

**ФАРҒОНА ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ
ИЛМИЙ ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.03/30.12.2019.К.05.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ФАРҒОНА ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ТУРҒУНБОЕВ ШАВКАТЖОН ШУҲРАТЖОН УҒЛИ

***BETULA PENDULA* ТАРКИБИДАН БЕТУЛИН АЖРАТИБ ОЛИШ,
ОПТИМАЛЛАШТИРИШ ВА АЙРИМ ҲОСИЛАЛАРИ СИНТЕЗИ**

02.00.10-Биоорганик кимё

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

Фарғона – 2021 йил

УДК 547:595. 544.472.3. 902.659.4.

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

Тургунбоев Шавкатжон Шухратжон ўғли <i>Betula pendula</i> таркибидан бетулин ажратиб олиш, оптималлаштириш ва айрим ҳосилалари синтези.....	3
Тургунбаев Шавкатжон Шухратжон угли Выделение, оптимизация получения бетулина из <i>Betula pendula</i> и синтез некоторых производных.....	21
Turgunboev Shavkatjon Shukhratjon ogli Isolation, optimization of the production of betulin from <i>Betula pendula</i> and synthesis of some derivatives.....	39
Эълон қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	43

**ФАРҒОНА ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ
ИЛМИЙ ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.03/30.12.2019.К.05.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ФАРҒОНА ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ТУРҒУНБОЕВ ШАВКАТЖОН ШУҲРАТЖОН ЎҒЛИ

***BETULA PENDULA* ТАРКИБИДАН БЕТУЛИН АЖРАТИБ ОЛИШ,
ОПТИМАЛЛАШТИРИШ ВА АЙРИМ ҲОСИЛАЛАРНИ СИНТЕЗИ**

02.00.10-Биоорганик кимё

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

Фарғона – 2021 йил

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2021.1.PhD/K370 рақам билан рўйхатга олинган

Диссертация Фарғона давлат университетида бажарилган.

Диссертация автореферати учта тилда (Ўзбек, рус, инглиз (резюме). Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.fdu.uz) ва «ZiyoNET» Ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Хайтбаев Алишер Хамидович
кимё фанлари доктори, профессор

**Расмий
оппонентлар:**

Абдуллаев Шавкат Ваҳидович
кимё фанлари доктори, профессор

Назаров Отабек Мамадалиевич
кимё фанлари буйича фалсафа доктори (PhD)

Етақчи ташкилот:

Наманган давлат университети

Диссертация химояси Фарғона давлат университети ҳузуридаги илмий даражалар берувчи PhD.03/30.12.2019.K.05.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «13» 11 соат 14⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 150100, Фарғона шаҳри, Мураббийлар кўчаси, 19-уй. Тел: (+99873) 244-44-02, факс: (+99873) 244-44-93, e-mail: fardu_info@umail.uz).

Диссертацияси билан Фарғона давлат университетининг Ахборот-ресурс марказида таништириш мумкин (131 рақам билан рўйхатга олинган). (Манзил, 150100, Фарғона шаҳри, Мураббийлар кўчаси, 19-уй. Тел: (+99873) 244-44-02. факс: (+99873) 244-44-93).

Диссертация автореферати 2021 йил «1» 11 кuni тарқатилди.
(2021 йил «1» 11 даги 5 рақамли реестр баённомаси).



В.У.Хўжаев
Илмий даражалар берувчи
Илмий кенгаш раиси к.ф.д., профессор

М.Нисонов
Илмий даражалар берувчи
Илмий кенгаш аъзои котиби, т.ф.н., профессор

Ш.В.Абдуллаев
Илмий даражалар берувчи
Илмий кенгаш
кошидаги Илмий семинар раиси к.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бугунги кунда дунёда тиббиёт соҳаси жадал ривожланиб бораётган бир вақтда ўсимликлар таркибидан доривор моддаларни ажратиш олиш ва самарали таъсирга эга бўлган, ноҳужа таъсирлари бўлмаган дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этмоқда. Айни вақтда турли касалликларни даволашда, синтетик йўл билан олинган моддаларга нисбатан, ўсимликлардан ажратиш олинган моддалар биологик таъсирчанлиги юқорилиги, заҳарлилик даражаси пастлиги ва ноҳужа таъсир кўрсатмаслиги билан ажралиб туради. Шунга кўра, табиий бирикмаларни модификациялаш орқали олинган ҳосилалари орасидан юқори фаолликни намोён қилувчи бирикмаларни ажратиш олиш, улар асосида янги дори воситаларини яратиш алоҳида аҳамият касб этади.

Жаҳонда биологик фаол табиий моддаларни ажратиш олиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу борада, табиий метаболитларни ажратиш олиш усулларини такомиллаштириш, биологик фаолликларга эга бўлган моддаларни янги усуллар ёрдамида ажратиш олиш, таркибидан N сакловчи янги ҳосилалари ва турли сувда эрувчан бирикмалар билан сувда эрувчан супрамолекуляр комплексларини олиш, касалликлар терапиясида лупан қатори тритерпеноидларидан олинган препаратларни қўллашга алоҳида эътибор берилмоқда.

Республикамизда маҳаллий хомашёлар асосида янги биологик бирикмаларни ажратиш олиш, уларни модификациялаш орқали янги ҳосилаларини синтез қилиш, улар асосида турли ўсимталарга қарши дори воситаларини яратиш бўйича кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантиришга қаратилган Ҳаракатлар стратегиясида «Маҳаллий хомашё ресурсларини чуқур қайта ишлаш асосида юқори қўшимча қийматли тайёр маҳсулот ишлаб чиқариш, принципиал жиҳатдан янги маҳсулот ва технология турларини ўзлаштириш, ички ва ташқи бозорларда миллий товарларнинг рақобатбардошлигини таъминлаш¹»га қаратилган муҳим вазифалар белгиланган. Бу борада бетулин асосида турли хил юқумли касалликларни келтириб чиқарувчи вирус ва бактерияларга қарши қўлланилаётган дори воситаларини синтез қилиш ва уларни тиббиёт соҳасида қўллаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги Фармони ҳамда 2018 йил 25 октябрдаги ПҚ-3983-сон «Ўзбекистон Республикасида кимё саноатини жадал ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ва 2019 йил 3 апрелдаги ПҚ-4265-сон «Кимё саноатини янада ислоҳ қилиш ва инвестицион жозибадорлигини ошириш» тўғрисидаги Қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» ги ПФ-4947-сонли Фармони.

тегишли бошка меъёрий-хукукий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти натижалари муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот Республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. Кимё технологиялари ва нанотехнологиялар устувор йўналишларига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Илмий манбааларда берилган маълумотларга қўра, дунё олимлари томонидан бетулин ва унинг турли ҳосилаларини олиш, уларнинг тузилиши, физик-кимёвий хоссалари ва биологик фаолликларини ўрганиш дунё ва республикаимиз миқёсида Г.А.Толстиков, О.Б.Флехтер, Э.Э.Шулц, А.Г.Толстиков, В.А.Левданский, А.В.Левданский, Б.Н.Кузнецов, Т.И.Когай, Е.С.Курбатов, С.В.Курбатов, С.А.Кузнецова, К.Т.Chue, M.S.Chang, L.N.Ten, D.M.Zhang, H.G.Xu, L. Wang, Y.J.Li, P.H.Sun, X.M.Wu, G.J.Wang, W.M.Chen, W.C.Ye, M.C.Юнусов, Д.Н.Далимов, А.Х.Хайтбаев каби олимлар илмий изланишларида ўрганилган бўлиб, ҳозирда ҳам ушбу изланишлар давом эттирилмоқда.

Илмий адабиётларда бетулиннинг тузилиши, унинг ҳосилаларини синтез қилиш, физик-кимёвий хусусиятлари ва биологик фаолликлари тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Бироқ бетулинни айрим эритувчилар билан экстракция қилиш, фазовий ҳолати, айрим карбон кислоталар билан мураккаб эфирларини олиш ва уларнинг хоссаларини ўрганиш, бетулон алдегиди асосида олинадиган Шифф асослари ва бетулиннинг сувда эрувчан бирикмалар билан турли нисбатларда таъсирлашиши натижасида ҳосил бўладиган супрамолекуляр комплекслар синтези, тузилиши, уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари ҳамда биологик фаоллиги етарли даражада ўрганилмаган.

Шуларни инобатга олиб бир қатор биологик фаолликларга эга бўлган бетулин моддасини янги усуллар ёрдамида ажратиб олиш, унинг мураккаб эфирлари, таркибида N сақловчи янги ҳосилалари ва турли сувда эрувчан бирикмалар (ГКМАТ, ПВП, декстрин, Na-КМЦ) билан сувда эрувчан супрамолекуляр комплексларини олиш ёрдамида кенг терапевтик таъсирга эга бўлган дори воситаларини яратиш йўналишида тадқиқотларни амалга ошириш илмий-амалий аҳамиятга эга.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Миллий университетининг илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ №Ф-6-05 "Полифенол ва тритерпеноидларнинг янги ҳосилаларининг антибиотиклар таъсирига резистент бўлган патоген бактерияларга қарши фаоллик таъсир механизмини ўрганиш" (2012-2016 йй.) мавзусидаги фундаментал лойиҳа доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади *Betula pendula* Roth таркибидан турли эритувчилар ёрдамида бетулин моддасини ажратиб олиш усулларини оптимallasштириш ва бетулиннинг айрим ҳосилаларини синтез қилишдан

иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Ўзбекистон ҳудудида ўсувчи *Betula pendula* Roth ўсимлиги таркибидан бетулин моддасини турли усуллар ёрдамида ажратиб олиш, фойдаланилган усуллар орасидан оптималини танлаш;

ажратиб олинган экстрактлар таркибини ЮҚХ ва ЮССХ усуллари билан ўрганиш, бетулинни қўшимчалардан қайта чуқтириш ва колонкали хроматография усуллари ёрдамида тозалаш;

бетулиннинг алифатик ва ароматик карбон кислоталар билан диалмашган мураккаб эфирларини, ГКМАТ, ПВП, Na-КМЦ ва декстринлар билан турли нисбатлардаги комплексларини олиш;

бетулинни турли усуллар ёрдамида оксидлаб бетулон кислота ва бетулон алдегидлар синтез қилиш;

бетулон алдегидининг таркибида NH_2 гуруҳи тутган айрим бирикмалар билан кимёвий модификация қилиш;

синтез қилинган мураккаб эфирлар, супрамолекуляр комплекслар, оксидланиш маҳсулотлари ва Шифф асосларининг индивидуаллиги, тузилиши ва айрим физик-кимёвий хусусиятларини ЮҚХ, ЮССХ, ИҚ, УБ, LC-MS, GC-MS ва рентген усуллари ёрдамида ўрганиш;

бетулин ва айрим ҳосилаларининг назарий жиҳатдан фазовий тузилишини ўрганиш мақсадида ChemOffice дастурининг эмпирик усули (MM2) ва Hyperchem дастурининг яримэмпирик усуллари (PM3, RM1, AM1) ёрдамида квант-кимёвий ҳисоблашлар ўтказиш;

бетулиннинг Fe^{2+} аскорбат ёрдамида чакирилган митохондрия мембранасида липидларнинг пероксидли оксидланиш жараёнига таъсирини ўрганиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Ўзбекистон ҳудудида ўсувчи *Betula pendula* Roth, бетулин, турли табиатли алифатик, ароматик ва гетероциклик бирламчи аминлар, глицирризин кислотасининг моноаммонийли тузи (ГКМАТ) ва бетулинни турли усуллар ёрдамида модификациялаш маҳсулотлари олинган.

Тадқиқотнинг предметини кимёвий ўзгаришлар, супрамолекуляр комплекслар, тузилиш, компьютер моделлаштириш, кимёвий ўзгаришлар, мураккаб эфирлар, супрамолекуляр комплекслар, тузилиш, реакция қобилият, компьютер моделлаштириш, биологик фаолликларни аниқлаш ташкил этган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот иши натижаларини олишда моддаларни филтрлаш, тозалаш, қайта кристаллаш, хроматография (ЮҚХ, ЮССХ, СХ, ГХ), УБ-, ИҚ-, квант-кимёвий ҳисоблашлар (ChemOffice (MM2), Hyperchem (PM3, RM1, AM1), PASS online) ва биологик тадқиқот усуллари қўлланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор *Betula pendula* Roth ўсимлиги таркибидан турли эритувчилар ёрдамида бетулин ажратиб олинган ва экстракция шароити оптималлаштирилган;

бетулин ажратиб олишда экстрактнинг унуми жиҳатидан 96% ли этанол, экстаркт таркибидаги бетулиннинг тозалик даражаси жиҳатидан бутанол-2 энг яхши эритувчи мос келиши аниқланган;

бетулинни этанол ёрдамида ажратиб олинганда экстракт таркибидаги моддалар сони камроқ бўлиши ЮССХ ёрдамида аниқланган;

бетулиннинг турли бирикма (ГКМАТ, ПВП, Na-КМЦ ва декстрин)лар билан сувда эрувчан супрамолекуляр комплекслари синтез қилинган;

бетулинни Джонс реактиви билан оксидланиш жараёни Fe^{3+} катализаторлигида олиб борилганда юқорироқ унум билан бетулон кислота синтез қилинган;

бетулон алдегининг турли табиатли (ароматик ва гетероциклик) бирламчи аминлар билан 10 та янги Шифф асослари синтез қилинган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

илк бор республикаимиз ҳудудида ўсувчи *Betula pendula* (Roth) ўсимлиги таркибидан экстракция усули ёрдамида бетулин ажратиб олишнинг самарали усули ишлаб чиқилган;

бетулин ажратиб олишда унум ва тозалик даражаси жиҳатидан энг яхши эритувчилар аниқланиб, экстракт таркибидан бетулин моддасини тозалаш учун қулай усул ишлаб чиқилган;

ажратиб олинган бетулин моддасининг қўлланилиш соҳасини янада кенгайтириш мақсадида унинг сувда эрувчан шакллари синтез қилиниб, уларнинг тузилиши УБ, ИҚ ва ЮССХ усуллари ёрдамида исботланган;

бетулиннинг таркибида N (азот) сакловчи бирикмалари нисбатан кам ўрганилганлиги ва уларнинг биологик фаолликлари юқори бўлганлигини инобатга олиб, бетулин асосида олинган бетулон алдегидидан янги 10 та Шифф асослари синтез қилинган;

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги замонавий хроматография (ЮҚХ, ЮССХ), УБ-, ИҚ-, масс-спектрометрия (GC-MS, LC-MS), рентген-дифрактометрия, квант-кимёвий ҳисоблашлар (ChemOffice (MM2), HyperChem (PM3, RM1, AM1), PASS online), биологик ва бошқа тадқиқот усуллари ёрдамида олинган натижалар асосида ишончли тарзда таҳлил қилинган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки ўсимлик таркибидан бетулин ажратиб олишда экстракция жараёнида ажратиб олинадиган экстракт миқдори ва таркибига эритувчи, унинг миқдори, концентрацияси ва экстракция вақтининг таъсири, экстракт таркибидан бетулинни тоза ҳолда ажратиб олишда қайта чуқтириш усули самаралироқ эканлиги, бетулин асосида олинадиган мураккаб эфирлар, супрамолекуляр комплекслар, бетулон кислота синтез қилиш жараёнларига таъсир қилувчи асосий омиллари билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти республикаимиз ҳудудида ўсувчи *Betula pendula* (Roth) ўсимлиги таркибидан экстракция усули ёрдамида бетулин ажратиб олинган ва экстракция жараёни оптималлаштирилган, ажратиб олинган бетулиннинг антиоксидант таъсирга

билан ҳосил қилган Шифф асосларини қўллаш орқали чиқинди сувлар таркибидаги кобальт (II) ва никел (II) ионларини аниқлаш усулларини ишлаб чиқишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. *Betula pendula* Roth ўсимлигидан турли усуллар ёрдамида ажратиб олинadиган бетулин ва уни турли усуллар ёрдамида модификациялаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

бетулон алдегидининг аминантипирин ва 2-амино, 4 нитропирдин билан ҳосил қилган Шифф асослари «Муборак газни қайта ишлаш заводи» АЖда амалиётга жорий қилинган («Муборак газни қайта ишлаш заводи» АЖнинг 2021 йил 30 августдаги 822/ГК-08-сон маълумотномаси). Натижада, чиқинди сувлардан кобальт (II) ва никел (II) ионларини аниқлаш имконини берган;

бетулиннинг Fe^{2+} аскорбат ёрдамида чақирилган митохондрия мембранасида липидларнинг пероксидли оксидланиш жараёнига таъсири натижаларидан №Ф-6-05 "Полифенол ва тритерпеноидларнинг янги ҳосилаларининг антибиотиклар таъсирига резистент булган патоген бактерияларга қарши фаоллик таъсир механизмини ўрганиш" мавзусидаги фундаментал лойихада Fe^{2+} аскорбат ёрдамида тритерпеноидларнинг антиоксидантлик хусусиятларини аниқлашда фойдаланилган (Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2021 йил 4 февралдаги 89-03-1211-сон маълумотномаси). Натижада, бетулин таъсирида тажриба учун олинган оқ қаламушларда сувда сузишга боғлиқ стресс чақирилган шароитда ҳам эркин радикалларга боғлиқ оксидланиш жараёни фаоллигини сусайтириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 13 та, жумладан 5 та халқаро ва 8 та республика илмий-амалий анжуманларида маъруза қилинган ва муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 19 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фалсафа доктори (PhD) диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 6 та илмий мақола, жумладан 3 та мақола республика ва 3 та мақола хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 113 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати асослаб берилган, мақсад ва вазифалар, шунингдек тадқиқотнинг объект ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикаси фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишларига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Бетулин: тузилиши, хоссалари, айрим ҳосилалари (адабиётлар таҳлили)**» деб номланган биринчи бобида бетулиннинг табиатда учраши, табиий манбаалардан ажратиб олиш усуллари, тузилиши ва унинг хоссалари бўйича адабиётлар таҳлили, бетулиннинг ҳосилалари ва уларни синтез қилишнинг физик-кимёвий хусусиятлари, биологик фаолликлари ҳақида маълумотлар келтирилган. Таҳлил натижаларига кўра бетулин ва ҳосилаларининг аксарияти антиоксидантлик, ОИВ вирусига, гепатопротекторлик ва кўплаб замбуруғларда қарши фаолликларга эга. Кам дозали препаратлар яратишда супрамолекуляр кимё усулларида фойдаланиш натижасида препаратлар сувда эрувчан шаклга ўтади ҳамда биологик фаоллиги бир неча мартаба ортиши каби натижалар ва улардан қилинган хулосалар келтирилган.

Диссертациянинг «**Бетулин ажратиб олиш, оптималлаш ва айрим ҳосилалари синтези, уларнинг тузилиши ва биологик фаоллигини таҳлил қилиш (Олинган натижалар таҳлили)**» деб номланган иккинчи бобида республикамизнинг тоғли ҳудудларида ўсувчи *Betula pendula* ўсимлиги пўстлоғидан бетулинни ажратиб олиш, ажратиб олиш усулини оптималлаш, алифатик ва ароматик карбон кислоталар билан мураккаб эфирлари синтези, турли усуллар билан бетулиннинг оксидланиш маҳсулотларини олиш, бетулон алдегидининг аминобирикмалар билан Шифф асослари синтези, ПВП ва ГКМАТ билан комплекслари олиниши, уларнинг тузилишини физик-кимёвий усуллар билан аниқланиши баён этилган.

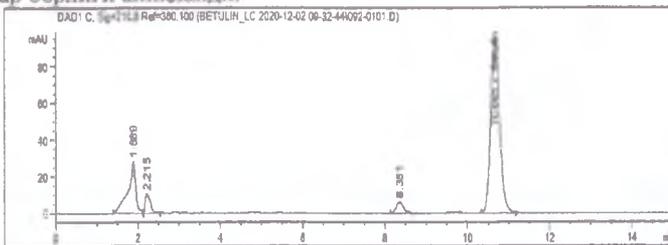
Betula pendula ўсимлиги пўстлоғидан бетулин ажратиб олиш учун республикамизнинг Зомин туманида ўсадиган ок қайин дарахтидан фойдаланилди. Қуриштиб майдаланган пўстлок этанол, пропанол-1, пропанол-2, бутанол-1, бутанол-2, изобутил спирти, изоамил спирти ва ацетон каби эритувчилар билан экстракция қилинди. Олиб борилган тажрибалар асосида эритувчи сифатида этанолдан фойдаланилганда бетулин ажратиб олиш унуми юқори бўлиши аниқланди. Кейинги ишларда этанолда экстракция қилиш жараёнини оптималланди. Бунда экстракция вақти 3 соат, эритувчи концентрацияси 96% ва миқдори 1:20 гидромодул бўлганда энг оптимал натижа олиниши аниқланди.

Ажратиб олинган экстрактларнинг унуми, суюқланиш ҳароратлари, таркиби дастлаб юпқа қатламли хроматография (ЮҚХ) ва юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ) усуллари ёрдамида ўрганилди.

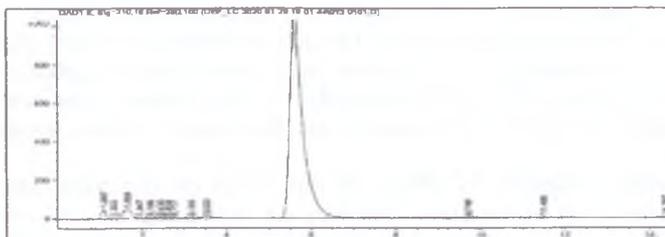
Тури эритувчилар ёрдамида экстракция қилиш натижалари

№	Эритувчи	Экстракт массаси (г)	Бетулин миқдори (%)	R _f	T _{суйиқ} °C
1	Этанол	36	56	0.35 0.56 0.70	232-234
2	Ацетон	28	68	0.37 0.55	235-237
3	Пропанол-1	26	72	0.23 0.56	242-245
4	Пропанол-2	17	74	0.25 0.55	243-244
5	Бутанол-1	11	83	0.55	255-256
6	Бутанол-2	17.5	89	0.56	258-260
7	Изобутил спирти	14	84	0.56	256-258
8	Изоамил спирти	10	71	0.30 0.56	236-239

Олинган натижалардан кўриш мумкинки экстракция жараёнида фойдаланилган эритувчилардан унум жиҳатидан этанол, бетулиннинг тозалик даражаси жиҳатидан бутанол-2 яхши натижа бериши аниқланди. Шунингдек этанол ёрдамида олинган экстракт таркибида бошқа эритувчиларда ажратиб олинган экстрактларга нисбатан камроқ қўшимча моддалар борлиги аниқланди.



1-расм. Этанолда олинган экстрактив модданинг ЮССХ таҳлили



2-расм. Бутанол-2 олинган экстрактив модданинг ЮССХ таҳлили

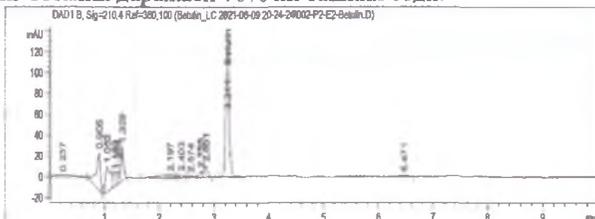
Этанолда ажратиб олинган экстракт таркибидан бетулинни тоза ҳолатда ажратиб олишда колонкали хроматография ва эритувчилар ёрдамида қайта чўктириш усуллари қўлланилди.

Дастлаб адабиёт маълумотларини ўрганган ҳолда аралашма декан, пропанол-2 ва пентадеканда қайта чўктирилди. Қайта чўктирилган моддалар таркибини текшириш мақсадида ЮССХ таҳлили амалга оширилди. Олинган натижаларга кўра ундеканда қайта чўктирилган бетулиннинг тозалик даражаси 96% дан юкори эканлиги, деканда қайта чўктирилган аралашма таркибида 72% ва пропанолда қайта чўктирилган аралашма таркибида эса 87% бетулин борлиги аниқланди.



3-расм. Ундеканда қайта чўктирилган бетулин ЮССХ таҳлили

Экстрактив моддалар йиғиндиси таркибидан моддаларни индивидуал ҳолда ажратиш мақсадида колонкали хроматография усулидан ҳам фойдаланилди. Колонкадан ажратиш олинган 13-17 элюентлар бирлаштирилиб эритувчиси учирилгандан кейин қолган бетулиннинг тозалик даражасини текшириш мақсадида ЮССХ таҳлили амалга оширилганда бетулиннинг тозалик даражаси 76% ни ташкил этди.

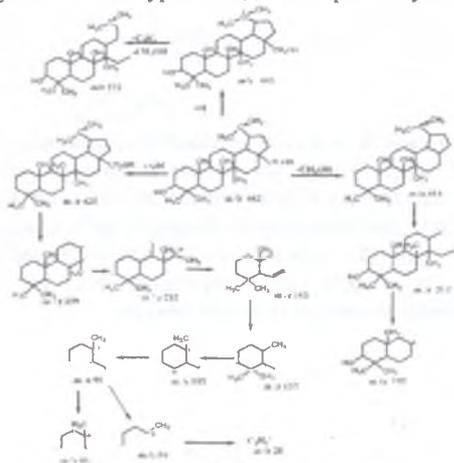


4-расм. Колонкали хроматографиядан олинган бетулиннинг ЮССХ таҳлили

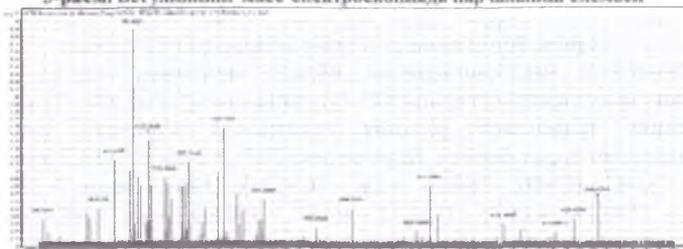
Экстракция қилиб тозаланган бетулиннинг УБ спектрида 215 нм соҳада ютилиш максимумини кузатиш мумкин. Бу ютилиш максимуми бетулин таркибидаги хромофор гуруҳ (қўш боғ), π-π ва n-π электрон ўтишлар ҳисобига юзага келади. Моддаларнинг УБ спектрини олишда эритувчи сифатида этил спирти ишлатилди. Бетулин таркибида 2 та –ОН гуруҳи, 5 та метил, 1 та изопропенил гуруҳлари ҳамда циклогексан ҳалқаси мавжуд. Бетулин моддаси учун энг характерли частоталардан ҳисобланган –ОН гуруҳининг 3351, 3380 cm^{-1} соҳаларда интенсив валент тебранишлари намоён бўлади.

Олинган бирикма LC-MS ва GC-MS усуллари ёрдамида текширилди. Натижалар шуни кўрсатадики бирикманинг молекуляр массаси 442 га тенг бўлиб, Масс-спектр натижаларига кўра бетулиннинг молекуляр иони учун 443 m/z га тенг сигнал мавжудлигини кўриш мумкин. Турли тўқнашишлар натижасида молекуляр ионининг парчаланиши ва қуйи молекуляр фрагментларга тегишли сигналлар ҳосил бўлиши кузатилди. Ушбу масс-

спектрларни тахлил қилиш натижасида ҳосил бўладиган қуйи молекуляр фрагментларни қуйида схема кўринишида тасвирлаш мумкин:



5-расм. Бетулиннинг масс-спектрокопияда парчаланиш схемаси

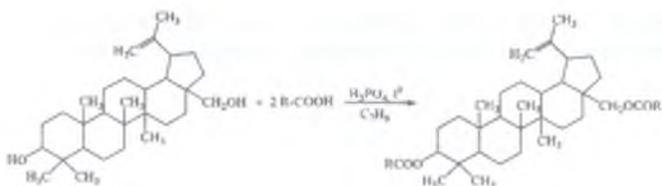


6-расм. Бетулиннинг LC-MS спектри

Бетулиннинг ЯМР-Н¹ спектрида 0.694 ppm; 0.758 ppm; 0.920 ppm ва 0.956 ppm соҳаларида сигнал ҳосил қилган бўлиб, бу соҳаларда молекуладаги турли 5 та метил гуруҳнинг сигналлари жойлашган. 1.6 ppm соҳадаги синглет сигнал С30 даги метил гуруҳга тегишли. Гидроксил гуруҳ ёнида жойлашган протон сигналлари бир-бирдан фарқ қилади. 3.33; 3.55; 3.97; 4.62 ва 4.78 ppm соҳалардаги сигналлар турли водород атомларига тегишлидир. Юқоридаги сигналлар адабиёт маълумотлари билан солиштирилганда, ушбу сигналлар бетулин моддасига тегишли эканлиги исботланди.

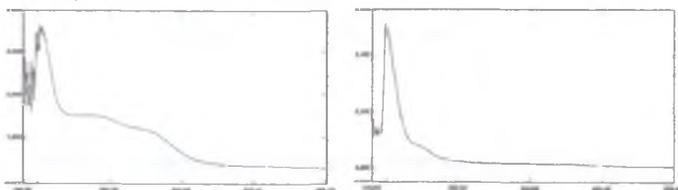
Бетулиннинг турли карбон кислоталар билан мураккаб эфирларини олиш

Бетулиннинг турли алифатик ва ароматик карбон кислоталари билан мураккаб эфирларини синтез қилиш ва тузилишларини ўрганиш ишлари амалга оширилди. Бетулин билан турли карбон кислоталари орасидаги этерификация реакцияси (H₃PO₄ катализаторлигида) қуйидаги схема бўйича амалга оширилди.



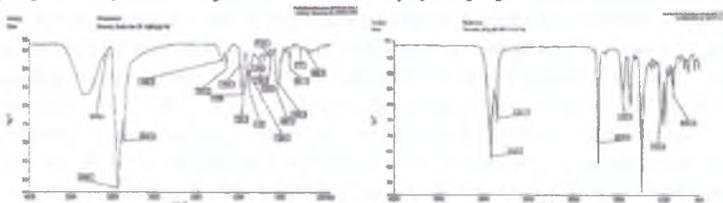
7-расм. Бетулиннинг мураккаб эфирлари синтези

Бетулиннинг сирка кислотаси билан реакцияси натижасида олинган бирикманинг УБ спектридан кўриш мумкинки, бетулин молекуласидаги 270 нм соҳадаги ютилиш максимумининг йўқолганлиги ҳамда, 240 нм соҳадаги ютилиш максимумининг гипсохром силжиши мураккаб эфир ҳосил бўлгандан далолат беради. Бу ўзгаришлар бетулин таркибидаги —OH гуруҳининг йўқолиши натижасида келиб чиқади.



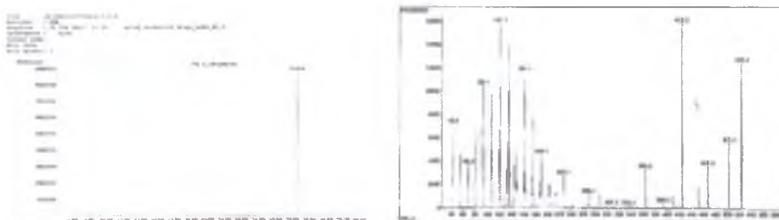
8-расм. Бетулиннинг ва бетулин диацетатнинг УБ спектри

ИК-спектр маълумотларидан кўриш мумкинки синтез қилинган мураккаб эфир таркибида эркин OH гуруҳига хос бўлган 3351.71 cm^{-1} соҳада сигналнинг чикмаслиги реакция натижасида мураккаб эфир ҳосил бўлганлигидан дарак беради. Шунингдек, $2921,3 \text{ v, cm}^{-1}$; $2853,3 \text{ v, cm}^{-1}$ (C—H); $1730,6 \text{ v, cm}^{-1}$ (C=O); $1641,6 \text{ v, cm}^{-1}$ (C=CH); $1461,4 \text{ v, cm}^{-1}$; 1373 v, cm^{-1} (C—C); $1226,14 \text{ v, cm}^{-1}$; $1151,11 \text{ v, cm}^{-1}$; $1026,6 \text{ v, cm}^{-1}$ (C—O—C) каби сигналларнинг мавжудлиги реакция натижасида бетулин диацетат ҳосил бўлганлигини кўрсатади 9-расм). Шунингдек, синтез қилинган бошқа эфирларнинг тузилишлари ҳам УБ ва ИК усуллар ёрдамида исботланди.



9-расм. Бетулиннинг ва бетулин диацетатнинг ИК спектри

Олинган маҳсулотнинг тузилиши GC-MS усулида ҳам ўрганилди. Масс-спектр натижаларидан бетулин диацетатнинг молекуляр иони учун 526 m/z га тенг сигнал мавжудлигини кўриш мумкин. Турли тўқнашишлар натижасида молекуляр ионининг парчаланиши ва қуйи молекуляр фрагментларга тегишли сигналлар ҳосил бўлиши кузатилди.



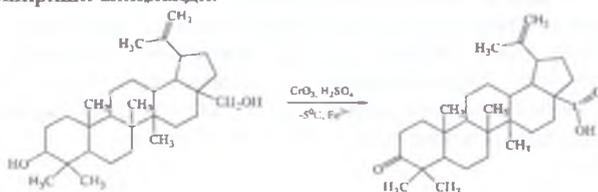
10-расм. Бетулин диацетатнинг хромато-масс спектри

Олинган натижалардан кўриш мумкинки реакция натижасида бетулин диацетат ҳосил бўлган.

Бетулиннинг оксидланиш маҳсулотларини олиш

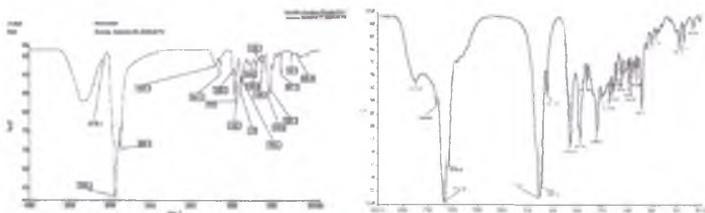
Бетулон кислота олишнинг энг қулай усули сульфат кислотанинг сувли эритмасини хром (VI) оксиди билан аралашмаси (Джонс реактиви)ни бетулинга таъсир эттирилганда олинган. Оксидлаш жараёни 1 соатдан 4 соатгача олиб борилди. Оксидловчи ва бетулин миқдорий нисбати еса 1:3 дан 1:7 нисбатгача ўзгартирилди. Барча тажрибалар -5°C ҳароратда олиб борилди. Оксидлаш вақтини 1 соатдан 4 соатгача ўзгартирилиши маҳсулот унумини 15.4 фоиздан 54.5 фоизгача оширди.

Хром оксидини бир мол бетулинга нисбатини 3 молдан 7 молгача оширилиши маҳсулот унумини 17.5 фоиздан 55 фоизгача ўзгартиради. Бунда оксидлаш вақти 5 соатдан 0.5 соатгача камаяди. Шунингдек реакция аралашмада катализатор сифатида Fe^{3+} тузларини ишлатилиши реакция унумини ошириши аниқланди.



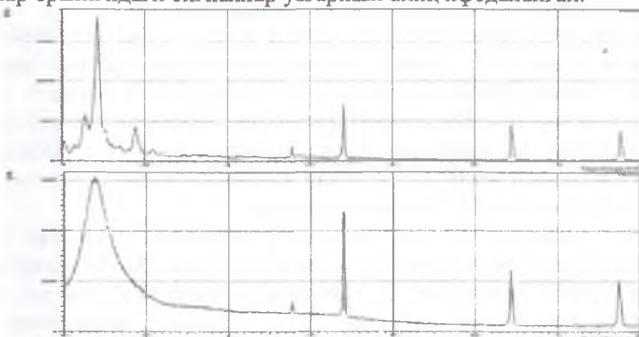
11-расм. Бетулинни CrO_3 билан оксидлаб бетулон кислота олиш

УБ спектроскопия натижаларидан кўриш мумкинки, бетулин учун характерли бўлган 215 нм соҳадаги максимум интенсивлиги камайган, бетулинда интенсивлиги кам бўлган 245 нм ва 270 нм соҳалардаги янги ютилиш максимумларининг гипсохром силжиши кузатилганлигини кўриш мумкин. Олинган бирикманинг ИҚ-спектридан кўриш мумкинки дастлабки моддада кузатилмаган $1705,64\text{ см}^{-1}$ соҳадаги карбонил гуруҳига хос ($\text{C}=\text{O}$ боғига) тегишли сигналлар кузатилганлиги, шунингдек $3395,25\text{ см}^{-1}$ соҳадаги $-\text{OH}$ гуруҳига хос сигналларнинг ҳамда $1641,2\text{ см}^{-1}$ соҳадаги $\text{C}=\text{C}$ боғига хос сигналларнинг мавжудлиги бетулон кислота ҳосил бўлганидан далолат беради.



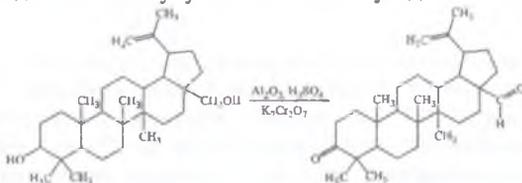
12-расм. Бетулин ва бетулон кислотанинг ИҚ спектри

Синтез қилинган бирикманинг рентген таҳлили олинди. Олинган натижалардан кўриш мумкинки, бетулин учун характерли бўлган 10-20 кийматлар оралиғидаги сигналлар ўзгариши аниқ ифодаланган.



13-расм. Бетулинининг ва бетулон кислотанинг рентген таҳлили

Бетулон алдегида олишда ҳам махсус усуллар мавжуд бўлиб, биз кучли оксидловчилар (Al_2O_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2SO_4) иштирокида оксидлаш жараёнини амалга оширдик. Адабиётлардан маълумки бу усулда оксидланиш маҳсулотларининг нисбати вақтга боғлиқ бўлиб, 20-60 минут атрофида бетулон алдегиднинг чиқиш унуми 60% га тенг бўлади.

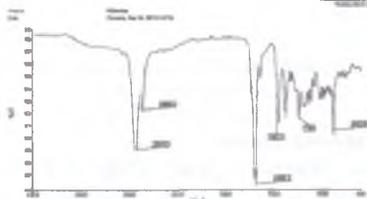


14-расм. Бетулидан бетулон алдегида олиш

Шу усулда 20-50 минут оралиғида оксидлаб олинган аралашма колонкали хроматография ёрдамида таркибий қисмларга ажратилди. Бунда асосан 3 хил маҳсулотлар борлиги аниқланди. Асосий таркибий қисми (58%, $R_f=0.67$) ажратилиб тузилиши ўрганилди.

Синтез қилиб олинган бетулон алдегидининг ИҚ-спектридан кўриш мумкинки, бетулин моддасидаги кузатилмаган $1705,64 \text{ см}^{-1}$ соҳадаги карбонил гуруҳига ҳос ($\text{C}=\text{O}$ боғига) тегишли сигналлар мавжудлиги, шунингдек $3395,25 \text{ см}^{-1}$ соҳадаги $-\text{OH}$ гуруҳига ҳос сигналларнинг йўқолганлиги ҳамда $1641,2 \text{ см}^{-1}$ соҳадаги $\text{C}=\text{C}$ боғига ҳос сигналларнинг

мавжудлиги бетулон алдегида ҳосил бўлганидан далолат беради. Шунингдек, бетулон алдегидининг тузилишини исботлаш мақсадида хромато-масс спектроскопия усули ёрдамида ўрганилди. Масс-спектр натижаларига кўра бетулон алдегидининг молекуляр иони учун 439 m/z га тенг бўлган сигнал мавжудлигини кўриш мумкин. Турли тўқнашишлар натижасида молекуляр ионининг парчаланиши ва куйи молекуляр фрагментларга тегишли сигналлар ҳосил бўлиши кузатилди. Бу маълумотлар асосида реакция натижасида бетулон алдегида ҳосил бўлган деган хулосага келиш мумкин.



15-расм. Бетулон алдегидининг ИК спектри

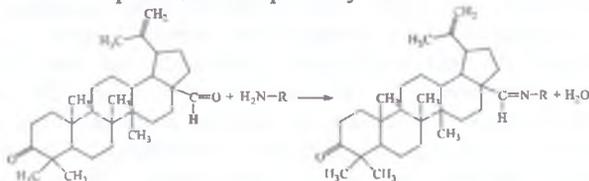


16-расм. Бетулон алдегидининг MS спектри

Бетулон алдегида асосида Шифф асослари синтези.

Бугунги кундаги кўплаб илмий тадқиқотлар таркибида N сакловчи лупан ҳосилалари: амидлар, нитриллар, оксимлар ва аминокислоталар олиш билан боғлиқ. Бетулиннинг оксо-ҳосилалари ва уларнинг N-сакловчи моддалар билан модификациялари кимёвий фармацевтика саноати учун муҳим аҳамиятга эга.

Бетулон алдегидининг янги азотетинли ҳосилаларини синтез қилишни куйидагича схематик равишда тасвирлаш мумкин:

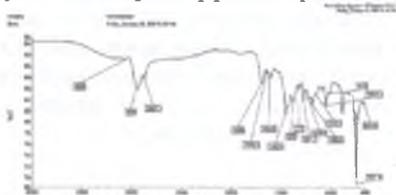


17-расм. Бетулон алдегида Шифф асослари синтези

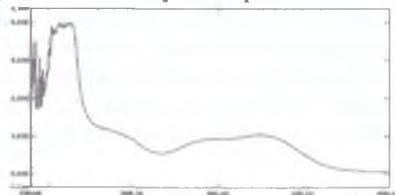
Бу ерда R = ароматик, гетероциклик бирикмалар ва глюкозамин. Синтез қилинган янги бирикмаларнинг баъзи физик-кимёвий константалари ўрганилди.

Бетулон алдегидининг анилин билан ҳосил қилган Шифф асоси УБ-спектрида 246 нм соҳада, 330 нм соҳада ҳамда 439 нм соҳада ютилиш максимумларини кўриш мумкин. Бетулон альдегида УБ-спектридаги 235 нм соҳада кузатилган ютилиш максимуми Шифф асосида 246 нм соҳага, 289 нм соҳадаги ютилиш максимуми 330 нм соҳага батахром силжиганини кузатишимиз мумкин. Синтез қилиб олинган бетулон алдегидининг анилин билан Шифф асоси ИК-спектрида $3479\text{--}3340\text{ см}^{-1}$ -NH_2 гуруҳга тегишли бўлган ютилиш максимумларининг яққол ўзгарганлигини кўришимиз мумкин. Бетулон альдегида спектрида кузатилган -CHO гуруҳига тегишли 1702 см^{-1} даги валент тебраниш интенсивлигини камайиши ва 1693 см^{-1}

сохага сурилиши, дастлабки моддада мавжуд бўлмаган 1610 см^{-1} сохада -CH=NH- ва =CH-NH- гурухлари хос бўлган валент тебранишлари кузатилди. Бу янги боғлар Шифф асослари ҳосил бўлганидан маълумот беради.



18-расм. Бетулон алдегидининг анилин билан ҳосил қилган Шифф асоси ИҚ спектри

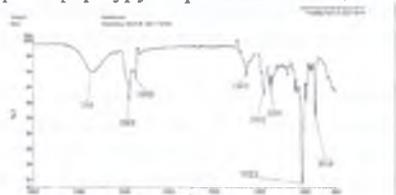


19-расм. Бетулон алдегидининг анилин билан ҳосил қилган Шифф асоси УБ спектри

Бетулиннинг сувда эрувчан шакллари олиш

Бетулини сувда эрувчан ҳолатга ўтказиш учун, ПВП, ГКМАТ, декстрин, Na-КМЦ каби ташувчилар билан 1:2, 1:4 масса (декстрин, Na-КМЦ, ПВП) ҳамда 1:2, 1:4, 1:9 мол (ГКМАТ) нисбатда супрамолекуляр комплекслари синтез қилинди.

Бетулиннинг ИҚ спектридаги 3400 см^{-1} сохадаги -ОН гуруҳига тегишли бўлган ютилиш чўққисининг супрамолекуляр комплекс ИҚ спектрида 3355 см^{-1} сохага сурилганини ва чўққилар орасидаги масофанинг кенгайганини кўришимиз мумкин. Шунингдек 2930 см^{-1} ва 2867.6 см^{-1} сохадаги ютилиш чўққисининг ҳам кенгайиб сигнал берганини кузатиш мумкин. Бетулин ИҚ спектридаги 1642 см^{-1} сохадаги ютилиш чўққисининг супрамолекуляр комплекс спектрида 1644 см^{-1} сохага сурилгани, шунингдек, бетулин ИҚ спектридаги 1027 см^{-1} даги соха супрамолекуляр комплекс спектрида интенсив ҳолатда намоён бўлганлигини кўриш мумкин. Бетулиннинг ГКМАТ билан 1:4 мол нисбатдаги супрамолекуляр комплексининг УБ спектридан кўриш мумкинки, бетулин молекуласидаги 210 нм сохадаги ютилиш максимумининг гипсохром силжиши ва интенсивлигини ортганлиги, 240 нм сохадаги ютилиш максимумининг интенсивлиги ортиши реакция кетганлигидан далолат беради. Бу ўзгаришлар ГКМАТ таркибидаги хромофор гуруҳлар билан боғлиқ.



20-расм. Бетулиннинг ГКМАТ билан 1:4 мол нисбатдаги супрамолекуляр комплекси ИҚ-спектри



21-расм. Бетулиннинг ГКМАТ билан 1:4 мол нисбатдаги супрамолекуляр комплекси УБ-спектри

Бетулиннинг ГКМАТ билан 1:2 ва 1:4 мол нисбатларидаги супрамолекуляр комплексларининг ЮССХ таҳлиллари олинди. Олинган натижалар, супрамолекуляр комплекслар асосан бетулин ва ГКМАТ лардан

иборат эканлигини кўрсатди.



22-расм. Бетулиннинг ГКМАТ билан 1:4 мол нисбатдаги супрамолекуляр комплекси ЮССХ таҳлили

Бетулиннинг Fe^{2+} аскорбат ёрдамида чакирилган митохондрия мембранасида липидларнинг пероксидли оксидланиш жараёнига таъсирини ўрганишда тадқиқот объекти сифатида каламуш жигари митохондриялари суспензиясидан фойдаланилди. Липидларнинг пероксидли оксидланиши (ЛПО) муҳитга аскорбат ва $FeSO_4$ киритиш орқали юзага келтирилди. Модданинг антиоксидант хусусияти даражаси ҳақида малон диальдегиди йиғилиши асосида фикр юритилди.

Бетулиннинг максимал даражадаги ингибирловчи таъсири 10 мкМ концентрацияда 30 минут давомида кузатилиб, оксидланиш индукторлари мавжуд ҳолатдаги ЛПО нинг 100% деб олинган назорат гуруҳига нисбатан 72,8% ни ташкил қилди.

***In vitro* шароитида сувда стресс ҳолати юзага келтирилганда бетулиннинг антиоксидант фаоллигини ўрганиш**

Бетулиннинг *In vitro* шароитида ўтказилган тажрибаларда антиоксидант таъсири унинг малон диальдегиди йиғилишга таъсири орқали баҳоланиб, унинг каталаза фаоллигига таъсири бўйича хулоса чиқарилди.

Назоратга нисбатан стресс чакирилган тажриба гуруҳида малон диальдегидининг миқдори 127% га ортиши кузатилди. Тажриба ҳайвонлари озуқа рационини таркибига антиоксидант сифатида бетулиннинг киритилиши натижасида тажриба гуруҳи ҳайвонлари жигар хужайраларида малон диальдегиди миқдори стрессга нисбатан 62% ни ташкил қилиши аниқланди.

Бетулиннинг *in vitro* шароитида ўтказилган тажрибаларда антиоксидант таъсири унинг малон диальдегиди йиғилишга таъсири орқали баҳоланди. Тажрибаларда бетулиннинг 100 мкг/г туқимага нисбатан олинган спиртли эритмасидан фойдаланилди. Бунда кўрсаткичлар қиймати оксидланишли стресс чакирилган лаҳзадан бошлаб 30 минутда қайд қилинди.

Хулосалар

“*Betula pendula* таркибидан бетулин ажратиб олиш, оптималлаш ва айрим ҳосилалари синтези” мавзусидаги диссертация иши бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар қилинди:

1. Илк мартаба республикаимиз ҳудудида ўсувчи *Betula pendula* Roth ўсимлиги пўстлоғидан бетулин ажратиб олинди, экстракцияда турли хил кутбли эритувчилардан фойдаланилганда, тозалик даражаси жиҳатидан

бутанол-2, унум жихатидан 96% ли этанол эритмаси энг яхши натижа бериши аникланди;

2. Экстракция жараёнида энг оптимал вақт 3 соат, эритувчи миқдори 1:20 гидромодулда унум энг юқори бўлиши, экстракт таркибидан бетулинни тозалашда қайта чуқтириш усули яхши натижа бериши, энг яхши қайта чуқтирувчи эритувчи эса ундекан эканлиги аникланди;

3. Чикинди сувлардан кобальт (II) ва никел (II) ни чуқтиришда органик реагент сифатида қўлланилиши мумкин бўлган бетулон алдегидининг аминокантипирин ва 2-амино, 4-нитропиридин билан Шифф асослари синтез қилинди ҳамда «Ўзбекнефтгаз» АЖ «Муборак газни қайта ишлаш заводи»да дастлабки сновдан ўтказилди («Муборак газни қайта ишлаш заводи»нинг 30.08.2021 йилдаги 822/ГК-08 сонли маълумотномаси). Натижада чикинди сувлар таркибидаги кобальт (II) ва никел (II) ионларини чуқтиришда органик реагент сифатида қўллашга тавсия этилди.

4. Бетулиндан бетулон кислота олишда Джонс реактиви билан оксидлаш энг яхши натижа бериши, бунда реакция унуми оксидловчи реагент миқдорига боғлиқлиги ўрганилди ҳамда илк мартаба ушбу реакцияда Fe^{3+} ионлари катализатор сифатида қўлланилганда унум юқори бўлиши аникланди;

5. Бетулин асосида олинган бирикмаларнинг ва бетулон алдегиди Шифф асосларининг биологик фаоллиги PASS дастури ёрдамида online ҳисоб-китоб қилинди, олинган маълумотлар тажрибада натижаларига пропорционаллиги ўрганилди. Бу ҳисоб-китоблар келажакда қимматбаҳо реагентларни иқтисод қилиш ва доривор препаратлар олишга кетадиган вақтни тежаш имконини беради.

6. Илк мартаба бетулиннинг турли сувда эрувчан бирикмалар билан супрамолекуляр комплекслари синтез қилинди, уларнинг таркиби ва тузилиш турли физик-кимёвий усуллар билан ўрганилди. Олинган бирикмалардан биологик фаоллиги юқори бўлган бетулин моддасини тиббиёт ва фармакологияда ишлатиш имкониятини янада оширишда фойдаланиш мумкин.

7. *In vitro* шароитида амалга оширилган тажрибаларда « Fe^{2+} – аскорбат» тизимига боғлиқ оксидланишли стресс шароитида бетулин эркин радикаллар ҳосил бўлишини сусайтириши, тажриба хайвонларига бетулин берилиши натижасида малон диальдегиди концентрацияси сезиларли даражада камайиши, *In vivo* шароитида амалга оширилган тажрибаларда оқ қаламушларда сувда сузишга боғлиқ стресс чақирилган шароитда ҳам эркин радикалларга боғлиқ оксидланиш жараёни фаоллиги бетулин таъсирида сусайиши қайд қилинди, бу ҳолат жигар хужайраларида бетулин таъсирида малон диальдегиди концентрацияси камайиши орқали тасдиқланди (Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2021 йил 4 февралдаги 89-03-1211 рақамли маълумотномаси).

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
PhD.03/30.12.2019.К.05.01 ПРИ ФЕРГАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ
УНИВЕРСИТЕТЕ**

ФЕРГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ТУРГУНБАЕВ ШАВКАТЖОН ШУХРАТЖОН УГЛИ

**ВЫДЕЛЕНИЕ, ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БЕТУЛИНА ИЗ
BETULA PENDULA И СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ**

02.00.10-Биоорганическая химия

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

Фергана - 2021 год

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2021.1.PhD/К370.

Диссертация выполнена в Ферганском государственном университете.

Автореферат диссертации на трёх языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета (www.fdu.uz) и Информационно-образовательном портале Ziyonet (www.ziyonet.uz).

**Научный
руководитель:**

Хантбаев Алишер Хамидович
доктор химических наук, профессор

**Официальные
оппоненты:**

Абдуллаев Шавкат Вахидович
доктор химических наук, профессор

Назаров Отабек Мамадалиевич
доктор философии по химическим наукам (PhD)

**Ведущая
организация:**

Наманганский государственный университет

Защита диссертации состоится « 13 » 11 2021 г. в 19⁰⁰ часов на заседании Научного совета PhD.03/30.12.2019.К.05.01 при Ферганском государственном университете. (Адрес: 150100, г. Фергана, ул. Мураббийлар, 19. Тел: (+99873) 244-44-02, Факс: (+99873) 244-44-93, e-mail: fardu_info@umail.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ферганского государственного университета (зарегистрирован за 160 (Адрес: 150100, г. Фергана, ул. Мураббийлар, 19. Тел: (+99873) 244-44-02. факс: (+99873) 244-44-93).

Автореферат диссертации разослан « 1 » 11 2021 года.
(реестр протокола рассылки № 7 от 1.11 2021 г.).




В. У. Хужаев
Председатель научного совета
по присуждению учёных степеней
д.х.н., профессор


М. Нишонов
Учёный секретарь научного
совета по присуждению учёных степеней
к.т.н., профессор


Ш. В. Абдуллаев
Председатель научного семинара
при научном совете по присуждению
учёных степеней д.х.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Сегодня, когда в мире стремительно развивается медицина, выделение лекарственных веществ из состава растений и создание на их основе лекарственных средств, которые оказывают эффективное действие и не имеют побочных эффектов имеет важное значение. В то же время при лечении различных заболеваний, вещества, выделенные из растений по сравнению с синтетически полученными веществами, характеризуются высокой биологической активностью, низким уровнем токсичности и отсутствием побочных эффектов. Поэтому выделение соединений с высокой активностью, получение на их основе новых лекарственных средств из производных, полученных модификацией природных соединений, имеет особое значение.

В мире проводятся научные исследования по выделению биологически активных природных веществ. В связи с этим особое внимание уделяется совершенствованию методов выделения природных метаболитов, разделению биологически активных веществ новыми методами, получению новых N-содержащих продуктов и водорастворимых супрамолекулярных комплексов с различными водорастворимыми соединениями, особое внимание в терапии заболеваний уделяется применению препаратов на основе тритерпеноидов лупанового ряда.

В нашей республике проводятся широкомасштабные мероприятия по выделению новых биологических соединений на основе местного сырья, синтезу новых производных путем их модификации, созданию на их основе различных противоопухолевых препаратов. В стратегии действий, направленных на дальнейшее развитие Республики Узбекистан, определены важные задачи, направленные на "Производство готовой продукции с высокой добавленной стоимостью на основе глубокой переработки местных сырьевых ресурсов, усвоению новых видов продукции и технологий, обеспечение конкурентоспособности национальных товаров на внутреннем и внешнем рынках²". В связи с этим важное значение имеет синтез на основе бетулина препаратов, применяемых против вирусов и бактерий, вызывающих различные инфекционные заболевания и применение их в медицине.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», ПП-3983 от 25 октября 2018 года "О мерах по ускоренному развитию химической промышленности Узбекистана", УП-4265 от 3 апреля 2019 года "О дальнейшем реформировании химической промышленности и повышении инвестиционной привлекательности", а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования с приоритетными направлениями

²Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Узбекистана VI. Химические технологии и нанотехнологии.

Степень изученности проблемы. Согласно научным источникам учёные всего мира, такие как Г.А.Толстиков, О.Б.Флехтер, Э.Э.Шульд, А.Г.Толстиков, В.А.Левданский, А.В.Левданский, Б.Н.Кузнецов, Т.И.Когай, Е.С.Курбатов, С.В.Курбатов, С.А.Кузнецова, К.Т.Chue, M.S.Chang, L.N.Ten, D.M.Zhang, H.G.Xu, L.Wang, Y.J.Li, P.H.Sun, X.M.Wu, G.J.Wang, W.M.Chen, W.C.Ye, M.C.Юнусов, Д.Н.Далимов, А.Х.Хаитбаев занимались получением бетулина и его многочисленных производных, изучением их строения, физико-химических свойств и биологической активности и до сих пор исследования в этой области продолжают.

В научной литературе приведены данные о строении бетулина, синтезе его производных, физико-химических свойствах и биологической активности.

Однако экстракция бетулина некоторыми растворителями, пространственное положение, получение сложных эфиров с некоторыми карбоновыми кислотами и изучение их свойств, а также синтез, структура, физико-химические свойства и биологическая активность супрамолекулярных комплексов оснований Шиффа, полученных на основе бетулонового альдегида и водорастворимых соединений бетулина, недостаточно изучены.

Учитывая это выделение бетулина, обладающего рядом биологических активностей с использованием новых методов, получение его сложных эфиров, новых N-содержащих производных, водорастворимых супрамолекулярных комплексов с различными водорастворимыми соединениями (МАСГК, ПВП, декстрин, Na-КМЦ) и проведение исследований в направлении создания на их основе лекарственных средств, обладающих широким терапевтическим действием, имеет научно-практическое значение.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.

Диссертационное исследование выполнено согласно плану научно-исследовательских работ Национального университета Узбекистана в рамках фундаментального проекта Ф-6-05 «Изучение механизма действия новых производных полифенолов и тритерпеноидов против патогенных бактерий, резистентных к действию антибиотиков» (2012-2016 гг.)

Целью исследования является оптимизация методов выделения вещества бетулина из состава *Betula pendula* Roth с использованием различных растворителей и синтеза некоторых производных бетулина.

Задачи исследования:

Выделение бетулина из состава растения *Betula pendula* Roth, растущего на территории Узбекистана с использованием различных методов, выбор оптимального метода;

изучение состава извлеченных экстрактов методами ТСХ и ВЭЖХ.

повторное осаждение бетулина из добавок и очистка методами колоночной хроматографии;

получение сложных эфиров бетулина с дизамещенными алифатическими и ароматическими карбоновыми кислотами, получение комплексов с МАСГК, ПВП, Na-КМЦ и декстринами в различных соотношениях;

синтез бетулоновой кислоты и бетулонового альдегида окислением бетулина различными способами;

химическая модификация бетулонового альдегида некоторыми соединениями, содержащими группу NH_2 ;

изучение индивидуальности, структуры и некоторых физико-химических свойств синтезированных сложных эфиров, супрамолекулярных комплексов и оснований Шиффа с использованием ТСХ, ВЭЖХ, ИК, УФ, LC-MS, GC-MS и рентгеновских методов;

проведение квантово-химических расчетов с использованием эмпирического метода программы ChemOffice (MM2) и полуэмпирического метода программы Hyperchem (PM3, RM1, AM1) с целью теоретического изучения пространственной структуры бетулина и некоторых производных;

исследование влияния бетулина на процесс перекисного окисления липидов в митохондриальной мембране под действием аскорбата Fe^{2+} .

В качестве объекта исследования были выбраны *Betula pendula* Roth, бетулин, алифатические, ароматические и гетероциклические первичные амины различной природы, моноаммониевая соль глицерризиновой кислоты (МАСГК) и продукты модификации бетулина.

Предметом исследования являются химические изменения, супрамолекулярные комплексы, структуры, компьютерное моделирование, сложные эфиры, реакционная способность и изучение биологической активности.

Методы исследования. При получении результатов исследования были использованы методы фильтрации, очистки, перекристаллизации, хроматография (ВЭЖХ, ТСХ, ЖХ, ГХ), УФ-, ИК-спектроскопия, квантово-химические расчёты (ChemOffice (MM2), Hyperchem (PM3, RM1, AM1), PASS online) и биологические методы исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Впервые выделен бетулин из растущего на территории Узбекистана растения *Betula pendula* Roth с помощью различных растворителей и оптимизированы условия экстракции;

определено, что для максимального выхода бетулина из экстракта наилучшим является 96% этанол, по степени чистоты бетулина в экстракте самым наилучшим растворителем является бутанол-2;

методом ВЭЖХ доказано, что при выделении бетулина с помощью этанола количество веществ в экстракте меньше;

синтезированы водорастворимые супрамолекулярные комплексы бетулина с различными веществами (МАСГК, ПВП, Na-КМЦ и декстрин);

в результате окисления бетулина реактивом Джонса в присутствии

катализатора Fe^{3+} синтезирована бетулоновая кислота с большим выходом; синтезированы 10 новых оснований Шиффа бетулонового альдегида с первичными аминами различной природы (ароматическими и гетероциклическими);

Практические результаты исследования:

впервые разработан эффективный способ извлечения методом экстракции бетулина из состава растения *Betula pendula* Roth, растущего на территории нашей республики;

определены самые лучшие растворители для максимального выхода и степени чистоты выделенного бетулина, и предложен удобный метод очистки бетулина из состава экстракта;

в целях еще большего расширения области применения выделенного бетулина были синтезированы его водорастворимые формы, строение которых изучено методами УФ-, ИК-спектроскопии и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ);

учитывая, что N (азот)-содержащие соединения бетулина мало изучены и их биологическая активность высокая, из бетулонового альдегида, полученного на основе бетулина, были синтезированы 10 новых оснований Шиффа.

Достоверность результатов исследования проанализированы и доказаны на основе методов современной хроматографии: (ТСХ, ВЭЖХ), УФ-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, рентген-дифрактометрии, квантово-химическими расчётами (ChemOffice (MM2) Hyperchem (PM3, RM1, AM1), PASS online), биологическими и другими методами анализа.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что на количество и состав экстракта, извлекаемого при экстракции бетулина из растения, влияют количество, концентрация растворителя и время экстракции; для выделения чистого бетулина эффективным является метод пересадки; определены основные факторы, влияющие на процесс синтеза бетулоновой кислоты, сложных эфиров, супрамолекулярных комплексов на основе бетулина.

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что методом экстракции из состава растения *Betula pendula* (Roth), растущего на территории нашей республики, выделен бетулин, оптимизирован процесс экстракции, антиоксидантный эффект выделенного бетулина позволяет разработать методы определения ионов кобальта (II) и никеля (II) в сточных водах с использованием оснований Шиффа, образованных бетулоновым альдегидом с аминокантипирином и 2-амино, 4-нитропиридином.

Внедрение результатов исследования. На основе научных результатов, полученных по бетулину, выделенного из растения *Betula pendula* Roth различными методами и его модификации разными способами:

основания Шиффа бетулонового альдегида с аминокантипирином, и 2-амино-4-нитропиридином были внедрены в практику АО "Мубарекского газоперерабатывающего завода" (Справка № 822/ГК-08 "МГПЗ" от 30 августа

2021 года). В результате выявлена возможность определения ионов кобальта (II) и никеля (II) в сточных водах;

результаты исследования влияния митохондрии мембраны на процесс пероксидного окисления бетулина, вызванного Fe^{2+} аскорбатом, использованы в рамках фундаментального проекта Ф-6-05 «Изучение механизма действия новых производных полифенолов и тритерпеноидов против патогенных бактерий, резистентных к действию антибиотиков» (Справка МВССО РУз № 89-03-1211 от 4 февраля 2021 года). В результате действие бетулина на экспериментальных белых крысах могло ослабить активность процесса свободнорадикального окисления даже в условиях, вызванных стрессом, связанным с плаванием.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования были представлены и обсуждены на 13, в том числе 5 международных и 8 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации изданы 19 научных работ, в том числе в научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных результатов научных исследований диссертаций доктора философии (PhD) 6 научных статей, из них 3 в республиканских и 3 в международных изданиях.

Строение и объём диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы, приложения. Объём диссертации составляет 113 печатных страниц.

Основное содержание диссертации

Во введении обоснована актуальность и необходимость темы диссертации, изложены цели и задачи диссертации, описаны объект и предмет исследования, соответствие исследования приоритетным направлениям науки и технологий Республики Узбекистан, изложены научная новизна и практическое значение исследования, раскрыты научные и практические значения исследования, приведены данные по внедрению результатов исследования, количестве опубликованных работ, строению диссертации.

В первой главе диссертации под названием **"Бетулин: строение, свойства, некоторые производные (обзор литературы)"** приводится информация о природе бетулина, методах его извлечения из природных источников, обзор литературы о его структуре и свойствах, приведены данные о производных бетулина и физико-химических свойствах, биологической активности их синтеза.

Согласно результатам анализа, бетулин и большинство его производных обладают антиоксидантными, гепатопротекторными свойствами, имеет активность против вируса ВИЧ и многих грибов. Представлены результаты и выводы по использованию супрамолекулярных химических методов при создании низкодозированных препаратов, где лекарственные средства переводятся в водорастворимую форму, что приводит к увеличению биологической активности в несколько раз.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **"Разделение бетулина, оптимизация и синтез некоторых производных, анализ их структуры и биологической активности (анализ полученных результатов)"**, описаны процессы выделения бетулина из состава растений *Betula pendula*, растущего в горных районах нашей республики, оптимизация метода выделения, синтез сложных эфиров с ароматическими и алифатическими карбоновыми кислотами, получение продуктов окисления бетулина, синтез оснований Шиффа бетулонового альдегида с аминосоединениями, получение комплексов ПВП и МАСГК, определение их структуры физико-химическими методами.

Для выделения бетулина из коры растения *Betula pendula* использована белая береза, растущая в Заминском районе нашей республики. Высушенную измельченную кору экстрагировали такими растворителями, как этанол, пропанол-1, пропанол-2, бутанол-1, бутанол-2, изобутиловый спирт, изоамиловый спирт и ацетон. На основании проведенных экспериментов было установлено, что выход разделения бетулина был выше при использовании этанола в качестве растворителя. В последующих работах был оптимизирован процесс экстракции этанолом. Установлено, что при экстракции этанолом выход бетулина будет высоким. При времени экстракции 3 часа, концентрации растворителя 96 %, при соотношении количества этанола гидромодуля 1:20 можно получить оптимальный результат.

Выход выделенных экстрактов, температура плавления, состав были изучены методами ТСХ, ВЭЖХ.

Таблица 1

Результаты экстракции различными растворителями

№	Растворитель	Масса экстракта (г)	Количество бетулина (%)	R _f	T _{плавл} °С
1	Этанол	36	56	0.35	232-234
				0.56	
				0.70	
2	Ацетон	28	68	0.37	235-237
				0.55	
3	Пропанол-1	26	72	0.23	242-245
				0.56	
4	Пропанол-2	17	74	0.25	243-244
				0.55	
5	Бутанол-1	11	83	0.55	255-256
6	Бутанол-2	17.5	89	0.56	258-260
7	Изобутиловый спирт	14	84	0.56	256-258
8	Изоамиловый спирт	10	71	0.30	236-239
				0.56	

Из полученных результатов видно, что из растворителей, используемых в процессе экстракции, этанол по выходу, бутанол-2 по степени чистоты бетулина дают хороший результат. Также было обнаружено, что экстракт, полученный с использованием этанола, содержит меньше добавок, чем экстракты, выделенные в других растворителях.

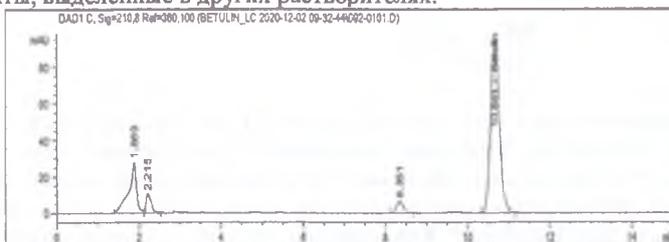


Рисунок 1. ВЭЖХ – анализ экстрактивного вещества, полученного в этаноле

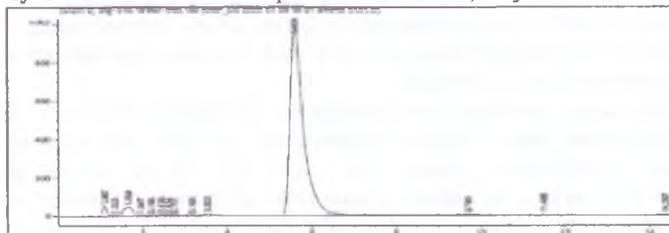


Рисунок 2. ВЭЖХ-анализ экстрактивного вещества полученного в бутанол-2.

При экстракции в этаноле, для выделения бетулина в чистом состоянии использовались методы повторного осаждения и колоночной хроматографии. Для начала смесь переосаждали в декане, пропанол-2 и ундекане. Для изучения состава переосажденных веществ был сделан анализ результатов ВЭЖХ. По полученным данным выявлено, что при осаждении в ундекане степень чистоты бетулина достигает 96%, количество бетулина в смеси, переосажденном в декане -72%, в пропанол-2 -87%.



Рисунок -3. Анализ ВЭЖХ бетулина, переосажденного в ундекане

Для выделения индивидуальных веществ из состава экстрактивных веществ использовали метод колоночной хроматографии. Элюенты 13-17, выделенные из колонки, соединили и выпарили растворитель, затем проанализировали степень чистоты методом ВЭЖХ, степень чистоты бетулина составил 76%.

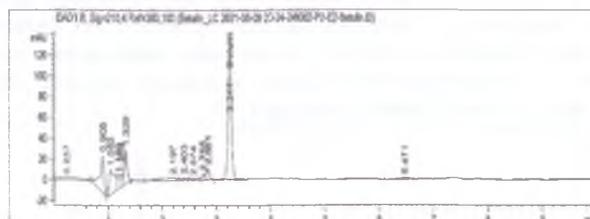


Рисунок -4. ВЭЖХ анализ бетулина, полученная колоночной хроматографией.

В УФ-спектре бетулина, очищенного экстракцией при 215 нм наблюдается максимум поглощения. Этот максимум поглощения возникает за счёт хромофорных групп (двойная связь), л-л и п-л электронных переходов. Для получения УФ-спектров веществ в качестве растворителя используют этиловый спирт. В составе бетулина имеются 2 –ОН-группы, 5 метильных групп, 1 изопропенильная группа и циклогексановый цикл. Для вещества бетулин самой характерной частотой является валентные колебания –ОН группы при 3351, 3380 см^{-1} .

Полученную комбинацию проверяли с помощью методов LC-MS и GC-MS. Результаты масс-спектра показывают, что для молекулярного иона бетулина наблюдается сигнал при 443 м/з. В результате различных столкновений произошел распад молекулярных ионов и появились сигналы, соответствующие низкомолекулярным фрагментам. Низкомолекулярные фрагменты, образовавшиеся в результате анализа этих масс-спектров, можно описать следующей схемой:

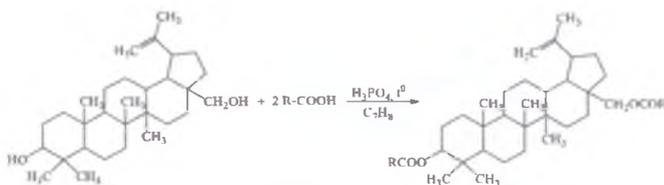


Рисунок -7. Синтез сложных эфиров бетулина

Можно увидеть со УФ-спектра соединения, полученного реакцией бетулина и уксусной кислоты, максимум поглощения при 279 нм, принадлежащий молекуле бетулина исчез, а гипсохромный сдвиг максимума поглощения при 240 нм указывает на образование сложного эфира. Эти изменения происходят за счёт исчезновения $-\text{OH}$ групп.

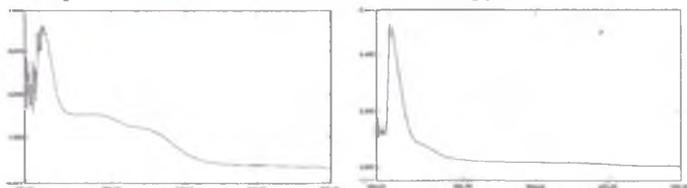


Рисунок -8. УФ-спектр бетулина и диацетата бетулина

По данным ИК-спектров можно увидеть, что сигнал в области $3351,71 \text{ см}^{-1}$, принадлежащий свободной $-\text{OH}$ группе, в спектре сложного эфира не наблюдается, что указывает на образование сложного эфира. Так же наличие сигналов при $2921,3 \text{ в, см}^{-1}$; $2853,3 \text{ в, см}^{-1}$ ($\text{C}-\text{H}$); $1730,6 \text{ в, см}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$); $1641,6 \text{ в, см}^{-1}$ ($\text{C}=\text{CH}$); $1461,4 \text{ в, см}^{-1}$; 1373 в, см^{-1} ($\text{C}-\text{C}$); $1226,14 \text{ в, см}^{-1}$; $1151,11 \text{ в, см}^{-1}$; $1026,6 \text{ в, см}^{-1}$ ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) указывает на образование диацетата бетулина (рисунок 9). Структура других сложных эфиров так же были установлены методами УФ и ИК спектроскопии.

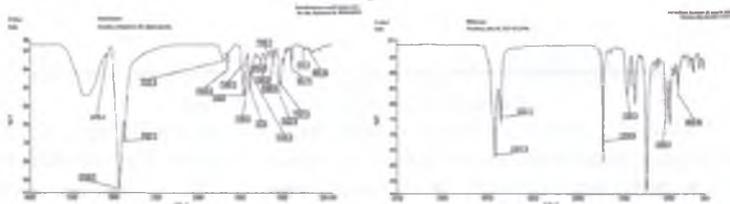


Рисунок -9. ИК спектр бетулина и диацетата бетулина

Строение полученного вещества изучен методом GC-MS. Из данных масс-спектрометрии можно увидеть сигнал при 526 m/z , принадлежащий молекулярному иону диацетата бетулина. Из полученных данных можно увидеть, что в результате реакции образуется диацетат бетулина.

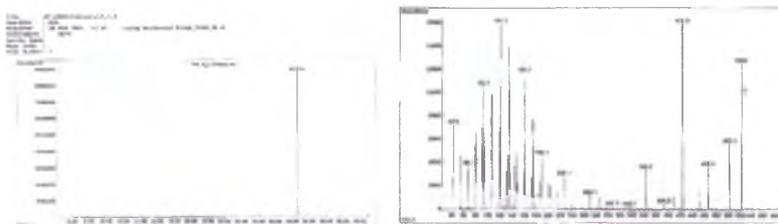


Рисунок -10. Хромато-масс спектр диацетата бетулина.

Получение продуктов окисления бетулина.

Наиболее удобный способ получения бетулоновой кислоты был получен путем смешивания водного раствора серной кислоты с оксидом хрома (VI) (реакция Джонса) с бетулином. Процесс окисления занял от 1 часа до 4 часов. Количественное соотношение окислителя и бетулина было изменено с 1:3 до 1: 7. Все эксперименты проводились при температуре -5°C . Изменение времени окисления с 1 часа до 4 часов увеличило выход с 15,4 процента до 54,5 процента.

Увеличение отношения оксида хрома к одному молю бетулина с 3 моль до 7 моль изменяет выход с 17,5 процента до 55 процентов. Время окисления при этом сокращается с 5 часов до 0,5 часа. Также было обнаружено, что использование солей Fe^{3+} в качестве катализатора в реакционной смеси увеличивает выход реакции.

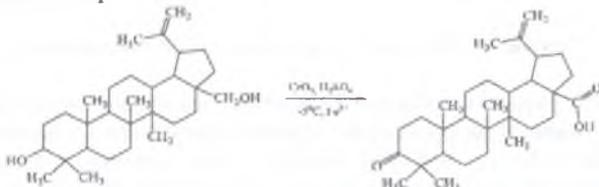


Рисунок-11. Получение бетулоновой кислоты окислением бетулина CrO_3

Из данных УФ-спектроскопии можно увидеть, что интенсивность максимума бетулина при 215 нм уменьшается, также наблюдается гипсохромный сдвиг новых максимумов при 245 нм и 270 нм.

Из ИК-спектров полученного соединения можно увидеть сигналы при $1705,64\text{ см}^{-1}$, принадлежащие карбонильной группе ($\text{C}=\text{O}$ связь), в области $3395,25\text{ см}^{-1}$ наблюдаются сигналы $-\text{OH}$ группы, в области $1641,2\text{ см}^{-1}$ можно увидеть сигналы $\text{C}=\text{C}$ связи, это указывает на образование бетулоновой кислоты.

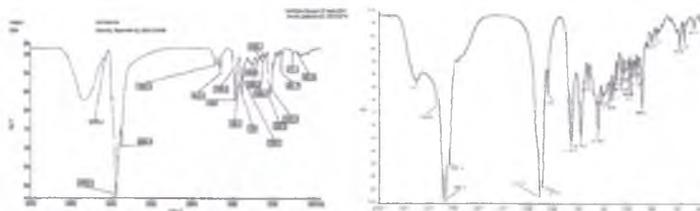


Рисунок -12. ИК-спектры бетулина и бетулоновой кислоты

Были получены рентгенограммы синтезированных соединений. Из полученных данных можно увидеть сигналы в области 10-20, характерный для бетулина.

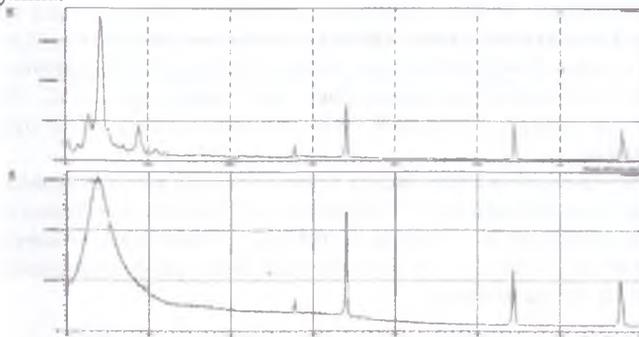


Рисунок -13. Рентгенограммы бетулина и бетулоновой кислоты

Для получения бетулонового альдегида мы использовали специальный метод, основанный на проведение процесса окисления с участием сильных окислителей (Al_2O_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2SO_4). Как известно из литературы, соотношение продуктов окисления в этом способе зависит от времени и установлено, что объем выхода конкретного альдегида примерно через 20-60 минут будет равен 60%.

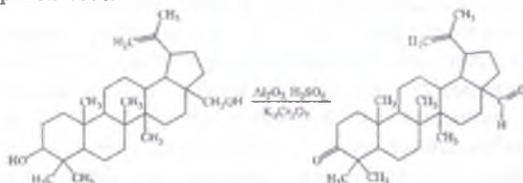


Рисунок -14. Получение бетулонового альдегида из бетулин

В том же метода окисленную смесь в интервале 20-50 минут разделяли на компоненты с помощью колоночной хроматографии. При этом оказалось, что он содержит в основном 3 разных продукта. Изучена структура путем выделения основного компонента (58%, $R_f=0,67$).

Из ИК-спектра синтезированного бетулонового альдегида видно, что присутствие сигналов, относящихся к ($\text{C}=\text{O}$ связи) карбонильной группе в области $1705,64 \text{ см}^{-1}$, которые не наблюдаются в веществе бетулина, а также

потеря сигналов, характерных для группы $-\text{OH}$ в области $3395,25 \text{ см}^{-1}$, а также сигналы в области $1641,2 \text{ см}^{-1}$ характерные для $\text{C}=\text{C}$ связи показывает об образовании бетулонового альдегида. Структура бетулонового альдегида была изучена с использованием метода хромато-масс-спектрологии. По результатам масс-спектра можно видеть, что существует сигнал, равный 439 m/z для молекулярного иона бетулонового альдегида. В результате различных столкновений произошел распад молекулярного иона и наличие сигналов, соответствующих низкомолекулярным фрагментам. На основании этих данных можно сделать вывод, что в результате реакции образовался бетуловый альдегид.

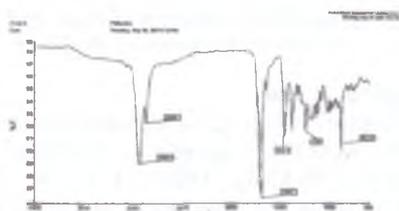


Рисунок -15. ИК-спектр бетулонового альдегида



Рисунок -16. MS спектр бетулонового альдегида

Синтез оснований Шиффа на основе бетулонового альдегида.

Многие научные исследования сегодня связаны получением N -содержащими производными лупана: амидов, нитрилов, оксимов и аминокислотами. Оксопроизводные бетулина и их модификации с N -содержащими веществами важны для химической и фармацевтической промышленности. Синтез новых азотсодержащих производных бетулонового альдегида можно схематически описать следующим образом:

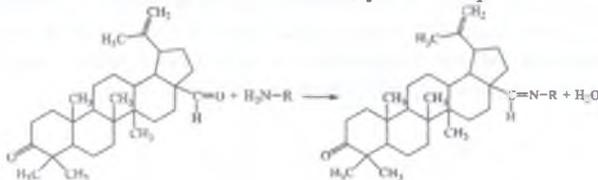


Рисунок -17. Синтез оснований Шиффа бетулонового альдегида

При этом R = ароматические, гетероциклические соединения и глюкозамин. Изучены некоторые физико-химические константы синтезированных новых соединений. В УФ-спектре основания Шиффа, полученного на основе бетулонового альдегида и анилина в области 246 нм , 330 нм и 439 нм наблюдаются максимумы поглощения. В УФ-спектре бетулонового альдегида в области 235 нм можно наблюдать батохромный сдвиг максимума поглощения в спектре основания Шиффа в область 246 нм , 289 нм , 330 нм . В ИК-спектре основания Шиффа, полученного на основе бетулонового альдегида и анилина в области $3479\text{-}3340 \text{ см}^{-1}$ наблюдается максимум поглощения группы $-\text{NH}_2$. В спектре бетулонового альдегида наблюдался уменьшение интенсивности валентных колебаний в области 1702

cm^{-1} , принадлежащей группе $-\text{CHO}$, и смещение в область 1693 cm^{-1} , наблюдались валентные колебания, характерные для исходной несуществующей области 1610 cm^{-1} $-\text{CH}=\text{NH}-$ в $=\text{CH}-\text{NH}$ -группы. Эти новые связи означают об образовании оснований Шиффа.

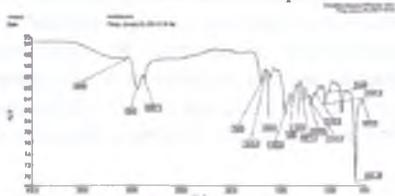


Рисунок -18. ИК-спектр основания Шиффа бетулонового альдегида с анилином.

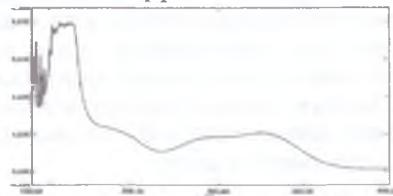


Рисунок -19. УФ-спектр основания Шиффа бетулонового альдегида с анилином

Получение водорастворимых форм бетулина

Для перевода бетулина в водорастворимую форму, были синтезированы супрамолекулярные комплексы ПВП, МАСГК, декстрина, Na-КМЦ в соотношении 1:2, 1:4 массы (декстрин, Na-КМЦ, ПВП), 1:2, 1:4, 1:9 молярных соотношениях (МАСГК). Максимум поглощения $-\text{OH}$ группы в области 3400 cm^{-1} в ИК-спектре бетулина смещен в область 3355 cm^{-1} в спектре супрамолекулярного комплекса, расстояние между пиками расширена. Также можно наблюдать расширение максимума поглощения в области 2930 cm^{-1} и 2867.6 cm^{-1} . Максимум поглощения в ИК-спектре бетулина в области 1642 cm^{-1} в спектре супрамолекулярного комплекса смещен в область 1644 cm^{-1} , в ИК-спектре бетулина максимум поглощения в области 1027 cm^{-1} в спектре супрамолекулярного комплекса появляется в интенсивном состоянии. Можно увидеть из УФ-спектра супрамолекулярного комплекса бетулин: МАСГК в молярном соотношении 1:4, в области 210 nm происходит гипсохромный сдвиг максимума поглощения и интенсивность растет, в области 240 nm интенсивность максимума растет за счёт реакции. Эти изменения связаны с хромоформными группами МАСГК.



Рисунок- 20. ИК-спектр супрамолекулярного комплекса бетулина с МАСГК в соотношении 1:4 мол

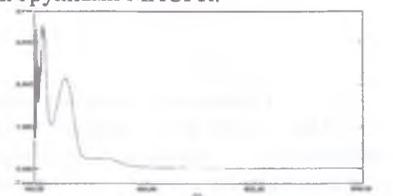


Рисунок -21. УФ-спектр супрамолекулярного комплекса бетулина с МАСГК в соотношении 1:4 мол

Были получены ВЭЖХ анализы супрамолекулярных комплексов бетулина с МАСГК в соотношениях 1:2 и 1:4 моль. Полученные результаты показывают, что супрамолекулярный комплекс состоит в основном из бетулина и МАСГК.

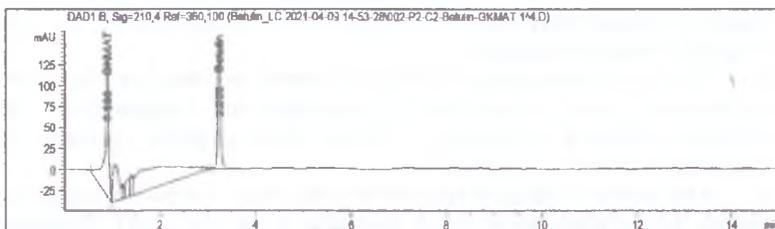


Рисунок-22. ВЭЖХ анализ супрамолекулярного комплекса бетулина с МАСК в соотношении 1:4.

Изучение влияния липидов в мембране митохондрии бетулина, вызванный аскорбатом Fe^{2+} на процесс пероксидного окисления.

В качестве объекта исследования использовалась суспензия митохондрий печени крысы. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) индуцировалось введением в среду аскорбата и $FeSO_4$. Об уровне антиоксидантных свойств вещества было задумано на основании встречи малонового диальдегида. Об уровне антиоксидантных свойств вещества можно судить о накоплении малонового диальдегида.

Максимальный ингибирующий эффект бетулина наблюдался в течение 30 минут при концентрации 10 мкМ, а индукторы окисления составляли 72,8% по сравнению с контрольной группой, принятый в виде 100% ПОЛ в текущем состоянии.

Изучение антиоксидантной активности бетулина в стрессовых состояниях в воде, в условиях *in vitro*.

Антиоксидантное действие бетулина в экспериментах в условиях *In vitro* оценивали по его влиянию на накопление малонового диальдегида, делая вывод о его влиянии на активность каталазы.

В экспериментальной группе, в которой стресс был вызван для контроля, наблюдалось увеличение количества малонового диальдегида на 127%. В результате введения бетулина в качестве антиоксиданта в рацион питания экспериментальных животных было установлено, что количество малонового диальдегида в клетках печени экспериментальных животных составляет 62% по сравнению со стрессом.

Антиоксидантное действие бетулина в экспериментах в условиях *in vitro* оценивали по его влиянию на накопление малонового диальдегида. В экспериментах использовали спиртовой раствор бетулина по отношению к 100 мкг/г ткани. При этом значение показателей было зафиксировано через 30 минут с момента вызова окислительного стресса.

ВЫВОДЫ

В результате исследования, проведенного по диссертационной работе на тему "Выделение бетулина из состава *Betula pendula*, оптимизация и синтез некоторых производных", были сделаны следующие выводы:

1. Впервые был выделен бетулин из коры растения *Betula pendula* Roth, растущего на территории нашей республики, определено, что при экстракции различными полярными растворителями, в бутаноле-2 извлекают продукт

высокой степени чистоты, при использовании 96%ного этанола получают продукт с высоким выходом;

2. Для получения продукта с высоким выходом самое оптимальное время экстракции 3 часа, количество растворителя при гидромодуле 1:20, для очистки бетулина используют метод переосаждения, самым лучшим осадителем является ундекан;

3. Основания Шиффа бетулонового альдегида с аминантипирином и 2-амино, 4-нитропиридином были внедрены в практику АО "Мубарекского газоперерабатывающего завода" (Справка Мубарекского ГПЗ № 822/GK-08 от 30.08.2021 г). В результате найдена возможность определения ионов кобальта и никеля в сточных водах;

4. При получении из бетулина бетулоновой кислоты для достижения наилучших результатов было изучено окисление реактивом Джонса, изучена зависимость выхода реакции от количества окислительного реагента и впервые было определено, что при использовании ионов Fe^{3+} в качестве катализатора, выход реакции будет максимальным.

5. Биологическую активность оснований Шиффа бетулонового альдегида и соединений, полученных на основе бетулина, рассчитывали онлайн с помощью программы PASS, изучали пропорциональность полученных данных результатам эксперимента. Эти расчеты позволяют в будущем экономить на дорогостоящих реагентах и экономить время, затрачиваемое на создание лекарственных препаратов.

6. Впервые был синтезирован супрамолекулярный комплекс бетулина с различными водорастворимыми соединениями, их состав и структура были изучены различными физико-химическими методами. Полученные соединения могут быть использованы для дальнейшего расширения возможностей применения вещества бетулина с высокой биологической активностью в медицине и фармакологии.

7. В экспериментах, проведенных в условиях *in vitro* было отмечено, что в условиях окислительного стресса, связанного с системой " Fe^{2+} –аскорбат", бетулин ингибирует образование свободных радикалов, в результате введения бетулина экспериментальным животным, концентрация малонового диальдегида значительно снижается, в экспериментах, проведенных в условиях *in vivo*, активность окислительных процессов, связанных как со свободными радикалами, так и в стрессовых условиях белых крыс против плавания, под влиянием бетулина уменьшается, это подтверждается снижением концентрации малонового диальдегида в клетках печени под воздействием бетулина (справка Министерства высшего и среднего специального образования № 89-03-1211 от 4 февраля 2021 года).

SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDING THE ACADEMIC DEGREE
PhD.03/30.12.2019.K.05.01 FERGANA STATE UNIVERSITY
FERGANA STATE UNIVERSITY

TURGUNBOEV SHAVKATJON SHUHRATJON OGLI

**ISOLATION, OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION OF BETULIN
FROM *BETULA PENDULA* AND SYNTHESIS OF SOME DERIVATIVES**

02.00.10-Bioorganic chemistry

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

The topic of the dissertation of a Doctor of Philosophy (PhD) is registered in the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under the number B2021.1.PhD/K370.

The dissertation was completed at the Fergana state university.

The author's abstract of the thesis in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) is posted on the website of the Scientific Council at (www.fdu.uz) and on the Information and Educational Portal "ZiyoNET" (www.ziynet.uz).

Scientific adviser: **Khaitbaev Alisher Khamidovich**
Doctor of Chemical Sciences, professor

Official opponents: **Abdullaev Shavkat Vakhidovich**
Doctor of Chemical Sciences,
professor

Nazarov Otobek Mamadalievich
PhD in chemical sciences

Lead organization: **Namangan state university**

The defense of the thesis will take place on 15-11 2021 at 10:00 hours at the meeting of the Scientifically council PhD.03/30.12.2019.K.05.01, under the Fergana State University (Address: 150100, Fergana city, Murabbiylar street, 19th house. Tel: (+99873) 244-44-02. Fax: (+99873) 244-44-93, e-mail: fardu_info@umail.uz).

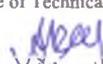
The dissertation is available at the Information Resource Center of Fergana State University (registered under number 32) (Address: 150100, Fergana city, Murabbiylar street, 19th house. Tel: (+99873) 244-44-02. Fax: (+99873) 244-44-93

The abstract of the thesis was distributed on 2021 11 11 in " 1 " 11 2021). (Register Protocol № 4 in " 1 " 11 2021).




V.U. Khojayev
Chairman of the Academic Council
Awarding academic degrees
Doctor of Chemical Sciences, professor


M. Nishonov
The secretary of the Academic Council
Awarding academic degrees
Candidate of Technical Sciences, professor


Sh.V. Abdullaev
Chairman of the scientific seminar under
the Academic Council awarding degrees
Doctor of Chemical Sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the study is to optimize the methods for isolating the betulin substance from the *Betula pendula* Roth composition using various solvents and the synthesis of some betulin derivatives.

The objects of the research work are *Betula pendula* Roth, betulin, aliphatic, aromatic, heterocyclic primary amines of various nature, monoammonium salt of glycyrrhizic acid (MASGA) and betulin modification products.

The scientific novelty of thesis is as follows:

for the first time, betulin was isolated from the *Betula pendula* Roth plant growing in the territory of Uzbekistan using various solvents and the extraction conditions were optimized;

it was determined that for the maximum yield of betulin from the extract, 96% ethanol is the best; in terms of the purity of betulin in the extract, butanol-2 is the best solvent;

HPLC proved that when betulin is isolated with ethanol, the amount of substances in the extract is less;

water-soluble supramolecular complexes of betulin with various substances (MASGK, PVP, Na-CMC and dextrin) have been synthesized;

as a result of betulin oxidation with Jones' reagent in the presence of Fe^{3+} catalyst, betulonic acid was synthesized in high yield;

10 new Schiff bases of betulonic aldehyde with primary amines of various nature (aromatic and heterocyclic) were synthesized;

Implementation of the research results. Based on scientific results obtained on betulin isolated from the *Betula pendula* Roth plant by various methods and its modification in various ways:

Schiff bases betulonic aldehyde with aminoanthrypyrine, and 2-amino-4-nitropyridine were introduced into the practice of Mubarek Gas Processing Plant JSC (Reference No. 822 / GK-08 MGPZ dated August 30, 2021). As a result, the possibility of determining the ions of cobalt (II) and nickel (II) in wastewater was revealed;

The results of the study of the effect of membrane mitochondria on the process of betulin peroxidation caused by Fe^{2+} ascorbate were used in the framework of the fundamental project F-6-05 "Study of the mechanism of action of new derivatives of polyphenols and triterpenoids against pathogenic bacteria resistant to antibiotics" (Reference MHSSO RUz No. 89- 03-1211 dated February 4, 2021). As a result, the action of betulin on experimental white rats could weaken the activity of the free radical oxidation process even under conditions caused by the stress associated with swimming.

The structure and volume of the thesis. The thesis consists of an introduction, four chapters, conclusion, bibliography and appendices. The volume of the thesis is 113 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

Список опубликованных работ

List of published works

I бўлим (I часть; part I)

1. Turgunboev Sh.Sh., Karimov Sh.X., Khaitbaev A.Kh. Obtaining betuline supramolecular complexes with MASGA // Austrian journal of Technical and Natural Sciences. 2021. № 7-8. P 52-56. (02.00.00; № 2)
2. Khaitbaev A.Kh., Turgunboev Sh.Sh. Receiving and determining the amount of the extractive substances of birch // ACADEMICIA An International Multidisciplinary Research Journal. 2020. Vol. 10, Issue 7, P 288-293.
3. Хаитбаев А.Х., Турғунбаев Ш.Ш. Получение экстрактивных веществ березы // UNIVERSUM: химия и биология. 2020. № 8(74). С 27-31. (02.00.00; № 2)
4. Турғунбоев Ш., Хаитбаев А. Оқ қайин пўстлоғи моддаларининг экстракцияси ва идентификацияси // Ўзбекистон Миллий университети хабарлари, 2020, № 3/1. Б. 243-249. (02.00.00; № 12)
5. Ш.Турғунбоев, А.Хаитбаев. Бетулиннинг мураккаб эфирлари ва уларнинг биологик фаолликлари // Ўзбекистон Миллий университети хабарлари. 2021. № 3/1/1. Б. 326-334. (02.00.00; № 12)
6. Турғунбоев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х. Бетулон кислотасини синтез қилиш // ФарДУ илмий хабарлари. 2019. № 4. Б. 24-28. (02.00.00; № 17)

II бўлим (II часть; part II)

7. Ш.Турғунбоев, А.Хаитбаев. Бетулин ажратиб олиш жараёнини оптималлаштириш // Международная конференция молодых ученых «Наука и инновации», Ташкент – 2019. С 295-296.
8. Ш.Турғунбоев, Ш.Тўхтаматова, А.Хаитбаев. Бетулин диацетат синтез қилиш // Международная конференция молодых ученых «Наука и инновации». Ташкент – 2019. С. 124-126.
9. Turgunboev Sh.Sh., Tokhtamatova Sh.S., Khaitbaev A.Kh. Sythesis of betulonic acid from betulin // International scientific and practical conference “Europe, science and we” Praha – 2020. July. P 18-19.
10. Турғунбаев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х., Сулайманова М.З., Тўхтаматова Ш.С. Синтез метилового эфира бетулоновой кислоты // “Научный форум: медицина, биология и химия” XXVII международной научно-практической конференции. Москва – 2019. № 9(27). С 21-25.
11. Khabibullaeva N.F., Khaitbaev A.K., Turgunboev Sh.Sh. Obtaining schiff bases of glucosamine with betulon aldehyde // Sectoral research XXI: characteristics and features. I International Scientific and Theoretical Conference. Chicago. USA – 2021. 26-March. P 41-43.
12. Турғунбоев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х. Бетулиннинг супрамолекуляр комплекслари синтези // “Замонавий органик кимёнинг долзарб муаммолари” республика илмий-амалий анжумани. Қарши – 2021. Б. 137-138.

13. Турғунбаев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х. Изучение экстрактивных веществ *Betula pendula* произрастающей в Узбекистане. XI Всероссийская Научно-Практическая Конференция Молодых Ученых “РОССИЯ МОЛОДАЯ”, Кузбасс, Россия – 2019. 16-19 апреля. С. 7210.1-7210.4.
14. Турғунбоев Ш.Ш., Бекназаров Ж.И., Хаитбаев А.Х. Бетулин тузилишининг назарий таҳлили // “Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожи ва келажаги” илмий-амалий конференция. Тошкент - 2021. Б 124.
15. Турғунбоев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х. Бетулин мураккаб эфирларининг *Pass* анализи. “Кимёнинг долзарб муаммолари” профессор-ўқитувчилар ва ёш олимларнинг илмий-амалий анжумани материаллари. Тошкент – 2021. Б 323.
16. Турғунбоев Ш.Ш., Хаитбаев А.Х. Оксидланган бетулин ҳосилаларининг *Pass* анализи. «Ўзбекистоннинг умидли ёшлари» мавзусидаги 3-сон республика илмий-онлайн конференцияси. Тошкент – 2021. Б 267-268.
17. Турғунбоев Ш.Ш., Бекназаров Ж.И., Хаитбаев А.Х. *Betula pendula* таркибидан бетулин ажратиб олиш ва уни модификациялаш. IX Республиканская конференция “Проблемы предмета биоорганической химии” Наманган – 2019. 26-27-апреля. Б. 90-91.
18. Турғунбоев Ш.Ш., Бекназаров Ж.И., Хаитбаев А.Х. Бетулинни оксидлаб бетулон кислотасини синтез қилиш. Международная конференция “Непрерывное образование в интересах устойчивого развития: новые вызовы”. Чирчик – 2019. 21-24 мая. Том II. Б 257-259.
19. Ш.Турғунбоев, Ш.Тўхтамова, А.Хаитбаев. Бетулин дипропионат синтез қилиш // «Замонавий кимёнинг долзарб муаммолари» илмий-амалий онлайн анжумани. Бухоро – 2020. 4-5 декабрь. Б 337-338.

Автореферат «ФарДУ Илмий Хабарлари» журналида тахрирдан ўтказилди
(30.10.2021 йил).

Босишга рухсат этилди: 2021 й. Нашриёт босма табағи – 2,875.

Шаргли босма табағи –1,7. Бичими 84x108 1/16.

Адади 100.

Баҳоси келишилган нарҳда.

«Poligraf Super Servis» МЧЖ

150114, Фарғона вилояти, Фарғона шаҳар, Авиасозлар кучаси 2-уй.

