил.; R₁- R₂= H (6)
R, R₁, R₄= галлоил.; R₂, R₃= H (7)

Янги таннинларнинг кимёвий тузилишини таҳлил қилиш

1-О-галлоил-2,3-гексагидрокси-феноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (8)
- *E. franchetii* (B.Fedtsch) ўсимлигидан ажратиб олинган сарик аморф кукун. C₄₈H₃₂O₃₁, MS m/z: 1103 [M-H]⁻, R_f 0.28, R_f 0.32 (1,2-системалар 1,2-очилтирувчилар), сувоқ.х 257-258 °С (парчаланиш билан), УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 220, 280.

Модданинг ПМР спектрида 6.08 м.у. соҳада дублет шаклида намоён бўлувчи сигнал глюкозанинг Н-1 протонига тегишли бўлиб, бу аномер марказнинг β-конфигурацияга эга эканлигини билдиради. Глюкозанинг Н-2, Н-3 протонлари 5.10 ва 4.68 м.у. соҳада мос равишда триплет ва дублет

шаклида намоён бўлиб, бу С-2 ва С-3 углерод атомларида жойлашган ОН гуруҳлар галлоилланганлигини билдиради. Углевод қисмининг Н-4, Н-6 протонига тегишли ютилиш сигналларининг қуйи соҳа томон силжиши ва мос равишда 5.11 ва 5.29, 3.92 м.у соҳада дублет шаклда намоён бўлиши С-4 ва С-6 углерод атомларидаги ОН-гуруҳларнинг галлоилланганлигидан далолат беради. Спектрнинг 6.64, 6.48 м.у. соҳасида синглет шаклида намоён бўлувчи сигналлар галлоил гуруҳининг Н-2 ва Н-6 протонлари учун, 6.84, 6.70 м.у. соҳадаги синглет сигналлар гексагидроксидифеноил гуруҳининг Н-3, Н-3' протонлари учун, 6.12, 6.05, 6,01 м.у. соҳаларида синглет шаклида намоён бўлувчи сигналлари эса валонеил гуруҳининг Н-2, Н-6', Н-6'' протонлари учун характерли. Олинган маълумотлар ¹³С ЯМР спектр натижалари билан ҳам тасдиқланди (1-жадвал).

1-жадвал

8- модда углерод атомларининг ¹³С ЯМР спектрдаги (δ, 100 МГц, ацетон d₆, м.у.) кимёвий силжишлари

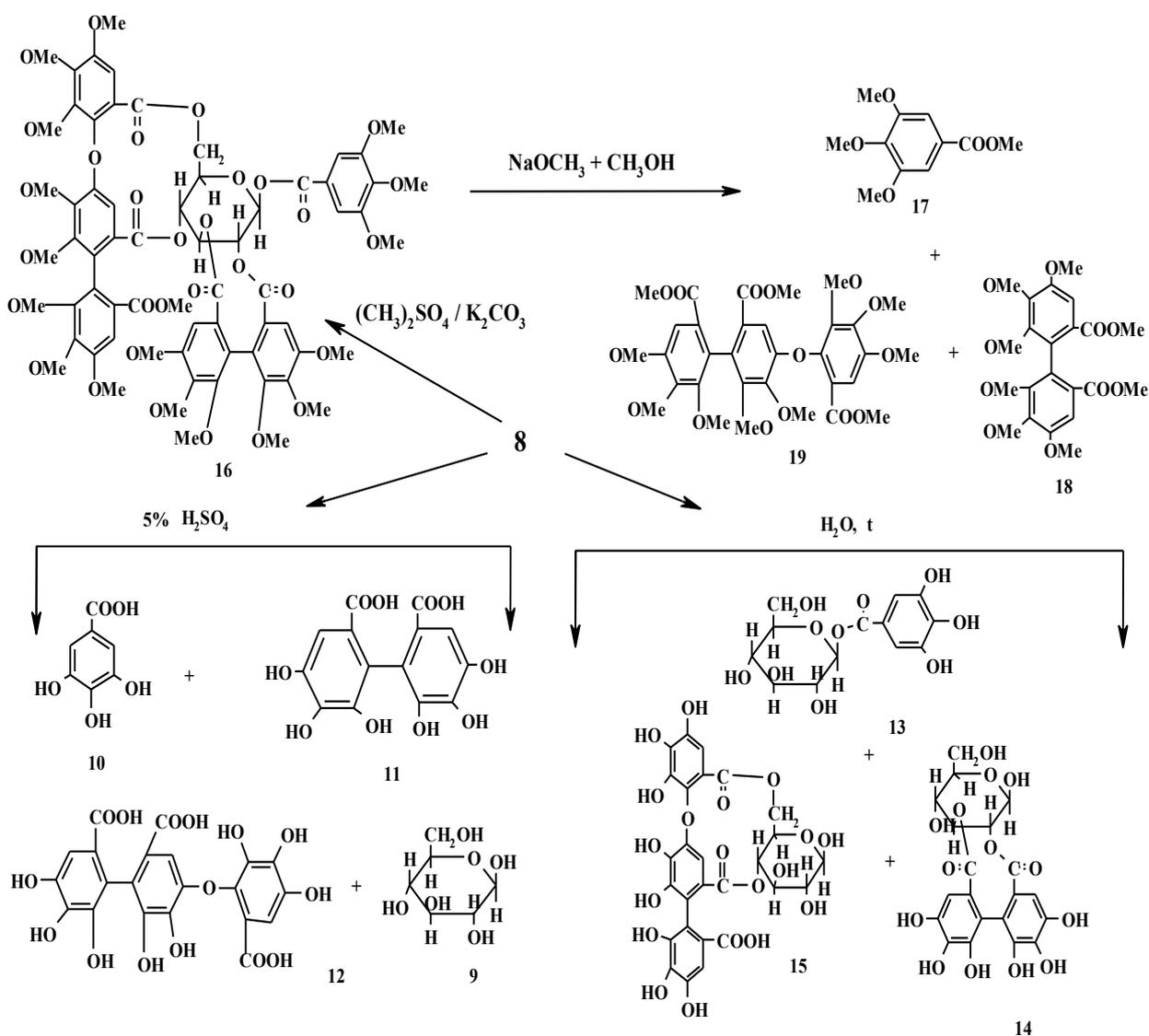
Глюкоза		ГГДФ гуруҳ		Галлоил гуруҳ	Валонеил гуруҳ		
		А ҳалқа	В ҳалқа		А ҳалқа	В ҳалқа, С-1'	С ҳалқа, С-1''
С-1	92.11	119.31	108.89	125.90	166.21	144.84	139.08
С-2	72.71	118.63	108.74	110.93	165.58	144.74	138.66
С-3	72.40	118.49	108.67	145.81	165.30	144.66	138.61
С-4	70.48	117.99	108.61	136.02	165.20	144.57	138.42
С-5	68.08	136.50	108.30	145.80	164.50	138.11	138.31
С-6	61.40	134.72	108.12	110.92	148.70	148.0	121.10
С-7		169.29	169.56	169.15	168.56	169.10	169.12

Протонлар билан спин-спин таъсирлар тўла сўндирилган шароитда олинган спектрда глюкоза, галл кислотаси, гексагидроксидифеноил (ГГДФ) ва валонеил гуруҳига хос бўлган сингналлар кузатилди. 92.11 м.у. даги интенсив сигнал глюкозанинг С-1 атомига тегишли бўлиб, бу глюкозадаги аномер марказ β-конфигурацияга эга эканлигини билдиради. Глюкозанинг С-4, С-6 углерод атомларига тегишли сигналларнинг кучли майдон томон силжиши ва 70.48, 61.40 м.у. соҳаларда кузатилиши ушбу ҳолатлардаги ОН-гуруҳларнинг галлоилланганлигидан далолат беради. Бундан ташқари С-2 ва С-3 ҳолатлардаги углерод атомларига тегишли сигналларнинг 72.71, 72.40 м.у. соҳаларда кузатилиши улардаги ОН- гуруҳлар ацилланганлигини билдиради. Шунингдек, спектрда галлоил гуруҳининг 7 та, ГГДФ гуруҳининг 14 та ва валонеил гуруҳининг 21 та углерод атомлари учун характерли сигналлар кузатилди (1-жадвал).

LC-MS Q-TOF масс-спектрометрининг манфий ионлашиш шароитида олинган 8-модданинг масс-спектрометрик фрагментация маҳсулотларида *m/z* 1103 га тенг бўлган молекуляр ионнинг иккита фрагментга: *m/z* 951 ва 169 га

эга бўлган ионларга парчаланганлиги кузатилди. 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. Кейинчалик иккиламчи манфий ионларнинг фрагментларга парчланиши натижасида ҳосил бўлган m/z 301 ва 169 га тенг бўлган манфий ион сигналлари галлоил ва гексагидроксиДФеноил-гурухларнинг стандарт усул бўйича фрагментланишига мос келади.

8-модданинг мономер таркиби ва кимёвий тузилишини аниқлаш мақсадида бир қатор кимёвий реакциялар олиб борилди (1-схема).



1-схема. 8-модданинг кимёвий парчланиш маҳсулотлари

5% ли H_2SO_4 кислота иштирокидаги гидролиз реакцияси маҳсулотлари таркибида 1:1:1:1 нисбатда глюкоза (9), галл кислотаси (10), эллаг кислотаси (11) ва валонеил кислотаси (12) ҳосил бўлганлиги кузатилди. Сув

иштирокида 90⁰С ҳароратда, 5 соат давомида олиб борилган босқичли гидролиз маҳсулотларини роторли буғлатгичда концентрациясини ошириб, ҳосил бўлган концентратга этилацетат билан бир неча марта ишлов берилди. ЮҚХ усулида этилацетатли фракция таркибида 1-О-галлоил-β-D-глюкоза (13) (R_f 0.25, бензол:ацетон 20:3, 10-система), 2,3-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза (14) (R_f 0.23, 10-система), 4,6-валонеил-β-D-глюкоза (15) (R_f 0.18, 10-система) борлиги кузатилди. 8-моддани диметилсульфат ва сувсиз калий карбонат иштирокида метиллаб, реакция натижасида ҳосил бўлган метил эфири (16) 1% ли NaOMe нинг MeOH даги эритмасида метанолиз қилинди. Метанолиз натижасида метил-3,4,5-триметоксибензоат (17) (ЮҚХ, R_f 0.75, бензол:ацетон 9:1, 11-система), диметил-4,4',5,5', 6,6'-гексаметоксидифенат (18) (ЮҚХ, R_f 0.36, 11-система), ва триметил окта-О-метилвалонеат (19) (ЮҚХ, R_f 0.27, 11-система), ҳосил бўлганлиги гувоҳ моддалар иштирокида аниқланди (1-схема).

Юқорида келтирилган спектроскопик маълумотлар ва кимёвий парчаланиш реакцияси маҳсулотларига асосланиб, ушбу бирикма 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза эканлиги исботланди.

1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (20) (*E. canescens* (L.)) -жигарранг аморф кукун, C₄₈H₃₄O₃₁, MS *m/z*: 1105 [M-H], R_f 0.12 (1-система). УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 325, 360. ИҚ-спектр (ν, см⁻¹). 3300-3400 (ОН), 1715 (СОО), 1620-1610, 1450 (аром.халқа), 1320 см⁻¹ (-С-ОН), 1250, 1045 (-С-О-С), 1080-1070 (С=О), 1040, 1010 (қанд қисм). ПМР спектрда (8) модда каби глюкоза, галлоил ва валонеил гуруҳ протонлари учун характерли бўлган сигналлар кузатилди. Глюкозанинг Н-1 протонига тегишли сигналнинг қуйи соҳа томон силжиши ва 6.10 (1Н, д, J=8, глюк, Н-1), м.у. соҳада дублет шаклида намоён бўлиши аномер протоннинг β-конфигурацияга эга эканлигини ва глюкозадаги С-1 углерод атомида жойлашган ОН-гуруҳнинг ацилланганлигини билдиради. 5.11 (1Н, дд, J=8, 10, Гц, глюк. Н-2); 5.51 (1Н, т, J=10, Гц, глюк. Н-3), 5.34 (1Н, т, J=10, Гц, глюк. Н-4), 5.40 (2Н, дд, J= 7, 13, Гц, глюк. Н-6) соҳаларда кузатилган сигналлар ушбу ҳолатларда жойлашган ОН-гуруҳларнинг ацилланганлигидан дарак беради. Спектрда 6.75, 6.68 м.у. даги бир протонли синглет сигналлар галлоил гуруҳининг иккита протонига, 6.15, 6.09, 6.06 м.у. соҳадаги синглет шаклида намоён бўлувчи сигналлар эса валонеил гуруҳнинг учта протонларига тегишли. Олинган маълумотларни ¹³С ЯМР-спектр натижалари ҳам тасдиқлади (2-жадвал).

Юқоридаги схема (1-схема) бўйича олиб борилган кимёвий парчалаш реакциялари натижасига кўра 20-модданинг мономер таркиби ва тузилиши тўғрисида хулоса чиқарилди. Босқичли гидролиз маҳсулотларини ҚХ усулида гувоҳ моддалар иштирокида текширилганда (13), билан биргаликда 4-О-галлоил-β-D-глюкоза (R_f 0.44, 1-система), 6-О-галлоил-β-D-глюкоза (R_f 0.45, 1-система) ҳосил бўлгани, метанолиз реакцияси маҳсулотлари (ЮҚХ) таркибида эса (16), (17), (19) моддалар борлиги аниқланди.

Кимёвий ва спектрал тадқиқотлар натижаларини таҳлил қилиш ва адабиёт маълумотлари билан солиштириш натижасида **20**-моддани 1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза эканлиги исботланди.

2-жадвал

20-модда углерод атомларининг ¹³C ЯМР-спектрдаги (δ, 100 МГц, ацетон d₆, м.у.) кимёвий силжишлари

Глюкоза		Галлоил гуруҳ			Валонеил гуруҳ		
		1-ҳолат	4-ҳолат	6-ҳолат	А ҳалқа	В ҳалқа C-1'	С ҳалқа C-1''
C-1	92.35	119.64	119.18	118.30	165.35	145.62	139.20
C-2	74.57	109.15	108.93	108.63	165.29	145.58	138.60
C-3	70.80	145.60	145.54	145.85	164.43	145.52	138.26
C-4	67.63	136.00	139.22	139.60	144.72	146.53	136.66
C-5	66.99	145.80	145.51	145.80	136.55	138.12	138.91
C-6	62.94	110.10	110.10	110.20	144.73	143.08	141.13
C-7		165.35	165.29	164.43	167.08	167.09	172.02

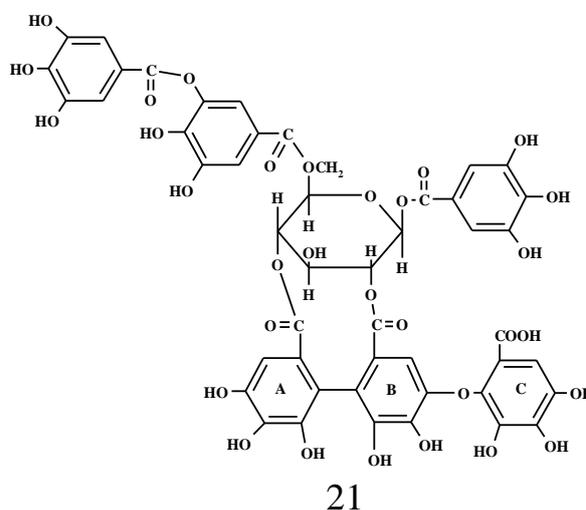
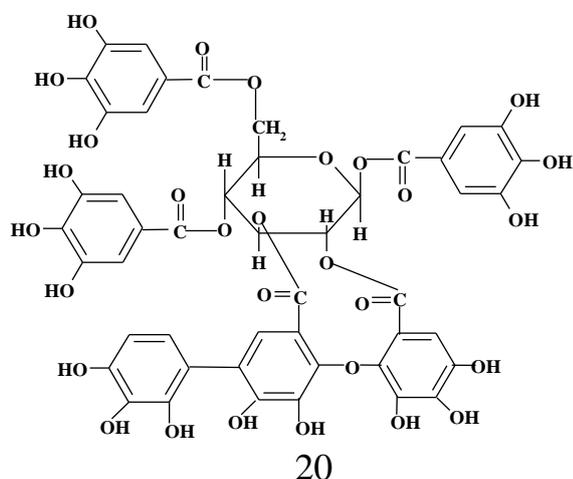
1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза(21)

E.himufusa (Willd) ўсимлигидан ажратиб олинган оч жигарранг аморф кукун, C₄₈O₃₁H₃₄, MS *m/z*: 1105 [M-H], R_f 0.48 (1-система). УБ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 216, 270. ИҚ-спектрда (ν, см⁻¹): 3490-3110 (ОН), 1740, 1715, 1592 (СОО), 1675, 1530, 1555, 1410 (ароматик ҳалқа), (СН₁-СН₂-) 2855, 1460 (=СН-ОН,С-Н) 1380, (С-О-С)1275. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.у.): 6.06 (1H, д, J=8, H-1), 5.13 (1H, дд, J=8, 10, H -2), 6.51 (1H, т, J=10, H-3), 5.34 (1H, т, J=10, H-4), 4.75 (1H, дд, J=7, 13, H-5), 4.60 (2H, дд, J= 7, 13, H-6), 7.18, 7.15, 7.10, 7.04, 7.00 (2H, галлоил гуруҳ.), 6.15, 6.13, 6,06 (3H, валонеил гуруҳ.). Спектрда глюкозанинг H-1 протонига тегишли бўлган сигналнинг қуйи соҳа томон силжиши ва 6.06 м.у. соҳада дублет шаклида намоён бўлиши аномер марказнинг β-конфигурацияга эга эканлиги ҳамда C-1 углерод атомида жойлашган ОН-гуруҳнинг ацилланганлигидан далолат беради. Глюкозанинг H-2, H-4, H-6 протонларига хос сигналларнинг мос равишда 5.13, 5.34 ва 4.60 м.у. соҳаларда кузатилиши, ушбу ҳолатларда жойлашган ОН-гуруҳларнинг ацилланганлигини билдиради. Спектрнинг 6.64, 6.48, м.у. соҳасида бир протонли синглет сигналлар галлоил гуруҳининг H-2 ва H-6 протонларига, 6.12, 6.05, 6,01 м.у. соҳаларида синглет шаклида намоён бўлувчи сигналлар эса валонеил гуруҳнинг протонларига тегишли. Мазкур модданинг ¹³C ЯМР-спектрида глюкоза, галлоил- ва валонеил- гуруҳ углерод атомлари учун хос бўлган сигналлар кузатилди (3-жадвал).

21- модда углерод атомларининг ^{13}C ЯМР спектрдаги (δ , 100 МГц, ацетон d_6 , м.у) кимёвий силжишлари

Глюкоза		Бисгаллоил гурух		Галлоил гурух	Валонеил гурух		
		А ҳалқа	В ҳалқа		А ҳалқа	В ҳалқа С-1'	С ҳалқа С-1''
С-1	94.01	119.19	109.20	119.88	165.67	145.63	139.53
С-2	74.44	119.08	108.95	110.20	165.56	145.51	139.30
С-3	72.06	118.97	108.83	145.82	164.54	145.47	138.97
С-4	70.88	118.26	108.75	139.61	164.36	145.41	138.64
С-5	67.87	116.51	105.51	145.80	136.10	135.64	136.55
С-6	61.69	110.10	103.10	110.20	144.44	147.03	142.15
С-7		168.70	166.40	167.23	169.10	168.32	163.36

Юқоридаги схема (1-схема) бўйича олиб борилган босқичли гидролиз реакцияси маҳсулотлари таркибида 6-О-бисгаллоил- β -D-глюкоза (R_f 0.38, 2-система), 2,4-валонеил- β -D-глюкоза (R_f 0.33, 2-система) борлиги кузатилди (ҚХ). Олинган кимёвий ва спектрал натижаларни таҳлил қилиш ва адабиёт маълумотлари билан солиштириш асосида ушбу модда 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил- β -D-глюкоза эканлиги исботланди.



Ажратиб олинган полифенолларнинг биологик фаолликлари

Ажратиб олинган моддаларнинг антиоксидант хоссалари Биоорганик кимё институтининг «Тадқиқотларнинг физик-кимёвий усуллар», «Молекуляр биофизика» ва «Метаболомика» лабораториялари ходимлари томонидан аниқланган. Тадқиқотлар *E.canescens* (L.) (1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза (ПС-1)), *E.franchetii* (B.Fedtsch) (1-О-галлоил-2,3-гексагидрокси дифеноил-4,6-валонеил- β -D-глюкоза (ПС-2)) ва *E.humifusa* (Willd.) (1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил- β -D-глюкоза (ПС-3))

Ўсимликларидан ажратиб олинган янги полифенол моддаларнинг каламуш жигар митохондрияларида ўтказилган тадқиқотлар натижасида шу нарса маълум бўлдики, мазкур полифенол моддалар юқори антиоксидантлик хусусиятга эга (10 мкМ концентрацияда липидларнинг пероксидли оксидланиш жараёнини тўлиқ ингибирлаган) эканлиги аниқланган. Шунингдек, полифенол моддаларнинг нормобарик гипоксия моделида антигипоксантик хусусиятлари текширилганда ПС-1 50 мг/кг, ПС-2 100 мг/кг ва ПС-3 50 мг/кг дозада антигипоксик таъсирни намоён қилиши аниқланган.

Мазкур полифенолларнинг ўткир заҳарлилиги (сичқонларда оғиз орқали) текширилганда ПС-1 (LD_{50} 3550 мг/кг), ПС-2 (LD_{50} 3250 мг/кг) IV синф кам заҳарли моддалар, ПС-3 ($LD_{50} \geq 8000$ мг/кг) эса V синф заҳарли бўлмаган моддалар қаторига кириши маълум бўлган.

Шунингдек, «Метаболомика» лабораторияси ходимлари томонидан *in vitro* шароитида адреналиннинг аутооксидланиш ва Fe^{2+} /аскорбат билан индуцирланган пероксидли оксидланиш моделларида полифеноллар- ПС-1, ПС-2, ПС-3 ва клиник амалиётда қанд миқдорини туширувчи препарат-гликлазиднинг антиоксидант фаолликлари ўзаро таққослаб аниқланган. Тадқиқот натижалари шундан далолат бердики, ПС-1 (11%), ПС-2 (17%) ва ПС-3 (20%) бирикмалари гликлазидга (10%) нисбатан юқори антиоксидант фаолликни намоён қилган. Экспериментал диабетдаги каламушларга 10 кун давомида полифеноллар бериб берилганда, уларнинг қонидаги глюкоза миқдорини гликлазидга нисбатан икки баробар кўпроқ туширган. Бу ҳолат ҳайвонлар тўқимаси томонидан глюкозани утилизация қилинишида муҳим рол ўйновчи каламуш жигари глюкокиназасини полифеноллар томонидан қисман қайтарилиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Белосток Университети (Польша) биофизика кафедраси олимлари томонидан янги таннинларнинг қон зардоби альбумини билан ўзаро боғланиш хоссалари ўрганилган. Таннин билан оқсил ўртасидаги боғланиш, таннинларнинг молекуляр структурасига ва уларнинг оқсилга нисбатан мойиллик даражасига боғлиқ бўлиб, таркибида валонеил гуруҳи тутган таннинлар барқарор структурага эгаллиги ва кам эгилувчанлиги туфайли, галлотаннинлар каби оқсилларга мослашиш учун ўз структурасини ўзгартириш хоссасига эга эмаслиги маълум бўлган.

Учинчи 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 юпка қатламли хроматография усуллари ҳамда уларда қўлланилган эритувчилар системалари тўғрисида батафсил маълумотлар берилган.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор Ўзбекистонда ўсувчи *Euphorbia* туркумига мансуб *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларининг ер устки қисми полифеноллари таркиби таҳлил қилинди. Ажратиб олинган полифеноллар йиғиндисини соф бирикмаларга бўлиш схемаси тавсия этилди.
2. *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) ва *E. humifusa* (Willd.) ўсимликларининг ер устки ва ер остки қисмлари полифенолларининг вегетация даври мобайнида миқдорий ўзгариши ўрганилди, ўсимликларнинг ер устки қисми хом ашёсидан полифеноллар йиғиндисини ажратиб олишнинг мақбул усули тавсия этилди.
3. Текширилган ўсимликлардан 13 та кимёвий тузилиши маълум бўлган полифеноллар, шу жумладан, 5 та флавонол, 7 та гидролизланувчи таннин ва 1 та фенолокислотаси ажратиб олинди ҳамда уларнинг кимёвий тузилиши кимёвий (кислотали ва босқичли гидролиз, метанолиз реакциялари) ҳамда физик-кимёвий (УБ, ИҚ, ПМР, ¹³С ЯМР-спектроскопия) усуллари ёрдамида исботланди.
4. 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (*E. franchetii* (B.Fedtsch)), 1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (*E. canescens* (L.)), 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (*E. humifusa* (Willd.)) адабиётларда қайд этилмаган янги тузилишга эга моддалар эканлиги билан изоҳланади.
5. Янги таннинларнинг қон зардоби альбумини билан ўзаро таъсирлашиш хусусиятлари ҳамда таннин билан оксил ўртасидаги боғланиш таннинларнинг кимёвий структурасига ва уларнинг оксилга нисбатан мойиллик даражасига боғлиқ бўлиб, таркибида валонеил гуруҳи тутган таннинлар барқарор структурага эгаллиги, кам эгилувчанлиги туфайли галлотаннинлар каби оксилларга мослашиш учун ўз структурасини ўзгартириш хоссасига эга эмаслиги билан ифодаланади.
6. Фармакологик текширувлар натижасида ажратиб олинган таннинлар захарлилик даражасининг камлиги, биологик фаолликлари текширилганда эса улар юқори антиоксидант, антигипоксант фаолликларни намоён қилиши аниқланди ва келажакда амалий тиббиётда антиоксидант ва антигипоксант дори воситаси сифатида фойдаланиш мумкинлиги тавсия этилди.

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

ИНСТИТУТ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

РАХИМОВ РАХМАТИЛЛА НУРИЛЛАЕВИЧ

**ПОЛИФЕНОЛЫ РАСТЕНИЙ *EUPHORBIA FRANCHETII* (B.FEDTSCH),
EUPHORBIA CANESCENS (L.) ВА *EUPHORBIA HUMIFUSA* (WILLD.) ИХ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

02.00.10 - Биоорганическая химия

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

Ташкент - 2019

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.1.PhD/K21

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.biohsem.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель	Абдулладжанова Нодира Гуламжановна доктор химических наук
Официальные оппоненты	Рамазанов Нурмурод Шералиевич доктор химических наук, профессор Гафуров Махмуджон Бакиевич доктор химических наук
Ведущая организация	Узбекский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 г. в ___ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017. К/В/Т. 37.01 при Институте биоорганической химии, Национальном университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ Узбекистана (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83, Тел. 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

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

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2019 года.

(реестр протокола рассылки ___ от _____ 2019 года).

Ш.И.Салихов

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

Ш.А.Шомуротов

Ученый секретарь Научного Совета по присуждению
ученых степеней, д.х.н.

М.Б.Гафуров

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

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Широко распространенные по всему миру сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, сахарный диабет, а также воспалительные явления могут быть следствием нарушения нормального уровня свободных радикалов в организме. Для лечения таких патологических состояний, как в традиционной, так и в народной медицине обычно применяются вторичные метаболиты растительного происхождения, в частности биоантиоксиданты, имеющие полифенольную природу. Они защищают организм от окислительного стресса путем нейтрализации активных форм кислорода, регулируют окислительно-восстановительные свойства клеток и препятствуют преждевременному старению организма. Поскольку полифенолы не только регулируют окислительные процессы, но и благодаря эффективным антимикробным свойствам, дают возможность разработать на их основе лекарственные препараты широкого спектра действия. Поэтому поиск и изучение новых биологически активных полифенолов и создание на их основе эффективных лекарственных средств имеет большое значение.

В настоящее время в мире большое внимание уделяется поиску и изучению химического состава растений, богатых активными биологическими соединениями. К подобным растениям относится *Euphorbia*, составляющая большую группу семейства *Euphorbiaceae*, она включает в себя почти 2000 видов. Из растения вида *Euphorbia* изолированы ряд вторичных метаболитов, как терпеноиды, стероиды, флавоноиды, танины и в качестве лекарственного растения применяются при лечении кожных заболеваний, мигрени, гонореи, гельминтозов и бородавок. А также экстракты растений *Euphorbia* обладают антипролиферативной, цитотоксической, жаропонижающей, болеутоляющими свойствами и широко применяются в качестве антибактериальных и противовирусных средств.

В фармацевтической отрасли нашей Республики с целью обеспечения импортозамещения зарубежных аналогов конкурентоспособными лекарственными средствами и субстанциями, созданными на основе местных растений, не имеющих побочного действия, эффективных лекарственных средств были реализованы комплексные широкомасштабные мероприятия и достигнуты определенные результаты. В частности, созданы такие лекарственные препараты как «Мегосин» (герпес), «Гозалидон» (хламидия), «Рагосин» (гепатит), Рутан (грипп, ОРВИ), и введены в медицинскую практику. В 4-направлении Стратегии развития Республики Узбекистан изложены важные задачи по «реализации мер по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, улучшению обеспечения населения и медицинских учреждений недорогими, высококачественными лекарственными средствами и медицинскими изделиями, недопущению

необоснованного роста цен на лекарства»¹. В реализации поставленных задач важное значение имеет дальнейшее ускорение работ по поиску богатых источников биологически активных соединений, установлению их химического состава, созданию на их основе новых, эффективных лекарственных средств.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действия по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017-2020 годах» и № УП-5229 от 7 ноября 2017 года «О мерах по кардинальному совершенствованию системы управления фармацевтической отрасли», в Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-3532 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», № ПП-3729 от 18 мая 2018 года «О мерах по дальнейшему совершенствованию системы противодействия распространению гриппа и других острых респираторных инфекций в Республике Узбекистан», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Т.Yoshida, Т.Okuda и другие японские ученые начали активное изучение таннинов семейства *Euphorbiaceae*. В результате первоначальных исследований из растений *Euphorbia hirta* L., *E. thymifolia*, *E. helioscopia* L., *E.jolkini*, *E.supina*, *E. maculata* L., *E.tirucalli* L., *E. humifusa*, *E.watanbei* наряду известными мономерными гидролизуемыми таннинами, были выделены новые димерные и тримерные эллаготаннины. Установлено их химическое строение и показано, что они обладают антиоксидантной и противовирусной активностями, в частности, против вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). В последние годы интерес к этому семейству растений не уменьшился, и в настоящее время учеными тщательно изучаются полифенольные соединения других видов этого семейства. Со стороны Л.Н.Гвазаевой, М.Д. Алания из вида *E. glareosa* выделен glareин А и glareин В, с помощью физико-химическими методами доказано их структура. Арабскими учеными Z.Z.Ibraheim, A.Ahmed, W.M.Abdel-Mageed из растений *E.peplus* L. и *E. aphylla* выделены метиловые производные галловой и эллаговой кислот, а также флавоноиды и их гликозиды, выявлена их болеутоляющая, противовоспалительная и антибактериальная активность.

В нашей стране в этом направлении проводятся эффективные исследовательские работы. Учеными института Биоорганической химии

¹ Указ Президента Узбекистан №УП-4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017-2020 годах

академиком Ш.И.Салиховым, профессором С.М.Мавляновым и д.х.н. Н.Г.Абдулладжановой изучены химический состав полифенолов и биологическая активность некоторых местных видов растений сем. *Euphorbiaceae* и на их основе создан препарат анти-ВИЧ действия.

Большинство исследований, проведенных в мире, сосредоточено на взаимосвязи между химической структурой и биологической активностью полифенолов, определением антиоксидантной и противовирусной активности и механизмом их действия. Однако, до сих пор недостаточно изучены танины растений *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.)

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена работа. Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательских работ - прикладных проектов института Биоорганической химии А-11-Т-051 «Разработка лекарственного препарата Эуфорбин против СПИДа» (2012-2014) и FA-A-11-T061 «Разработка противовирусных препаратов на основе полифенолов местного растительного сырья» (2015-2017).

Целью исследования является установление состава полифенолов и биологической активности растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.).

Задачи исследования:

определение оптимальных условий выделения полифенолов из растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.);

разделение суммы полифенолов на отдельные соединения;

установление строения соединений с помощью физико-химических методов исследований;

определение биологической активности выделенных соединений.

Объектами исследования являются виды растений сем. *Euphorbiaceae* *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.).

Предметом исследования являются фенолоксикилоты, флавоноиды и гидролизуемые танины, выделенные из растений, их химическая структура, физико-химические свойства, продукты химического превращения и биологическая активность.

Методы исследования. В исследованиях использовались технологические (экстракция, процессы осаждения, сушки, колоночная и тонкослойная хроматография, перекристаллизация), физико-химические (УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопия, Q-TOF LC-MS спектрометрия), химические (кислотный и ступенчатый гидролиз, метилирование и метанолиз) и методы фармако-токсикологических исследований в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

впервые из растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) выделено 1 фенолоксилола, 5 флавонолов и 10 гидролизуемых танинов, установлено их химическое строение;

доказано, что 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза, выделенное из надземной части *E.franchetii* (*B.Fedtsch*) является новым гидролизуемым таннином;

из надземной части *E.canescens* (*L.*) выделен новый гидролизуемый таннин 1,4,6-три-О-галлоилл-2,3-валонеил-β-D-глюкоза и установлено его химическое строение;

впервые доказано, что 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза, выделенный из надземной части *E.himufusa* (*Willd.*) является новым гидролизуемым таннином;

выявлено, что новые соединения обладают антиоксидантной и антигипоксантажной активностью.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

3 гидролизуемых таннина, выделенные из объектов исследования, являются новыми природными соединениями и доказано их химическое строение;

в результате биологических исследований выявлено, что выделенные соединения обладают антиоксидантным и антигипоксантажным свойствами;

фармако-токсикологическими методами установлено, что выделенные соединения относятся к классу малотоксичных веществ.

Достоверность результатов исследования обосновывается использованием современных физико-химических и биологических методов анализа для установление химической структуры и биологической активности новых веществ; обсуждением результатов исследований на республиканских и международных научных конференциях, а также публикациями результатов исследований в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Кабинете Министров Республики Узбекистан.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что были исследованы полифенольный состав растений *E. franchetii* (*B.Fedtsch*), *E. canescens* (*L.*) и *E. humifusa* (*Willd.*), произрастающих на территории Узбекистана и выделены фенолоксикислоты, флавонолы и гидролизуемые таннины. Физико-химические свойства и структура 3-х новых гидролизуемых таннинов, методы выделения полифенолов и идентификация их физико-химическими методами может служить методическим пособием в области химии природных соединений.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что выделенные полифенолы, проявляя высокую антиоксидантную активность, при концентрации 10 мкМ полностью ингибирует перекисное окисление липидов. А также было установлено, что полифенольные соединения на моделях нормобарической и гемической гипоксии продлевают среднюю продолжительность жизни экспериментальных животных, по сравнению с контролем, проявляя тем самым антигипоксические свойства. По результатам фармакологических исследований доказано, что изолированные таннины относятся к классу малотоксичных соединений и

это служит основой для создания антиоксидантных и антигипоксантных лекарственных препаратов .

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов по исследованию полифенолов растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) и их биологической активности:

полифенольные соединения, выделенные из растений использованы при исследовании антиоксидантной и гипогликемической активности природных соединений в условиях *in vitro*, в рамках проекта ФА-А10-Т053 «Разработка методики коррекции состояния оксидативного стресса при сахарном диабете местными природными соединениями» (справка № 4/1255-2467 Академии наук от 17 сентября 2018 года). В результате определено, что исследуемые танины понижают уровень глюкозы в крови в 2 раза эффективней по сравнению с гликлазидом, обладают высокой антиоксидантной и гипогликемической активностями, восстанавливают глюкокиназу печени крыс, которые играют важную роль в утилизации глюкозы в тканях животных;

выделенные танины использованы при исследовании механизмов взаимосвязи полифенольных соединений с белками рамках научного направления Университета Белосток (письмо поддержки от 13 сентября 2018 года, University of Bialystok Institute of Biology Department of Biology). В результате полифенолы взаимодействуя с α -синуклеином - нейронным белком, ингибируют их агрегацию и дают возможность создать перспективные, эффективные лекарственные средства для предотвращения и лечения разных нейродегенеративных заболеваний;

результаты исследований по изучению митохондриальной защиты полифенольных соединений и антиоксидантной активности при перекисном окислении липидов использованы в рамках научного направления в Синьцзянском техническом институте физики и химии Академии наук Китая (письмо поддержки от 30 августа 2018 года Xinjing Engineering Center for Ethnomedicice of Xinjing Technical Institute of Physics and Chemistry of CAS). В результате антиоксидантной и мембранопротекторной свойств полифенольные соединения дают возможность предотвратить различные патологические явления в процессе оксидативного стресса.

Апробация результатов исследования. Результаты проведенных исследований доложены на 2-х зарубежных и 11 республиканских научно-практических конференциях и симпозиумах.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано всего 24 научных работ. Из них 11 научных статей, в том числе 2 в зарубежных и 9 в республиканских научных журналах, рекомендованные Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 109 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** описаны актуальность и востребованность темы, цели и задачи, а так же объекты и предметы исследования, приведено соответствие диссертационной работы направлениям развития науки и технологии Республики Узбекистан, новизна и практическая значимость исследования, достоверность полученных результатов, внедрение результатов, опубликованность и структура диссертации.

В первой главе диссертационной работы «**Полифенолы растений семейства *Euphorbiaceae***» обсуждены литературные данные о полифенольных соединениях, выделенных из растений семейства *Euphorbiaceae*, физико-химические методы определения их структуры, галло- и эллаготаннины, их биологическая активность и метаболизм в организме. Досконально описаны конформационное строение эллаготаннинов, которые являются основными представителями таннинов.

Во второй главе «**Полифенолы растений *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.) и *Euphorbia humifusa* (Willd.)**» приведено обсуждение полученных результатов. С целью поиска растений, богатых полифенольными соединениями, изучен состав надземной части растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.), собранные в период их цветения.

Для растений *E. franchetii* (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. Humifusa* (Willd.) изучено содержание полифенолов в зависимости от периода вегетации. На основании полученных результатов выявлено, что наибольшее количество полифенолов в надземной части растений накапливается в период после цветения, в начале плодообразования.

Поиск оптимальных методов выделения полифенольных соединений и разделение таннинов с высоким содержанием является актуальной задачей промышленности на сегодняшний день. С целью выделения полифенольных соединений из растительного сырья с высоким выходом были изучены факторы, влияющие на процесс экстракции. Установлено, что оптимальным условием выделения суммы полифенольных соединений является 3-х кратная экстракция в 70% ацетоне в соотношении сырье:экстрагент 1:6, при температуре 45С в течении 2 часов.

Полифенолы были получены следующим методом. С целью очистки растительного сырья от липофильных соединений проводили 3-х кратную экстракцию хлороформом при температуре 45⁰С. После высушивания сырья под сушильным шкафом при комнатной температуре до исчезновения запаха растворителя, 3-х кратно экстрагировали 70%-ным водным ацетоном. Полученные экстракты сгущали в роторном испарителе до водного остатка. В делительной воронке водный остаток несколько раз обработали этилацетатом (в соотношении 1:6) и получили этилацетатную вытяжку. Сгустив этилацетатную фракцию при помощи роторного испарителя, получили этилацетатный концентрат. Этилацетатный концентрат высушили безводным сульфатом натрия (Na₂SO₄) и оставили на 24 часа. Концентрат

после фильтрации осаждали хлороформом при соотношении 1:4. Осадок высушивали в вакуумно-сушильном шкафу при температуре 40⁰С. Выход суммы полифенольных соединений составил из *E. franchetii* (B.Fedtsch) 5.8 %, *E. canescens* L. - 6.3%, *E. humifusa* - 5.6%, соответственно.

Качественный состав сумм выделенных полифенолов были проанализированы с использованием бумажной хроматографии в следующих системах: система-1 - н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:5 (верхняя фаза), система-2 - н-бутанол-уксусная кислота-вода 10:3:7, система-3 - 15% водный раствор уксусной кислоты. Выявлено, что в растениях *E. franchetii* (B.Fedtsch) присутствуют 8, *E. canescens*(L.) 10 и *E. humifusa* (Willd) 9 соединений, относящихся к фенольному классу. Для разделения суммы полифенолов на отдельные соединения их подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (4.5x150 см) (система-4 хлороформ-метанол 17:3, система-5 хлороформ-метанол 17:4, система-6 хлороформ-метанол 17:6) и получили три фракции.

При помощи бумажной хроматографии обнаружено наличие в составе первой фракции изученных растений соединения с R_f 0.51, 0.72 (система растворителей 1, 2). Первую фракцию высушивали при вакууме и сухой остаток растворили в воде, при охлаждении наблюдалось выпадение белого осадка. Осадок идентифицировали с галловой кислотой.

Качественными реакциями (пары аммиака, 5% раствор карбоната натрия) во второй фракции обнаружены соединения, относящиеся к классу флавонолов. С целью разделения их на индивидуальные компоненты вторую фракцию поместили в полиамидную колонку и промывали в системе растворителей хлороформ-метанол (9:1 система-7, 8:2 система-8). В результате из растений *E. franchetii* (B.Fedtsch) и *E. canescens* (L.) выделено по 4, а из *E. humifusa* (willd) 2 соединения. Изучение физико-химических параметров выделенных соединений и сравнение результатов с литературными данными показало, что данные вещества являются кверцетином, кверцетин-3-рамнозидом, кверцетин-3-галактозидом, кемпферолом, кемпферол-3-О-глюкозидом.

Качественными реакциями (раствор FeCl₃:K₃Fe(CN)₆ в соотношении 1:1) выявлено, что в состав третьей фракции входят соединения, относящиеся к классу гидролизуемых танинов. Гидролизуемые танины были разделены на индивидуальные компоненты на колонке с гольевым порошком, в качестве элюента использовали 60%→70%-ный MeOH, MeOH-ацетон-вода 7:2:1→3:1:1→5:3:2. Выделенные фракции контролировали методом ТСХ и одинаковые фракции объединили. Из растений *E. franchetii* (B.Fedtsch) выделили 4, *E. canescens* (L.) 7 и *E. humifusa* 4 соединений. Были изучены физико-химические параметры выделенных соединений и установлено их строение.

Анализ известных танинов. Сравнением результатов БХ и ТСХ непосредственно со стандартными образцами, а также на основании анализа

химических продуктов и спектральных констант и сравнения их с литературными данными идентифицированы строения известных таннинов.

3-O-галлоил-4,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза (1). (выделен из *E. franchetii* (*B. Fedtsch*)) - аморфный порошок белого цвета. $C_{27}H_{22}O_{18}$, Мм=634. R_f 0.68, 0.33 (система 1, 2), УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 220, 246. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.87 (1H, д, J=9, , глук. Н-1), 5.06 (1H, т, J= 9, глук. Н-2), 5.31 (1H, дд, J=9.0, 10.0, глук. Н-3), 4.34 (1H, м, J=10.0, глук. Н-4), 5.28 (1H, дд, J=5, 13, глук. Н-5), 3.9 (2H, д, J=13, глук. Н-6), 7.08, 7.09 (2H, с, галлоиль гр. Н-2, Н-6), 6.84, 6.70 (2H, с, ГГДФ гр. Н-3, Н-3`).

Гераниин (2) - (выделен из *E. franchetii* (*B. Fedtsch*), *E. humifusa* (*Willd*)) - гигроскопический порошок желтого цвета. $C_{41}H_{28}O_{27}$, Мм= 952, R_f 0.40 (2-система), УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 224, 285. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.40 (1H, д, J=8, глук. Н-1), 3.40 (1H, т, J=9, глук. Н-2), 3.69 (1H, т, J=10, глук. Н-3), 4.77 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 3.92 (1H, м, J=5, глук. Н-5), 5.15 (2H, дд, J=6, 13, глук. Н-6), 6.97, 7.02, (2H, с, галлоиль гр. Н-2, Н-6), 6.98, 6.57 (2H, с, ГГДФ гр. Н-3, Н-3`)

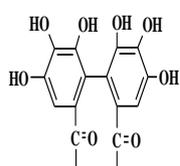
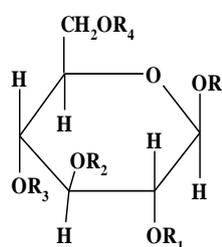
2,3-ди-O-галлоил-β-D-глюкоза (3) - (выделен из *E. franchetii* (*B. Fedtsch*), *E. canescens* (*L.*)) аморфный порошок темно-коричневого цвета, $C_{20}H_{20}O_{14}$, Мм= 484, R_f 0.25, 0.38, (системы-1, 9). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 217, 276. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.37 (1H, д, J=9, глук. Н-1), 4.97 (1H, дд, J= 9, 10, глук. Н-2), 5.10 (1H, т, J=10, глук. Н-3), 3.89 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 3.67 (1H, дд, J=5, глук. Н-5), 3.98 (2H, дд, J=3, 12, глук. Н-6). 6.48, 6.32 (2H, с, галлоиль гр. Н-2, Н-6).

1,2,3-три-O-галлоил-β-D-глюкоза (4) - (выделен из *E. canescens* (*L.*), *E. humifusa* (*Willd*)) - аморфный порошок коричневого цвета, $C_{27}H_{24}O_{18}$, Мм=564, R_f 0.36 (система-2), УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 218, 279. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.84 (1H, д, J=8, глук. Н-1), 4.94 (1H, т, J= 8, глук. Н-2), 5.10 (1H, т, J=9, глук. Н-3), 3.89 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 3.65 (1H, м, J=5, глук. Н-5), 3.96 (2H, дд, J=2, 12, глук. Н-6), 7.01, 6.68, (2H, с, галлоиль. гр. Н-2, Н-6).

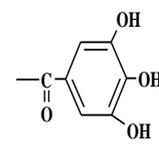
1-O-галлоил-4,6-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкоза (5) - (выделен из *E. canescens* (*L.*), *E. humifusa* (*Willd*)) аморфный порошок белого цвета, $C_{27}H_{22}O_{18}$, Мм= 562, R_f 0.34 (система-1). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 226, 280. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.62 (1H, д, J=8, глук. Н-1), 4.77 (1H, т, J=9, глук. Н-2), 5.16 (1H, т, J=9, глук. Н-3), 3.85 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 3.63 (1H, м, J=5, глук. Н-5), 3.87 (2H, дд, J=13, глук. Н-6). 6.94, 6.67 (2H, с, галлоиль. гр. Н-2, Н-6), 6.58, 6.46, (2H, с, ГГДФ Н-3, Н-3`).

1,4,6-три-O-галлоил-β-D-глюкоза (6) - (выделен из *E. canescens* (*L.*)) белый аморфный порошок, $C_{27}H_{24}O_{18}$, Мм=564, R_f 0.45 (система 1). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 216, 244. ПМР-спектр (δ , 400 МГц, ацетон- d_6 , J=Гц, м.д.): 5.90 (1H, д, J=8, глук. Н-1), 5.08 (1H, т, J=9, глук. Н-2), 5.31 (1H, т, J=10, глук. Н-3), 5.13 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 4.33 (1H, м, J=5, глук. Н-5), 5.2 (2H, дд, J=13, глук. Н-6), 6.98, 6.65 (2H, с, галлоиль. гр. Н-2, Н-6).

1,2,6-три-О-галлоил-β-D-глюкоза (7) - (выделен из *E. canescens* (L.)) бесцветный аморфный порошок, C₂₇H₂₄O₁₈, ММ=564, R_f 0.21, 0.53, (системы 1 и 9). УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 216, 244. ПМР-спектр (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.д.): 5.59 (1H, д, J=9, глук. Н-1), 4.94 (1H, т, J=9, глук. Н-2), 5.40 (1H, дд, J=10, глук. Н-3), 5.09 (1H, т, J=10, глук. Н-4), 4.34 (1H, м, J=6, глук. Н-5), 5.27 (2H, дд, J=6, 13, глук. Н-6), 6.61, 6.40 (2H, галлоиль. гр. Н-2, Н-6).



ГГДФ.гр.



Галлоильная группа

- R,R₁=H; R₂= галлоил; R₃-R₄= ГГДФ (1)
R= галлоил.; R₁-R₃,R₂- R₄=ГГДФ. (2)
R,R₃,R₄=H; R₁,R₂= галлоил. (3)
R,R₁,R₂= галлоил; R₃,R₄=H (4)
R= галлоил.; R₁,R₂= H; R₃- R₄=ГГДФ (5)
R,R₃,R₄= галлоил.; R₁- R₂= H (6)
R,R₁,R₄= галлоил.; R₂,R₃= H (7)

Анализ химического строения новых гидролизуемых танинов

1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (8) –выделен из *E. franchetii* (B.Fedtsch)-желтый аморфный порошок. C₄₈O₃₂H₃₁, MS m/z: 1103 [M-H]⁻, R_f 0.28, R_f 0.32 (системы 1 и 2), T_{пл} 257-258 °С (с разложением), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 220, 280.

По данным ПМР-спектра сигнал, проявляемый в области 6.08 м.д. в виде дублета указывает, что аномер протон Н-1 глюкозы имеет β-конфигурацию. Резонансные сигналы в области 5.10 и 4.68 м.д. в виде дублета и триплета характерные для протонов глюкозы Н-2 и Н-3. Смещение этих сигналов в слабое поле свидетельствует на ацилировании ОН-группы расположенных в атомах С-2 и С-3. Смещение сигналов Н-4 и Н-6 протонов глюкозы в слабое поле и появление при 5.11 и 5.29, 3.92 м.д. в виде дублета указывают на то, что в атоме углерода С-4 и С-6 ОН-группы галлоированы. В ПМР-спектре в слабом поле наблюдается сигналы, характерные для протонов Н-2, Н-6 галлоильной группы при 6.64, 6.48 м.д. в виде синглета. Двухпротонные синглетные сигналы при 6.84, 6.70 м.д. относятся протонам Н-3, Н-3' гексагидроксидифеноильной группы, а сигналы проявляемые в виде синглетов в области 6.12, 6.05, 6.01 м.д. принадлежат Н-2, Н-6', Н-6'' протонам валонеильной группы. Полученные результаты также были подтверждены ¹³С ЯМР спектрами.

В спектре ¹³С ЯМР вещества 8, полученного в условиях полного подавления спин-спинового взаимодействия с протонами, обнаруживаются сигналы, характерные для глюкозы, галловой, эллаговой и валониевой кислоты (табл.1). Интенсивные сигналы при 92.11 м.д. относящего к атому углероду С-1 сахарной части соединения указывает на то, что аномерный центр имеет β-конфигурацию. Смещение сигналов более сильное поле и появление в области 72.71, 72.40 м.д. относящихся к атомам С-4, С-6 молекулы глюкозы указывают на ацилирование ОН-групп в этих положениях. Химические сдвиги при 70.48, 61.40 м.д., относящиеся к

углеродным атомам С-2 и С-3 подтверждают замещение ОН-групп в этих положениях.

Таблица 1

Химические сдвиги (δ , 100 МГц, ацетон- d_6 , м.д.) сигналов углеродных атомов в спектре ^{13}C ЯМР вещества 8

Глюкоза		ГГДФ гр.		Галлоиль н. гр	Валонеиль. гр.		
		кольцо А	кольцо В		кольцо А	кольцо В С-1'	кольцо С С-1''
С-1	92.11	119.31	108.89	125.90	166.21	144.84	139.08
С-2	72.71	118.63	108.74	110.93	165.58	144.74	138.66
С-3	72.40	118.49	108.67	145.81	165.30	144.66	138.61
С-4	70.48	117.99	108.61	136.02	165.20	144.57	138.42
С-5	68.08	136.50	108.30	145.80	164.50	138.11	138.31
С-6	61.40	134.72	108.12	110.92	148.70	148.0	121.10
С-7		169.29	169.56	169.15	168.56	169.10	169.12

Кроме этого, в спектре имеются типичные сигналы, характерные для атомов углерода галлоильной, ГГДФ, валонеильной и карбонильных групп (табл. 1).

Масс-спектрометрические исследования вещества 8 проводили на масс-спектрометре Q-TOF LC-MS, в условиях отрицательной ионизации. Молекулярный ион с m/z 1103, расщепляется на два фрагмента с m/z 951 и 169. 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. Интенсивный ионный сигнал с m/z 469 свидетельствует о том, что в составе вещества 14 содержится валонеильная группа. Отрицательные ионы с m/z 301 и 169 соответствуют отрыву от молекулы гексагидроксифеноильного и галлоильного фрагмента, который согласуется с литературными данными.

Для определения мономерного состава и установления структуры вещество 8 подвергнуто ряду химических превращений согласно по схеме 1.

В продуктах кислотного гидролиза с 5%-ной H_2SO_4 обнаружены глюкоза (9), галловая (10), эллаговая (11) и валонеильная кислоты (12). В продуктах частичного гидролиза вещества 14 (нагревание в воде при 90°C) образуются 1-О-галлоил- β -D-глюкоза (13) (ТСХ, R_f 0.25, бензол:ацетон 20:3, система 10), 2,3-гексагидроксифеноил- β -D-глюкоза (14) (ТСХ, R_f 0.23, система 10) и 4,6-валонеил- β -D-глюкоза (15) (ТСХ, R_f 0.18, система 10). Метилирование вещества с диметилсульфатом и безводным K_2CO_3 приводит к образованию перметилат производного (16), после щелочного гидролиза метанольным раствором метоксида натрия образовались метил-3,4,5-триметоксибензоат (17) (ТСХ, R_f 0.75, бензол:ацетон 9:1, система 11),

диметил-4,4',5,5',6,6'-гексаметоксидифенат (18) (ТСХ, R_f 0.36, система 11) и триметил окта-О-метилвалонат (19) (ТСХ, R_f 0.27, система 11).

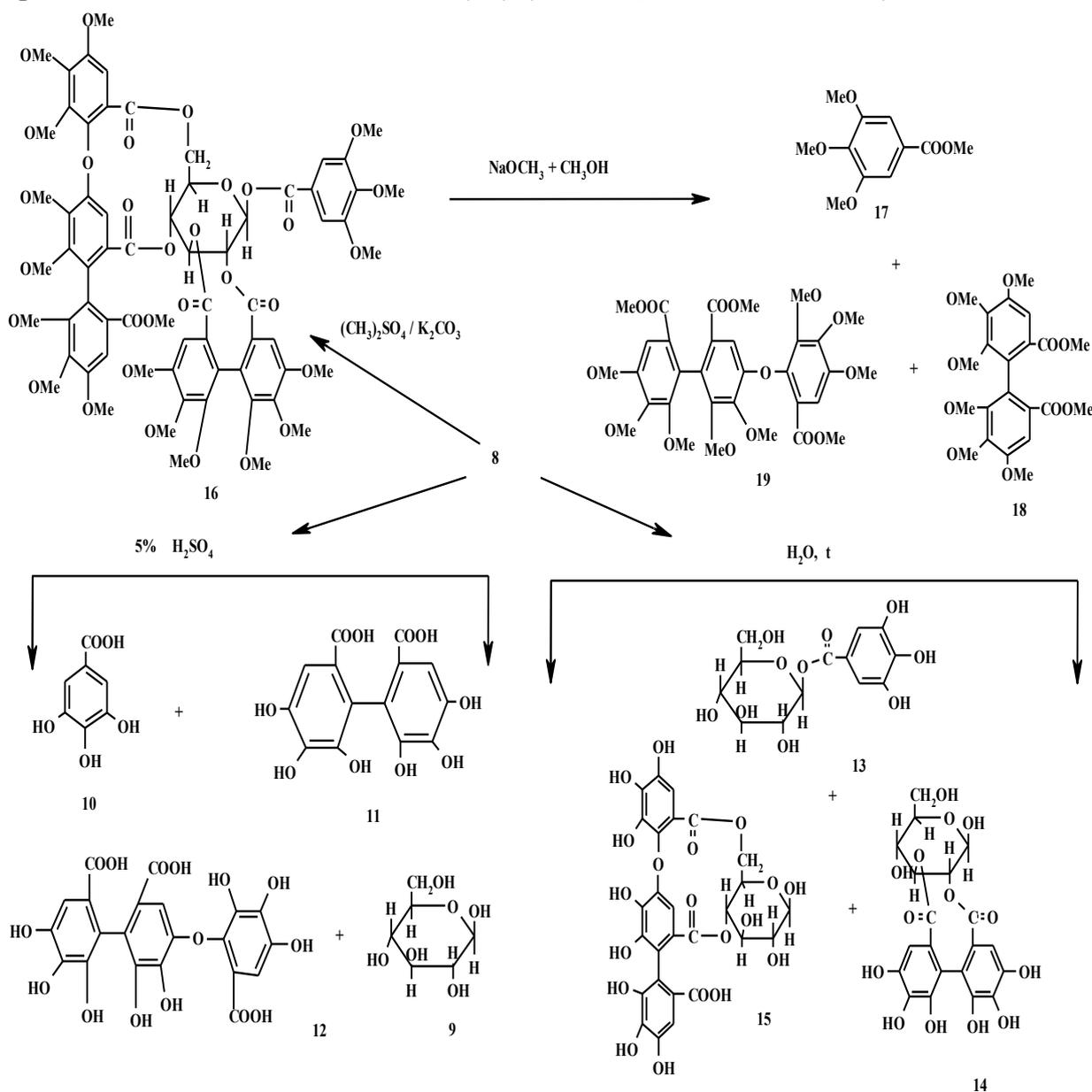


Схема 1. Продукты химического разложения вещества 8

На основании анализа химических продуктов и спектральных констант и сравнения их с литературными данными установлено, что вещество 8 является 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил- β -D-глюкозой.

1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза (20) (выделен из *E. canescens* (L.))-коричневый аморфный порошок, $\text{C}_{47}\text{H}_{24}\text{O}_{29}$, R_f 0.12 (система 1). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 325, 360. ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3300-3400 (ОН), 1620-1610, 1450 (аром.кольцо), 1320 cm^{-1} (-C-ОН), 1250, 1045 (-C-O-C), 1080-1070 (C=O), 1040, 1010 (сахарная часть). В ПМР спектре данного соединения также наблюдались сигналы, характерные для глюкозы, галлоильной и валонеильной группам. Резонансные сигналы при 6.10 м.д. в виде дублета ($J=8$ Гц) соответствуют протону Н-1, который свидетельствует β -

конфигурации данного аномера, а также о галлоировании ОН- группы в положение С-1 глюкозы. Смещение сигналов в более слабое поле и проявление при 5.11 м.д. (1H, дд, J=8, 10, Гц, глук. Н-2); 5.51 м.д. (1H, т, J=10, Гц, глук. Н-3), 5.34 м.д. (1H, т, J=10, Гц, глук. Н-4), 5.40 м.д. (2H, дд, J=7, 13, Гц, глук. Н-6) свидетельствуют о том, что ОН- группы в этих положениях замещены галлоильной и валонеильной группами. Синглетные сигналы в области 6.75, 6.68 м.д. относятся к протонам Н-2 и Н-6 галлоильной группы, а сигналы при 6.15, 6.09 и 6.06 м.д. в виде синглета характерны для Н-2, Н-6', Н-6" протонам валонеильной группы.

Эти изложенные результаты подтверждаются данными ^{13}C ЯМР (табл. 2).

Таблица 2

Химические сдвиги (δ , 100 МГц, ацетон- d_6 , м.д.) сигналов углеродных атомов в спектре ^{13}C ЯМР вещества 20

Глюкоза		Галлоил. гр			Валонеиль. гр.		
		положение 1	положение 4	положение 6	кольцо А	кольцо В, С-1'	кольцо С, С-1"
С-1	92.35	119.64	119.18	118.30	165.35	145.62	139.20
С-2	74.57	109.15	108.93	108.63	165.29	145.58	138.60
С-3	70.80	145.60	145.54	145.85	164.43	145.52	138.26
С-4	67.63	136.00	139.22	139.60	144.72	146.53	136.66
С-5	66.99	145.80	145.51	145.80	136.55	138.12	138.91
С-6	62.94	110.10	110.10	110.20	144.73	143.08	141.13
С-7		165.35	165.29	164.43	167.08	167.09	172.02

Строение вещества 20 также установлено на основании анализа химических превращений. В отличие от вещества 8, в продуктах частичного гидролиза вещества 20 обнаружено наличие соединений 4-О-галлоил- β -D-глюкозы (БХ, R_f 0.44, система 1), 6-О-галлоил- β -D-глюкозы (БХ, R_f 0.45, система 1), а в продуктах реакции метанолиза установлено образование соединений (16), (17), (19).

В результате анализа химических и спектральных исследований установлено, что соединение 20 является 1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозой.

1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил- β -D-глюкоза (21) (выделен из *E. humifusa* (Willd))-светло-коричневый аморфный порошок, $\text{C}_{48}\text{O}_{31}\text{H}_{34}$, 1106, R_f 0.48 (БХ, система 1). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 216, 270. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3490-3110 см^{-1} (ОН), 1675, 1530, 1555, 1410 (ароматическое

кольцо), (CH₁-CH₂-) 2855, 1460 (=CH-OH,C-H) 1380, (C-O-C)1275. ПМР (δ, 400 МГц, ацетон-d₆, J=Гц, м.д.)-спектр: глук.: 6.06 (1H, д, J=8, H-1,), 5.13 (1H, дд, J=8, 10, H -2), 6.51 (1H, т, J=10, H-3), 5.34 (1H, т, J=10, H-4), 4.75 (1H, дд, J=7, 13, H-5), 4.60 (2H, дд, J= 7, 13, H-6); галлоиль.: 7.18, 7.15, 7.10, 7.04, 7.00 (5H, с, галлоиль.гр. H-2, H-6, H-2', H-6'), 6.15, 6.13, 6,06 (3H, валонеил гр. H-3, H-3', H-6'').

В ¹³C ЯМР-спектре данного соединения наблюдаются сигналы, характерные для атомов углерода глюкозы, галлоильной и валонеильной групп (табл. 3).

Таблица 3

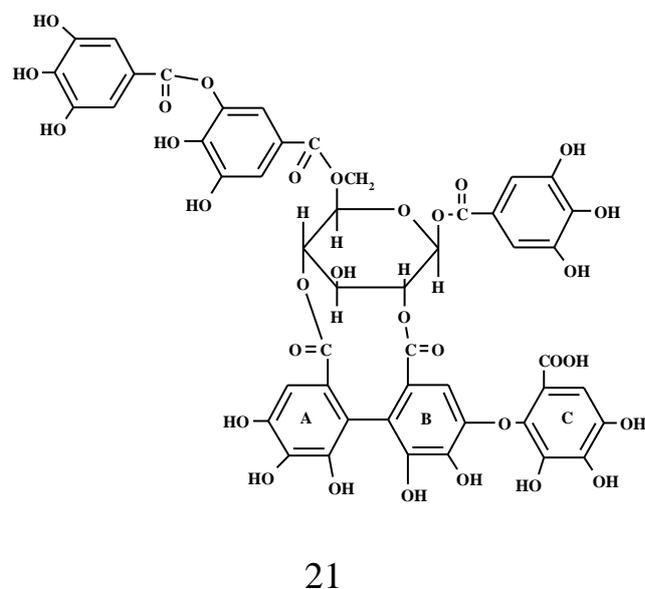
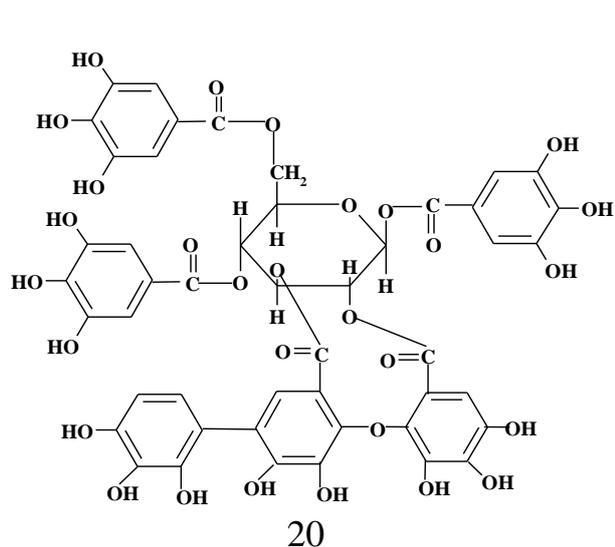
Химические сдвиги (δ, 100 МГц, ацетон-d₆, м.д.) сигналов углеродных атомов в спектре ¹³C ЯМР вещества 21

Глюкоза		Бисгаллоильная группа		Галлоильная группа	Валонеильная группа		
		кольцо А	кольцо В		кольцо А	кольцо В С-1'	кольцо С С-1''
С-1	94.01	119.19	109.20	119.88	165.67	145.63	139.53
С-2	74,44	119.08	108.95	110.20	165.56	145.51	139,30
С-3	72.06	118.97	108.83	145.82	164.54	145.47	138.97
С-4	70.88	118.26	108.75	139.61	164.36	145.41	138.64
С-5	67.87	116.51	105.51	145.80	136.10	135.64	136.55
С-6	61.69	110.10	103.10	110.20	144.44	147.03	142.15
С-7		168.70	166.40	167.23	169.10	168.32	163.36

Анализ ¹³C ЯМР-спектров показывает, что в отличие от спектров соединений 8 и 20, в спектре вещества 21 не наблюдаются сигналы, характерные для остатков гексагидроксидифеноильной группы (табл.3). Аналогичная картина наблюдается в значениях сдвигов сигналов углеродных атомов галловой и валониевой кислот.

Результаты изучения продуктов химических превращений показало, что в составе продуктов реакции частичного гидролиза наблюдалось наличие 6-О-бисгаллоил-β-D-глюкозы (БХ, R_f 0.38, система 2), 2,4-валонеил-β-D-глюкозы (БХ, R_f 0.33, система 2)

На основании химических и спектральных данных установлено, что данное соединение является 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкозой.



Биологическая активность выделенных полифенолов

Антиоксидантная активность выделенных соединений изучалась сотрудниками лаборатории “Физико-химических методов исследований”, “Молекулярной биофизики” и “Метаболомики” института Биоорганической химии.

Изучены влияние некоторых полифенолов, выделенных из *E.canescens* (L.) (1,4,6 три-*O*-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-1)) *E.franchetii* (1-*O*-галлоил-2,3-гексагидроксифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-2)) и *E.humifusa* (Willd) (1-*O*-галлоил-6-*O*-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-3)) на некоторые функциональные параметры митохондрий печени крыс, такие как митохондриальная мегапора (mPTR), АТФ-зависимый калиевый канал. Изучена их антирадикальная и антиоксидантная активности, получены результаты по влиянию полифенольных соединений на процесс окислительного фосфорилирования митохондрий. По полученным результатам изучаемые соединения обладают высоким антиоксидантным/антирадикальным действием (при концентрации до 10 мкМ полностью ингибируют ПОЛ), ингибируют открытие митохондриального циклоспорин-чувствительного мегаканала (mPTR) (50-100 мкМ), активируют АТФ-зависимый калиевый канал 50-80 (мкМ).

Кроме этого, была изучена острая токсичность вышеуказанных соединений методами Личфилда и Уилкоксона. Изучение острой токсичности препаратов ПС-1 и ПС-2 показало, что эти препараты относятся к IV классу малотоксичных соединений, LD₅₀ при внутрижелудочном введении на мышах составило 3550 мг/кг и 3250 мг/кг, соответственно. Препарата ПС-3 V классу практически нетоксичным соединением, LD₅₀ при внутрижелудочном введении на мышах составило ≥8000мг/кг.

Сотрудниками лаборатории «Метаболомики» в условиях *in vitro* изучены сравнительные антиоксидантные активности ПС-1, ПС-2, ПС-3 с активностью препарата гликлазид, который снижает уровень сахара в крови,

методами аутоокисления адреналина и Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное пероксидное окисление липидов. Полученные результаты исследований показали, что соединения ПС-1 (11%), ПС-2 (17%) и ПС-3 (20%) проявляют более высокую антиоксидантную активность по сравнению с гликлазидом (10%). А также данные соединения в течении 10 дней вдвое снизили уровень глюкозы крови по сравнению с гликлазидом в крысах с экспериментальным диабетом. Это, возможно, связано с частичным восстановлением полифенольными соединениями глюкокиназы печени крыс, которые играют важную роль в утилизации глюкозы в тканях животных.

Сотрудниками кафедры биофизики Университета Белосток (Польша) исследовано взаимодействие выделенных новых таннинов с альбумином сыворотки крови. Взаимодействие таннинов с белками зависит от молекулярной структуры таннинов и их склонности к связыванию с белковыми соединениями. Таннины, содержащие валонеильные группы имеют устойчивую структуру и не обладают гибкостью, в отличие от галлотаннинов, которые меняют структуру при взаимодействии с белками.

В третьей главе “Использованные условия и методы для выделения полифенолов” описаны объекты и методы исследования, выделение суммы полифенолов, разделение их на индивидуальные соединения, их кислотный и щелочной гидролиз, метилирование и условия проведения реакций метанолиза, хроматографические методы, такие как колоночная, бумажная и тонкослойная и использованные системы растворителей.

ВЫВОДЫ

1. Впервые исследована структура полифенолов надземной части растений *E. franchetii* (B.Fedtsch.), *E. canescens* (L.) и *E. humifusa* (Willd.), относящихся к роду *Euphorbia*. Рекомендована схема разделения выделенных полифенолов на индивидуальные соединения.

2. Исследована динамика накопления полифенолов в надземных и подземных частях растений *E. franchetii* (B.Fedtsch.), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) в зависимости от периодов вегетации. Рекомендованы оптимальные способы выделения полифенолов из надземных органов этих растений

3. Из изученных растений выделено 13 известных соединений, в том числе 5 флавонолов, 7 таннинов гидролизуемого ряда и 1 фенолоксикислота, структура которых установлена с помощью химических (кислотный и ступенчатый гидролиз, реакции метанолиза) и физико-химических (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия) методов исследования.

4. Установлено, что 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксицианоил-4,6-валонеил- β -D-глюкоза (*E. franchetii* (B.Fedtsch.)), 1,4,6-три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза (*E. canescens* (L.)), 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил- β -D-глюкоза (*E. humifusa* (Willd.)) являются новыми, ранее не описанными в литературе соединениями.

5. Исследована взаимосвязь выделенных новых таннинов с альбумином сыворотки крови. Установлено, что взаимодействие таннинов с белками зависит от молекулярной структуры таннинов и их склонности к связыванию с белковыми соединениями. Таннины, содержащие валонеильные группы имеют устойчивую структуру и не обладают гибкостью, в отличие от галлотаннинов, которые меняют структуру при взаимодействии с белками.

6. Фармакологическими методами установлена малотоксичность выделенных гидролизуемых таннинов. Биологическими методами выявлены их антиоксидантная и антигипоксантная активности. Они в перспективе будут рекомендованы в качестве эффективных лекарственных средств с антиоксидантной и антигипоксантной активностями.

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

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

RAKHIMOV RAKHMATILLA NURILLAYEVICH

**POLYPHENOLS FROM *EUPHORBIA FRANCHETII* (B.FEDTSCH),
EUPHORBIA CANESCENS (L.), *EUPHORBIA HUMIFUSA* (WILLD) AND
THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES**

02.00.10 –BIOORGANIC CHEMISTRY

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

Tashkent - 2019

The title of dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2017.1.PhD/K21

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic Chemistry.

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

Scientific supervisor:	Abdulladjanova Nodira Gulamjanovna doctor of sciences in chemistry
Official opponents:	Ramazanov Nurmurod Sheraliyevich doctor of sciences in chemistry, professor
	Gafurov Makhmudjan Bakiyevich doctor of sciences in chemistry
Leading organisation	Uzbek Scientific Research Chemical- Pharmaceutical Institute

Defense will take place on _____ 2019 year ___ at the meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan and the Institute of Chemistry of Plant Substances at the following address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63), e-mail: shsha@mail.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on «___» _____ 2019.
(protocol at the register No _____ dated ___ 2019).

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

Sh.A.Shomurotov
Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.Ch.Sc.

M.B.Gafurov
Chairman of scientific seminar under scientific council
on award of scientific degrees, D.Ch.Sc.

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of research work Polyphenols from *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.) *Euphorbia humifusa* (Willd.) and their biological activities

The objects of the research work are *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch), *Euphorbia canescens* (L.) *Euphorbia humifusa* (Willd.) of Euphorbiaceae family

Scientific novelty of the research work:

polyphenols of *E. franchetii* (B. Fedtsch), *E. canescens* (L.), *E. humifusa* (Willd.) plants were studied for the first time, from which 1 phenolic acid, 5 flavonols and 10 hydrolyzable tannins were isolated, their chemical structure was established;

It has been proven that 1-O-galloyl-2,3-hexaglyoxydiphenoyl-4,6-valoneil- β -D-glucose obtained from the ground part of the *E.franchetyi* (B. Fedtsch) plant is a new hydrolysable tannin.

From the surface of the plant *E. canescens* (L.), the new hydrolysing tan was isolated and derived from 1,4,6-tri-O-galloyl 2,3-valoneil- β -D-glucose.

The 1-O-galloyl-6-O-bisgalloyl-2,4-valoneil- β -D-glucose, derived from the ground part of the *E. humifus* (Willd.) Plant, has been proven to be a novel hydrolyzing tannin not found in the literature.

It has been shown that the substrates have antioxidant and anti-hypoxane activity and are classified as less toxic compounds.

Implementation of the research results:

E. franchetii (B.Fedtsch), *E. canescens* (L.) and *E. humifusa* (Willd.) On the basis of scientific findings on the study of plant biology and biophysiological studies of plant species:

phenol compounds derived from plants were used to determine the effect of biologically active substances on antioxidant and hypoglycemic activity in vitro under the project FA-A10-T053 "Development of method of correction of oxidative stress status in diabetes with natural compounds from local raw materials" (Academy of Sciences of Uzbekistan 2018 4 / 1255-2467, dated September 17, 2011). As a result, in experimental diabetes, tannins allowed to reduce the amount of glucose in the blood twice more than gliclazide, high antioxidant and hypoglycemic activity, and to reduce the liver glucokinase enzyme in the glucose utilization by tissues. Scientific outcomes serve as the basis for creating a new generation of effective medicines;

Scientists from the Department of Biophysics at Belostok University have studied the biological activity of polyphenols extracted from Euphorbia plants (reference book of University of Bialystok Institute of Biology, Department of Biology, 13/09/2018). As a result, polyphenols extracted from plants have shown high levels of antioxidant activity in various models of oxidative stress and have hemolytic erythrocytes produced by *S. aureus* bacteria by modulating the hemolytic toxin structure. Polyphenols linked to α -synuclein by the main neuronal protein that causes Parkinson's disease, thus preventing them from aggregation. Scientific results will help to create promising, highly effective drugs based on the compounds studied;

The results of the biological activity of polyphenols are recognized in the Xinjiang Physics and Chemistry Engineering Academy of the Academy of Sciences of China (Xinjing Engineering Institute of Physics and Chemistry of CAS, August 30, 2018). As a result, it has allowed the body to determine the relation between the oxidative stress status of various pathological states and the antioxidant properties of polyphenols.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of an introduction, five chapters, conclusions, list of references and appendices. The text of the thesis consists of 109 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть, I part)

1. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Камаев Ф.Г. Фенольные соединения *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) // Вестник НУУз. 2010 г. Ташкент. №3/1. С. 152-153. (02.00.00. № 12).

2. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Камаев Ф.Г. Фенольные соединения *Euphorbia canescens* (L) // Вестник НУУз. 2010 г. Ташкент. №3/1. С. 154-156. (02.00.00. № 12).

3. Rakhimov R.N, Abdulladzhanova N.G, Kamaev F.G. Phenolic compounds from *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) and *Euphorbia canescens* (L) // Chemistry of Natural Compounds 2011. V. 47. №2. P. 286-287. (№40. Research Gate. IF 0.53).

4. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Пирниязов А.Ж. Полифенолы эуфорбии франше и эуфорбии сереющая // Вестник Каракалпакского Государственного университета им. Бердаха. 2012 г. № ¾. С. 20-22 (03.00.00. №14).

5. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г. *Euphorbia franchetii* (B. Fedtsch) ўсимлигининг ер устки қисмидан полифеноллар ажратиб олишининг оптимал шароитлари // Ўзбекистон кимё журнали. 2012 й. Тошкент. №5. Б. 86-91. (02.00.00. №6).

6. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. *Euphorbiaceae* (молочайные, сутламадошлар) оиласига кирувчи ўсимлик полифеноллари // ЎзМУ хабарлари. 2016 й. Тошкент. №3/2. Б. 284-290. (02.00.00. № 12).

7. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Химический состав *Euphorbia humifusa* (Willd) // Вестник НУУз. 2016 г. Ташкент. №3/2. С. 280-283. (02.00.00. № 12).

8. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. *Euphorbia canescens* (L) ўсимлигининг кимёвий таркиби // ЎзР ФА Маърузалар тўплами. 2017 й. Тошкент. №6. Б. 49-52. (02.00.00. №8).

9. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Зиявитдинов Ж.Ф. *Euphorbia humifusa* (Willd) ўсимлиги полифеноллари // ЎзР ФА Маърузалар тўплами. 2017 й. Тошкент. №1. Б. 48-50. (02.00.00. №8).

10. Sekowski S., Bitiucki M., Ionov M., Zdeb M., Abdulladjanova N., Rakhimov R., Mavlyanov S., Bryszewska M., Zamaraeva M. Influence of valoneoyl groups on the interactions between Euphorbia tannins and human serum albumin // Journal of Luminescence. 2018. V. 194. P. 170-178. (№40. Research Gate. IF 2.732).

11. Mavlyanov S.M., Salikhov Sh.I., Abdulladjanova N.G., Shamuratov B.A., Rakhimov R.N., Makhmudov R.R. Polyphenols of plants of central asia and their biological activity // Uzbek biological Journal. 2017. Tashkent. №6. P. 3-5. (03.00.00. №5).

II бўлим (II часть, II part)

1. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Фенольные соединения *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. Международная научная конференция 20-21 сентября. 2010 г. Ташкент. С. 89.

2. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Фенольные соединения *Euphorbia canescens* (L) // Актуальные проблемы развития биоорганической химии. Международная научная конференция 20-21 сентября. 2010 г. Ташкент С. 90.

3. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Полифенолы корней эуфорбии франше // Актуальные проблемы химии природных соединений. Международная научная конференция 12-13 октября. 2010 г. Ташкент. С. 105.

4. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Полифенолы корней эуфорбии Серееющая // Актуальные проблемы химии природных соединений. Международная научная конференция 12-13 октября. 2010 г. Ташкент. С. 106.

5. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Колориметрик ва стандарт усуллар ёрдамида *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) ва *Euphorbia canescens* (L) ўсимликлари ошловчи моддалари микдорини аниқлаш // Илмий ахборотнома журнали. Наманган. 2011 й. №2. Б. 54-58.

6. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г. Маҳаллий истиқболли ўсимликларнинг биологик фаол бирикмаларини ўрганиш // Илм Фан ютуқлари ва инновацион технологияларга асосланган кичик бизнесни ривожлантириш муаммолари ёш олимлар нигоҳида. Халқаро илмий конференция. 3 март. 2011 й. Тошкент. Б. 235-237.

7. Rakhimov R. N., Abdulladjanova N. G., Mavlyanov S. M. New tannin isolated from *Euphorbia canescens* (L.) // Scientific Conference biologically active substances: Fundamental and Applied Problems Novy Svet, AR Crimea, Ukraine. May 23-28. 2011. P. 307.

8. Rakhimov R. N., Abdulladjanova N. G., Mavlyanov S. M. Study of polyphenolic compounds of *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) // Conference biologically active substances: Fundamental and Applied Problems Novy Svet, AR Crimea, Ukraine. May 23-28. 2011. P. 305.

9. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г. Полифенолы семейства *Euphorbiaceae* и *Anacardiaceae* // Актуальные проблемы развития Биоорганической химии. Международная научная конференция 15-16 ноября. 2013 г. Ташкент. С. 67.

10. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., *Euphorbia humifusa* (Willd) ўсимлиги полифеноллари // Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажаги. Халқаро илмий конференция. 18-19 май. 2016 й. Тошкент. Ўз МУ. Б. 25-26.

11. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Выпова Н.Л., *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) ва *E. canescens* (L) ўсимликлари полифенолларининг фармакологик хоссалари // Ўзбекистонда табиий

бирикмалар кимёсининг ривожига ва келажига. Халқаро илмий конференция. 18-19 май. 2016 й. Тошкент. ЎзМУ. Б. 211-212.

12. Рахимов Р.Н., Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М. Полифенолы *Euphorbia franchetii* (B.Fedtsch) // Сборник тезисов докладов LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных. 17-19 апреля. 2017 г. Минск, БГМУ. С. 209.

13. Rakhimov R., Abdulladjanova N., Mavlyanov S. New tannin isolated from *Euphorbia himufusa* (Willd) // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS, SUA in Nitra Proceedings of abstracts 7th, November 2017. Nitra, Slovak Republic. P. 46.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журналы» тахририятида тахрирдан ўтказилди
ва унинг ўзбек, рус ва инглиз тили матнлари мос келади.

Босишга рухсат этилди: **07.01.2019 йил**
Бичими 60x84 ¹/₁₆. «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда чоп этилди.
Шартли босма табағи 3. Адади 100. Буюртма № 20-06

“IMPRESS MEDIA” MChJ босмахонасида чоп этилди.
Тошкент шаҳри, Қушбеги кўчаси, 6-уй.