

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

---

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ**

**РАХМАНОВА ВАЗИРА НОРҚУЛОВНА**

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

**02.00.06 – Юқори молекуляр бирикмалар**

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

**Тошкент-2021**

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

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

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

**Рахманова Вазира Норкуловна**

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

**3**

**Рахманова Вазира Наркуловна**

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

**21**

**Rakhmanova Vazira Narkulovna**

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

**39**

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ

List of published works.....

**42**

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

---

**ПОЛИМЕРЛАР КИМЁСИ ВА ФИЗИКАСИ ИНСТИТУТИ**

**РАХМАНОВА ВАЗИРА НОРҚУЛОВНА**

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

**02.00.06 – Юқори молекуляр бирикмалар**

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

**Тошкент-2021**

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.4.PhD/К340 рақам билан рўйхатга олинган.**

Диссертация Полимерлар кимёси ва физикаси институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасига (polchemphys.uz) ҳамда «ZiyoNET» Ахборот таълим порталига (www.ziyo.net.uz) жойлаштирилган.

**Илмий раҳбар:**

**Рашидова Сайёра Шарафовна**  
кимё фанлари доктори, профессор, академик

**Расмий оппонентлар:**

**Ихтиярова Гулнора Акмаловна**  
кимё фанлари доктори, профессор

**Юнусов Хайдар Эргашович**  
техника фанлари доктори, катта илмий ходим

**Ётақчи ташкилот:**

**Биоорганик кимё институти**

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

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

Диссертация автореферати 2021 йил «\_\_\_» \_\_\_ кун тарқатилди.  
(2021 йил «\_\_\_» \_\_\_ даги \_\_\_ рақамли реестр баённомаси).

**Н.Р. Ашуров**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
раиси ўринбосари, т.ф.д., профессор

**М.М. Усманова**

Илмий даражалар берувчи илмий  
кенгаш котиби, к.ф.н., катта илмий ходим

**А.А. Сарымсаков**

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

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

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда табиий хом-ашё асосида олинган, сувда эрувчан, ўзига хос тиббий-биологик (антибактериал, антикоагулянт, иммунологик вирусга, саратонга ва бошқ.) хоссаларга эга бўлган табиий полимерлар ва уларнинг ҳосилалари асосида дори воситаларига тиббиётда эҳтиёж ортиб бормоқда. Ушбу йўналишда хитозан ва унинг ҳосилалари, жумладан, сульфат хитозан асосида антибактериал ва антикоагулянт хусусиятларга эга бўлган янги авлод дори воситаларини яратиш ва амалиётга тадбиқ қилиш муҳим вазифалардан бири ҳисобланади.

Бугунги кунда жаҳонда хитозаннинг молекуляр ва структуравий ва хусусиятларидан келиб чиққан ҳолда, турли хил омилларга таъсир этувчи модификацияланган ҳосилаларини синтез қилиш учун фундаментал илмий тадқиқотлар жадал олиб борилмоқда. Бу борада хитозаннинг сульфатланган сувда эрувчан ҳосилаларини синтез қилиш ва унинг структуравий, физик-кимёвий ва биологик хоссаларини ўрганиш, ҳамда улар асосида комплекс таъсир қилувчи антимиқроб ва иммуннофаол хоссаларга эга бўлган дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Республикамизда табиий хом-ашё асосида янги дори воситаларини яратиш бўйича, илмий тадқиқотлар олиб бориш ва маҳаллий фармацевтика саноатини ривожлантириш бўйича кенг кўламли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда, бунда дори воситаларининг янги полимер препаратив шакллари яратишда муҳим натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегиясида<sup>1</sup> "2030 йилгача фанни ривожлантириш концепцияси"да фармацевтика соҳасида ишлаб чиқаришни ошириш..." вазифалари белгилаб берилган. Бу борада *Bombyx mori* хитозан сульфатини синтез қилиш шароитларини тадқиқ қилиш, унинг тузилиши ва хоссаларини аниқлаш ҳамда тиббиёт амалиётида қўллашга қаратилган илмий-амалий тадқиқотлар ўтқозиш муҳим аҳамиятга эга.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 07 февралдаги ПФ-4947-сонли "Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида"ги Фармони, 2017 йил 17 февралдаги ПҚ-2789-сонли "ЎзР ФА фаолиятини такомиллаштириш, илмий тадқиқот ишларини ташкиллаштириш, бошқариш ва молиялаштиришни янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида"ги Қарори ва 2020 йил 12 августдаги ПҚ-4805-сонли "Кимё ва биология йўналишларида узлуксиз таълим сифати ва фан самарадорлигини ошириш чора-тадбирлари тўғрисида" ги Қарори ҳамда ушбу соҳада қабул қилинган бошқа меъёрий ҳужжатлар билан белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги.** Мазкур тадқиқот

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги "Ўзбекистон Республикаси фармацевтика саноатини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида"ги НУП-4947-сонли қарори

республикада фан ва технологияларни ривожлантиришнинг VI. «Медицина ва фармакология» ва VII. «Кимёвий технологиялар ва нанотехнологиялар» йўналишларига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Дунёнинг кўпгина мамлакатларида хитозан ва унинг ҳосилаларини ўрганиш ҳамда уларни қўллаш бўйича илмий изланишлар жадаллик билан олиб борилмоқда. Краб хитинидан олинган сульфатланган хитозанни олиш усуллари ўрганиш бўйича илмий йўналишни ривожлантиришга Zhao Mei Wang, Pathum Chandika, Yasser S. El-Saharty, Bonaventura Focher, Shigehiro Hirano, Kevin R. Holme, Emmanuelle Marie Kai Zhang, Namasivayam Subhapradha, Natália R. Pires, Samet Kocabay ва бир қатор илмий мактаблар катта ҳисса қўшишган, жумладан, МДХ давлатларидан А.И. Гамзазаде, Л.А. Вихорева, Л.А. Нудьга, К.Э. Будовская, П.П. Столбушкина каби ва бошқа олимларнинг илмий-тадқиқот ишларини таъкидлаб ўтиш зарур.

Республикамизда мазкур йўналиш ривожига академик С.Ш. Рашидова ва унинг шогирдлари ўз изланишлари билан хитозан ҳосилаларини синтез қилиш, тузилиш ва хоссаларини аниқлаш ҳамда амалиётга жорий қилишга ўз ҳиссаларини қўшмоқдалар.

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

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

**Тадқиқотнинг мақсади** *Bombyx mori* сульфатланган хитозанини синтез қилиш, молекуляр массивий ва структуравий хусусиятларини ўрганиш ҳамда тиббий-биологик хоссаларини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

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

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

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

хитозан сульфатнинг тузилиш ва физик-кимёвий хоссаларини тадқиқ қилиш;

хитозан сульфатнинг электрон тузилишини ўрганиш ва моделлаштириш;

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

**Тадқиқот объекти-** *Bombyx mori* хитозани, хлорсульфон кислотаси, хитозан сульфат ва у асосида олинган биологик фаол дори воститалар ҳисобланади.

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

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотларда элемент анализи, УВ-спектроскопия, ИҚ-Фурье, рентгеноструктур анализ (РСА), динамик нур ёйиш усули (DLS), сорбцион анализ, кондуктометрик титрлаш, вискозиметрия, физик-кимёвий, квант-кимёвий назарий ҳисоблаш усулларидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

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

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

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

*Bombyx mori* хитозан сульфат асосида кам токсик, "Сульфопарин" дори воситаси яратилган, гиполипидемик, антикоагулянт ва бошқа хусусиятларга эга бўлган, атеросклероз фармакотерапиясида юқори самарадорлиги кўрсатилди.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

*Bombyx mori* хитозан сульфати синтезининг мақбул шароитлари аниқланган, ишлаб чиқаришнинг лаборатория регламенти яратилган ҳамда кинетик ва структуравий хусусиятлари ўрганилган.

*Bombyx mori* хитозан сульфати гиполипидемик воситалар сифатида, атеросклерознинг фармакотерапиясида ва гиперхолестеринемияда антикоагулянт сифатида, шунингдек иммунологик ва гематологик препаратлар сифатида тадқиқ қилинган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги.** Хитозан сульфат синтези ҳамда уларнинг физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш бўйича олиб борилган тажрибалар замонавий физик-кимёвий усуллар ёрдамида олинди. Иш бўйича хулосалар кимёвий жараёнларнинг кинетикаси замонавий назарияларида ишлатиладиган тенгламалардан фойдаланган ҳолда олинган натижалар асосида қилинди. Олинган натижаларнинг тасдиғи сифатида республика ва

халқаро илмий конференцияларда муҳокамалар қилинган.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти *Bombyx mori* хитозанини сульфатлаш реакциясининг кинетик қонуниятлари ўрнатилган. Маълум алмашиниш даражаси ва занжир тузилишига эга бўлган хитозан сульфати жараённинг умумий механизмларини тушунишда ва сульфатланиш реакцияси шароитларини танлашда муҳим аҳамиятга эга. *Bombyx mori* хитозан сульфатининг молекуляр массавий тақсимланиши, полидисперслиги ва конформацион тавсифлари тадқиқ этилган.

Тадқиқотнинг натижаларининг амалий аҳамияти *Bombyx mori* хитозан сульфатнинг аниқланган тиббий-биологик хусусиятлари гиполипидемик восита сифатида, атеросклерознинг фармакотерапиясида ва гиперхолестеринемияда қўлланилган ва кам токсик антикоагулянт "Сульфопарин" дори воситасида гиперхолестеринемиянинг олдини олишда, шунингдек атеросклероз касаллигини даволашда самарали натижаларга эришилган.

**Тадқиқот натижаларини жорий қилиш.** «*Bombyx mori* сульфатланган хитозанининг синтези, тузилиши ва хусусиятлари» бўйича олинган илмий натижалар асосида:

*Bombyx mori* хитозан сульфат намуналари гиполепидемик хоссалари АДСС-28.8 рақамли "Куйиш яраларини даволашда хитозан ҳосилаларидан фойдаланишнинг мақбул усулини ишлаб чиқиш ва танлаш" мавзусидаги амалий лойиҳасида "Сульфопарин" дори воситасининг қондаги холестерин ва липидлар миқдорининг атерогенез ҳавфини камайтирувчи хусусиятларидан фойдаланилган (Тошкент тиббиёт академиясининг 2021 йил 9 октябрдаги №03/3093-сон маълумотномаси). Натижада атеросклерознинг фармакотерапияси ва гиперхолестеринемияда антикоагулянт сифатида қўлланилган иммунологик ва гематологик хоссага эга бўлган "Сульфопарин" дори воситаси яратиш имконини берган.

*Bombyx mori* хитозан сульфати синтези ва унинг хоссалари бўйича олинган маълумотлардан юқори импакт факторли (IF) 3 та хорижий журналларда намуналарнинг тузилиши, реакция механизми ва хоссаларининг таҳлили учун фойдаланилган ва ҳаволалар берилган (Polymers, 2018, V.10, Scopus, IF=4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF=9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF=18.808). Натижада қисқичбақасимонлардан олинган хитозани асосида сульфатланган хитозан синтезини амалга ошириш имконини берди.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Диссертация бўйича олинган асосий натижалар 8 та халқаро ва 12 та республика илмий-амалий анжуманларида маъруза қилинган ва муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 22 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан фалсафа фанлари доктори (PhD) диссертациянинг асосий илмий натижаларини нашр этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола чоп этилган, шундан 2 таси республика ва 3 таси хорижий журналларда нашр этилган.



**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация кириш қисми, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 119 бетни ташкил этади.

## **ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ ҚИСМИ**

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

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

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

Хитозан ва хитозан сульфатни идентификация қилишда қўлланиладиган асосий тадқиқот усуллари (рентгенструктуравий таҳлил, ИҚ-, УБ-спектроскопияси, элемент анализ, кондуктометрик титрлаш ва б.) ва эритмалардаги намуналарнинг молекуляр ва структуравий хусусиятларини тадқиқ қилиш (вискозиметрик, кондуктометрик, босқичли фракциялаш, поляризация микроскопик ва бошқа методлар) тавсифланган. Физик - кимёвий ва тиббий-биологик тадқиқотларни ўтказишнинг стандарт методлари ва уларга оид ҳаволалар берилган ва тажриба натижаларини муҳокама қилишдаги ноанъанавий ёндашувлар тадқиқот натижалари қисмида муҳокама қилинган.

Диссертациянинг **"*Bombyx mori* хитозан сульфати синтези ва молекуляр характеристикалари"** деб номланган учинчи бобида *Bombyx mori* хитозан сульфатини синтез қилишнинг мақбул шароитларини ва кинетик қонуниятларини аниқлашга йўналтирилган синтез натижалари муҳокама қилинган. Шунингдек, синтез қилинган хитозан сульфатнинг

барқарорлиги ва молекуляр массавий хусусиятларини тадқиқ қилишга асосланган натижалар келтирилган.

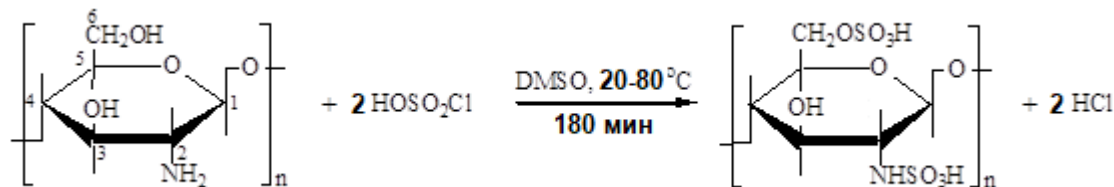
Сульфатлаш учун ишлатиладиган хитозан элементар бўғинларидаги (звенолари) С-2 ( $\text{NH}_2$ -гурӯҳлари) ва С-6 ( $\text{CH}_2\text{OH}$  -гурӯҳлари) сульфогурӯҳларга ( $\text{SO}_3\text{H}$ ) алмашилиш имконини бериши зарур. Шунинг учун, хитозан сульфатланиш вақтида сульфатланган хитин звенолари ҳосил бўлмаслиги учун хитозаннинг деацетилланиш даражаси юқори бўлиши (ДАД  $\geq 0,75$ ), шунингдек, молекуляр массанинг 30 000 Да дан ортиқ бўлиши зарур бўлиб, ушбу реакцияда занжирнинг деструкцияси содир бўлади, шу боис олинган хитозан сульфатнинг молекуляр массаси 1,5÷5 марта камаяди. Бу талабларни инобатга олган ҳолда, хитозан намуналари *Bombyx mori* ипак курти ғумбаги хитинини 40 %  $\text{NaOH}$  эритмасида  $120^\circ\text{C}$  да 2 соат давомида, шунингдек, нисбатан қаттиқ шароитларда 50 %  $\text{NaOH}$  эритмасида 3 соат давомида  $120^\circ\text{C}$  да деацетиллаш орқали олинди.

Хитозан намуналарини олинганлиги ИҚ-спектроскопияси маълумотлари билан тасдиқланди. 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$  соҳада гидроксил -ОН гурӯҳининг тебранишларига мос келадиган ютилишлар, алифатик метилен гурӯҳларига хос ютилишлар 2900  $\text{cm}^{-1}$  соҳада, шунингдек 1680  $\text{cm}^{-1}$  амид-I учун характерли ютилишлар аниқланган ва деформацион тебранишлар асосан 1395, 1170, 1040, 868  $\text{cm}^{-1}$  соҳаларда кузатилиши аниқланди. Элемент анализи, кондуктометрик титрлаш ва вискозиметрик натижалари шуни кўрсатадики, биринчи ҳолда, хитозан ҳосил бўлиш унуми  $Y \approx 60\%$  ва деацетилланиш даражаси ДАД=76%, 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  эритмасида эрувчанлиги  $P=95\%$  ни ташкил қилди, жумладан полиэлектролитик эффектнинг олдини олишда 2%  $\text{CH}_3\text{COONa}$  эритмаси  $25^\circ\text{C}$  ҳарорат таъсирида қўлланилганида характеристик қовушқоқлик  $[\eta]_{\text{х3}} \approx 5,08$  дл/г га тенг эканлиги аниқланди. Марк-Кун-Хаувинк тенгламаси  $[\eta]_{\text{х3}} \approx 1,41 \cdot 10^{-4} M_\eta^{0,83}$  асосида ҳисобланган молекуляр массаси  $M_\eta \approx 309$  кДа га тенглиги келтирилди. Иккинчи ҳолда, хитозан намунасининг ҳосил бўлиш унуми  $Y \approx 49\%$ , ДАД=91%, эрувчанлиги  $P=98\%$ , шунингдек характеристик қовушқоқлиги  $[\eta]_{\text{х3}} \approx 2,05$  дл/г ва  $M_\eta \approx 104$  кДа билан тавсифланди.  $Y$  (унум), ДАД,  $P$  қийматларнинг қиёсий ўсишида  $[\eta]_{\text{х3}}$  ва  $M_\eta$  нинг кескиш камайиши кузатилади. Бундай занжир деструкциясининг сабаби, ишқор концентрациясининг ошиши ( $> 40\%$ ) ва хитин деацетилланиш реакцияси давомийлигининг (1 соатга) ошиши билан боғлиқ бўлади.

ДАД $\approx 76\%$  ва  $M_\eta \approx 309$  кДа бўлган ХЗ намуналари краб асосида олинган хитозан учун ишлаб чиқилган усуллар ёрдамида *Bombyx mori* хитозанини сульфатлашнинг асосий имкониятларини тадқиқ қилиш учун қўлланилган. СДА $\approx 91\%$  ва  $M_\eta \approx 104$  кДа бўлган намуна асосида *Bombyx mori* хитозанини сульфатлашнинг кинетик қонуниятлари ўрганилди.

*Bombyx mori* ( $M_\eta \approx 104000$  Да) хитозанини сульфатлаш шароитларини танлаш краб хитозанини сульфатлаш принципларига асосан хитозанни фаоллаштирувчи реагент сифатида диметилсульфоксид (ДМСО) ва сульфатловчи реагент сифатида хлорсульфон кислотаси (ХСК) ёрдамида дастлабки компонентлар ХЗ:ХСК=1:6 модулида, ҳарорат  $50^\circ\text{C}$  интервалида ва реакция вақти 180 минут бўлган шароитда амалга оширилди. Бундай

реакция шароитларида хитозан элементар бўғинларининг С-2 (NH<sub>2</sub>-гуруҳлари) ва С<sub>6</sub>- (ОН) гуруҳларининг сульфатланишига эришилди:



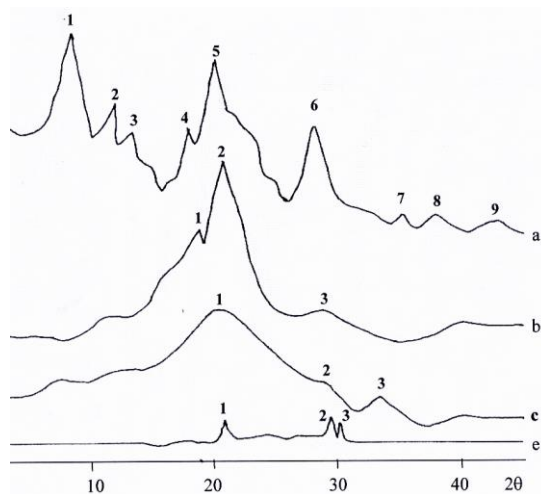
Таклиф қилинаётган реакция механизмида С-2, С-3, С-6 функционал гуруҳларининг реакция фаоллиги қуйидаги кетма-кетлик тартибда ортади: -NH<sub>2</sub><-CH<sub>2</sub>-OH<-C<sub>6</sub>OH. Ушбу схема бўйича *Bombyx mori* хитозан сульфати намуналарини ҳосил бўлишини тасдиқловчи тўғридан-тўғри далиллар ва таклиф қилинган реакция механизми қиёсий тадқиқотлар натижасида олинган.

Хитозан сульфат аморф полимер бўлиб, уни *Bombyx mori* хомашёсидан ишлаб чиқариш, кристалл тузилишини бузиш ва хитинни деацетиллаш орқали олинган хитозанни сульфатлаш йўли билан босқичма -босқич амалга оширилади(1-расм, 1-жадвал). Рентгеноструктур тадқиқотларининг таққосланган натижалари шуни кўрсатдики, хитин, хитозан, хитозан сульфат СХЗ-1 (50°С да) ва СХЗ-3 (80°С да) намуналарининг дифрактограммасининг 2θ бурчак диапазонида характеристик текисликаро масофасида (d) турли хил интенсивлик даражасидаги рефлекслар мавжуд.

1-жадвал

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

| Рефлекс № | d, Å  |         |       |       |
|-----------|-------|---------|-------|-------|
|           | Хитин | Хитозан | СХЗ-1 | СХЗ-3 |
| 1         | 9,19  | 4,91    | 4,46  | 4,29  |
| 2         | 6,79  | 4,50    | 3,17  | 3,18  |
| 3         | 6,39  | 3,39    | 2,91  | 2,75  |



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

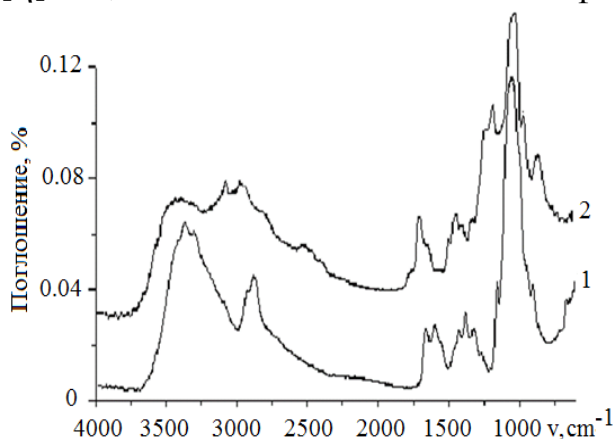
Хитин (а), хитозан (б) ва СХЗ-1 (с) дифрактограммаларидаги 2θ≈20° соҳасида яққол рефлекслар ушбу намуналарнинг кристалл ҳудудлари борлигидан далолат беради, жумладан 80°С ҳароратда олинган СХЗ-3 (е) намуна рентгенограммаларда ушбу рефлекс йўқолиши содир бўлган. Бу ҳароратнинг ошиши ва сульфогуруҳларнинг алмашилиши даражасининг ошиши, шунингдек, СХЗ-3 нинг аморф тузилишига ўтиши билан хитозаннинг кристалл тузилишининг юқори даражада бузилишидан далолат беради. Шундай қилиб, сульфатланиш реакцияси учун реакция шароитларини

танлаш билан сульфат хитозаннинг алмашилиш даражасини ошириш мумкин.

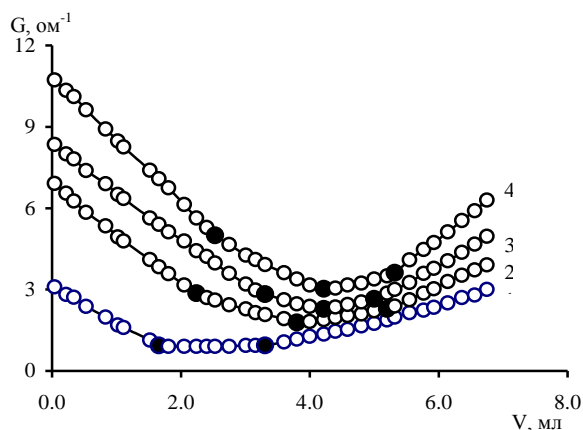
Хитозан сульфат намунасининг ИҚ-спектрида 1200-1090  $\text{см}^{-1}$  гача бўлган соҳада ( $\text{R-SO}_3\text{H}$ ) сульфон гуруҳларига хос ютилишлар ва 1240  $\text{см}^{-1}$  соҳада  $\text{S=O}$  гуруҳларининг ассиметрик валент тебранишлари билан боғлиқ бўлган ютилиш максимумлари кузатилди (2-расм).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

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

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



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



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

Бу ҳолда, СХЗ-1 нинг молекуляр массасининг қиймати  $M_n \approx 85$  кДа га тенг бўлади, яъни бошланғич хитозаннинг молекуляр массаси қийматидан ( $M_n \approx 104000$ ) 1,22 баравар камлиги аниқланди.  $M_n$  нинг камайиши хитозан молекулаларининг хитозан сульфатга молекулаларига айланиш жараёнида хитозан молекулаларининг сезиларли даражада деструкцияга учрашини

кўрсатади. Бу маълумотлар краб асосида олинган хитозан ҳақидаги адабиёт маълумотларига мувофиқ келади.

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

3-расмдаги қиёсий маълумотлардан кўриниб турибдики, титрлаш эгри чизиқлари кесишган қисмлар билан тавсифланади ва сульфатланган намуналар учун -2, -3, -4 эгри чизиқлари, хитозан эритмаси учун хос кондуктометриқ 1-эгри билан солиштирилганида  $G_{sm}$  катталиги қийматларининг катта қийматли соҳага силжиши кузатилди.

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

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

2-жадвал.

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

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

\* $CH_3COOH$  нинг 2 %-ли эритмасида

$SO_3H$  сульфо гуруҳлари гидроксил ва амина гуруҳларига алмашилиш даражасининг тақсимланишини баҳолаш, олинган СХЗ нинг барча намуналари учун  $-OH$  гуруҳларига алмашилиш қийматининг амин гуруҳларига алмашилиш даражасига нисбатан 1,14 барабар юқори эканлигини кўрсатди. Бу хитозан сульфатланиши нафақат  $NH_2$ -гуруҳларида, балки  $C_6-OH$ -гуруҳларида ҳам амалга оширади деган қарашларни тасдиқлайди.

Шундай қилиб, олинган натижалар *Bombyx mori* хитозани молекулаларининг сульфатланиш реакциясининг мураккаб механизмини кўрсатади, улар маълум даражада ҳарорат ва реакция вақтини ўзгартириб бошқарилиши мумкин.

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

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

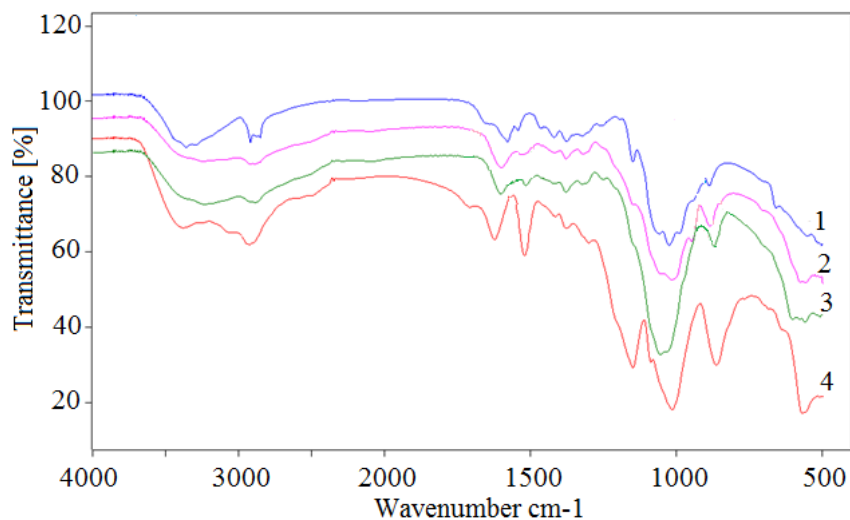
қайсики,  $\Delta C$  – хитозан сульфати ҳосил бўлиши реакциясида сульфатловчи агент концентрацияси ўзгариши;  $V$  – реакция аралашма ҳажми.

Сульфатловчи агент сифатида хлорсульфон кислотаси (ХСК) ҳам қўлланилган. Тадқиқотларда сульфатлаш реакциясининг дастлабки компонентлар хитозан:  $\text{HOSO}_2\text{Cl}$  (ХСК) 1:2 дан 1:10 гача нисбатларига боғлиқлигини ўрганиш вазифаси белгиланди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакцияси  $20^\circ\text{C}$  да ва 3 соат давомида амалга оширилди. Энг юқори алмашилиш даражаси компонентлар хитозан: ХСК нисбати 1:6 бўлган реакция шароитида аниқланди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг кинетикаси дастлабки компонентларнинг 1:6 нисбатида  $20^\circ\text{C}$  хона ҳароратида олиб борилди. Хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг мақбул давомийлиги 3 соат эканлиги аниқланди. Реакция тезлигини аниқлаш натижалари шуни кўрсатадики, синтез вақтининг ошиши билан ХСК нинг реакцияга киришмаган молекулалари миқдорининг камайиши билан боғлиқ бўлган, реакция тезлигининг  $8,46 \times 10^{-4}$  дан  $1,79 \times 10^{-4}$  моль/л.с. гача пасайиши кузатилди.

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

Хитозан сульфат намуналарининг ИҚ-спектрларида сульфон гуруҳига хос ( $\text{R}-\text{SO}_3\text{H}$ ) ютилишлар мавжудлиги ва  $\text{S}=\text{O}$  сульфат гуруҳларининг валент тебранишларига хос ютилишлар  $863-1150 \text{ cm}^{-1}$  бўлган соҳаларда кузатилди.. Хитозан сульфат ҳосил бўлишида ХСК сульфатловчи агент иштирокида 863, 1015, 1149  $\text{cm}^{-1}$  соҳаларда сульфат гуруҳларининг ( $\text{C}-\text{O}-\text{S}$  боғлари) валент тебранишларини тавсифловчи ютилиш максимумлари аниқланди. Хитозаннинг амид-II гуруҳлари учун хос бўлган ютилишларнинг  $1580 \text{ cm}^{-1}$  дан  $1520 \text{ cm}^{-1}$  гача тўлқин узунлиги кичикроқ соҳага силжиши кузатилди, бу хитозан элементар бўғинидаги С-2 амин гуруҳлари иштирокида

сульфатланиш содир бўлишини тасдиқлайди. Олеум ва сульфат кислота сульфатловчи агентлари иштирокида олинган хитозан сульфати спектрларида, аминокислоталарига хос ютилиш диапазонларининг силжиши кузатилди, шунингдек олинган спектрларда сульфатловчи агент ХСК асосида олинган хитозан сульфати билан солиштирганда, ютилишлар интенсивлигининг пасайиши кузатилади.



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

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

Шундай қилиб, хитозан ва хлорсульфон кислотаси асосида компонентлар нисбати 1:6 (1-намуна) бўлганида хитозан сульфат ҳосил бўлиш реакциясининг тезлиги ва ҳарорат ва синтез давомийлигининг таъсири ҳам аниқланди. Хитозан сульфатнинг ҳосил бўлишида дастлабки компонентлар хитозанга:ХСК нисбати 1:6, реакция давомийлиги 3 соат ва ҳарорат  $25^{\circ}\text{C}$  бўлиши мақбул шароит эканлиги аниқланди. Натижада, дастлабки хитозаннинг маълум қисми моно-, ди- сульфополисахаридлар ҳосил бўлишини тасдиқлайди.

Тажриба натижаларига асосланиб, *Bombyx mori* хитозани сульфатланиш кинетикасининг назарий ҳисоблашлари кимёвий реакцияларни моделлаштириш хитозан сульфат ҳосил бўлиш принциплари асосида амалга оширилди.

Хитозан элементар бўғинларида сульфогуруҳининг алмашилиши занжирнинг кимёвий потенциалининг ўзгаришига, биологик фаолликнинг ошишига, турли моддалар билан, айниқса сув билан ўзаро таъсирлашишига ва эрувчанлиги ортишига олиб келади. Натижалар шундан далолат берадики, эрувчанлик (П) чизикли бўлмаган ҳолда  $\gamma_s \leq 0,85$  га қадар ошиб боради, кейинчалик  $\gamma_s > 0,85$  бўлганида намуналар юқори эрувчанлик даражаси  $P > 95\%$  билан тавсифланади. Бу, албатта, хитозан сульфат молекулаларининг барқарорлигида намоён бўлади. Шунингдек инобатга олган ҳолда, барқарорлик кўрсаткичи сульфат хитозан (7900 - 35900) намуналарининг суялтирилган

эритмалари (Дебай критерияси  $C[\eta] \leq 0,5$ ) учун турли алмашилиш даражалари билан боғлиқ ҳолда ўрганилди. Нисбий қовушқоқлик қиймати бўйича ( $\eta_{\text{нис}}$ ), хитозан сульфат молекулаларининг барқарорлиги 1 ой давомида кузатилди. Дастлабки хитозан сульфат намуналари эритмаларининг нисбий қовушқоқлиги нисбатан фарқ қилиши аниқланди;  $\gamma_s$  нинг ортиши билан нисбий қовушқоқлик  $\eta_{\text{нис}}$  ошиши кузатилди. Эритмалар хона шароитида сақланар экан,  $\eta_{\text{нис}}$  нинг қиймати деярли ўзгармайди, яъни хитозан сульфат намуналари молекулаларининг эритмадаги ҳолати билан боғлиқ сезиларли ўзгаришлар аниқланмади. Олинган натижалар ҳар-хил даражадаги сувли эритмаларда хитозан сульфати молекулаларининг барқарорлигини кўрсатди.

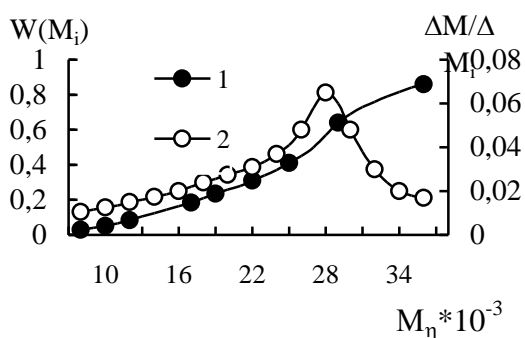
хитозан сульфатнинг таркибини таҳлил қилиш учун унинг (C=1%) ли сувли эритмаси ацетон ёрдамида фракцион чўктириш методидан фойдаланилди. Ушбу тадқиқот натижасида, 9 та фракция олинди, уларнинг характеристикалари, хусусан, массаси ( $m_i$ ), масса улуши ( $f_i$ ), шунингдек, кумулятив массавий улушлари ( $W'(M_i)$ ) куйидаги ҳисоблаш формуласи ёрдамида аниқланди.

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

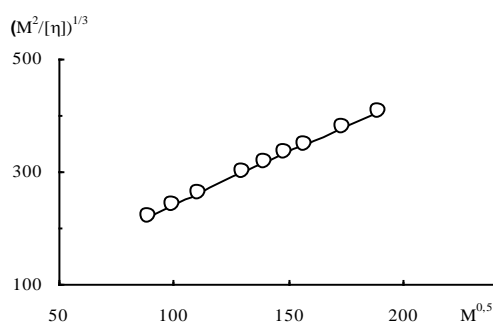
Фракцияларнинг молекуляр массалари қийматлари қовушқоқлик қийматларидан аниқланди. Кўриниб турибдики, фракцион чўктиришлар сони ошгани сайин (яъни  $i$  – фракциялар сони), масса улуши ва молекуляр массанинг камайиш тенденцияси кузатилади.

Молекуляр оғирлик диапазони кичик бўлишига қарамай (7900-35900), хитозан сульфати маълум молекуляр оғирлик тақсимооти билан ажралиб туради. 5- расмдаги маълумотлардан кўриниб турибдики, дифференциал эгри чизиқдаги паст молекуляр массалар ( $M_n$ ) қийматларига мос келадиган ҳудуд нисбатан катта. Бу шунини кўрсатадики, хитозан сульфатланиши занжирларнинг сезиларли даражада деструкцияга учрашига олиб келишидан далолат беради, яъни, хитозан сульфатнинг куйи молекуляр оғирликдаги кўплаб фракциялари ҳосил бўлади.

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



5-расм. *Bombyx mori* хитозан сульфатнинг интеграл (1) ва дифференциал (2) эгри чизиқлари



6-расм.  $(M^2/[\eta])^{1/3}$  от  $M^{0,5}$  нинг хитозан сульфат намуналари эритмаларига боғлиқлиги



"Занжирсимон" занжирлар модели бўйича айланма ҳаракатланиш назариясига кўра ҳисоб-китоблар қуйидагича ифодаланди:

$$(M^2/[\eta])^{1/3} \approx \Phi^{-1/3}(M_0/\lambda_s A)^{0,5}M^{0,5} + M_0/\lambda_s (k/3\pi A_0 100^{1/3})(\lg(A/d) - 1,056) \quad (3)$$

Қайсики,  $\Phi \approx 2,21 \cdot 10^{23}$  – гидродинамик константа;  $M_0 \approx 401$ ,  $\lambda_s \approx 0,51$  нм ва  $d \approx 1$  нм, мос равишда, элементар звено массаси, узунлиги ва диаметри;  $A_0 \approx 3,7 \cdot 10^{-10}$  эргград-1 моль-1/3-гидродинамик инвариант;  $k$  - константа.

$(M^2/[\eta])^{1/3}$  нинг  $M^{0,5}$  га боғлиқлик графиги чизилди (6- расм).

Графикдан йўналган эгри чизиқнинг бурчак қиймати  $\Phi^{-1/3}(M_0/\lambda_s A)^{0,5} \approx 1,83$  ва *Bombux mori* хитозан сульфати учун занжир сегментининг узунлиги  $A \approx 15$  нм га тенглиги ҳисобланди. Олинган  $A$  қиймати бу синф полисахаридлари учун хосдир. хитозан сульфатининг ўрганилган фракциялари занжирларининг контур узунлиги  $(M_i/M_0)\lambda_s \approx L$  10 дан 50 нм гача бўлгани учун, улар  $N \approx L/A$  сегментларининг сони 1 дан 3 гача эканлиги тасдиқланди. Такидлаш жоизки, дастлабки *Bombux mori* хитозанининг Кун сегменти узунлиги 20 дан 25 нм гача ва занжирнинг сегментлари сони 3 дан 17 гача ўзгариб туриши аниқланди. Хитозан сульфати Кун сегменти қийматининг камайиши сульфогуруҳларининг элементар бўғинларда алмашиниши натижасида занжир қаттиқлигининг пасайиши билан ва сегментлар сонининг камайиши хитозан сульфатланиши жараёнида занжирнинг дестрекцияга учраши билан изоҳланиши мумкин.

Тўртинчи бобда *Bombux mori* хитозан сульфати намуналарининг тузилишини, ўзига хос физик-кимёвий ва тиббий-биологик хусусиятларининг намоён бўлишини тадқиқ қилиш натижалари муҳокама қилинди. Хитозан сульфатнинг атеросклероз, антикоагулянт хусусиятлари, иммунологик фаоллиги, токсиклиги ва фармакотерапиясида гипополидемик восита сифатида намуналарнинг самарадорлигини баҳолашга оид тадқиқот натижалари келтирилган.

*Bombux mori* хитозан сульфатнинг атеросклерозда антикоагулянтлик қобилиятини, шунингдек, хитозан сульфат асосида олинган дори воситаларининг иммунологик хусусиятлари ва токсиклигини аниқлаш учун тадқиқотлар ўтказилди ва синовдан ўтказилди.

Ушбу дори воситалар гемостазга сезиларли таъсир кўрсатиши мумкинлигини инобатга олиб, клиникада кенг қўлланиладиган антикоагулянт сифатида қўлланилган гепарин ва гипополидемик дори гемфибразилдан, фибратларга мансуб бўлган ва гиперхолестеринемия ва атеросклерозни даволашда клиник амалиётда фойдаланилди. Тажрибалар шуни кўрсатдики, хитозан сульфатнинг (№1) ва асосан хитозан сульфат №2 намуналари экспериментал атеросклерозга учраган ҳайвонларга 30 кун мобайнида қўлланилганида тромбоцитлар агрегацияси кўрсаткичларининг сезиларли пасайиши кузатилди (5-жадвал).

Қўлланилган дори воситалари антикоагулянт хусусиятларга эга эди. №1 хитозан сульфатнинг (СХЗ) 1 ой давомида қўлланилиши тромбоцитлар агрегацияси қийматларини 1,96 марта ( $P < 0,001$ ), тромбин вақтини 1,1 баробарига ва РМФК қийматини 1,34 баробарга ( $P < 0,05$ ) пасайишига олиб келди.

**Экспериментал атеросклерозли қуёнларнинг тромбоцитлари кўрсаткичларига хитозан сульфат намуналарининг таъсири (M±m, n=6)**

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

*Изоҳ: \*p<0,05 интакт гуруҳга нисбатан, \*\*p<0,05 назорат гуруҳига нисбатан, \*\*\*p<0,05 гепарин билан бўлган гуруҳга нисбатан, \*\*\*\*p<0,05 хитозан-1 билан бўлган гуруҳга нисбатан*

Антикоагулянт хусусиятларига кўра, №1 СХЗ препарати гепариндан хоссалари жиҳатидан орта қолмайди ва №2 СХЗ препарати ундан устунлик номоён қилади. Дори воситаларининг бу хусусиятлари гиполепидемик хусусиятлари билан боғлиқ бўлади. Экспериментал гиперхолестеинемияда ушбу дори воситаларнинг эрувчан фибрин-мономерли комплексларга (РФМК) таъсирини ўрганиш СХЗ-1 ва СХЗ-2 препаратларини даволашда тромбоцитлар вақтининг камайиши 8,68 % ни ташкил қилишини кўрсатди.

Хитозан сульфат препаратларининг иммунологик кўрсаткичларга самарадорлиги текширилди: №1 СХЗ – хитозан сульфат эритмаси - 500 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл Н<sub>2</sub>О); № 2 СХЗ - хитозан сульфат эритмаси - 1000 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл Н<sub>2</sub>О). Иммунологик кўрсаткичлар бўйича, иммунитетнинг марказий ва периферик органлари ҳолатида (4-жадвал), хусусан, назорат гуруҳи сичқонларининг талоқларида ўртача 1685.0±211.0 антитела ҳосил қилувчи хужайралар (АХҚХ) ҳосил бўлди. №1 СХЗ препарати қўлланилган хайвонларда, қўйларнинг эритроцитларида иммун жавоб 1,91 марта ошиши кузатилди. (талоқдаги АХҚХ нинг миқдори 3225,0±364,8 га тенг), №2 СХЗ препарати қўлланилганида – 1,96 марта ошади (талоқлардаги АХҚХ нинг миқдори 3300,0±274,4 га тенг). Тадқиқ қилинган препаратлар етарлича иммуностимуляторлик фаоллик номоён қилди.

**Сичқонлардаги (M±m), (n=8) қўй эритроцитлари иммун жавобига хитозан сульфатнинг таъсири (M±m), (n=8)**

| Гуруҳ   | Модда дозаси (мл) | ТЯЭХ × 10 <sup>6</sup> миқдори | НН    | Антитела ҳосил қилувчи хужайралар сони |       |                                     |       |
|---------|-------------------|--------------------------------|-------|--|-------|-------------------------------------|-------|
|         |                   |                                |       | Талоқ бўйлаб                           | НН    | Талоқнинг 10 <sup>6</sup> хужайраси | НН    |
| Назорат | -                 | 85,6 ± 9,2                     | -     | 1685,0±211,0                           | -     | 22,5±4,8                            | -     |
| №1- СХЗ | 0,5               | 108,8±14,5                     | +1,27 | 3225,0±364,8*                          | +1,91 | 32,5±4,9                            | +1,44 |
| №2- СХЗ | 0,5               | 86,3 ± 13,5                    | +1,0  | 3300,0±273,4*                          | +1,96 | 46,9±8,7*                           | +2,08 |

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

"Сульфопарин" дори воситасининг ўткир токсиклиги. "Сульфопарин" дори воситасининг ўртача ўлим меъёри (ЛД<sub>50</sub>) 2150 (2425,4+1874,6) мг/кг ни ташкил қилади. Шунинг учун, дори воситаларининг токсиклик даражаси таснифига кўра, "Сульфопарин" дори воситаси кам токсик моддалар синфига мансубдир (IV синф). Ўтказилган тадқиқотлар "Сульфопарин" дори воситаси

бир марталик қорин бўшлиғи ва оғиз орқали юборилганида, кам токсиклик намоён этганлигини тасдиқлади.

## ХУЛОСА

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

1. *Bombyx mori* тут ипак қурти ғумбаги хитинидан олинган хитозанни сульфатлаш реакциялари хар-ҳил сульфатловчи агентлар – сульфат кислота, олеум ва хлорсульфон кислоталари иштирокида 20°C ҳароратда амалга оширилиши мумкин. Сульфатлаш реакцияси натижасида юқори реакцион фаолликка эга бўлган C<sub>6</sub>-ОН, C<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> гуруҳларининг водородлари алмашинуви содир бўлади.

2. Сульфатлаш жараёнида полимернинг сезиларли деструкцияси амалга ошади ва ҳосил бўлган маҳсулотнинг кристаллиги камайиши содир бўлади. Хлорсульфон кислотаси иштирокида бошқа сульфатловчи агентларга нисбатан юқори алмашилиш даражасига эришилди.

3. Сульфатловчи агентларни ва реакция шароитларини бошқариш орқали C<sub>2</sub>-N-, C<sub>6</sub>-O- алмашинган хитозан сульфат синтезини амалга оширилади. C<sub>6</sub>-O- алмашинган ҳосилалар кўпроқ даражада сульфатловчи агент сульфат кислотаси ва изопропил спирти иштирокида амалга ошади. Эритувчи сифатида ДМСО қўлланилганида, шунингдек, сульфатловчи агент сифатида олеум ва хлорсульфон кислотасидан фойдаланилганида кўпроқ даражада C<sub>2</sub>-N-, C<sub>6</sub>-O- диалмашинган хитозан ҳосилалари ҳосил бўлади.

4. *Bombyx mori* хитозани сульфатланишининг қонуниятлари ўрганилди ва молекуляр масса камайишининг нисбатан паст қийматларида юқори алмашилиш даражасига эга бўлган C<sub>2</sub>-N-, C<sub>6</sub>-O- диалмашинган хитозан сульфатини олиш учун компонентлар нисбати ХЗ:ХСК≈1:6, синтез ҳарорати 50 °C мақбул шароит эканлиги аниқланди.

5. *Bombyx mori* хитозан сульфати намуналарининг молекуляр массалари ва конформацион хусусиятлари аниқланди. Хитозани сульфат молекулалари каттиқ занжирли бўлиб, ўртача молекуляр масса катталиги  $M_n=30200$ , поли дисперслиги қиймати  $M_w/M_n=1.25$ , занжирнинг сегменти узунлиги  $A=15$  нм ва сегментлар сони  $N=1\div 3$  га тенг бўлиши асосланди.

6. Хитозан сульфат таркибида гидрофил сульфогуруҳлар миқдори ва аморф тузилиши, сув буғларини юқори сорбцион ютиш фаоллигини ва дастлабки хитозанга нисбатан сувда эрувчанлигини ошириши кўрсатилди. Ёруғликнинг динамик тарқалиши (ЁДТ) методи ёрдамида сувли эритмада СХЗ нинг зарра ўлчамлари синтез шароитларига ва мувофиқ равишда молекуляр массага боғлиқ эмаслиги нано ўлчамли ассоциатлар ҳосил бўлишидан далолат беради.

7. Синтез қилинган хитозан сульфат асосида кам токсик бўлган "Сульфопарин" препарати яратилди. Ушбу препаратнинг гипополидемик восита сифатида, атеросклерозни даволашда ва гиперхолестеринемияда антикоагулянт сифатида юқори биологик фаоллиги аниқланди, тиббий-биологик амалиётда қўлланилиш борасида юқори самарадорлиги кўрсатилди.



**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.К/ФМ/Т.36.01  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ  
ПРИ ИНСТИТУТЕ ХИМИИ И ФИЗИКИ ПОЛИМЕРОВ**

---

**ИНСТИТУТ ХИМИИ И ФИЗИКИ ПОЛИМЕРОВ**

**Рахманова Вазира Норкуловна**

**СИНТЕЗ, СТРУКТУРА И СВОЙСТВА СУЛЬФАТИРОВАННОГО  
ХИТОЗАНА *BOMBUX MORI***

**02.00.06 – высокомолекулярные соединения**

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

**Ташкент – 2021**

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

Диссертация выполнена в Институте химии и физики полимеров

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

**Научный руководитель:**

**Рашидова Сайёра Шарафовна**

доктор химических наук, профессор, академик

**Официальные оппоненты:**

**Ихтиярова Гульнора Акмаловна**

доктор химических наук, профессор .

**Юнусов Хайдар Эргашевич**

доктор технических наук .

**Ведущая организация:**

**Биоорганик кимё институти**

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г. в \_\_\_\_ часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/FM/T.36.01 при Институте химии и физики полимеров по адресу: 100128, г. Ташкент, ул. Абдулла Кадыри, 76. Тел. (99871) 241-85-94; факс: (99871) 241-26-61, e-mail: polymer@academy.uz.

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

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 года.  
(протокол рассылки № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2021 года).

**Н.Р. Ашуров**

Заместитель председателя  
научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.т.н., профессор

**М.М. Усманова**

Ученый секретарь научного совета по присуждению  
ученых степеней, к.х.н., старший научный сотрудник

**А.А. Сарымсаков**

Председатель научного семинара  
при научном совете по присуждению  
ученых степеней, д.т.н., профессор

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

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире увеличивается потребность на сульфат хитозана, полученный на основе местного сырья, обладающими водорастворимыми, медико-биологическими (антибактериальными, антикоагулянтными, противовирусными, противоопухолевыми, иммунологическими и другими лечебными) свойствами, и поэтому, его более глубокое научное изучение является весьма актуальной задачей не только на республиканском масштабе, но и в мировой химической и фармацевтической отраслях. В этом направлении особое значение имеет в качестве потенциальных источников для синтеза СХЗ хитозан, получаемый из хитина, выделяемого из куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori*- производимого в виде отходов шелкомотальных производств в нашей Республики.

На сегодняшний день в мире в этом направлении проводится интенсивно идентификация методов сульфатирования хитозана *Bombyx mori*, синтеза хитозана позволяет учесть влияние температуры и концентрации щелочи на кинетику, молекулярные и структурные свойства реакции сульфатирования. В этом направлении важным является синтез водорастворимых производных хитозана путем модификации, изучение их структуры и свойства, а также создание экологически безопасных препаратов со специальными свойствами на их основе, обладающих антимикробными и иммуноактивными комплексными свойствами.

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

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

---

<sup>2</sup>Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» фармацевтической отрасли Республики Узбекистан»

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

**Степень изученности проблемы.** Во многих странах мира активно развиваются научные работы по изучению и применению хитозана и его производных. Интересные данные о способе получения сульфатированного хитозана, выделенного из крабового хитина, представлены в работах авторов Zhao Mei Wang, Pathum Chandika, Yasser S. El-Saharty, Bonaventura Focher, Shigehiro Hirano, Kevin R. Holme, Emmanuelle Marie Kai Zhang, Namasivayam Subhadrappa, Natália R. Pires, Samet Kocabay и немаловажный вклад внесен также многими другими школами, а также необходимо подчеркнуть работы ученых из стран СНГ А.И. Гамзаде, Л.А. Вихоревой, Л.А. Нудьги, К.Э. Будовской, П.П. Столбушкиной и др.

В нашей республике академик С.Ш. Рашидова и ее ученики внесли свой весомый вклад своими исследованиями по синтезу, определению структуры и свойств производных хитозана и их внедрение на практике.

До настоящей работы в литературе имеются мало исследований по синтезу и кинетических свойств сульфата хитозана *Bombyx mori*. Исходя из этого обуславливают проведения теоретико-практических исследований в этом направлении и это создает перспективу получения экологически безопасных полимерного препаратов на основе производных хитозана с высокой биологической активностью.

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

**Цель исследования** состоит в выявлении путей синтеза и кинетических закономерностей сульфатирования хитозана *Bombyx mori*, определении молекулярно-массовых и структурных характеристик, а также медико-биологических свойств полученного сульфата хитозана.

**Задачи исследования:**

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

исследование кинетики сульфатирования и определение оптимальных условий синтеза сульфата хитозана;



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

исследование структуры и физико-химических свойств сульфата хитозана;

изучение электронного строения и моделирование структуры сульфата хитозана;

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

**Объектами исследования** являются хитозан *Bombyx mori*, хлорсульфоновою кислоты, образцы сульфат хитозана, и биологически активные препараты является основным объектом.

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

**Методы исследований.** В исследованиях использованы элементный анализ, ДЛС-, УФ-, ИК-спектроскопия, рентгеноструктурный и сорбционный анализ, кондуктометрическое титрование, вискозиметрия и другие физико-химические методы.

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

впервые получены сульфатирование хитозана *Bombyx mori*, используя в качестве сульфатирующего реагента хлорсульфоновою кислоту, установлены кинетические закономерности данной реакции и выявлены оптимальные условия получения сульфата хитозана с определенным молекулярным строением и степенью замещения функциональных групп;

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

выявлено, что сульфат хитозана является аморфным полимером и его сорбционные свойства повышаются с ростом степени замещения;

показано, что препараты на основе сульфат хитозана *Bombyx mori* с названием «Сульфопарин», будучи малотоксичными, оказывает существенное действие на иммунологические и гематологические показатели крови, проявляет выраженную эффективность, в качестве гипополипидемических средств, в фармакотерапии атеросклероза, антикоагулянтные свойства и т.п.

**Практические результаты исследования** заключается в следующем: определены оптимальные условия реакции синтеза сульфата хитозана *Bombyx mori*, разработан лабораторный регламент получения, а также изучены кинетические и структурные характеристики;

Сульфат хитозана *Bombyx mori* испытан в качестве гипополипидемических средств, в фармакотерапии атеросклероза и антикоагулянтов при гиперхолестеринемии, а также как иммунологические и гематологические препаратов.

**Достоверность результатов исследований.** Экспериментальные

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

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования определяется тем, что установлено кинетические закономерности сульфатирования хитозана *Bombux mori*. Полученный сульфат хитозана с определенной степенью замещения и строением цепей имеют большое значение в понимании общих механизмов и проведено подбора условий реакции химического сульфатирования хитозана.

Практическая значимость работы заключается о том, что рассчитаны значения молекулярной массы, молекулярно-массовое распределение, полидисперсность и конформационные параметры сульфата хитозана *Bombux mori* и определены молекулярном строении данного полисахарида.

Практическое применение результатов исследований заключается в том, что выявленные медико-биологические свойства сульфата хитозана использован для разработки препаратов, применяемых в качестве гипополидемических средств, в фармакотерапии атеросклероза, антикоагулянтов при гиперхолестеринемии, иммунологических и гематологических средств, что позволила получить эффективные результаты в профилактике гиперхолестеринемии, а также при лечении атеросклероза с помощью малотоксичного антикоагулянта «Сульфопарин».

**Внедрение результатов исследования.** Выявленные возможности и кинетические закономерности сульфата хитозана *Bombux mori* использованы для получения данного полисахарида с определенной степенью замещения и молекулярным строением цепей, проявляющих выраженные физико-химические и медико-биологические свойства.

Сульфат хитозана *Bombux mori* испытан в качестве гипополидемических средств разработан новый препарат “Сульфопарин” который применяется и на его основе в фармакотерапии атеросклероза и антикоагулянтов при гиперхолестеринемии, а также как иммунологические и гематологические препаратов (Справка №03/3093 от 9 октября 2021 г. Ташкентская медицинская Академия).

Результаты исследования, посвященные синтезу и свойствам сульфат хитозана *Bombux mori* были использованы в зарубежных журналах с высоким импакт-фактором (IF) (Polymers, 2018, V.10, Scopus , IF=4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF=9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF=18.808)). Результаты исследования расширили представления о структуре, свойствах и получении сульфат хитозана на основе хитозана *Bombux mori*.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследований апробированы на 8 международных и 12 республиканских конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 22 научных работ, 5 статьи, из них 2 в Республиканских и 3 в зарубежном журнале, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации доктора философии (PhD) Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан.

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Изложена на 119 страницах.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

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

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

Описаны основные методы, использованные для идентификации хитозана и сульфата хитозана (Рентгеноструктурного анализа, ИК-, УФ-спектроскопии, элементного анализа, кондуктометрического титрования) и для исследования молекулярных и структурных характеристик образцов в растворах (вискозиметрия, кондуктометрия, фракционирование, поляризационная микроскопия). На стандартные методы проведения физико-химических и медико-биологических исследований и испытаний даны соответствующие ссылки, а нетрадиционные подходы описаны в ходе обсуждения результатов опытов.

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

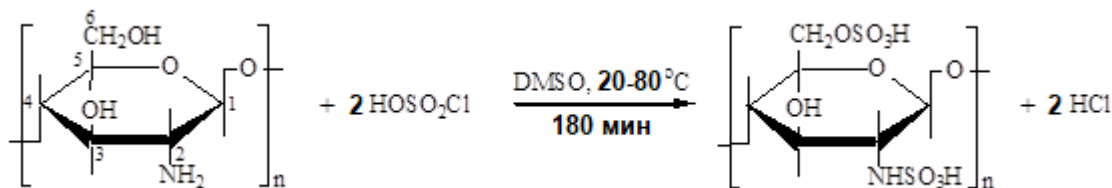
Хитозан, используемый для сульфатирования должен быть в состоянии для замещения сульфогрупп ( $\text{SO}_3\text{H}$ ), которое может осуществляться при С-2 ( $\text{NH}_2$ -групп) и С-6 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ -групп) элементарного звена. Поэтому, хитозан должен иметь высокой степень деацетилирования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

Получение образцов хитозана подтверждали данные ИК-спектроскопии, т.е. обнаружены характерные полосы поглощения в области  $3200\text{-}3500\text{ см}^{-1}$ , соответствующих валентным колебаниям гидроксильной  $\text{OH}$ -группы, при  $2900\text{ см}^{-1}$  - алифатической метиленовой группы, а также для амид-I при  $1680\text{ см}^{-1}$  и деформационных колебаний при  $1395, 1170, 1040, 868\text{ см}^{-1}$ . Результаты элементного анализа, кондуктометрического титрования, вискозиметрии показали, что, в первом случае выход хитозана составлял  $Y \approx 60\%$  и характеризовался  $\text{СДА} = 76\%$ , растворимостью  $P = 95\%$  в 2 %-ном растворе  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , а также характеристической вязкостью  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 5,08$  дл/г при подавлении полиэлектrolитного эффекта 2%  $\text{CH}_3\text{COONa}$  при  $25^\circ\text{C}$ . Молекулярная масса  $M_\eta \approx 309$  кДа, рассчитанная по уравнению Марка-Куна-Хаувинка  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 1,41 \cdot 10^{-4} M_\eta^{0,83}$ . Во втором случае, образец хитозана характеризовался  $Y \approx 49\%$ ,  $\text{СДА} = 91\%$  и  $P = 98\%$ , а также  $[\eta]_{\text{хз}} \approx 2,05$  дл/г и  $M_\eta \approx 104$  кДа. Сравнительное увеличение значений  $Y$ ,  $\text{СДА}$ ,  $P$  сопровождается резким снижением  $[\eta]_{\text{хз}}$  и  $M_\eta$ . Причиной этого, т.е. деструкции цепей, безусловно, является повышение концентрации щелочи ( $>40\%$ ) и увеличение продолжительности реакции деацетилирования хитина (на 1 ч).

Образцы со  $\text{СДА} \approx 76\%$  и  $M_\eta \approx 309$  кДа использовали для выявления принципиальной возможности проведения сульфатирования хитозана *Bombyx mori*, использовав способы, разработанные для крабового хитозана. На основе образца со  $\text{СДА} \approx 91\%$  и  $M_\eta \approx 104$  кДа исследовали кинетические закономерности сульфатирования хитозана *Bombyx mori*.

Поиск условий сульфатирования хитозана *Bombyx mori* ( $M_\eta \approx 104$ кДа) проводили исходя из принципов сульфатирования крабового хитозана, используя в качестве активирующего реагента диметилсульфоксида ( $\text{DMCO}$ ) и сульфлирующего реагента хлорсульфовую кислоту ( $\text{ХСК}$ ) при модуле

ХЗ:ХСК = 1:6, интервале температуры 50°C и продолжительности реакции 180 мин. Применение данных условий реакции привело к сульфатированию как аминогрупп (NH<sub>2</sub>-групп) при С-2, так и ОН-групп при С-6 элементарного звена хитозана:



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

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

Таблица 1

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

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

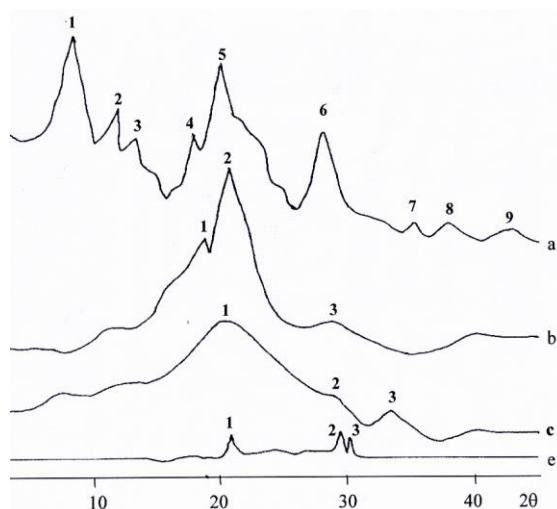


Рис. 1. Дифрактограммы хитина (а), хитозана (b), сульфата хитозана СХЗ-1 (с) и СХЗ-3 (е) *Bombyx mori*

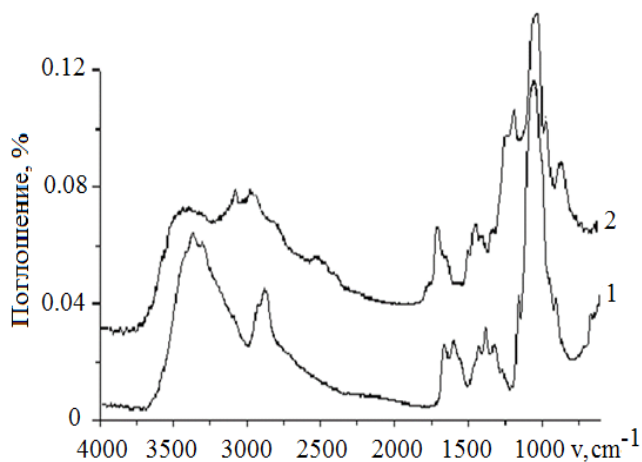
Сравнительные рентгеноструктурные исследования показали, что на дифрактограммах образцов хитина, хитозана, сульфата хитозана СХЗ-1 (при 50 °С) и СХЗ-3 (при 80 °С) имеются рефлексы различной интенсивности при характерных межплоскостных расстояниях (d) в широком диапазоне углов 2θ. Ярко выраженные рефлексы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

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

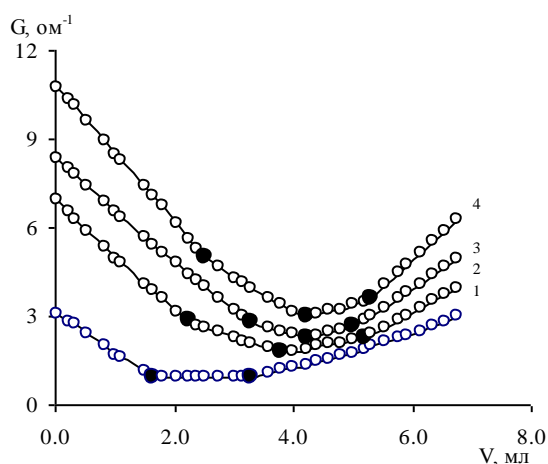
На ИК-спектре образца сульфат хитозана имеются характерные полосы поглощения, обусловленные наличием сульфоновой ( $R-SO_3H$ )-группы при  $1200-1090\text{ см}^{-1}$  и полоса поглощения с основным максимумом в области  $1240\text{ см}^{-1}$ , которая связана с ассиметричными валентными колебаниями сульфатных групп  $S=O$  (рис.2). При  $790\text{ см}^{-1}$  появляется четкий максимум, характеризующий валентных колебаний сульфатных групп ( $C-O-S$  связей). Также наблюдается снижение интенсивности и изменение полосы поглощения в области  $3200-3500\text{ см}^{-1}$ , соответствующих валентным колебаниям гидроксильной  $OH$ -группы, а также при  $2900\text{ см}^{-1}$  - алифатической метиленовой группы хитозана.

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

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



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



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

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

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

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

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

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

Таблица 2

Влияние параметров реакции сульфатирования хитозана *Bombyx mori* на элементарного состава сульфата хитозана

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

\* - в 2 %-ном растворе  $CH_3COOH$

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

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

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

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

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

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

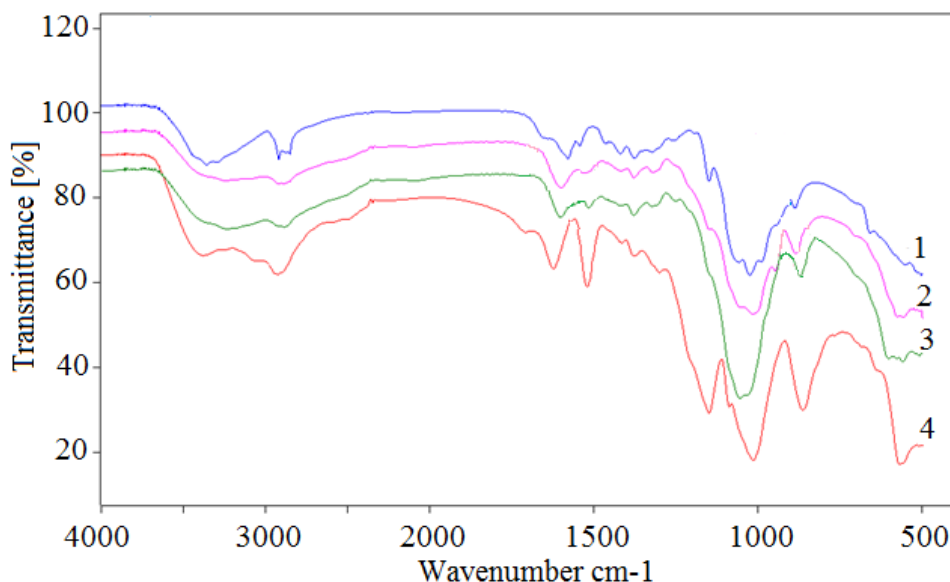
Изучено зависимости свойств сульфат хитозана от температуры синтеза проводили синтез в присутствии ХСК в соотношении компонентов ХЗ:ХСК при 1:6 продолжительности 3 ч. при температуре 20-70 °С. С увеличением температуры более чем 50 °С, происходит уменьшение степени замещения сульфогруппы и содержания серы. Это может происходить за счет увеличения скорости обратной реакции под действием высоких температур. Установлено, что при температуре 50 °С, происходит высокая степень замещения и содержания серы.

На ИК-спектре образцов сульфат хитозана имеются характерные полосы поглощения, обусловленные наличием сульфоновой (R-SO<sub>3</sub>H)-группы и валентными колебаниями сульфатных групп S=O при 863-1150 см<sup>-1</sup>. В образовании CXЗ в присутствии сульфатирующего агента ХСК в области при 863, 1015, 1149 см<sup>-1</sup> появляется четкий максимум, характеризующий валентные колебания сульфатных групп (C-O-S связей). Произошло смещение полосы поглощения амид-II от 1580 см<sup>-1</sup> до 1520 см<sup>-1</sup> для хитозана в более низкочастотную область для CXЗ, что может указывать на сульфатирование хитозана по аминной группе у C-2 элементарного звена хитозана. На спектре сульфата хитозана, полученного на основе сульфатирующих агентов олеума и серной кислоты, также наблюдается смещение полосы поглощения, характерное для аминных групп исходного хитозана, а также в полученном спектре наблюдается снижение



интенсивности остальных полосы поглощения по сравнению с СХЗ, полученного на основе сульфатирующего агента ХСК.

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



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

Таким образом, определены скорость реакции и константа скорости при образовании сульфат хитозана на основе хитозана и хлорсульфоновой кислоты в соотношении компонентов ХЗ:ХСК 1:6 (1-образец), а также изучено влияние температуры и продолжительности синтеза. Установлено, что для образования сульфат хитозана оптимальными условиями синтеза являются продолжительность 3 ч., температура 25 $^{\circ}\text{C}$  и соотношение компонентов ХЗ:ХСК 1:6. В результате определенная часть исходного хитозана превращается в моно- и ди- сульфополисахариды.

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

Замещение сульфогруппы в элементарном звене хитозана приводит к изменению химического потенциала цепей, повышению биологической активности, увеличению взаимодействий с различными веществами, особенно, с водой, растворимости. Выявлено, что растворимость (Р) увеличивается нелинейно до  $\gamma_s \leq 0,85$ , далее образцы с  $\gamma_s > 0,85$  характеризуются высокой степени растворимости  $P > 95 \%$ . Это, безусловно, отражаются в стабильности молекул сульфата хитозана. С учетом этого, вопросы стабильности исследовали для разбавленных растворов (критерий Дебая  $C[\eta] \leq 0,5$ ) образцов СХЗ (7900 – 35900) различной различной степенью замещения. По величине относительной вязкости ( $\eta_{\text{отн.}}$ ) контролировали состояние молекул СХЗ в течение 1 месяца. Обнаружено,

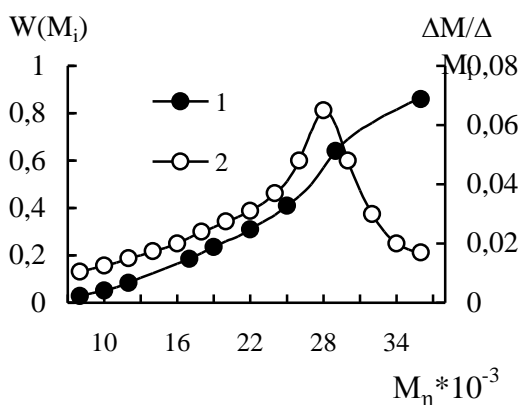
что относительная вязкость исходных образцов растворов сульфата хитозан различается, т.е. с увеличением  $\gamma_s$  повышается  $\eta_{отн}$ . По мере хранения растворов в комнатном условии значение  $\eta_{отн}$  практически не изменяется, т.е. не обнаруживается заметное изменение, связанное с поведением молекул образцов СХЗ. Полученные результаты свидетельствуют о стабильности молекул СХЗ с различной степенью замещения в водных растворах.

Синтез сульфата хитозана с высокой степенью замещения ( $\gamma_s \geq 1,2$ ) и низкой молекулярной массой ( $M_n \approx 30200$ ) для применения в медицине, фармакологии, косметике и т.п. оказался возможной при проведении сульфатирования хитозана ( $M_n \approx 104000$ ) в хлорсульфоновой кислоте при 50 °С в течение 3 часа. Для анализа состава сульфата хитозана проводили фракционирование его водного раствора ( $C = 1 \%$ ) методом дробного осаждения с использованием осадителя – ацетона. При этом получено 9 фракций, характеристики которых, в частности, масса ( $m_i$ ), массовая доля ( $f_i$ ), а также кумулятивные массовые доли ( $W'(M_i)$ ), рассчитанные согласно, по выражению

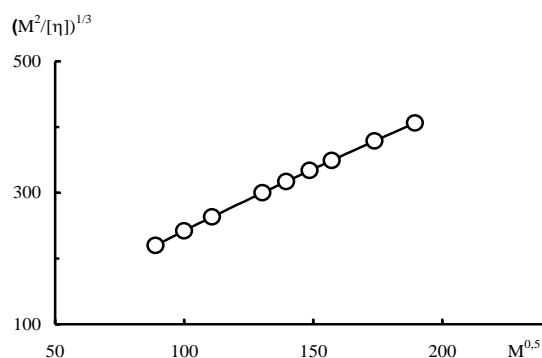
$$W'(M_i) \approx 0,5f_i + \sum f_i - f_{i-1} \quad (2)$$

представлены в таблице 3. Величины молекулярной массы фракций определяли по значениям характеристической вязкости. Видно, что по мере увеличения числа дробного осаждения (т.е.  $i$  - номера фракций), наблюдается тенденция уменьшения массовой доли и молекулярной массы.

Несмотря на то, что диапазон молекулярной массы небольшой (7900÷35600), СХЗ характеризуется определенным молекулярно-массовым распределением. Из данных рис. 9 видно, что участок, соответствующий значениям низких молекулярных масс ( $M_n$ ) на дифференциальной кривой зависимости, сравнительно большой. Это свидетельствует о том, что при сульфатировании хитозана происходит заметная деструкция цепей, т.е. образуются множество фракций сульфата хитозана, характеризующихся низкой молекулярной массой.



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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Таблица 3

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

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

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

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

Исследована эффективность препаратов: СХЗ-№1 - раствор СХЗ - 500 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл H<sub>2</sub>O); СХЗ-№2 - раствор СХЗ - 1000 МЕ/кг (0,6 г СХЗ/100 мл H<sub>2</sub>O). На иммунологические показатели, в частности, на состояние центральных и периферических органов иммунитета (таблица 4). Обнаружено, что в селезенках мышей контрольной группы в среднем образуется 1685,0±211,0 антителообразующих клеток (АОК). У животных, получавших СХЗ-№1, иммунный ответ к эритроцитам барана (ЭБ) повышается в 1,91 раза (число АОК в селезенках равно 3225,0±364,8), а при введении СХЗ-№2 - в 1,96 раза (3300,0±274,4 АОК). Следовательно, изученные вещества обладают достаточно выраженной иммуностимулирующей активностью.

Таблица 4

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

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

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

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

препараты СХЗ, т.е. «Сульфопарин», при однократном внутривнутрибрюшинном и оральном введении является малотоксичными.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

1. Сульфатирование хитозана, выделенного из хитина куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori*, может быть осуществлено в присутствии различных сульфатирующих агентов – серной кислоты, олеума и хлорсульфоновой кислоты при температуре 20°C. В результате сульфатирования происходит замещение водорода в C<sub>6</sub>-ОН, C<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> группах, которые обладают высокой реакционной активностью.

2. Процесс сульфатирования приводит к заметной деструкции полимера и к потере кристалличности продукта. В присутствии хлорсульфоновой кислоты наблюдаются более высокие степени замещения по сравнению с другими сульфатирующими агентами.

3. Варьируя природу сульфатирующего агента и условия проведения реакции, возможно осуществить синтез C<sub>2</sub>-N-, C<sub>6</sub>-O- сульфата хитозана. Производные C<sub>6</sub>-O-сульфата хитозана в большей степени образуются в присутствии изопропилового спирта с сульфатирующим агентом серной кислотой. При использовании в качестве растворителя ДМСО, а также олеума и ХСК в качестве сульфатирующих агентов в большей степени образуются C<sub>2</sub>-N-, C<sub>6</sub>-O- дизамещенные производные хитозана.

4. Выявлены закономерности сульфатирования хитозана *Bombyx mori* и показано, что оптимальными условиями синтеза для получения C<sub>6</sub>-ОН, C<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>- дизамещенных СХЗ, позволяющими достичь высоких степеней замещения при относительно небольшом снижении молекулярной массы продукта является соотношение компонентов ХЗ:ХСК ≈ 1:6, температура синтеза 50 °С.

5. Определены молекулярно-массовые и конформационные характеристики образцов сульфата хитозана *Bombyx mori*. Выявлено, что молекулы сульфат хитозана являются жесткоцепными и характеризуются средней величиной молекулярной массы  $M_n=30200$ , полидисперсностью  $M_w/M_n \approx 1,25$ , длиной сегментов цепи  $A \approx 15$  нм и числом сегментов  $N \approx 1 \div 3$ .

6. Показано, что наличие гидрофильных сульфогрупп в сульфате хитозана и его аморфная структура способствуют высокой сорбционной активности паров воды и растворимости его в воде по сравнению с немодифицированным хитозаном. Методом ДЛС установлено, что размер частиц СХЗ в водном растворе не зависит от условий синтеза и,

соответственно, от молекулярной массы, что может свидетельствовать об образовании наноразмерных ассоциатов.

7. На основе синтезированного сульфата хитозана получен малотоксичный препарат «Сульфопарин». Обнаружена высокая биологическая активность препарата при применении в качестве гиполипидемических средств в фармакотерапии атеросклероза и антикоагулянтные свойства при гиперхолестеринемии, что представляет интерес для его использования в медико-биологической практике.

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

---

**INSTITUTE OF POLYMER CHEMISTRY AND PHYSICS**

**RAKHMANOVA VAZIRA NARKULOVNA**

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

**02.00.06 - High molecular compounds**

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

**Tashkent-2021**

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

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

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

**Scientific supervisor:** **Sayyora Sharafovna Rashidova**  
doctor of chemical science, professor, academician

**Official opponents:** **Ihtiyarova Gulnara Akmalovna**  
doctor of chemical sciences, professor

**Yunusov Haydar Ergashevich**  
doctor of technical science

**Leading organization:** **Institute of bioorganic chemistry**

The defense of the dissertation will take place on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 at « \_\_\_\_ » at a meeting of Scientific council DSc.27.06.2017.K/FM /T.36.01 at the Institute of Polymer Chemistry and Physics (Address: 100128, Tashkent city, Abdulla Kadiry str., 7<sup>b</sup>, Ph.: (998-71)-241-85-94; fax: (998-71)-241-26-61; e-mail: polymer@academy.uz)

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

The abstract of the dissertation has been distributed on « \_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 year  
(Protocol at the register № \_\_\_\_\_ dated « \_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 year)

**N.R. Ashurov**  
Chairman of scientific seminar under Scientific council for awarding the scientific degrees, doctor of technical science, professor,

**M.M. Usmanova**  
Scientific secretary of scientific council for award of scientific degrees, candidate of chemical sciences, senior researcher

**A.A. Sarimsakov**  
Chairman of scientific seminar under Scientific council for awarding the scientific degrees, doctor of chemical sciences, professor



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

**The aim of research work** is to identify the synthesis pathways and kinetic regularities of sulfation of Bombyx mori chitosan, to determine the molecular weight and structural characteristics, as well as the special medico-biological properties of the obtained chitosan sulfate.

**The objects of research work** are samples of chitosan Bombyx mori, chlorosulfonic acid, chitosan sulfate samples, and biologically active preparations obtained on its basis is the main object.

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

for the first time the sulfation of chitosan Bombyx mori was obtained using chlorosulfonic acid as a sulfonating reagent, the kinetic regularities of this reaction were established, and the optimal conditions for obtaining chitosan sulfate with a certain molecular structure and degree of substitution of functional groups were revealed;

the molecular weight characteristics of chitosan sulfate were determined, the values of polydispersity and conformational parameters were determined, in particular, the length of Kuhn's segments for a given polysaccharide;

it was revealed that chitosan sulfate is an amorphous polymer and its sorption properties increase with an increase in the degree of substitution;

It has been shown that preparations based on chitosan sulfate Bombyx mori with the name "Sulfoparin", being low-toxic, have a significant effect on immunological and hematological parameters of blood, show pronounced efficacy as lipid-lowering agents, in the pharmacotherapy of atherosclerosis, anticoagulant properties, etc.

**Implementation of the research results.** The revealed capabilities and kinetic regularities of Bombyx mori chitosan sulfate were used to obtain this polysaccharide with a certain degree of substitution and molecular structure of chains, exhibiting pronounced physicochemical and medico-biological properties.

Chitosan sulfate Bombyx mori has been tested as a hypolipidemic agent, a new drug "Sulfoparin" has been developed, which is also used on its basis in the pharmacotherapy of atherosclerosis and anticoagulants in hypercholesterolemia, as well as immunological and hematological drugs (Reference No. 03/3093 dated October 9, 2021 Tashkent Medical Academy).

The results of a study on the synthesis and properties of Bombyx mori chitosan sulfate were used in foreign journals with a high impact factor (IF) (Polymers, 2018, V.10, Scopus, IF = 4.493; Carbohydrate Polymers, 2013, V.91, Elsevier, IF = 9.381; Advanced Functional Materials, 2021, V.31, Wiley, IF = 18.808)). The results of the study expanded our understanding of the structure, properties, and preparation of chitosan sulfate based on Bombyx mori chitosan.

**The structure and volume of the thesis.** Dissertation consists of an introduction, 4 chapters, conclusions, a list of references and appendixes. The volume of dissertation is 119 pages, including 26 figures, formulas and 26 tables.

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

**I бўлим (I часть; part I)**

1. Рахманова В.Н., Нудьга Л.А., Милушева Р.Ю., Волчек Б.З., Холмуминов А.А., Баклагина Ю.Г., Рашидова С.Ш. Определение степени сульфатирования хитозана *Bombyx mori* методом кондуктометрического титрования // Журнал прикладной химии. 2009. -Т.82. -№12. -С.2048-2052. (I.F. 0,47 (Scopus))

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

3. Vazira N. Rakhmanova, Sayyora Sh. Rashidova. Molecular-weight characteristics of chitosan sulfate *Bombyx mori* // Journal of Scientific and Engineering Research, 2020, 7(8):57-60. (I.F. 0,543 (SJIF))

4. Рахмановой В.Н., Рашидовой С.Ш. Синтез сульфатированного хитозана *Bombyx mori* и его свойств // Доклады Академии наук Республики Узбекистан. -2021. № 1. –с. 60-65.

5. Rakhmanova V.N., Rashidova S.Sh. Formation kinetics of chitosan chitosan sulfate *Bombyx mori* in the presence of sulfating agents // International Scientific Journal Theoretical & Applied Science, -2021, 09 (101), -P. 407-415 *IF SJIF 7.184*.

**II бўлим (II часть; part II)**

1. Милушева Р.Ю., Рахманова В.Н., Максудова Ш.Д., Батырбеков А.А., Иноятова Ф.Х., Рашидова С. Ш. Иммуностимулирующие и антикоагулянтные свойства производных хитозана *Bombyx mori* // Научно-практического конференция; интеграция образования, науки и производства фармации, сборник тезисов. -Ташкент. 2010. -С. 335-336.

2. Рахманова В.Н., Рашидова С. Ш. Исследование влияния условий реакции на сульфатирование хитозана из *Bombyx mori*. // конференция молодых ученых, сборник тезисов. -Ташкент. 2010. -С. 13-16.

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

4. Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Изучение кинетики сульфатирования хитозана *Bombyx mori*. // Наука о полимерах: вклад в инновационное развитие экономики: международная научно-практическая конференция, сборник тезисов. -Ташкент. 2011. -С. 83-85.

5. Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Влияние степени замещения сульфохитозана *Bombyx mori* на сорбционные свойства.// Молодёжная конференция, сборник тезисов. -Ташкент. 2011. -С.198-201.

6. Милушева Р.Ю., Рахманова В.Н., Иноятова Ф.Х., Рашидова С.Ш. Синтез производных хитозана *Bombyx mori* и их использование при

заболеваниях различной этиологии // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: международ.конф., сборник тезисов. - Мурманск, 2012. -С.69-72.

7. Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Ашуров Н.Ш., Холмуминов А.А., Рашидова С. Ш. Исследование сорбции паров воды производными хитина с применением корреляционно-регрессионного анализа // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: международ.конф.,сборник тезисов. -Мурманск, 2012. -С.209-212.

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

9. Рахманова В.Н., Ашуров Н.Ш., Юнусов М.Ю., Рашидова С.Ш. Исследование термодинамических характеристик хитина, хитозана и сульфата хитозана *Bombyx mori*. // Роль полимерных материалов в инновационном развитии промышленности: конференция молодых ученых, сборник тезисов. –Ташкент, 2014. С.43-44.

10. Рахманова В.Н., Шодиева Д.Н., Ашуров Н.Ш., Юнусов М.Ю., Рашидова С.Ш. Структурные исследование сульфата хитозана *Bombyx mori* методом импульсного ЯМР спектроскопии // Роль полимерных материалов в инновационном развитии промышленности: конференция молодых ученых, сборник тезисов. –Ташкент, 2014.С.52-53.

11. Рахманова В.Н., Ашуров Н.Ш., Рашидова С.Ш. Рентгеноструктурные исследование хитозана и сульфат хитозана *Bombyx mori* // Актуальные проблемы химии природных соединений: Республ. конф. молод. учён., сборник тезисов. – Ташкент. 2015. - С. 185

12. Рахманова В.Н., Рашидова С.Ш. Влияние соотношения компонентов хитозана и серной кислоты на образования сульфат хитозана *Bombyx mori* // Современные проблемы науки о полимерах: республиканская конференция, сборник тезисов. –Ташкент, 2019. –С. 25-26.

13. Рахманова В.Н., Ашуров Н.Ш., Рашидова С.Ш. Изучение термодинамических характеристик сульфат хитозана *Bombyx mori* // Современные проблемы науки о полимерах, сборник тезисов. -2020. –С. 45-47.

14. Рахманова В.Н., Нургалиев И.Н., Рашидова С.Ш. Моделирование методом теории функциоа плотности реакции сульфатирования хитозана: теория и эксперимент // Современные проблемы науки о полимерах, сборник тезисов. -2020. –С. 45-47.

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

16. Нургалиев И.Н., Рахманова В.Н., Бурханова Н.Ж., Рашидова С.Ш. Электронная структура сульфатированных производных хитозана // Роль одаренной молодежи в развитии физики: республиканская конференция, сборник тезисов. -2021. -С. 44-45

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

Авореферат «Ўзбекистон кимё журнали» таҳририятида таҳрирдан ўтказилиб, ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

Бичими: 84x60 1/16. «Times New Roman» гарнитураси.

Рақамли босма усулда босилди.

Шартли босма табоғи: 3. Адади 100. Буюртма № 180.

Гувоҳнома № 10-3719

“Тошкент кимё технология институти” босмаҳонасида чоп этилган.

Босмаҳона манзили: 100011, Тошкент ш., Навоий кўчаси, 32-уй.