

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ
МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ
ТАБИЙ БИРИКМАЛАР КИМЁСИ КАФЕДРАСИ**

**Қўлёзма ҳуқуқида
УДК 547.82.547.857.1**

ТУРСУНҚУЛОВ ЖАСУР БАХТИЁРОВИЧ

**“ГОССИПОЛ ҲОСИЛАЛАРИ АСОСИДА ЯНГИ БИРИКМАЛАР
СИНТЕЗ ҚИЛИШ ВА БИОЛОГИК ФАОЛЛИКЛАРИНИ ЎРГАНИШ”**

5A140501-Кимё (биоорганик кимё) йўналиши

**Магистр
академик даражасини олиш учун ёзилган
ДИССЕРТАЦИЯ**

Илмий раҳбар:

к.ф.н.доц. Маулянов С.А.

Тошкент-2017

МУНДАРИЖА

КИРИШ	5
I-БОБ АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ	8
I.1. Госсипол. Кашф этилиш тарихи. Госсипол олишнинг синтетик усуллари	8
I.2. Госсиполнинг таркиби, тузилиши ва кимёвий хоссалари	11
I.3. Госсиполнинг физикавий хоссалари ва ажратиб олиш усуллари	23
I.4. Госсиполни Шифф асосларини синтези ва тузилиши	40
I.5. Госсипол ҳосилаларини биологик хоссалари	44
I.6. Митохондрияни биологик фаоллигини ўрганиш	50
II-БОБ ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ТАҲЛИЛИ	53
II.1. Госсиполни тозалаш	53
II.2. Госсиполнинг турли табиатли аминлар билан Шифф асосларини олиш	53
II.3. Синтез қилинган Шифф асосининг монокристаллини олиш	53
II.4. Синтез қилинган моддаларнинг физик-кимёвий хоссаларини (ЮҚХ, $T_{\text{суюк}}$ ва бош.) ўрганиш	54
II.5. Олинган янги модданинг тузилишини рентгент спектрлари ёрдамида текшириш	56
II.6. Синтез қилинган модданинг биологик фаолигини (митохондрияга таъсири асосида) ўрганиш	58
III-БОБ ТАЖРИБАЛАР БЎЛИМИ	62
III.1. Синтезни бажариш учун керак бўладиган реактив ва асбоб-ускуналар	62
III.2. Госсиполнинг турли табиатли аминлар билан Шифф асосларининг синтези	63
III.2.1. Госсиполнинг N-фенилацетамид билан Шифф асосини олиш.	63
III.2.2. Госсиполнинг (S)-2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-6-(пропиламин) бензотиазол билан Шифф асосини олиш	63

Ш.2.3.	Госсиполнинг изониазид билан Шифф асосини олиш	64
Ш.3.	Олинган Шифф асосининг биологик фаоллигини ўнганиш	65
Ш.3.1.	Синтез қилинган Шифф асосини бўккан митохондрияга таъсири	65
Ш.3.2.	Синтез қилинган Шифф асосини Fe^{2+} +аскорбат системасида бўккан митохондрияга таъсири	66
Ш.3.3.	Синтез қилинган Шифф асосини K^+ каналига таъсири	67
	ХУЛОСА	68
	АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ	69
	ИЛОВА	

ҚИСҚАРТМАЛАР РЎЙХАТИ

ДМФА - диметилформаид

ДМСО - диметилсульфооксим

ГСК-3 - госсипол сирка кислотасининг 3 марта қайта чўктирилгани

ГКМАТ - глицирризин кислотасининг моноаммонийли тузи

ЮҚХ – юпқа қатламли хроматография

КИРИШ

Ҳозирги кунга келиб, тиббиёт таракқий этиб бораётган бир вақтда беморлар учун зарур дори воситаларини етказиб бериш муҳим аҳамият касб этмокда. Айни вақтда турли касалликларни даволашда ўсимликлардан ажратиб олинган моддалар синтетик йўл билан олинган моддаларга нисбатан биологик таъсирчанлиги юқорилиги, захарлилик даражаси пастлиги ва ножўя таъсирларга эга эмаслиги билан ажралиб туради.

Янги биологик фаол моддаларнинг синтези, улар асосида тиббиётда вирусли касалликларни даволаш ва профилактика қилиш, турли хил этиологияли иммунотанқисликлар учун янги дори воситаларини яратиш муаммоси, ҳозирги кун биоорганик кимёсининг асосий вазифаларидан бири бўлишига сабаб, ВИЧ-инфекциясини, гепатит В, С ва янги респиратор вирус инфекцияларининг борган сари кенг тарқалишидир. Янги дори воситаларини яратишнинг перспектив йўлларида бири янги биологик фаол моддаларни мавжуд табиий бирикмаларни ва уларни ҳосилаларини, ўзгартирилган аналогларини қидиришдан иборат. Тиббиёт амалиётида қўлланиладиган доривор воситаларнинг учдан бир қисмини ўсимлик моддаларидан ажратиб олинган дори препаратлари ташкил қилади.

Шу билан бир қаторда ҳозирда пахта таркибидан ажратиб олинаётган госсипол моддаси ўзининг турли хил касалликларга қарши, шу жумладан ўсимтали саратонга қарши, иммуносупрессив, паразитлар ва турли хил вирусларга қарши хусусиятлари билан алоҳида аҳамиятга эгадир. Госсипол полифункционал бирикма бўлиб, кимёвий жараёнлар натижасида керакли маҳсулотлар ҳосил қилиш имкониятларига эга бўлган кенг қўлланиладиган бирикмалардан бири ҳисобланади. 60-йиллардан бошлаб госсипол асосида турли хил ҳосилаларни синтез қилиш ишлари олиб борилди ва натижада тиббиёт учун ўта зарур бўлган дори воситалари-мегосин, батриден, газолидон ва бошқалар яратилди. Кейинги йилларда олиб борилган ишлар шуни кўрсатмокдаки госсиполнинг турли хил аминокбирикмалар билан олинган ҳосилалари госсиполга нисбатан юқори физиологик фаолликга эга

эканлиги аниқланган. Госсипол турли табиатли аминокбирикмалар билан тез ва осон реакцияга киришиб шифф асосларини ҳосил қилади. Шу аснода госсипол асосида турли хил юқумли касалликларни келтириб чиқарувчи вирус ва бактерияларга қарши қўлланилаётган дори воситаларнинг сезувчанлигини ошириш хусусиятига эга бўлган интерферон индукторловчи моддаларни синтез қилиш ва уларни тиббиёт соҳасида қўллаш муҳим аҳамиятга эга.

Мавзунинг долзарблиги: Ҳозирги кунда турли хил микроорганизмларга қарши юқори фаолликни намоён қилувчи янгидан янги доривор перепаратларни синтез қилиш энг асосий долзарб вазифалардан бири бўлиб ҳисобланади. Табиий бирикмалардан олинган моддалар эса ўзига хос биологик фаолликни намоён этади. Ўсимликлар таркибидан (жумладан, илдиз, поя, барг ва ҳ.к.) ажратиб олинган моддаларни функционал гуруҳлари бўйича модификациялаш ёрдамида юқори биологик фаолликни намоён қилувчи моддаларни олиш мумкин бўлади. Бундай мақсадда Республикаимизнинг асосий техник ўсимлиги ҳисобланмиш пахта таркибидан ёт модда сифатида чиқариб ташланадиган госсипол моддасидан фойдаланиш айна муддао ҳисобланади. Чунки аввалдан госсипол моддасининг ўзи ва унинг кўпчилик ҳосилалари интерферон индукторловчи хусусиятга эгаллиги ҳақида маълумотлар маълум. Шу аснода, госсипол билан турли хил аминокбирикмаларнинг Шифф асосларини олиш ва улар ичидан юқори биологик фаолликка эга бўлганларини ажратиб олиш, сўнгра уларни медицина соҳасига қўллаш учун дори воситаларини яратиш, биоорганик кимё, табиий ва физиологик фаол бирикмалар кимёсининг долзарб муаммоларидан бири бўлиб ҳисобланади.

Тадқиқод объекти: Ўзбекистон техник ўсимлиги ҳисобланган пахта илдизи ва пояси таркибидан экстракция усули билан ажратиб олинган госсипол моддаси. Тиббиётда қўлланиладиган дори воситалари изониазид, ацетанилид ва прамипексол.

Тадқиқод предмети: Госсиполнинг турли табиатли аминлар билан шифф асосларини олиш ва уларни митохондрияга тасири асосида биологик фаоллигини ўрганиш.

Ишнинг мақсади ва вазифалари: Госсипол билан изониазид, ацетанилид ва прамипексолларнинг Шифф асосларини синтез қилиш орқали госсипол моддасининг биологик фаоллигини ошириш ва биологик фаоллигини митохондрияга тасирини ўрганиш. Синтез қилинган барча моддаларнинг айрим физик-кимёвий доимий анализларини ўрганиш ва уларнинг тузилишини рентген спектр анализ ёрдамида текшириш хисобланади.

Мақсадга эришиш учун бажарилиши лозим бўлган вазифалар қуйидагилардан иборат:

- Госсиполнинг изониазид, ацетанилид, прамипексол билан Шифф асосларини синтез қилиш;
- Синтез қилинган барча моддаларнинг айрим физик-кимёвий доимийликларини ўрганиш;
- Шифф асоси тузилишини рентген спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганиш;
- Синтез қилинган Шифф асосларининг митохондрияга тасирини ўрганиш;

Ишнинг илмий янгилиги: Биринчи марта госсиполнинг изониазид, ацетанилид ва прамипексол Шифф асосларини синтез қилинди.

Тадқиқотда қўлланилган услублар: Рентгеноскопик усул

Ишнинг амалий аҳамияти: Олинган Шифф асосларини митохондрияга тасирини ўрганиб ва улар асосида вируслар, бактериялар ва замбуруғларга қарши янги самарали дори воситалари яратилиши мумкин.

Иш тузилиши ва таркиби:

Магистрлик диссертацияси 3 та боб; адабиётлар шарҳи, натижалар таҳлили, тажриба қисм; хулоса ҳамда 11 та жадвал, 26 та расм, графиклардан иборат бўлиб ҳажми 76 бетни ташкил қилади.

I. БОБ

АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

I.1. Госсипол. Кашф этилиш тарихи. Госсипол олишнинг синтетик усуллари.

Ўсимликлар таркибидан ажратиб олинган полифенол табиатли моддалардан бири госсипол моддаси, ҳозирги кунда унинг айрим ҳосилалари тиббиётда вирусларга қарши восита сифатида кенг қўламда қўлланилмоқда. Госсипол моддасининг вирусларга қарши фаоллиги хаттоки 1 мкг/мл дозада ҳам турли хил мико- ва герпес вирусларга қарши фаолликни намоён қилиши ўрганилган [1-3] .

Госсипол пахта ёғининг сариқ пигменти ҳисобланади. Уни биринчи марта Лонгмор томонидан 1886 йилда [4], оҳак билан ишлов берилган қора пахта ёғидан ажратиб олинган эди. 1899 йилда Мархлевский [5] госсиполни худди шу манбадан ажратиб олди ва техник госсиполнинг эфирли эритмасини сирка кислотаси ёрдамида қайта ишлаб, тозалаб олди. Натижада уларнинг ўзаро таъсир маҳсули – госсиполсирка кислотаси чўкмага тушди. Госсиполни тозалашнинг бу усули ҳанузгача препаратив мақсадларда қўлланилиб келинади. Мархлевский госсиполнинг полифенолли хусусиятларини аниқлади, шунинг учун унга *gossip (ium phen) ol* – госсипол дея ном берди.

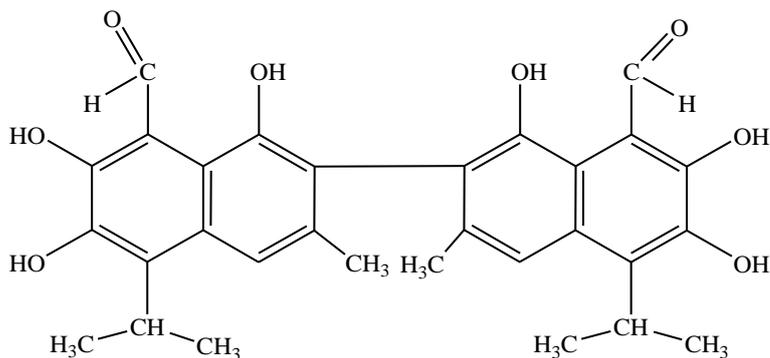
Ғўза таркибида кўп миқдорда полифенол моддалар мавжуд бўлиб, улар орасида асосан пахта чигити ва унинг қолдиқларидан ажратиб олинган, тритерпенлар гуруҳига мансуб сариқ рангли пигмент - госсипол алоҳида ўрин тутди.

Госсипол моддаси тритерпен алдегидлар гуруҳига мансуб бўлиб, *Gossypium* деб аталувчи ўсимликлар таркибида учрайди. Бундай ўсимликлар синфига шунингдек пахта ҳам киради, унинг таркибида (пахтанинг навига қараб) 0.56-3% гача госсипол моддаси учраши мумкин, у пахтанинг баргларида, илдизида, ҳамда бошқа тана қисмларида кенг миқдорда учрайди. Пахта чигити ва ўсимликнинг бошқа аъзоларидаги госсиполнинг миқдори

Ўсимлик турига, пахта етиштириладиган иқлим шароитига ва тупрок хусусиятига, ҳудуднинг сув билан таъминланганлигига, агротехник тадбирларга, тупроққа бериладиган ўғитлар миқдори ва таркибига боғлиқ бўлади ва ўсиш даврида кўп ўзгаради. Госсипол энг кўп миқдорда пахтанинг илдизи ҳамда, чигити таркибда тарқалган [6-8].

Госсиполнинг тузилишини аниқлашга Л.Мархлевский, Ф.Е.Каррут, Р.Адамс, Е.П.Кларк, И.Е.Эдвардс ва бошқа олимларнинг хизматлари синган. Гарчи госсиполнинг тузилиши устидаги изланишлар узоқ вақтдан бери давом этиб келган бўлсада, унинг тўлиқ тузилиш формуласи ўтган аср 50-йилларининг охирига келибгина ўрнатилди[9].

1938 йилда Америкалик олим Р.Адамс госсиполнинг структурасини $C_{30}H_{30}O_8$ кўринишда белгилаб, уни 2,2-би-8-фармил,1,6,7-тригидрокси,5-изопропил,3-метилнафталин деб номлади [10] (Расм-1).



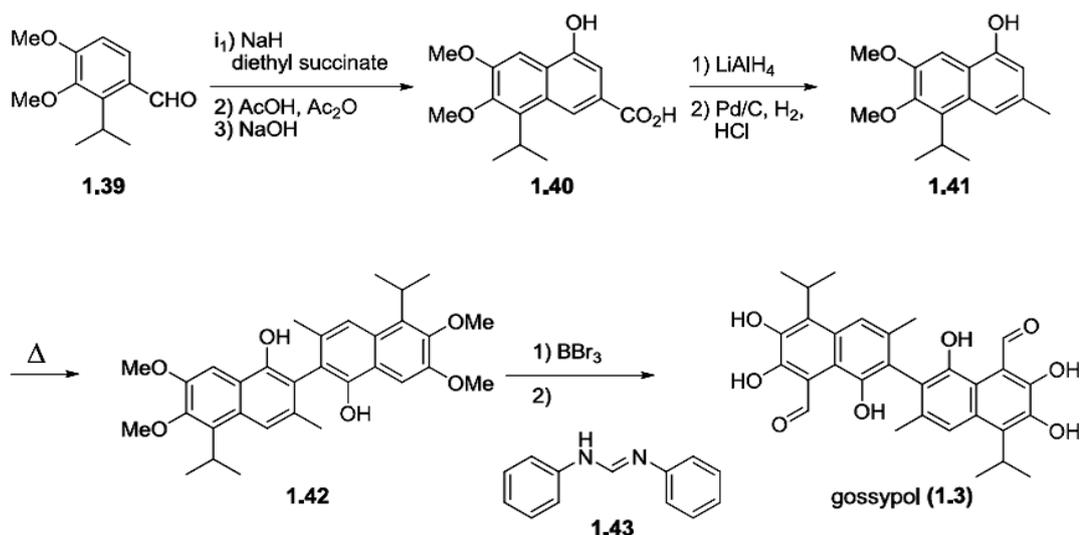
Расм-1. Госсиполнинг тузилиш формуласи

Олиб борилган изланишлар натижасида олимларга шу нарса маълум бўлдики, касалликка чалинмаган Тошкент-1 пахта нави таркибида госсиполнинг миқдори 0,33% ни ташкил этса, вилт касаллигига чалинган худди шундай ўсимлик таркибида у атиги 0,26% ни ташкил этган [11]. Пахта таркибида учрайдиган госсипол миқдорлари тўғрисида маълумот асосан А.И.Исмоилов ва унинг издошлари ёрдамида олиб борилган тадқиқотлар натижасида кўрсатилган [3]. Пахта таркибидаги госсиполнинг миқдори шунингдек пахта қандай шароитда ўстирилганлигига узвий боғлиқ бўлади. Масалан, Туркменистонда ўсадиган пахта таркибида госсиполнинг миқдори

1,36% гача бўлса, Ўзбекистонда 1,98%, Озарбойжонда эса 2,09% бўлган қийматларни ташкил қилади.

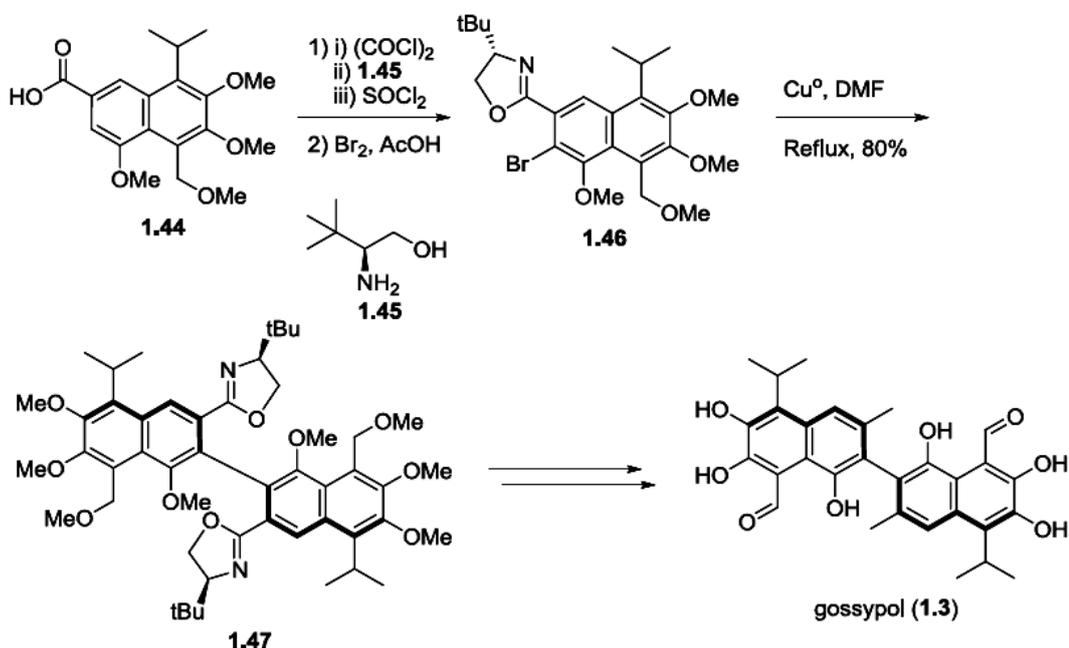
Яъна олимлар томонидан олиб борилган ишлар натижасида госсипол моддаси таркибидаги нафталин ядролари ўзаро бир-бирига нисбатан битта текисликда ётмасдан, балки бир-бирига нисбатан 120⁰С бурчак остида доимий равишда айланган ҳолатда бўлиши аниқланган. Шунинг ҳисобига госсипол молекуласи таркибида айланувчи ҳаракатли тебраниш бўлмаслиги аниқланган. Шунинг ҳисобига госсипол моддаси иккита атропоизомерга эга бўлади.

Госсипол ҳозиргача кимёгарлар, физиологлар, биокимёгарлар, биофизиклар, тиббиёт ходимларининг диққат эътиборидаги мавзуси бўлиб келмоқда. Мавжуд иккита ароматик нафталинли фрагментлар, олтига гидроксил гуруҳлари, улардан иккитаси карбоксил гуруҳига нисбатан *орто*-ҳолатда жойлашиши, таутомер ҳолатга ўтиш қобилияти—буларнинг барчаси Госсиполнинг кимёвий хусусияти ва биологик фаоллигининг ўзига ҳослигини таъминлайди. Госсипол молекуласининг айнан полифункционаллиги унинг модификациясининг кенг имкониятларини таъминлайди ва физиологик фаоллигининг кенг спектрларини тушинишга имкон беради. Госсиполнинг абсолют структураси фақатгина 1958 йилда Эдвардс томонидан олиб борилган ишлар натижасидагина аниқланди [12,13]. Бунинг учун у аввал диэтилсукцинат ва бензальдегиднинг ўзаро конденсацияси, кейин эса ҳосил бўлган маҳсулотга сирка ангидрид ва бошқа моддалар таъсир эттириб госсиполнинг рацематини синтез қилди(Расм-2):



Расм-2. Госсиполни Эдвардс усулида синтез қилиш.

Госсиполни энантиоселектив усулда биринчи марта Мейерс синтез қилди [14,15]. Бунинг учун, уч.-лейцинол (1,45) (1,44) дан олинган кислота хлориди билан конденсирланади, ҳосил бўлган амидни дегидратлаб оксазолин (1,46) олинади, оксазолинни гидролизлаб сўнгра ҳосил бўлган маҳсулотни қайтариб госсипол ҳосил қилинади (Расм-3).



Расм-3. Госсиполни Мейерс усулида синтез қилиш.

I.2. Госсиполнинг таркиби, тузилиши ва кимёвий хоссалари.

Госсипол сариқ рангли кристал модда бўлиб, кристалланиш шароити ҳамда кристалнинг тузилишига қараб суюқланиш ҳарорати 173⁰С дан 214⁰С

гача ўзгариши мумкин. Масалан дихлорметандан оддий шароитда ҳосил бўлган кристалининг суёқланиш ҳарорати $183\text{--}184^{\circ}\text{C}$ ни ташкил этса, хлороформдан ҳосил қилган кристали эса 199°C да суёқланади. Лигроиндан олинган кристалининг суёқланиш ҳарорати 214°C га тенг [17]. Бу маълумотлар шундан далолат берадики, госсипол турли эритувчилардан тузилиши турлича бўлган кристаллар ҳосил қилади. Гарчи баъзи муаллифлар бу маълумотларга шубҳа билан қарашса ҳам [18], кўпгина тажрибалар ушбу ҳодиса, яъни полиморфизм асосий омил эканлигини тасдиқлайди.

Госсипол табиати жиҳатидан қутбли бўлган эритувчиларда яхшироқ эрийди. Сувда госсиполнинг деярли эримаслиги ундаги нисбатан катта ҳажмли бўлган гидроксил ва метил гуруҳларининг мавжудлиги билан тушунтирилади. Госсипол метил, этил, пропил ва бутил спиртларида, этиленгликоль, диоксан, ацетон, диэтилэфир, этилацетат, хлороформ, углерод тўрт хлорид, дихлорэтан, фенол ва пиридинда яхши эрийди. Унинг глицерин, циклогексан, бензол, бензин, петролей эфири ва бошқа қутбсиз эритувчилардаги эрувчанлиги жуда ёмон. У баъзи мойларда (ҳаттоки совукда ҳам) нисбатан яхши эрийди. Шунинг учун саноатда ёғни пахта чигитидан бензин билан экстракциялаб ажратиш олиш жараёнида унинг қисман мисцеллага ўтиб қолиши тез–тез учраб туради [19].

Госсипол эриган эритувчи табиатига қараб унинг қайси таутомер ҳолатида турганлигини айтиш мумкин. Қутбсиз эритувчиларда у альдегид формада бўлса, қутбли эритувчиларда мувозанат деярли лактол–форма томонга силжиган бўлади, масалан унинг диметилсульфоксиддаги эритмасида госсипол тўлиқ лактол–формада бўлади [20]. Ишқорий эритмаларда эса у кетол–формада бўлади.

Госсиполнинг амалий аҳамияти асосан унинг биологик фаоллиги билан боғланган. Госсипол ҳам оптик фаол модда бўлиб, ўзининг (+)– ва (–)–антиподларига эга. Лекин уларни яқингача диастереомер тузлар (оптик актив алкалоидлар) ёрдамида ажратишнинг иложи бўлмаган. Кейинчалик бу

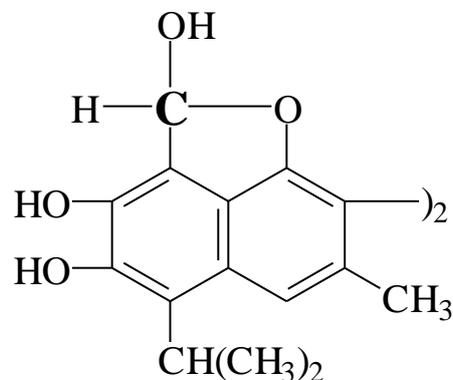
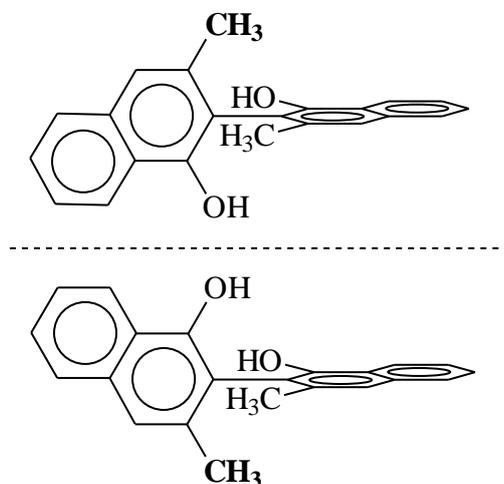
мақсадда хроматографик методни қўллаб иккала изомерни ажратиб олишган. Яқинда пайдо бўлган бир ишда госсиполнинг ацетондаги эритмасидан -10°C ҳароратда икки хил кристал ўсиши натижасида рацемат иккига ажралиши кўрсатилади [21]. Баъзи ўсимликлар рацемик госсипол эмас балки унинг антиподларидан бирини ўзида тутди. Масалан, *Thespesia populena* ўсимлигидан (+)– антиподи ажратиб олинган. Қизиқ томони шундаки, ажратиб олинган оптик изомерларнинг биологик фаоллиги билан боғлиқ умидлар пучга чикди. (+)–изомернинг биологик активлик хусусияти умуман йўқ. (–)–изомернинг заҳарли хусусияти эса рацемик госсиполникидан пастрок.

Госсиполнинг тузилиш формуласида асимметрик углерод атоми йўқ. Чунки госсиполнинг оптик фаоллиги атропостереоизмерия ҳодисасига асосланган. Дарҳақиқат госсипол аксиал носимметрик модда. Баъзи адабиётларга асосан конформация ва стереоизмерия ўртасига бирор бир аниқ чегара қўйиб бўлмайди. Чунки конформацион ўтишлардаги энергетик тўсиқнинг қиймати юқори бўлган ҳолларда конформерлар ўзаро изомерлар ролини ўйнаши мумкин [22]. Бизнинг мисолда ҳам, яъни госсиполнинг оптик изомерлари аслида фазовий конформерлардир. Чунки нафтил–нафтил боғига нисбатан орто–ҳолатда турган катта ҳажмли метил ва гидроксил гуруҳлари 2та нафтил ядросини бир–бирига нисбатан айланишига тўсқинлик қилади ва натижада икки хил оптик изомер (атропостереоизомерлар) вужудга келади (Расм-4).

Иккита нафтил ядролари ётган текисликлар орасидаги бурчак назарий жиҳатдан 90° ни ташкил этсада, госсипол учун унинг тажрибада топилган қиймати 70° дан 106° гача бўлган интервалда ўзгариши мумкинлиги аниқланган [23].

Гарчи госсиполнинг альдегид ва хиноид формаларида асимметрик углерод атоми бўлмасада, лактол–формасидаги беш–аъзоли ҳалқанинг C_{22} ва C_{27} углерод атомлари асимметрик табиатга эга (Расм-5). Бунда

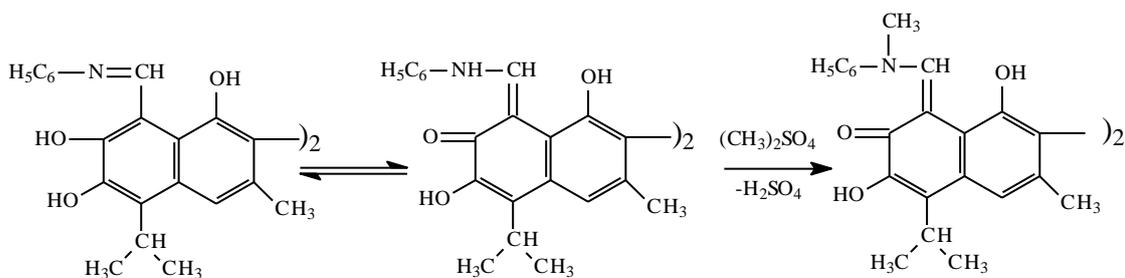
альдегид–лактол ўтишининг мавжудлиги туфайли госсипол 3 хил диастереоизомер кўринишида бўлиши мумкин: RR, RS, SS. Бироқ бу диастереомерларнинг солиштирма буриш бурчаклари маълум эмас.



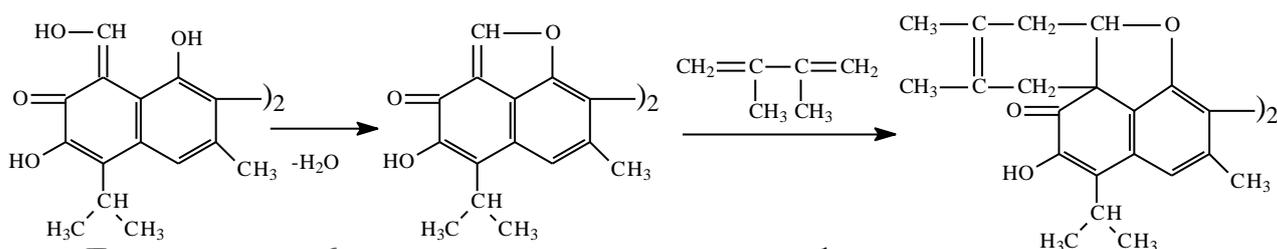
Расм-4. Бинафтил туридаги бирикмаларнинг атропостереоизомерлари.

Расм-5. Госсиполнинг лак-тол формасидаги асимметрик углерод атоми.

Госсипол ва унинг ҳосилалари актив карбонил ва гидроксил гуруҳлари тутгани туфайли уларнинг реакция қобилияти анча юқори. Госсипол аминлар билан осонгина таъсирлашиб Шифф–асослари ҳосил қилади. Спиртлар ва кислоталар билан реакцияга киришиб оддий ва мураккаб эфирлар ҳосил қилади. Агар госсиполни инерт атмосферада суёқланиш ҳароратидан юқорироқ ҳароратгача қиздирилса, у ўзидан икки молекула сув йўқотиб ангидрогоссиполга айланади. Госсипол ва ангидрогоссипол аминлар, жумладан анилин, суёқ аммиак билан реакцияга киришиб дианилин– ва диаминогоссипол ҳосил қилади ва иккови ҳам осон гидролизланади. Агар дианилингоссипол метилланса, у ҳолда тўқ қизил рангли диметиланилингоссипол ҳосил бўлади. Бу бирикмада метил гуруҳи азот атомига бириккан бўлиб, гидролизланмайди. Бу эса реакция кетол формага кетганини кўрсатади[24]:

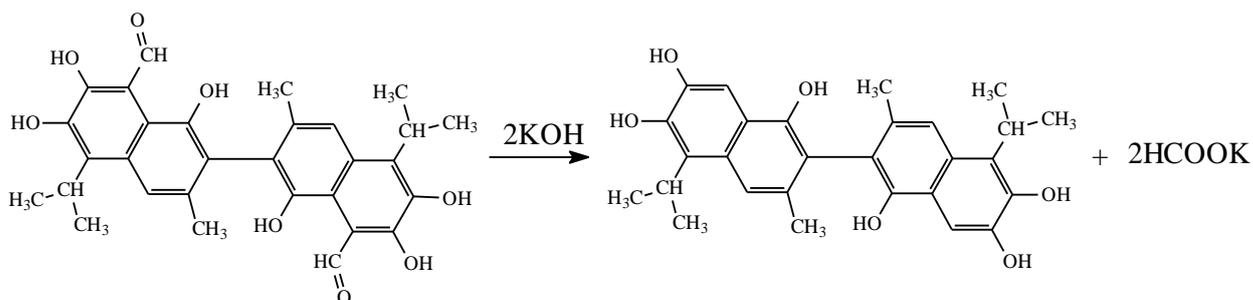


Кетол–кетол таутомериясининг мавжудлигига яна бир исбот унинг диметилбутадиеи билан диен синтези реакциясига киришишидир [25]:



Госсиполдаги бта гидроксил гуруҳларининг фақат иккитасигина кучли кислоталик хоссасини намоён қилади ва ишқорлар билан госсиполатлар ҳосил қилади. Бу госсиполатлар сувда яхши, аммо органик эритувчиларда ёмон эрийди. Бу гидроксил гуруҳлари госсиполдаги альдегид гуруҳига нисбатан орто–ҳолатларда жойлашган. Аммо баъзи адабиётларда бу хосса альдегид гуруҳига нисбатан пери–ҳолатда жойлашган гидроксил гуруҳларига тегишли дейилади [26]. Госсиполнинг ишқорий эритмалари ҳаво кислороди таъсирида жуда осон оксидланади, бунда эритма бироз лойқаланади ва сўнгра кучли оксидланиш натижасида яна тиниқлашади.

Госсипол концентрланган ишқор эритмаси таъсирида иккала карбонил гуруҳини йўқотиб, натижавий маҳсулот сифатида апогоссипол ва тегишли ишқор формиати ҳосил қилади:



Бу кўриб ўтилган реакциялардан ташқари госсипол бирмунча мураккаб реакцияларга ҳам киришади. Бунда маҳсулотлар сифатида турли парчаланиш, жумладан бинафтилнинг иккита нафтил ядросига бўлиниб, нафталин туридаги маҳсулотлар ҳосил бўлади.

Госсиполатларнинг органик эритувчилардаги эритмаларига минерал кислоталар билан ишлов берилса ва яхшилаб чайқатилса осонгина парчаланиб, тегишли катион тузи ва эркин госсипол ажралиб чиқади. Баъзи металллар, масалан қалай, молибден ва темир(III) ларнинг госсиполатлари минерал кислоталар таъсирига нисбатан чидамли бўлиб, кам ўзгаришга учрайди.

Госсипол концентрланган сульфат кислота таъсирида қизил рангга бўялади; темирнинг хлорли бирикмаларини сувли эритмасида— яшил-зайтунли; никелнинг сирка кислотаси билан нордон тузида—бинафша рангга; қалай хлоридда – тўқ қизил рангга; сурма хлоридида – қизил рангга киради. Бу реакциялар госсипол учун характерли ҳисобланади.

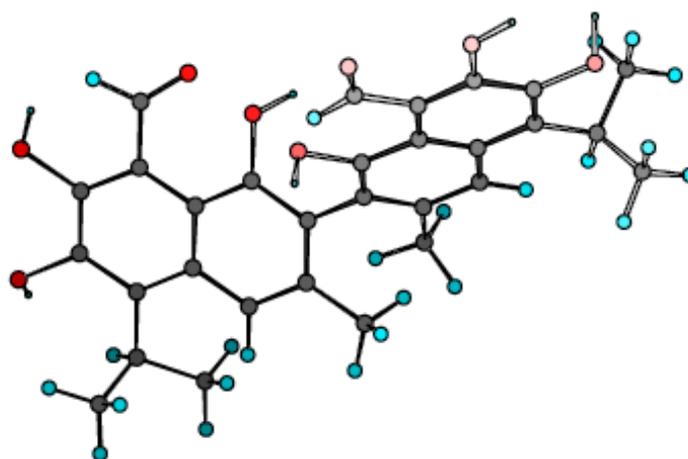
Бошқа бирикмалар билан реакцияларини тушунтириш учун госсиполни учта таутомер шакли таклиф қилинган: 1а-нафталинальaldeгидли; 1б-нафталонкарбинолли ва 1с-нафталинлактолли; (Расм-6).

Расм-6. Госсиполни симметрик таутомер шакллари.

Госсиполнинг тегишли ҳосилаларини олиш натижасида ҳар бир таклиф қилинган таутомер шакллarning борлиги исботланди. Сўнгги вақтнинг ўзидагина тадқиқ қилишнинг физикавий усуллари ёрдамида госсиполнинг лактолли ва карбинолли шакллarning борлиги аниқланди. Госсиполнинг

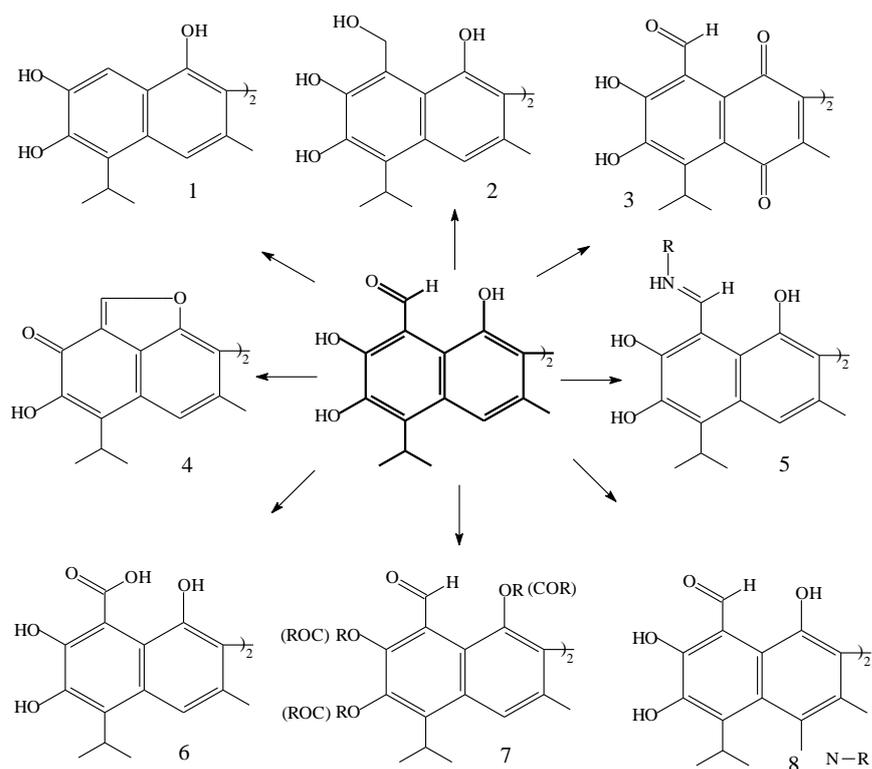
турли намуналарини ПМР-спектрлари кўрсатишича, кучсиз қутбланган эритувчиларда у асосан альдегидли шаклда бўлади. Қутбли эритувчилардан фойдаланганда бошқа таутомер шакллар ҳосил бўлади. Госсиполнинг диметилсульфоксидли эритмасида унинг альдегид шакли билан мувозанат ҳолатида бўлган лактолли шакллари борлиги аниқланган[27].

Кристалл ҳолатдаги госсипол молекуласининг энг барқарор конформацияси, унинг иккита нафтил гуруҳи бир-бирига нисбатан 70°C бурчак остида жойлашган конформациясидир [6]. (Расм-7).



Расм-7. Госсиполнинг 3D структураси (нафтил гуруҳлар бир-бирига нисбатан 70° бурчак остида жойлашган)

Госсиполнинг структурасига кўра, оддий ва мураккаб эфирларини, азометинларни, госсиполни фаол метилен гуруҳлар тутган бирикмалар билан конденсатланиш маҳсулотларини олиш мумкин (Расм-8).



Расм-8. Госсиполнинг муҳим ҳосилалари. 1-апогоссипол, 2-госсиполол, 3-госсиполон, 4-ангидрогоссипол, 5-госсиполни Шифф асослари, 6-госсипол кислотаси, 7-госсиполни оддий ва мураккаб эфирлари, 8-госсиполни азоҳосилалари [7-20].

Госсипол молекуласини асосий кимёвий хоссаларига қуйидаги реакциялар киради:

А) Госсиполни иминоҳосилалари (Шифф асослари)

А.1) Диаминогоссипол

Госсипол хона ҳароратида аммиакнинг иккита молекуласи билан реакцияга киришиб, диаминогоссипол ҳосил қилади [28] (бу усул госсиполни пахта ёғидан ажратиш олишда қўлланилади) (Расм-9).

Расм-9. Диаминогоссипол ҳосил бўлиши.

А.2) дианилингоссипол

Госсипол анилинни иккита молекуласи билан реакцияга киришиб, дианилин-госсипол ҳосил қилади [29-30], Кларк бу реакцияни биринчи марта госсиполни пахта ёғидан йўқотиш учун қўллаган (Расм-10).

Расм-10. Дианилин госсиполни ҳосил бўлиши.

С) Гидроксиламин таъсири остида госсипол госсиполнинг диоксимига айланади [23] (Расм-11):

Расм-11. Госсиполни диоксимини ҳосил бўлиши.

Госсипол кадаверин билан конденсатланиш реакциясига киришиб Шифф асосларини ҳосил қилади. Реакция учун олинган моддаларнинг моляр нисбатларига қараб реакция маҳсулотлари сифатида (10) ва (11,12) ҳосил бўлиши мумкин. Госсиполнинг иккита альдегидли гуруҳларини бирлашишидан минорли маҳсулот (12) гемиаминал шаклни беради [34] (Расм-12).

Расм-12. Госсипол кадаверинини ҳосил бўлиши (10,11,12)

Кўпгина полифенолли бирикмалар атмосфера кислороди таъсирида жуда тез оксидланади. Шунинг учун госсиполни оксидланиш жараёнини ўрганишга бағишланган илмий тадқиқот ишлари анчагина [31]. Лекин госсиполни оксидланиш реакциялари ичида энг содда ва самарали усулига Хасс таклиф этган госсиполни темир хлорид иштирокида оксидланиш реакцияси ёрдамида госсиполонни (24) олиш реакцияси киради [32] (Расм-13).

Расм-13. Госсиполонни олиш (24)

Госсиндан (25) олиш учун госсипол ишқорий муҳитда кислород ёрдамида оксидланади [33] (Расм-14)

Расм-14. Госсиндан (25) олиниши.

Госсиполни гексаметилли эфири хромат кислота ёрдамида оксидланади ва госсиполонни тетраметилли эфирини ҳосил қилади, уни HNO_3 иштирокида KMnO_4 билан оксидлаш натижасида 7-изопропил-5,6-диметокси-1,3-диоксо-1,3-дигидроизобензофуран-4-карбоциклик кислота-си олинади [34-35] (Расм-15).



Расм-15. Госсипол ҳосилаларини оксидланиши.

Госсипол ва унинг ҳосилаларини қайтариш учун кўпгина илмий тадқиқот ишлари амалга оширилган. Госсиполнинг гексаметил эфирини водород ёрдамида платина иштирокида, сирка кислотасида қайтариш реакцияси биринчи мартаба Адамс ва б. томонидан амалга оширилган. Бу реакция маҳсулоти сифатида деоксигоссиполни тетраметил эфири ҳосил бўлади (28) [36] (Расм-16):

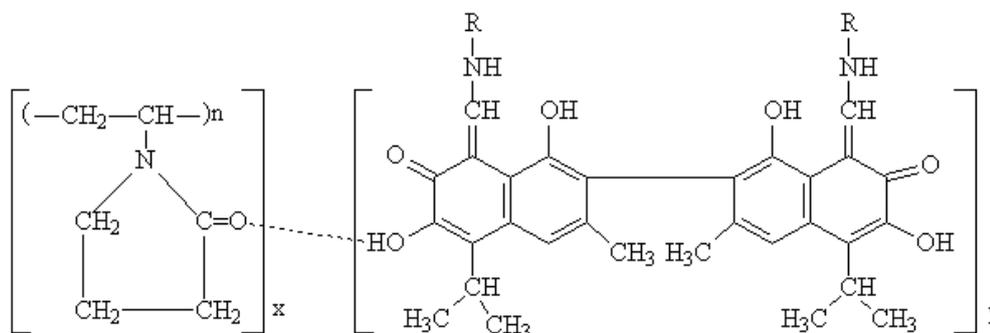
Расм-16. Деоксигоссиполни тетраметил эфири.

Госсиполни азоҳосилаларини олиш учун диазоний тузлари госсипол билан конденсатланади. УБ, ИҚ-спектроскопия усуллари ёрдамида госсиполнинг азоҳосилаларини иккита таутомер шакллари борлиги аниқланган: гидроксизо ва хинонгидазо . Бу иккита таутомер шаклларида кўпинча хинонгидазо қаттиқ модда ҳисобланади. госсиполни азоҳосилалари

асосан гидрофил бўлиб, бу уларни ЯМР-спектроскопия ёрдамида ўрганишда қийинчиликлар туғдиради [37,38].

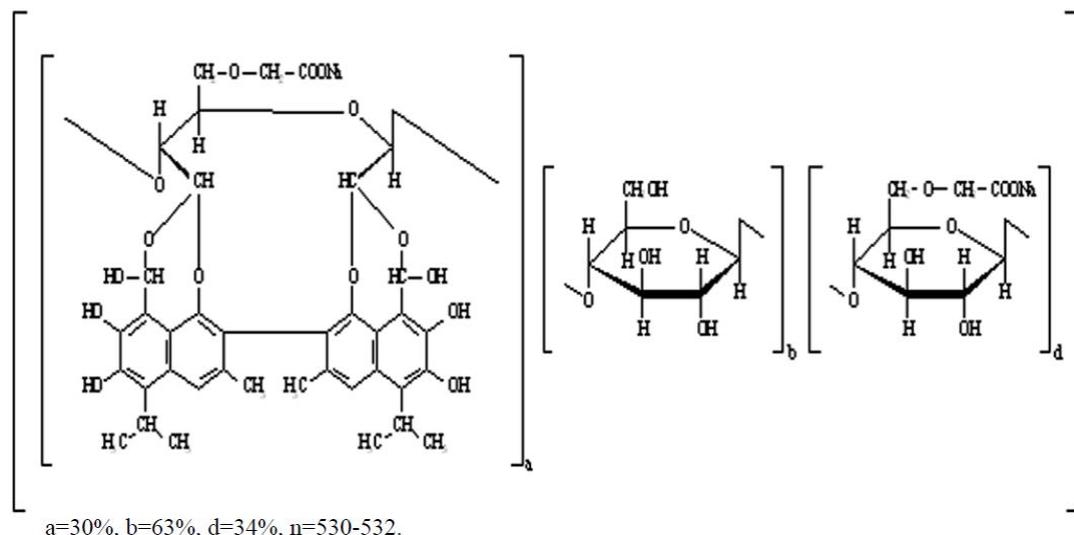
Госсиполни СН-кислоталар билан конденсатланиш маҳсулотлари бўлган биологик фаол моддалар олиш ҳам катта қизиқишга сабабдир. Лекин бу турдаги бирикмалар тўғрисида маълумотлар кам [39]. XX асрнинг 80-йилларини охирида госсипол ҳосилалари ҳақида илмий ишлар нашр этила бошланди, уларни олиш учун фаол метилен гуруҳлар тутган тиазолидон-4 бирикмалари олинган [40], уларнинг умумий формуласи:

Ҳозирги вақтда дори препаратларини ташувчилари сифатида турли сувда эрувчан полимерлар ишлатилади. Бундай полимерларга N-винилпирролидон киради [41-42]. N-винилпирролидон (N- ПВП) – нейтрал полимер, таркибида фаол функционал гуруҳлар йўқ, координацион ва водород боғлар ҳисобига қуйимолекуляр бирикмалар билан ностехиомерик координатлана олади. N- ПВП нинг госсипол ҳосилалари билан комплекслари учун қуйидаги структурани таклиф қилиш мумкин [43](Расм-17):



Расм-17. N–ПВП ни госсипол билан комплекси.

Ўсимликлардан кимёвий синтез йўли билан олинадиган комплекс – кагоцел деб номланган сувда эрийдиган карбоксиметилцеллюлоза билан госсиполни комплекси тиббий жихатдан катта қизиқиш уйғотади. Кагоцел – гетерозанжирли полимер бўлиб, молекуляр массаси 120-130 кД га тенг. Госсиполни кагоцелдаги миқдори 3%дан ошмайди. Сувда эрийдиган карбоксиметилцеллюлоза билан госсиполни комплексининг тузилишини куйидагича ифодалаш мумкин [48] (Расм-18):



Расм-18. Сувда эрийдиган карбоксиметилцеллюлоза билан госсиполни комплекси.

1.3. Госсиполнинг физикавий хоссалари ва ажратиб олиш усуллари

Госсипол - кристалсимон, ранги лимонсимон-сарик кўринишга эга бўлган турли хил органик эритувчиларда эрувчи табиий модда. Моддалар молекуласи таркибида турли хил кутбли гуруппалар бўлиши билан бир қаторда, нафталин қолдиғда иккита изопропил гуруппаси бўлганлиги туфайли у сувда эрмайди. Госсипол моддаси метил, этил, изопропил ва бутил спиртларида жуда ҳам яхши, шунингдек, диэтиленгликол, диоксан, ацетон, диэтил эфири, этилацетат, хлороформ, углерод тетрахлорид, дихлор этан, фенол, пиридин ва қиздирилган нафталин, қиздирилган пахта ёғида жуда яхши эрийди. Шу билан бир қаторда, госсипол моддаси глицерин, циклогексан, бензол, бензин ва петролей эфирида чекланган миқдорда

эрийди. Бензиндаги унинг эрувчанлиги 100⁰С да петролей эфирдаги эрувчанлигига караганда юқорирок. Госсипол шунингдек, айрим ўсимлик ёғларида эриши мумкин. Чигит таркибидаги госсипол моддасини экстракция қилиш усули айна шунга асосланган.

Кўпгина олимлар томонидан госсипол моддасининг суюқланиш ҳарорати текширилганда унинг қиймати 180-214⁰С оралиғида бўлиши аниқланган. Лекин турли хил эритувчилардан эритиб чўкмага туширилган госсипол моддасини суюқланиш ҳарорати текширилганда турли хил қийматлар ҳосил бўлган – 180⁰С, 183,5⁰С, 184⁰С [47] ва 189⁰С [48]. Собиров ишларида [48] госсипол моддасининг айрим ацетон билан сув аралашмасидаги эрувчанлиги куйидаги 2-жадвалда келтирилган:

1-Жадвал

Госсипол ацетон аралашмасининг сувда эрувчанлиги

Ацетоннинг % миқдори	Госсиполнинг 40 ⁰ С даги сувда эрувчанлиги г/мл
60	1,165
70	9,505
80	12,155
90	97,62

Каррут госсиполнинг турли хил аралашма таркибида бўлишни аниқлади [49]. Унинг бу борадаги ишлари амалий аҳамиятга эга бўлади. У энг аввало госсипол моддасини аниқлашни унинг кимёвий хоссаларига асосланган ҳолда 3 та усулини ишлаб чиқди, лекин кейинчалик бошқа олимлар томонидан олиб борилган ишлар натижасида бу усуллар кўпайди. Бу усулларнинг энг асосийлари куйидагилар ҳисобланади:

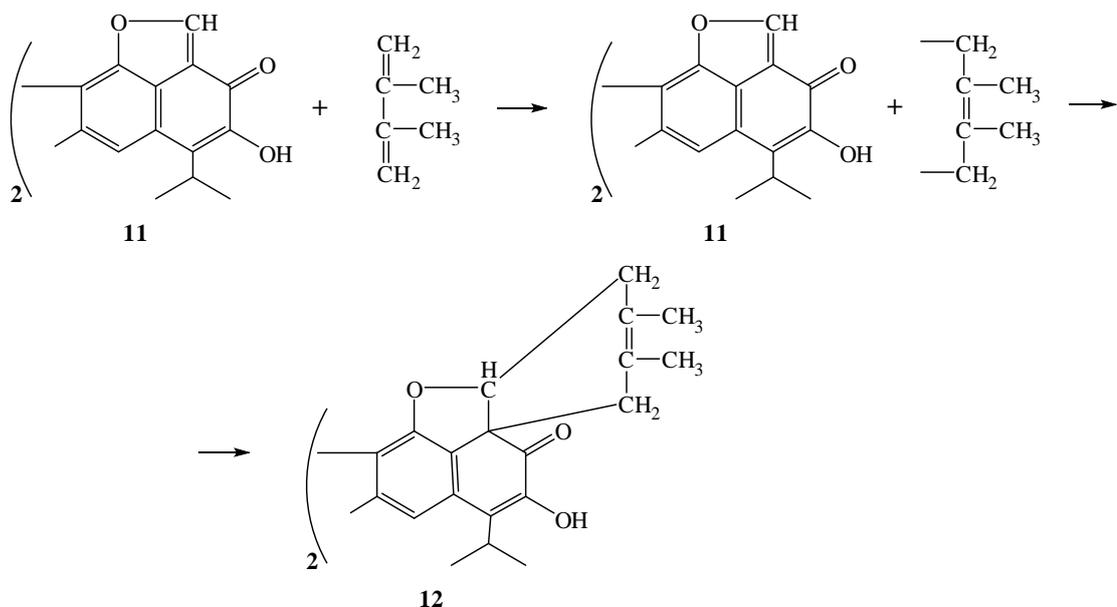
Каррутнинг биринчи усули: Бу усул Мархлевский томонидан ишлаб чиқилган усулга асосланган бўлиб, бунда госсипол моддаси асосан госсипол сирка кислотаси (ГСК) кўринишида чўктирилади. Бунинг учун пахта чигитининг эфирли концентранган эритмасига 80% ли сирка кислотаси билан ишлов берилади ҳамда бу ҳосил қилинган эритма қиздирилади, бу

эритма маълум бир вақт тургандан кейин жуда ҳам ёмон эрийдиган чўкмени ҳосил қилади. Бу чўкма ажратиб олиниб петролей эфир билан ювилади. Ҳосил қилинган госсипол сирка кислотаси (ГСК) таркибидан госсипол моддаси гидролиз йўли билан қайтадан ажратиб олинади. Госсипол моддасини тозалаш мақсадида яна сирка кислотаси солинади ва қайтадан гидролиз ўтказилиши натижасида тоза госсипол олинади.

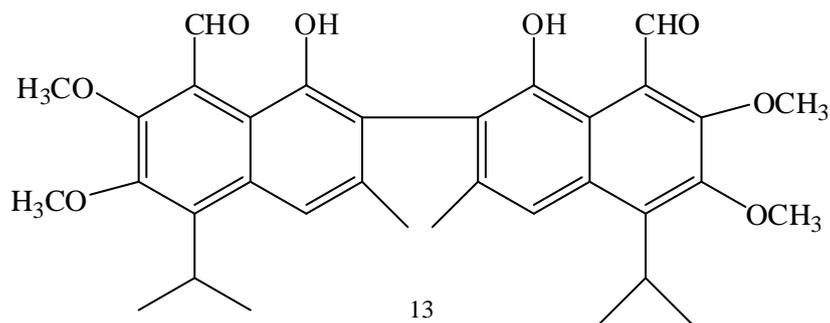
Иккинчи усул: Пахта илдизининг эфирли экстракти таркибида госсипол бўлиб, унга энг аввало суюлтирилган NaOH эритмасини таъсир эттирилади. Госсипол моддаси таркибида OH гуруппалари бўлиб кучсиз кислотали ҳосани намоён қилганлиги сабабли бунда натрийли тузларни ҳосил қилади, натрийли тузлар эса ўз навбатида ёғлар таркибидан ажраб сувда эрийди. Сувли эритма ажратиб олиниб унга натрийдидионат ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) моддаси қўшилади, бунинг сабаби сувли эритмадаги госсипол моддасининг оксидланишини олдини олишдир. Ҳосил қилинган эритма таркибига озроқ миқдорда кислота эритмасидан қўшилганда госсипол моддаси яна қайтадан чўкмага тушади. Уни тозалаш мақсадида яна сирка кислотасига ўтказилиб ГСК олиш мумкин.

Учунчи усул: Эритиб олинган чигитнинг эфирли эритмасига 5% ли анилиндан қўшилади озроқ миқдорда қиздирилгандан сўнг, госсиполнинг анилин билан ҳосил қилган бирикмаси чўкмага тушади, бунинг учун бир икки ҳафтага эритма ташлаб кетилади. Ҳосил қилинган чўкма ажратиб олиниб у эфир билан ювилиб қайтадан анилиндан чўктирилади, сўнгра КОН нинг спиртли эритмасида эритилиб ажралиб чиққан анилин моддаси сув буғи ёрдамида хайдалади. Натрийдидионат иштирокида госсиполнинг ишқорий эритмаси кислотали муҳитга келтирилади. Бунинг натижасида ҳосил бўлаётган госсипол моддаси яна қайтадан сирка кислотаси ёрдамида ГСК га ўтказилади.

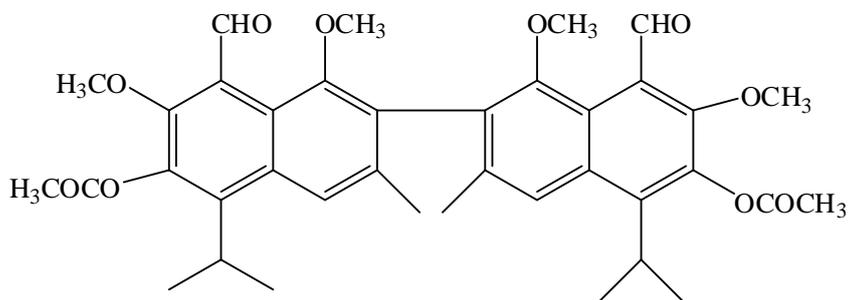
Кўпгина олиб борилган ишлар натижасида шу нарса маълум бўлганки, госсипол моддаси молекуласи таркибида альдегид группасининг иккита кислород атоми билан иккинчи орто ҳолатда турган гидроксил



Госсиполнинг метил эфирларининг ҳосил бўлиши: Госсиполни метиллаш реакцияси олиб бораётган шароитга, ҳамда реакция учун олинаётган моддаларнинг нисбати қандай моль нисбатда киришишига боғлиқ равишда реакция натижасида тетраметилэфир ёки гексаметилэфирлар ҳосил қилиши мумкин. Госсиполнинг тетраметилэфирни олиш учун 5 гр госсиполга 2,5 мл абсолют метанолда ва 2,5 мл янги хайдалган диметилсулфатдаги аралашмасига сув ҳаммомида қиздирилган шароитда 3,5 мл кам-кам холда 0,5 мл дан 10% ли калий гидроксид эритмасининг метанолдаги эритмаси таъсир эттирилади. Бу эритма 12 соат давомида ушлаб турилган холда унга 10% ли NaOH нинг сувли эритмасидан қуйилади. Реакция натижасида ҳосил бўлган чўкма филтирланиб ацетон ёрдамида қайтадан чўктирилади. Бунда ҳосил бўлган маҳсулот 259-260⁰С да суюқланиб қуйидаги формулага эга бўлади [47].

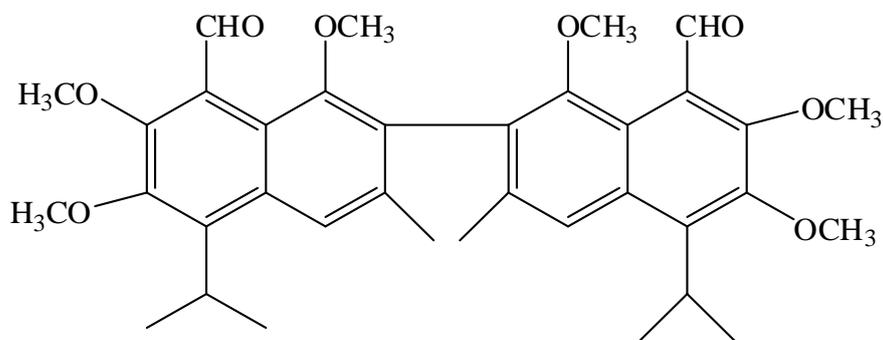


Госсиполнинг тетраметилэфирини ацетиллаш натижасида тетраметил-
 диацетилгоссиполга айланади.



14

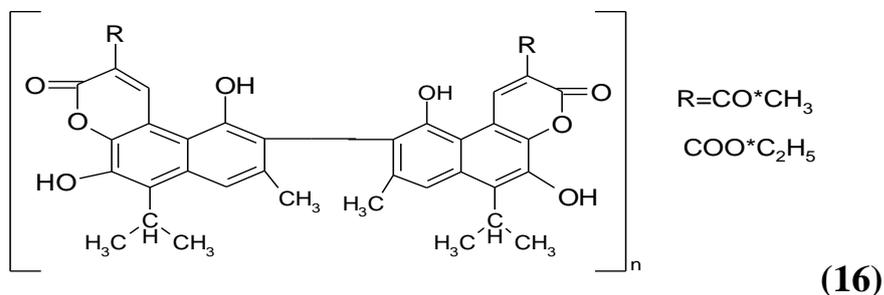
Агар бу моддага ишқорнинг сувли эритмаси таъсир эттирилса у холда
 совунланиш реакцияси бориши натижасида яна қайтадан госсипол ҳосил
 бўлади. Оқ рангли госсиполнинг гексаметилэфирини олиш учун куйидаги
 амаллар бажарилади: 0,2 гр госсиполнинг тетраметилэфири 3 мл 30% ли
 КОН нинг метилспиртдаги эритмасига кўшилиб унга 2 мл янги хайдалган
 диметилсулфат эритмаси кўшилади. Ҳосил қилинган эритма яхшилаб
 аралаштирилиб 15 минут давомида сув ҳаммомида қиздирилади. Ҳосил
 қилинган реакцион аралашмага сув кўшилганда аморфсимон кўринишдаги
 чўкма идишнинг тагига чўкади. Бу чўкма филтрилаб олиниб яхшилаб
 ювилади ҳамда ацетон ва метанол аралашмасидан қайтадан чўктирилади.
 Бундай реакция натижасида оқ призма холидаги кристал госсиполнинг
 гексаметилэфири ҳосил бўлиб, унинг суюқланиш харорати 235-237⁰С ни
 ташкил этади.



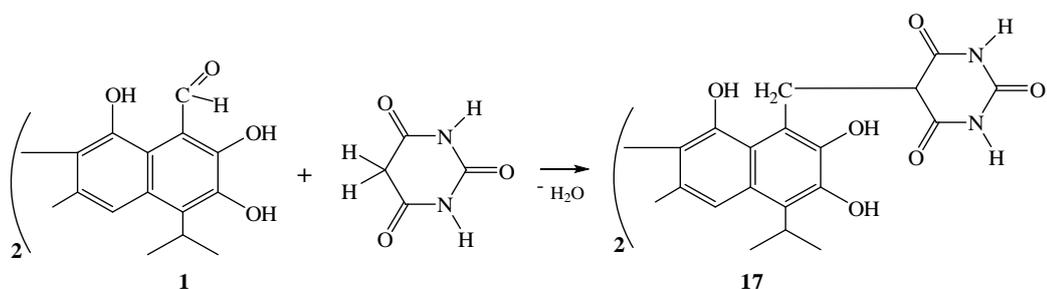
15

Бу модда лигроиндан қайта чўктирилганда эса 175⁰ С даражани кўрсатади. Агар 0,05 гр госсиполнинг гексаметилэфери эритилиб унга 5 мл концентирланган H₂SO₄ таъсир эттирилганда ва 25% ли NaOH эритмаси кўшилганда қизил аморфсимон кўринишдаги чўкма идишнинг тагига чўкади. Бу чўкма ажратиб олиниб метанол билан яхшилаб ювилганда оч жигарранг тусли парашок ҳосил бўлади. Унинг суюқланиш хароратси 110⁰С ни ташкил этади[11].

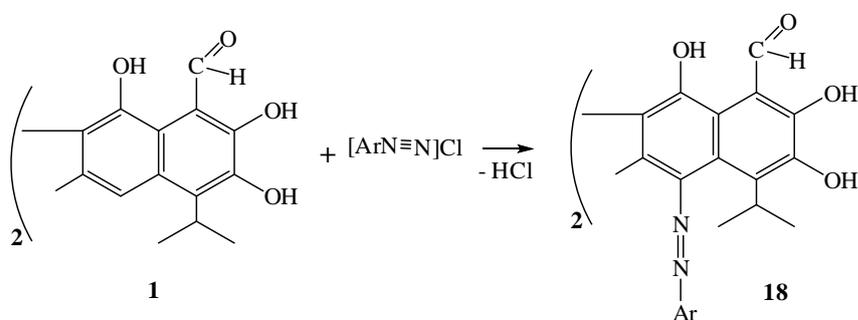
Госсиполнинг таркибида фаол метилен группасини тутган моддалар билан реакцияси: Госсипол моддаси таркибида алдегид карбонил группаси бўлганлиги сабабли, таркибида фаол метилен тутган моддалар билан ҳам конденсацияланиш реакциясига киришади. Бу реакция биринчи бўлиб Хиндистонлик олимлар [52] томонидан ўрганилган, бунда конденсация реакциясини утказиш учун турли хил табиатли моддалар олинган. Масалан, госсиполнинг ацетосирка кислотасининг эфери билан малон кислотасининг эфери конденсацияланиш реакцияларини кўриб чиқишган.



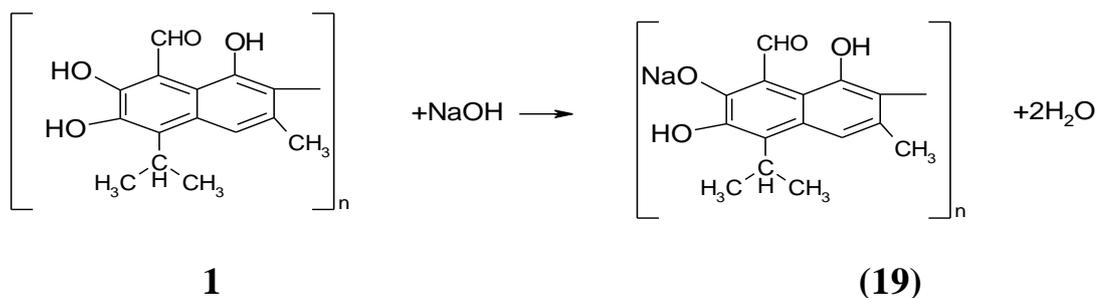
Худди шундай иш Биоорганика институтининг ходимлари А.И.Исмоилов ва О.С.Содиқовлар [53] томонидан олиб борилган. Бундай мақсадда госсипол моддасининг таркибида метилен гуруҳи тутган барбитур кислотаси билан конденсацияланиш реакцияси маҳсулотлари олинган. Бундай реакция натижасида олинган маҳсулот тўқ қизил рангли кукунсимон кўринишга эга бўлиб, концентирланган H₂SO₄ таъсирида тўқ бинафша рангга буялиш хусусиятига эга:



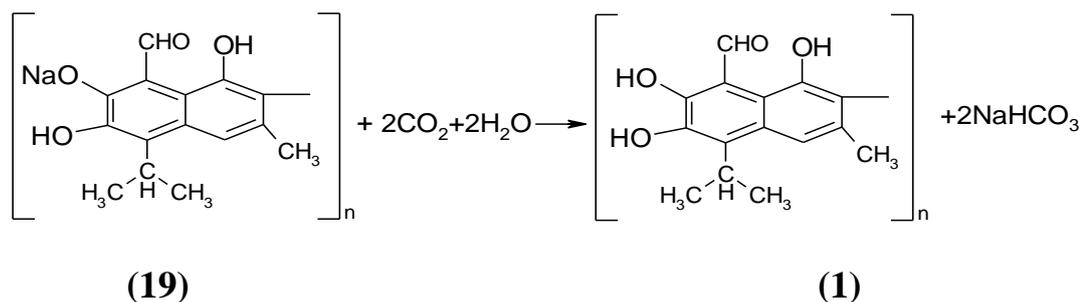
Госсиполнинг турли хил “азо” ҳосилаларини синтез қилиш: Биринчи марта бундай бирикма Маркман ва Залесовлар томонидан олинган [55]. Бундай реакциялар натижасида олинган маҳсулотлар асосан аналитик реакциялар ўтқишида ҳам ашё ҳисобланади. Бундай мақсадда таркибда диазо боғини тутган турли хил табиатли моддаларнинг госсипол билан реакцияга киришиши асос қилиб олинади. Бунда реакцияга киришаётган моддаларнинг қандай нисбатда реакцияга олинганига боғлиқ равишда моно ёки ди ҳосилаларини олиш мумкин. Назаров ва Маркман томонидан олинган маҳсулотлар [54] адабиётларда асосан моно ҳосилалари бўлса, кейинчалик Глушенкова ва Назаровлар томонидан олинган маҳсулотлар диазо ҳосиласи сифатида мавжуд бўлган.



Госсиполнинг тузларини олиниши: Аввал айтиб ўтилганидек госсипол молекуласида олти гидроксил группаси булиб шулардан иккитаси орто ҳолат дейилади алдегид группага нисбатан, кучли кислота хоссасини намоён қилиш хусусиятига эга. Шу гидроксил группалари ҳисобига ишқор эритмалари билан таъсирлашиши натижасида сувда эрувчан, лекин шу билан бир қаторда ёғлар ҳамда органик эритувчиларда эримайдиган госсиполатлар (13) деб аталувчи тузлар ҳосил бўлади.



Бу реакция маълум бир вақтларда ёғ таркибда бўладиган госсипол моддасининг миқдорини аниқлашда ҳам фойдаланиш мумкин. Госсиполнинг натрийли ва калийли госсиполатлар деб аталувчи тузлари сариқ рангли хатто госсиполга нисбатан тўқроқ ранга эга бўлган моддалар ҳисобланади. Бу моддалар жуда ҳам беқарор бўлиб, хаттоки жуда ҳам кучсиз кислота бўлган карбонат кислотаси таъсирида, госсиполат тузининг гидролизланиш натижасида қайтадан госсипол моддасининг ҳосил бўлишини кузатиш мумкин.



Бу реакция кучли кислоталар таъсирида ҳам тезда бориши мумкин. Госсиполатлар деб аталувчи тузлар эритмаларининг ортиқча миқдордаги ишқор таъсирида тезда оксидланиб реакциянинг натижасида эритманинг аввал қорайиши маълум вақт ўтгандан кейин эса унинг рангсизланиши кузатилади. Ржехин ва унинг ходимлари томонидан госсиполат эритмалари ҳавода туриб қолганда ҳамда улар қиздирилганда госсипол таркибдаги алдегид гуруппасининг йўқолиши унинг натижасида эса госсипол молекуласи учун характерли бўлган ултрабинафша соҳасида 360 нм да нур ютиш интинсивлиги йўқолиши кузатилган. Мазкур авторлар бундай ҳолатнинг кузатилиши Каницарро-Тишшинка реакциясининг бориши

натижасида турли хил комплекс ўзгаришлар кузатилиши гапириб ўтилган, лекин бу ҳолат тасдиқланмаган.

Охирги йилларда госсипол ва унинг физиологик фаол ҳосилаларига бўлган қизиқишнинг ортиши уларни миқдорий аниқлаш усуллари ҳақидаги маълумотларни умумлаштиришга зарурат туғдирди. Бу масалага бағишланган бир қатор шарҳлар маълум [56], шунинг учун охириги 10-15 йил ичида нашр қилинган маълумотларни келтирамыз.

Ўсимлик объектларида госсипол миқдорини аниқлашга бағишланган кўпгина нашр қилинган ишлардан кўриниб турибдики, ушбу тахлиллар учун тортма, ҳажмий, колориметрик, спектрофотометрик, люминесцент, полярографик ва ҳатто оптикомикроскопик усуллар қўлланилган [57]. Ўсимликлар таркибидаги госсипол миқдорининг 0,005—0,01 % атрофида эканлигини аниқлашга имкон берувчи турли хил кўринишдаги (модификация) ўлчашли ва спектрофотометрик усуллар расмий тасдиқланган усуллар ҳисобланади. Хроматографик усуллар орасида сезгирлиги юқорироғи (5-10 мартта) — қоғозли ва юпқа қатламли хроматографиялардир. Бу усулар ёрдамида нафақат госсиполни, балки унинг эфирларини ҳам аниқлашга эришиш мумкин. Спектрофотометрик усулардан газ суяқлик хроматографияси 50 – 100 мартта сезгирроқ [58], бироқ бу усулнинг баъзи бир ноқулайликлари госсиполнинг учметилли эфирларга ўтказиш зарурлиги билан боғлиқ. Ўсимлик ашёларини тахлил қилишга тайёрлашда кўшимча бажариладиган ишлардан, жумладан майдаланган уруғларни (бевосита) қайтиш спектрларини олиш учун экстракция усуслини қўлламаслик учун уринишлар бўлди. Бунда ҳар бир эгри аксни тузиш учун 300 та нуқтадан фойдаланилди. Стандарт ва ушбу усуллар билан олинган натижалар асосида ҳисоблаб топилган корреляция (ўзаро боғланганлик) коэффиценти 0,987 га тенг бўлган. Пахта гул куртагидаги госсипол, нафақат госсипол, балки гемигоссипол ва унинг эфирлари, гемигоссиполон ва гелиоцидлар каби минор компонентлар миқдорини аниқлаш учун ядро магнит резонанс

узулидан фойдаланилган. 1981 йилда уруғлардаги госсиполни аниқлаш учун юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ) усули қўлланилиши таклиф қилинган ишлар чоп этилган. Спектрофотометрик ва ЮССХ ёрдамида олинган натижаларни солиштириш асосан охириги қаторлари ҳақида гувоҳлик беради. Таклиф қилинаётган усул ўз ичига кам босқични олади, шунингдек энг кам техник хатоликларга олиб келади ва энг муҳими спектрофотометриядан 2500 марта сезгирроқ. Бу ишда усулнинг нафақат миқдорий балки сифат таҳлиллари учун ҳам қўлланилиши кўрсатилган. Усулнинг юқори махсуслиги шунда намоён бўлдики, спектрофотометрик усул орқали аниқланган ушбу экстрактдаги деярли 35 % госсипол миқдоридан, госсипол орқали эмас, балки бошқа госсиполсифат пигментлар ҳисобига, шунингдек спектрофотометирлашда қўлланилган бўялган реагентлар билан топилган. Дастлаб колонкага юбориш учун госсиполнинг метанолли эритмаси, ҳаракатланувчи фаза сифатида эса — фосфор кислотаси қўшилган турли хил сув – метанолли аралашмалари [56] қўлланилди. Бирок яхши маълум бўлган госсипол спиртли эритмаларининг беқарорлиги бир мунча қулай системаларни излашга рағбатлантирди. А.А. Nomeir ҳамкасблари билан пахта илдизи ва уруғларидаги госсиполни аниқлаш учун энг қулай шароитни танлашга имкон берувчи қатор тадқиқотларни олиб боришди. Госсиполнинг парчаланиш тезлигига эритувчилар таъсирининг натижаларига кўра, ўрганилган эритувчиларга унинг барқарорлиги (чидамлилиги) ацетон > ацетонитрил > хлороформ > этанол > метанол қаторида камайиб борди. Барча ўрганилган эритувчиларда хона ҳарорати ва 37⁰ С да госсипол ўзгаришга учради ва эритмаларни жуда паст 125 дан 180⁰ гача ҳароратда бир қанча вақт давомида сақлаш мумкинлиги аниқланди.

ЮССХ ни қўллаб госсиполни ўрганиш давомида ацетонитрил 1 сув 1 ацетон (7:2:1), метанол 1 цитрат буфери (55:45), тетрагидрофуран 1 сув 1 фосфор кислота (60:40:0,08), гексан 1 хлороформ 1 сирка кислота 1 циклогексан (78:20:33:2), ацетонитрил 1 сув 1 тетрагидрофуран (80:18:2),

метанол ĩ сув ĩ хлороформ ĩ фосфор кислотаси (70:30:40:0,14), метанол ĩ сув ĩ фосфор кислотаси (82:18:0,1), метанол ĩ сув (87:13) ва баъзи бир бошқа қатор системалар таклиф қилинган [51]. ЮССХ ва масс –спектрометрия усулларининг бирга қўшилиши шуни кўрсатдики, госсипол спиртлар билан унинг турли хил таутомер шаклдаги қатор мураккаб полукетал ва кетал ҳосилаларини ҳосил қилади, қайсики ажратиш ва масс –спектрометриялашга уринишда госсипол ёки ангидрогоссиполга айланади [52].

Масс – спектрометрия билан ЮССХ нинг бирлашуви ёрдамида гексаацетат госсиполнинг – оқ ва сариқ – иккита шакли мавжуд эканлигини тушинтиришга эришилди. Булардан ҳар қайсиси олтита ацетил гуруҳларини тутишлиги, m/z 770 молекуляр ион билан тавсифланди, аммо турли хил эриш ҳароратига эга бўлди. Ҳар иккала гексаацетатлар ўзида госсиполнинг учта бўлиши мумкин бўлган шаклдаги стереоизомерлар аралашмасини намоён қилади: оқи (маълум) нисбатдаги иккита шакл аралашмага эга, сариғи олтита шакл 30:54:4,5:3,5:7:1 нисбатдаги аралашма эканлиги исботланган [47].

ЮССХ усулини нафақат аналитик, балки препаратив мақсадларда ҳам қўллаш имконияти аниқланди. Жараённи хирал аминокислота боғланган фазада олиб боришга қизиқиш алоҳида аҳамиятга эга. Бунда госсипол Шифф асосларидан – (+) ва (Ī) граммларини олишга муваффақ бўлинади.

Ўсимлик хом – ашёлари таҳлилида ЮССХ нинг афзаллигига қарамадан гравиметрик ва спектрофотометрик усуллар айниқса амалий тадқиқотларда ўз аҳамиятини йўқотгани йўқ [47]. Пахтанинг турли хил турлари ва оилаларини қиёсий ўрганишга бағишланган охириги ишлардан бирида тортма анилинли усул қўлланилган ва у ёрдамида *G.barbadense* турларида асосан (Ī) – госсипол тўпланишлиги, шу билан бирга *G.arboreum* ва *G.hirsutum* кабиларда эса кўплаб (+) – изомерлар бўлишлиги аниқланган. Пахта кунжарасини (шрот) ем сифатида истемол қилган ҳайвонларнинг заҳарланиши билан боғлиқ ҳолда, госсиполни нафақат

Ўсимликлар хом ашёсидаги, балки ҳайвонлар тўқмаларидаги миқдорини ҳам аниқлашга жиддий зарурат туғилди. Гарчи бу борадаги ишлар 60-йиллардан бошланган бўлсада, ҳайвон маҳсулоти тўқмаларидаги госсипол миқдорини аниқлаш билан боғлиқ бўлган тадқиқотларни умумлаштирувчи ишлар ватан адабиётида бизга учрамади. Ҳайвонлар тўқмасидаги госсиполнинг миқдорий тахлили бўйича ишларнинг дастлабки жадал ривожланиши, уларнинг ҳайвонларга ноҳўя физиологик таъсири ва турли хил пархез ҳамда унинг захарлилик таъсирини нейтраллашга имкон берувчи минерал қўшимчаларнинг ишлаб чиқилиши билан боғлиқ. Ўсимлик объектлари ҳолатидаги каби, ҳайвон тўқмалари тахлили озод ва боғланган госсиполини газ суюқлик хроматографияси усулида ниқлашни, шу жумладан анилин ҳосилаларини олишда тўқмаларни экстракциялаш ва 440 нм да фотометриялашни тақозо қилади..

Каламуш аъзоларидаги госсипол миқдорини люминесцент аниқлашга оид ишлар маълум. Бунда унинг 77% ли концентранган сульфат кислотада интенсив ва ўзига хос флуоресценциялаш қобилияти қўлланилади. Усул анча оддий бўлиб, госсиполни 10^{-5} — 10^{-8} г/мл чегараларида аниқлашга имкон беради.

ЮССХ усули пайдо бўлганидан сўнг ҳайвон тўқмаларидаги госсипол миқдорини аниқлашга оид ишлар алоҳида қулоч ёзди. Натижада нафақат ҳайвон, балки одам организмларидаги фармакокинетик тадқиқотларни олиб боришга ва метаболик ўзаришларни ўрганишга имконият туғилди. Бу хилдаги ишларга зарурат биринчи навбатда госсиполда намоён бўлган кенг спектрдаги физиологик таъсир ва унинг асосида дори воситаларни яратиш билан боғлиқ. Госсиполнинг “очирилиши” сафрода 75% ни ташкил қилиши ҳақида маълум қилинган. Колонкага киритиш учун ДМСО аралашмасидаги госсипол эритмаси — этанол (1:10) қўлланилди, қўзғалувчан фаза сифатида эса — этанол билан 10% ли сирка кислотаси аралашмаси қўлланилди. Кўпинча таҳлил учун, мос келадиган қайта ишлашдан сўнг колонкага

киритилувчи қон плазмасидан фойдаланилади; қўзғалувчан фаза сифатида метанол — сув — сирка кислота (77:20:3), метанол — цитрат буфери (55:45), метанол — сув — хлороформ (70:30:40) + 0,1% фосфор кислотаси, фосфат буфери — ацетонитрил (38:62) ва бошқа аралашмалар қўлланилади. ЮССХ усули ёрдамида госсиполнинг турли хил шакллари ўрганилган ва “blood — tests” тўсиқ орасидан юқори ўтувчанликка эга липосом шакилларининг самаралилиги кўрсатилган. ЮССХ усулининг қўлланилиши каламушлар организмидаги метаболизм ҳамда (—) - Госсипол стереоизомерлар таъсиридаги муҳим фарқни аниқлашга имкон берди [53]. Турли хил шиш хужайралари линияларига госсиполнинг таъсирини ўрганишда ЯМР³¹Р усулининг қўлланилиши ҳақидаги иш маълум.

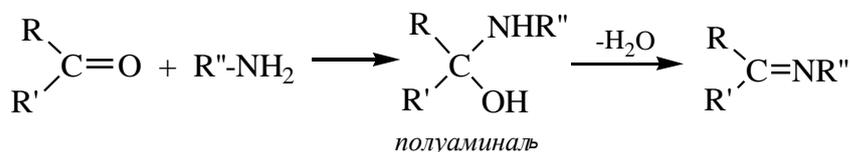
Госсиполнинг кимёвий модификацияси ва унинг кўп сонли ҳосилаларининг функционал – тузилиш таҳлили ишлари туфайли тиббий амалиётда дори воситалари яратилган ва жорий қилинган бўлиб, булар госсипол линиментлари, батриден таблеткалари ва мегосин мазларидир. Дори шакллари (линимент, аэрозоль) таркибида госсипол миқдорини аниқлаш учун спектрофотометрик усул қўлланилган [49]. Бунда мос келувчи қайта ишловдан сўнг олинган дори шакллари хлороформ эритмасида оптик зичлиги 366 нм да ўлчанган. Госсипол миқдори худди шундай концентрацияга эга госсиполнинг стандарт эритмаси билан солиштирилган ҳолда аниқланди. Мегосин мазининг субстанцияси таҳлили учун ҳам спектрофотометрик усул қўлланилган, эритувчи сифатида эса ацетон — сув (3:1) нисбатдаги аралашмаси қўлланилган ва оптик зичлик 385 нм да ўлчанган. Мегосин миқдорини худди шундай концентрациядаги мегосин стандарт эритмасига солиштириш йўли орқали аниқланди. Ушбу усул билан батриден субстанциялари ва таблеткалари таҳлили учун диметилсульфоксид – спирт аралашмасида (1:9) модда ютилишининг 496 нм да УБ – спектри олинди.

Шифф асослари – кучсиз асослар бўлиб, сувсиз муҳитда кислоталар билан тузлар, масалан хлоргидратлар, Льюис кислоталари билан

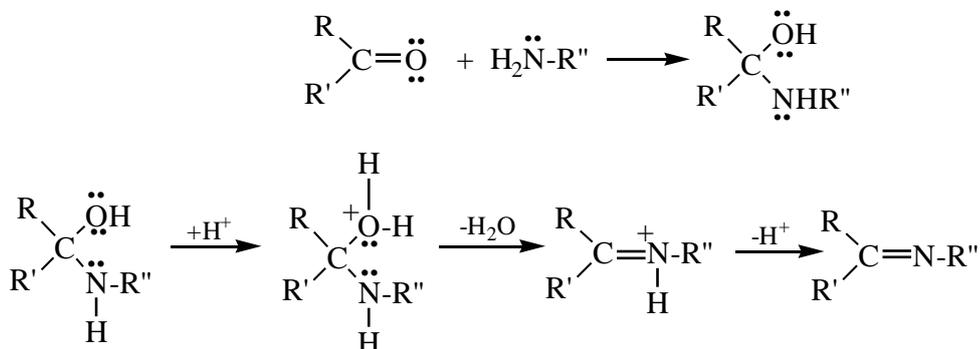
комплекслар ҳосил қилади. Сувли муҳитда кўпгина Шифф асослари кислоталар таъсирида амин ва альдегидгача гидролизланади; ишқорий сувли муҳитда кўпгина Шифф асослари барқарор; лекин баъзи бир кетонларнинг N –алмашган иминлари ҳаводаги намлик таъсирида ҳам гидролизланади [49].

Бирламчи, иккиламчи ва учламчи аминлар альдегидларга [50-51] ва кетонларга бирикиши натижасида турли хилдаги бирикмалар ҳосил қилиши мумкин. Бирламчи аминлар иминлар ҳосил қилиши мумкин. Бундай иминлар барқарор, шунинг учун уларни ажратиб олиш қийин. Лекин баъзи ҳолларда, айниқса агар R- оддий гуруҳ бўлса, улар тез парчаланади, ёки полимерланади, бунинг учун углерод ёки азот атоми битта арил гуруҳи билан боғланмаган бўлиши керак. Бундай арил гуруҳ тутган бирикмалар жуда барқарор. Уларни одатда Шифф асослари деб аташади. Муҳокама қилинаётган реакция бу моддаларни синтез қилишнинг энг қулай усули ҳисобланади. Реакция содда ва юқори унумга эга.

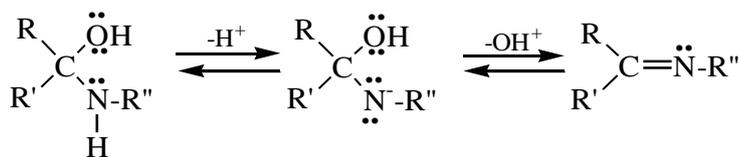
Альдегидлар, кетонлар, бирламчи - NH₂ туган кўпсонли органик асослар ўртасида борадиган конденсатланиш реакциялари қуйидаги схема бўйича боради:



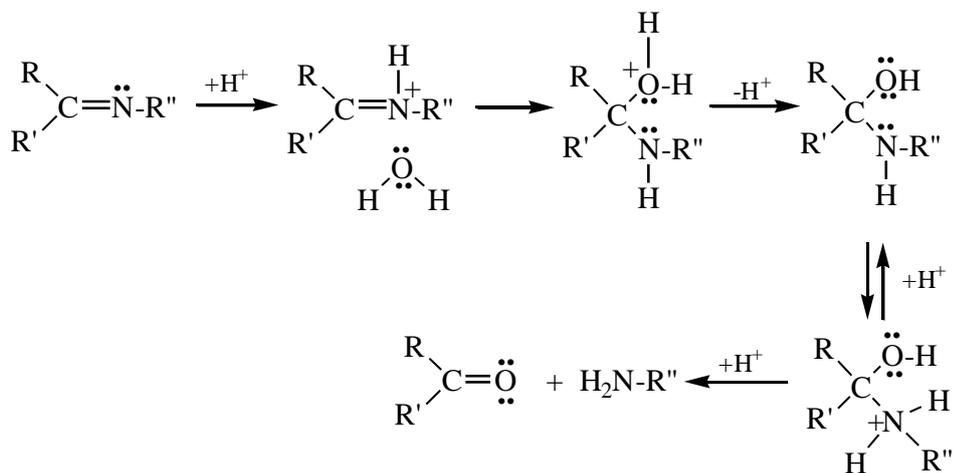
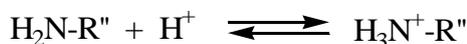
Бу реакцияни механизми қуйдагича:



Конденсация реакцияси асосли катализ шароитларида ҳам кетиши мумкин. Бунда бошланғич маҳсулотнинг аминогуруҳидан протон ажралиб чиқади ва анион ҳосил бўлади, кейин гидроксил гуруҳ ажралади.



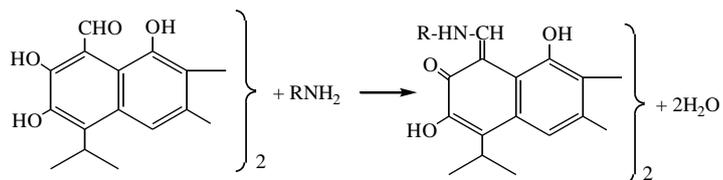
Кучли кислотали шароитда (конденсатланиш реакциясидаги шароитдан 104 марта кучлироқ) авваламбор C=N гуруҳнинг протонланиши содир бўлади. Натижада кетма-кет содир бўладиган реакцияларнинг мувозанати карбонил бирикмани ҳосил бўлиш томонига силжийди. Жараён H₂N-R'' гуруҳни H₃N + -R'' га айланиши билан тугайди, унинг озод электрон жуфти йўқ, натижада карбонил гуруҳининг углерод атомига нуклеофил ҳужум қила олмайди [58].



Таъсир доираси катта бўлган физиологик фаол моддаларни яратишда госсипол иминлари катта қизиқиш уйғотди, уларнинг молекуласида кўшимча функционал марказлар бўлиб, водород боғлар, гидрофоб таъсирлар, комплексларни ҳосил бўлиши ҳисобига ҳужайра макромолекулалари билан таъсирлашишини таъминлайди.

1.4. Госсиполни Шифф асосларини синтези ва тузилиши

Госсиполни янги азометинли ҳосилалари қуйидаги схема бўйича олиниши мумкин [59] (Расм-19):



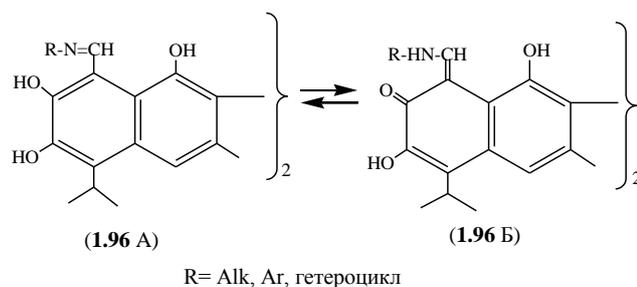
Расм-19. Госсиполнинг Шифф асослари тузилиш формуласи.

Бу реакцияни бориш механизмини қуйидагича ифодалаш мумкин (Расм-20) [60].

Расм-20. Аминнинг госсипол билан реакцияси бўйича Шифф асосларини шаклланиши.

Бирламчи амин билан госсиполни альдегид гуруҳи ўртасида борадиган реакция натижасида оралиқ карбинол ҳосил бўлади. Сувсизлантириш натижасида Шифф асослари ҳосил бўлади, у икикта таутомер шаклларда 40а ва 40б мавжуд бўлиши мумкин, баъзилари учун радикални табиатига қараб 40с таутомер шакл ҳам мавжуд бўлиши мумкин (Расм-21) [61].

Аниқланишича, госсиполнинг ва унинг аминоҳосилаларининг кимёвий хоссаларига уларнинг турли таутомер шаклларда бўла олиш қобилияти таъсир кўрсатади. Кейинги тадқиқотларда илмий жиҳатдан госсиполнинг иминлари учун бензоид-хиноидли таутомерия борлиги исботланди [62]:



Расм-21. Шифф асосларининг таутомер шакллари.

2 – Жадвал

Госсиполнинг ароматик аминлар билан Шифф асослари

Бирикма	Радикал	Заҳарлилиги, мкг/мл			Қарши фаоллиги lgТШД ₅₀
		вақт			
		24 с.	48 с.	72 с.	
(1.98)		250	150-200	125	2.5
(1.99)		200-250	125	120-140	2.5-3.0
(1.100)		300	120-250	125	2.0-2.5
(1.101)		500	250	200-250	2.0-2.2
(1.102)		150-200	125	62	2.5-3.0
(1.103)		300	250	125-250	3.0-3.5
(1.104)		300-400	250	125-250	3.0
(1.105)		500	250-300	200-220	2.0-2.5

(1.106)		400-500	250	180-200	2.5-3.0
(1.84)	Госсипол (контроль)	125	60-80	30-50	3.0-3.2

3 – Жадвал

Госсиполни ароматик аминлар билан Шифф асослари

R				
	Бирикма	IC ₅₀ (мг/кг)	Бирикма	IC ₅₀ (мг/кг)
-CH ₃	5.1	10.4	5.14	0.8
-CH ₂ CH ₃	5.2	5.6	5.15	1.2
-n-C ₃ H ₇	5.3	6.5	5.16	5.0
-CH(CH ₃) ₂	5.4	6.6	-	ND
-n-C ₄ H ₉	5.5	12.4	5.17	12
-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	5.6	6.7	-	ND
-C(CH ₃) ₃	5.7	13.5	5.18	>20
-n-C ₅ H ₁₁	5.8	>20	5.19	>20
-n-C ₆ H ₁₃	5.9	>20	5.20	>20
-n-C ₇ H ₁₅	5.10	>20	5.21	>20
-C ₁₂ H ₂₅	5.11	>20	-	ND
-CH ₂ CH(CH ₃)C ₆ H ₅	5.12	>20	5.22	>20
-CH(COOCH ₃)CH ₂ C ₆ H ₅	5.13	>20	-	ND

Ишда госсиполнинг иминлари учун бензоид структура таклиф қилинган, бирикмаларнинг бу синфи учун таутомерия ҳодисаси хос, бунда протоннинг сигматроп ўтиши бензоид-хиноид мувозанатнинг у ёки бу томнига силжишига олиб келади [63]. Физиологик фаол бирикмаларни олиш

мақсадида госсиполнинг азометинларини ўрганишда давом этиб, алкил- ва ариламинларнинг бир қанчасини турли органик эритувчилар муҳитида (УБ ва ПМР) спектрлари ўрганилди [64-65].

Бу ҳосилалар учун 400-480 нм соҳада ютилиш чизиқлари кузатилади. УБ-спектрларда ютилиш максимумининг интенсивлиги ва ҳолати эритувчининг (углерод тўрт хлориди, диоксан, ДМСО, метанол) қутбилигига боғлиқ эмас. Бу уларнинг битта таутомер шаклда мавжуд бўлишларини исботлайди [65].

2-гидрокси-1-нафтальдиминларни [66] спектрлари билан УБ-спектрларни солиштириш билан 400-480 нм соҳадаги ютилиш хиноид шаклга тегишли эканлигини айтиш мумкин. Бу госсиполнинг алкил ва ариламинларини ПМР спектрларида углерод тўртхлоридда 9,5-10,2 м.д. соҳада парчаланиш константаси 10-12 Гц бўлган дублет борлигидан далолат беради, у метин ва аминли протонларни спин-спинли таъсирлашуви натижасида намоён бўлади, бу хиноид шаклда мавжуд бўлган бирикмалар учун ҳос. Ундан ташқари, барча спектрларда дублет ёки 13.8-15.8 м.д. соҳада кенгайган, бўлинмаган сигнал кузатилади, бунга мустақкам водород боғи билан боғланган NH- протон борлиги сабабдир. Дейтерирлаш вақтида дублет метинли протондан синглетга ўтади, кислота протонининг сигнали дейтероалмашинув ҳисобига йўқолади.

1.5. Госсипол ҳосилаларини биологик хоссалари

Госсипол биологик фаол модда бўлиб, тоза ҳолатда – коммулятив асабга таъсир этувчи захар, ички аъзоларни ялиғланишини келтириб чиқаради. Паст концентрацияларда госсипол қон тўхтатувчи, шишга қарши, вирусга қарши ва яраларни тuzатувчи таъсирга эга. Илдизларнинг янги пўстлоғидан тайёрланган настойкаси (дамламаси) гомеопатияда менструал циклнинг даврийлиги бузилганда ёки йўқлигида, бепуштликда, ҳомиладорлик токсикозида қўлланилади [67-68].

А) госсипол ва унинг ҳосилаларини захарлилиги

Госсиполдан ва госсиполондан (госсиполнинг оксидланган маҳсулоти) олинган Шифф асосларининг захарлилиги қуйидаги жадвалда келтирилган (3 жадвал):

4 - Жадвал

Госсипол ва госсиполон ҳосилаларини захарлилиги

R	Госсипол ҳосилалари		Госсиполон ҳосилалари	
	Бирикма	IC ₅₀ (мг/кг)	Бирикма	IC ₅₀ (мг/кг)
-CH ₃	5.1	10.4	5.14	0.8
-CH ₂ CH ₃	5.2	5.6	5.15	1.2
-n-C ₃ H ₇	5.3	6.5	5.16	5.0
-CH(CH ₃) ₂	5.4	6.6	-	ND
-n-C ₄ H ₉	5.5	12.4	5.17	12
-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	5.6	6.7	-	ND
-C(CH ₃) ₃	5.7	13.5	5.18	>20
-n-C ₅ H ₁₁	5.8	>20	5.19	>20
-n-C ₆ H ₁₃	5.9	>20	5.20	>20
-n-C ₇ H ₁₅	5.10	>20	5.21	>20
-C ₁₂ H ₂₅	5.11	>20	-	ND
-CH ₂ CH(CH ₃)C ₆ H ₅	5.12	>20	5.22	>20
- CH(COOCCH ₃)CH ₂ C ₆ H ₅	5.13	>20	-	ND

* Енгил эрувчан маҳсулот, яқуни аниқланмаган

ND - аниқланмаган, (-) – синтез қилинмаган

Келтирилган маълумотларга кўра, госсиполнинг Шифф асосларидан энг захарлиси этилимин ҳосиласи ҳисобланади (IC₅₀=5.6 мг/кг). Захарлилиги госсипол ўриндошларининг аминларини структурасига боғлиқ. Масалан,

бутилимин ва три-бутилимин захарлилиги кам, пентилимин захарли эмас. Бу маълумотлар Лян ва ҳаммуаллифларининг кузатишларини тасдиқлайди, улар госсиполнинг иминларидаги ўриндошларнинг молекулаларини узунлиги ёки тармоқланганлигига қараб захарлилиги камайиб боради. Таъкидлаш лозимки, госсиполнинг Шифф асосларидан баъзилари – этилимин, пропилимин, изопропилимин ва иккиламчи бутилиминли асосларнинг захарлилиги бир хил [67].

Госсиполнинг захарлилиги ($IC_{50}=2.4$ мг/кг) госсиполниқидан ($IC_{50}=5.7$ мг/кг) икки марта ортиқ. Госсипол ва госсиполон асосида олинган Шифф асосларини захарлилиги таққосланганда, госсиполоннинг захарлилиги юқорилиги аниқланган.

Госсипол ва унинг ҳосилаларини захарлилигини намоён бўлишини баъзи муаллифлар биологик муҳитда эркин радикалларнинг ҳосил бўлиш имконияти билан боғлашади [68-69]. Бу ғояга кўра, госсиполнинг захарлилигига органик муҳитнинг оксидловчи потенциали сабаб. Госсиполон оксидланган госсиполнинг ҳосиласи ҳисобланади.

Госсиполнинг Шифф асослари ҳужайра муҳитида оксидланиши мумкин, бунда госсиполон ҳосилалари ҳосил бўлади. Бу тахмин асосга эга, чунки лаборатория шароитларида госсиполон госсиполни Fe (III) ёрдамида оксидланиши туфайли ҳосил бўлади. Бу реакцияда альдегид гуруҳ оксидланмайди, молекула нафтол-хинонга айланади. Биологик муҳитда цитохромлар темирнинг гемдаги атомларидан фойдаланади.

Моддаларнинг биологик хоссаларига функционал гуруҳларнинг ўзаро жойлашиши ҳам таъсир кўрсатади. Масалан, захарлиликни таққослаш учун 2-гидрокси ва 5-гидрокси 1,4-нафтохинонлар олинди.

Б) Госсипол ва унинг ҳосилаларини малярияга қарши фаоллиги

Госсиполнинг паразитга қарши ва антисептик хоссалари маълум. Кўпгина нафтохинонлар, хусусан, 2-гидрокси-1,4-нафтохинон *Plasmodium falciparum* [7,8] қарши фаолликни намоён қилади, бу кузатишлар 2-гидрокси-3-алкил-1,4-нафтохинонларни юзлаб ҳосилаларини синтезига олиб келди.

Госсиполоннинг молекуласи бис-нафтохинонга ўхшаш бўлганлиги учун, госсипол ва госсиполон ҳосилалари учун малярияга қарши фаоллиги ўрганилди.

5 - Жадвал

Госсипол ва Шифф асосларини малярияга қарши фаоллиги

Магнитуда/Q	IC ₅₀ (мг/кг)/PF	IC ₅₀ (мг/кг)/КВ	R
- 3.1	31.6	5.7	- H (госсипол)
- 2.6	11.6	5.6	-CH ₂ CH ₃
-2.6	10.4	6.5	-n-C ₃ H ₇
- 2.8	21.0	6.6	-CH(CH ₃) ₂
- 3.1	>50	12.4	-n-C ₄ H ₉
-3.2	>50	6.7	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
-3.2	45.8	13.5	-C(CH ₃) ₃
-3.2	>50	>20	-n-C ₅ H ₁₁
-3.2	>50	>20	-n-C ₆ H ₁₃
-3.3	>50	>20	n-C ₇ H ₁₅

6 - Жадвал

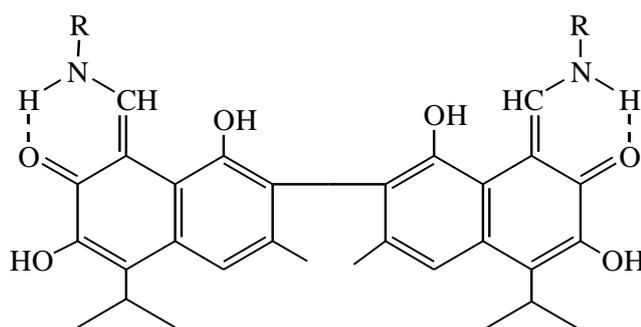
Госсиполон ва Шифф асосларини малярияга қарши фаоллиги

Магнитуда/QS	IC ₅₀ (мг/кг)/PF	IC ₅₀ (мг/кг)/КВ	R
- 3.2	>50	2.4	- H (госсиполон)
- 3.1	36.6	0.8	- CH ₃
- 3.3	>50	1.2	-CH ₂ CH ₃
- 3.1	34.0	5.0	-n-C ₃ H ₇
- 3.1	36.7	12.0	-n-C ₄ H ₉
- 3.1	>50	>20	-C(CH ₃) ₃
- 3.1	>50	>20	-n-C ₅ H ₁₁
- 3.1	>50	>20	-n-C ₆ H ₁₃

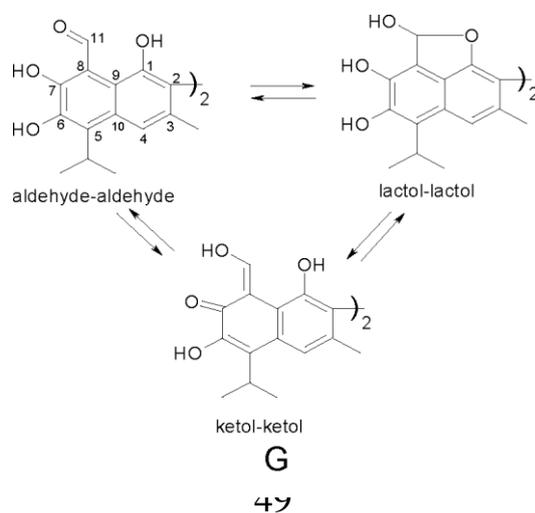
- 3.1	>50	>20	n-C ₇ H ₁₅
-------	-----	-----	----------------------------------

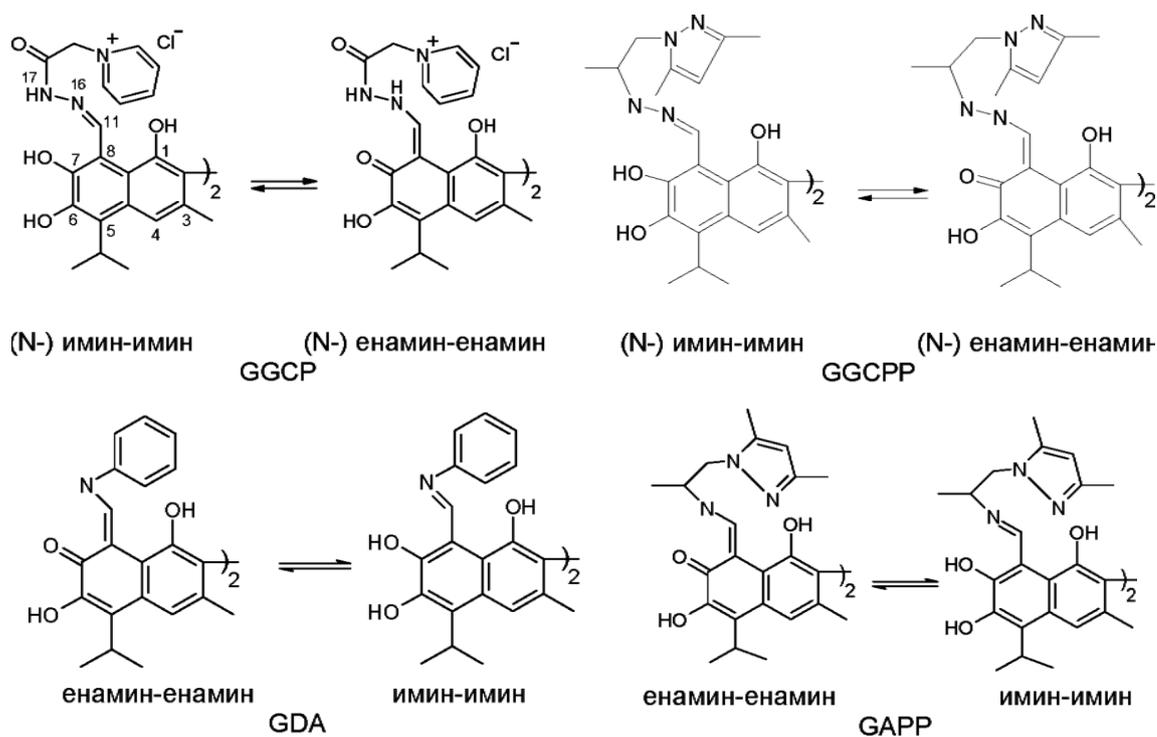
Бу тадқиқотларнинг натижаларига кўра, госсиполоннинг Шифф асослари захарли бўлган концентрацияларда паразитларга қарши фаолликни намоён қилади. Шунинг учун госсиполоннинг Шифф асослари паразитларга қарши препаратлар сифатида қаралиши мумкин эмас, чунки, уларнинг малярияга қарши фаолияти хўжайин-хўжайра учун кучли захарли концентрацияларда содир бўлади.

Кенг таъсир этиш спектрига эга физиологик фаол моддалар яратиш борасида госсипол иминлари алоҳида эътиборга эга, уларнинг молекулаларида қўшимча марказ бўлиб, у хўжайранинг макромолекулалари билан водород боғлари, гидрофоб таъсирлашув, комплекслар ҳосил қилиш ҳисобига таъсирлашишни таъминлайди, уларнинг умумий формуласи [68]:



Госсипол ва унинг имино-ҳосилаларини антиоксидантлик фаоллигини миқдорий баҳолаш учун барқарор азот-марказлашган эркин радикал, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил билан этанол эритмасидаги реакцияси танланди [69].





Расм 22. Госсипол ва унинг имино-хосилаларининг молекулаларини атомларини нумерацияси ва таутомерларини тузилиши: GGCP — гидразон билан 1-гидразинокарбонилметил-пиридиний хлорид; GGCPP — гидразон с 1-(2-гидразинокарбонилпропил)-3,5-диметил-1H-пиразол; GDA — дианилиногоссипол; GAPP —1-(2-аминопропил)-3,5-диметилпиразол билан Шифф асоси.

1.6. Митохондрияни биологик фаоллигини ўрганиш

Полифенол бирикмалар жуда юқори сигналли биологик фаолик, хусусан антиоксидантлик, гепатохимоя, антигипоксиклик, мембранотроплик ва бошқа хусусиятларни намоён этади [70]. Полифенолларнинг хужайрасида физиологик таъсирини намоён қилишда мембранадаги митохондрия, яъни апоптоз ва некроз сингари жараёнларда ахамиятли бўлганлари ҳам ўз хусусиятини намоён қилади.

Бу жараёнда митохондрияни асосий функционал параметри бу митохондрияли пора mPTP [71], яъни оқсиллар билан комплекс ҳосил қилиши натижасида ташқи ва ички канал ҳосил қилишида [72]. Очик холдаги mPTP митохондрияни букишига олиб келади, натижада мембрана ёрилишига

олиб келади [73]. Мембрана нафақат липидлардан балки оксиллардан ҳам ташкил топган бўлади. Мембранадаги оксиллар маълум бир ретсептор вазифасини ёки қўш қаватли мембранада канал вазифасини бажариб беради. Бу каналлар махсусдир ва улар орқали ташқаридан ичкарига ёки ичкаридан ташқарига ионлар ёки моддалар ўтиши мумкин. Махсус канал фақат битта ион ёки моддага жавоб беради халос. Яъни маълум бир ион ёки моддани ўтказиши. Бунака каналларнинг тури кўп бўлиб уларнинг орасида мегапора канали ҳам учраб туради. Унинг хусусияти шундан иборатки агар ташқарида Ca^{2+} ионлари миқдори ортиб кетса бу канал ўзидан ўзи очилиб кетади. Очилгандан кейин бу канал ҳеч нарсани танламайди. У ўзидан ионларни ҳам бошқа моддаларни ҳам ичкаридан ташқарига ёки ташқаридан ичкарига чиқариб ёки ўтказиб юборади. Бундай полатлар кўплаб касаликларда кузатилади. Яъни қандли диабет, ишемия (қон келишини тўхтаб қолиши) ва бошқа касаликларда манашу мегапора очилиб кетади. Натижада юқорида қайт этилган ходиса юзага келади. Буни натижасида эса митохондрия ўлади.

Мегапора Ca^{2+} ионлар ёрдамида очилади. Бунинг учун ажратиб олинган митохондрияни маълум бир муҳитга солинади ва Ca^{2+} ионлар солинади. Натижада эса мегапора очилиб митохондрия бўкади. Шу жараёнда синтез қилинган модда қўшилади. Бу модда очилган каналга таъсири текширилади. Сабаби қуйидагича бўлиши мумкин :

Мегапора каналига тиқилиб қолиши мумкин

Оксил модда билан комплекс бирикма ҳосил қилиши натижасида оксил моддани конформацияси ўзгариб канал бекилиб қолиши мумкин [74,75].

ЛПО липидларни перекисли оксидланиши.

Бу мембрана қаватидаги фосфолипидлар оксидланади. Бу оксидланиш эркин радикаллар ҳисобига юзага келади. Лабораторияда эркин радикал сифатида Fe^{2+} /аскорбат системаси ишлатишади. Булар липидларни оксидлаб юборади. оксидланганда мембрана бузилади. Бузилиш оқибатида

митохондрия бўкиб кетади. Бўкан пайтда синтез қилинган модда қўшилади ва ўрганилади [76].

K^+ - каналнинг янги модда қўшилгандаги ўзгариш моддадан маълум миқдорда қўшилганда ўтказувчанлиги ошганини ва миқдор ошганда эса камайганини кўришимиз мумкин [77].

Моддаларни биологик фоалигини ўрганишда каламуш жигаридан митохондрияни ажратиб олиш керак. Бунинг учун каламуш жигарини махсус эритувчиларда эритиб уни центрифугалаш натижасида олилади [78].

Митохондрия таркибидаги мегапорани ва бошқаларни ўрганишда Ca^{2+} ни бўккан митохондрияни суспензиясининг нур ўтказишини ўзгариши билан аниқлаш (0,3-0,4 мг оқсил/мл) 540 нм да [79].

Липидларни перкисли оксидланишига синтез қилинган моддани таъсирини Петерсон методи ёрдамида ўрганиш [80].

Митохондрия таркибидаги оқсилни аниқлашнинг Петерсон модификацияси асосида Лоури методи [81].

II. БОБ

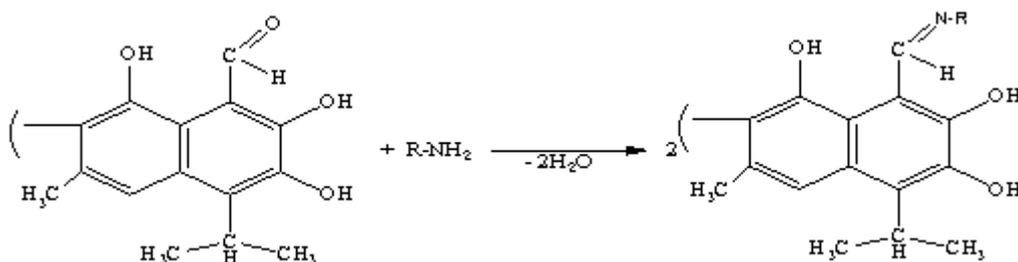
ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ТАҲЛИЛИ

II.1. Госсиполни тозалаш.

Бизга берилган ГСК-2 моддасини яънада тоза ҳолатга келтириш мақсадида ГСК-3 га ўтказиб олдик. Бунинг учун озроқ ГСК-2 моддасидан олиб унга ацетон қуйиб эритдик ва унга аралаштириб турган ҳолатда ацетонга нисбатан икки марта кўп миқдорда сирка кислотасидан қўшдик ва эритмани бир суткага тиндириб қўйдик. Тинган эритмани филтирлаб олдик. Сарик рангли кристалл модда 91% унум билан ҳосил бўлди.

II.2. Госсиполнинг турли табиатли аминлар билан Шифф асосларини олиш.

Госсипол ўзининг иккита алдегид группаси ҳисобига ўзида амина гуруҳ тутувчи моддалар билан 1:2 нисбатда тез ва осонлик билан реакцияга киришади. Реакция қуйидаги схема бўйича олиб борилди:



Бу икки молекула ўртасида ҳосил бўлган боғ азометин боғи дейилади. Маҳсулот эса Шифф асослари ёки азометин ҳосилалари деб аталади. Шу маълумотларга таянган ҳолда биз ҳам госсипол билан N-фенилацетамид, (S)-2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-6-(пропиламин) бензотиазол ва изониазид каби аминлар билан янги Шифф асосларини синтез қилдик. Реакция етти соат давомида магнитли айлантиргичда қиздирилган шароитда (70⁰С) олиб борилди. Реакциянинг боришини кузатиш мақсадида ҳар ярим соатда юпқа катламли хроматография қилиб борилди.

II.3. Синтез қилинган Шифф асосининг монокристаллини олиш

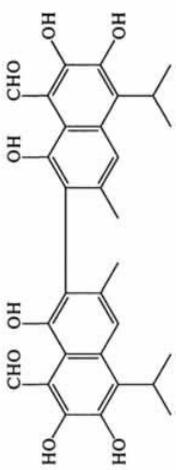
Ҳосил бўлган Шифф асоси бензолда эримади. Шунинг учун у аралашмада чўкмага тушади. Аралашмани филтр қоғозидан ўтказиш орқали аралашмадаги чўкма ажратиб олдик. Чўкмани госсипол ва изониазиддан тозаладик. Тоза чўкмани ацетонда эритиб монокристал олиш учун 2 суткага қўйдик. Идиш деворидаги монокристални олиб уни рентген анализ учун топширдик.

II.4. Синтез қилинган моддаларнинг физик-кимёвий хоссаларини (ЮҚХ, $T_{\text{суюк}}$ ва бош.) ўрганиш

Олинган моддаларнинг баъзи бир физик-кимёвий константалари аниқланди.

7-Жадвал

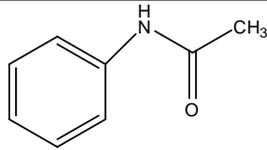
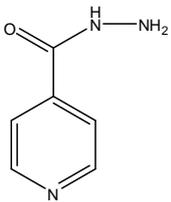
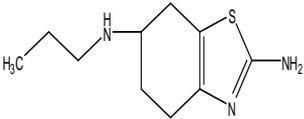
Госсипол моддасининг айрим физик константалари

Формула	Ранги	Эрувчанлик	$T_{\text{суюк}}$ °C	R_f	
				1	2
	Оч сарик	Ацетон Этил ацетат Бензол	181-182	0,7	0,8

1. бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

8-Жадвал

Аминларнинг айрим физик константалари

Бирикма	Амин	Ранги	Эрувчанлик	Т _{суюк} °С	R _f	
					1	2
I	 Ацетанилид	Рангсиз	Ацетон	114,3	0,1	0,48
II	 Изониазид	Оқ	Ацетон	172	0,14	0,45
III	 Прамипексол	Оқ	Ацетон	296 - 301	0,08	0,18

1. бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

9-Жадвал

Олинган Шифф асосларнинг физик-кимёвий константалари:

Бирик ма	Шифф асос	Мол нис- бати	Эрувчан -лик	Т _{сую} к _р °С	R _f		Реакция унуми		Ранги
					1	2	гр	%	
IV	I+Госсипол	2:1	Ацетон	234- 237	0,23	0	0,1158	77	Сарик
V	II+Госсипол	2:1	Ацетон	293- 294	0.3	0	0,1239	82	Тўқ кўнғир

VI	III+Госсипол	2:1	Ацетон	298-301	0,15	0	0,1808	68	қўнғир
----	--------------	-----	--------	---------	------	---	--------	----	--------

1. бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

II.5. Олинга янги модданинг тузилишини рентген спектрлари ёрдамида текшириш

Олинган рентген спектр анализлари қуйидаги жадвалда келтирилган.

10-Жадвал

Формула	C ₄₂ H ₄₀ N ₆ O ₈ , C ₃ H ₆ O
Формула оғирлиги	814

Жадвалдаги анализларга эътибор қаратиб синтез қилинган Шифф асосимизнинг таркибидаги углерод, водород, азот ва кислородлар сонини аниқлаб олдик. Уларнинг сони 42 та углерод атоми, 40 та водород атоми, 6 та азот атоми ва 8 та кислород атоми борлигини аниқладик. Яъна 3 та углерод, 6 та водород ва 1 та кислород атомини алоҳида чиқанлигига кўзимиз тушади. Бу эса монокристалимизнинг 1 моль миқдорига 1 моль миқдорда ацетон молекуласи бирикканидан далолат беради. Спектрлар формуланинг умумий оғирлигини 814 га тенг деб берганини кўрдик. Бу масса синтез қилган Шифф асосимиз молекуласи ва бир молекула ацетон массасини ҳам инобатга олган ҳолда ҳисоблаган. Рентген спектр анализидан олинган боғ узунлиги маълумотларини солиштириб кўрамиз.

11-Жадвал

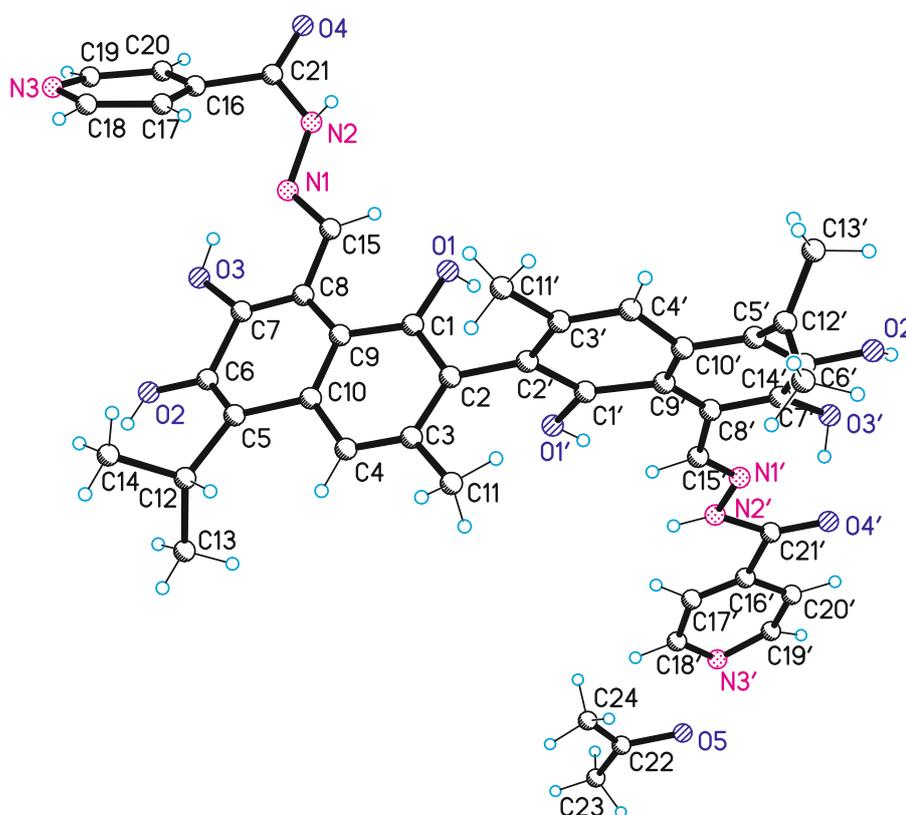
Боғ узунлиги

O1	-C1	1.38(4)
O001	-C010	1.34(4)
O1'	-C1'	1.45(4)
N2	-H2A	0.8600
O2	-C6	1.33(3)

C2	-C3	1.44(4)
O2'	-C6'	1.22(5)
C2	-C2'	1.45(4)
O3	-C7	1.36(3)
N2'	-H2'A	0.8600
O3'	-C7'	1.32(4)
C2'	-C3'	1.37(5)
O4	-C21	1.22(4)
O003	-C01X	1.30(4)
O4'	-C21'	1.15(4)
C3	-C11	1.51(6)
N1	-N2	1.43(4)
C3	-C4	1.25(6)
N1	-C15	1.38(4)
C3'	-C4'	1.38(7)
O1	-H1	0.8200
C3'	-C11'	1.49(6)
N1'	-N2'	1.38(3)
O004	-C01L	1.29(4)
N1'	-C15'	1.24(4)
C4	-C10	1.44(4)

Маълумотларни кўздан кечириб чиқиб шу нарса аниқ бўлдики N2 ва N2' азот атомлари ҳар бири биттадан водород атоми билан бирикканини кўрдик. N1 ва N1' азот атомлари эса водород атомлари билан бирикмаганлиги маълум бўлди. C15 ва C15' углерод атомларининг ҳар бирида иккита функционал гуруҳ ва битта водород атоми борлигини кўрамиз. Бу билан азометин боғи N1 ва N1' азот атомлари билан C15 ва C15' углерод атомлари

орасида юзага келган деган хулосага келдик. Қуйидаги расм синтез қилинган Шифф асоси моддасининг рентген спектр анализидан олинган структураси.

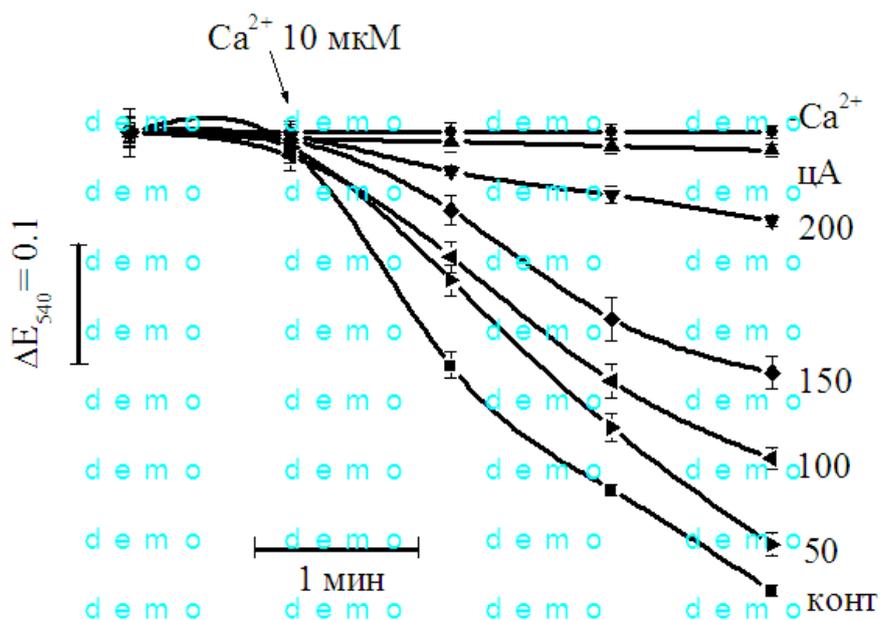


Расм 23. Синтез қилинган Шифф асоси моддасининг структураси.

Юқорида тўхталиб ўтканимиздек синтез қилинган Шифф асоси моддасининг монокристалининг бир молекуласида бир молекула ацетон бириккан экан. Чунки монокристал ацетонли мухитда олинган. Балки шунинг учун ацетон водород боғ хисобига монокристалга бирикиб олган.

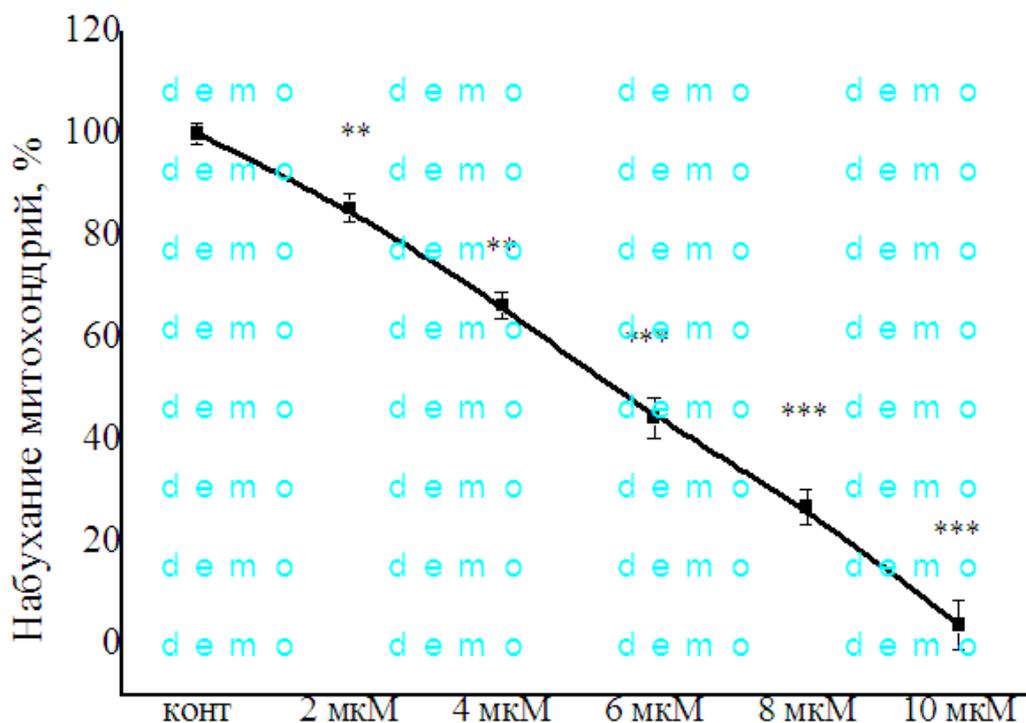
II.6. Синтез қилинган модданинг биологик фаоллигини (митохондрияга таъсири асосида) ўрганиш

Синтез қилинган Шифф асосини бўккан митохондрияга таъсири натижасида қуйидаги график келиб чикди. График асосида мулохаза юратадиган бўлсак Ca^{2+} ионлари натижасида бўккан митохондрияга синтез қилган Шифф асосимизнинг кўшиладиган миқдорида тескари пропорционал холда бўкиш жараёни камайиб кетади.



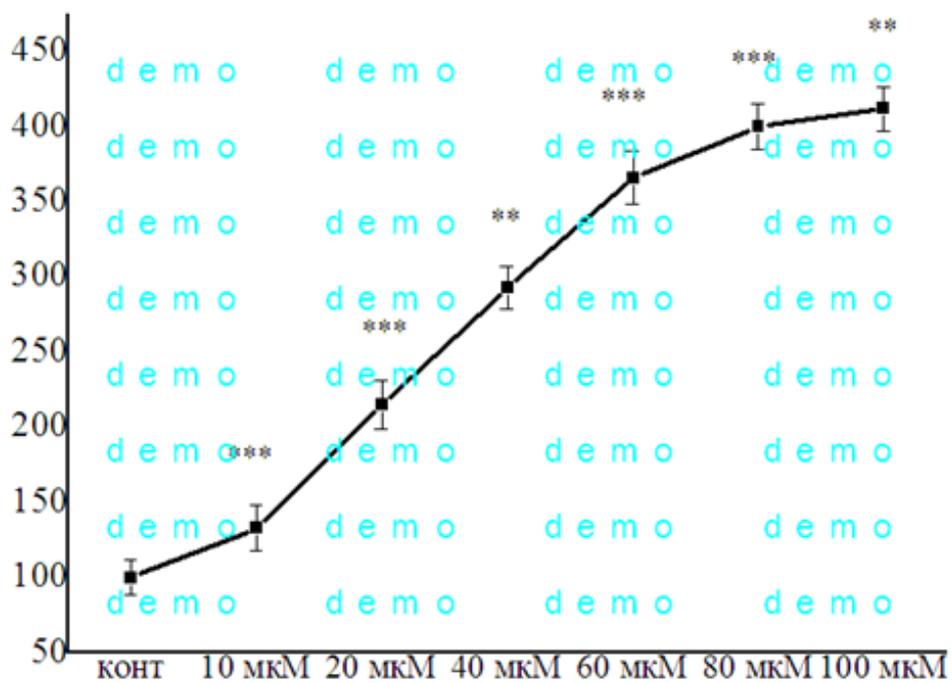
Расм 24. Синтез қилинган Шифф асоси (изониазид+госсипол)

Синтез қилинган Шифф асосини Fe^{2+} +аскорбат кислота системасида оксидланиб бўлган митохондрияга таъсир эттирганимизда қуйидагича график келиб чиқди. Бундан кўриниб турибдики Fe^{2+} +аскорбат системасида перкисли оксидланиш жараёнига учраган митохондрияга синтез қилган Шифф асосимизнинг миқдорини ошириб қўшганимизда жараён секинлашиб тўхтаганини кўрдик. Оксидланиш жараёнини камайиб боришини прибор (ЛМФ-69) кўрсатгичи кўрсатиб туради.



Расм 25.Синтез қилинган Шифф асоси (изониазид+госсипол)

Синтез қилинган Шифф асосини K^+ каналига таъсири натижасида олинган график қуйидаги кўринишга эга. Бундан кўришиб турибдики синтез қилган Шифф асосимиз K^+ каналига таъсир этиб уни K^+ ионини ўтказувчанлигини, қўшилаётган Шифф асосимизнинг миқдорига тўғри пропорционал холда, ошганини кўрамиз.



Расм 26.Синтез қилинган Шифф асоси (изониазид+госсипол)

III-БОБ
ТАЖРИБАЛАР БЎЛИМИ

**III.1. Синтезни бажариш учун керак бўладиган реактив ва асбоб
ускуналар**

1. ГСК-3
2. Қоғоз хроматографияси
3. N-фенилацетамид
4. (S)-2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-6-(пропиламин) бензотиазол
5. Изониазид
6. Ацетон
7. Бензол
8. Этил ацетат
9. Диэтилэфир
10. Киздиргичли магнитли айлантиргич
11. Пўкакли фильтр
12. Туби ясси колбалар (50-100 мл)
13. Туби юмалоқ колбалар ва хоказо
14. Термометр
15. Штатив
16. Тарози
17. Пенцилин шишалар
18. Диметилсульфооксим

Системалар: 1. Этил ацетат : бензол (9 : 1)

2. Бензол : ацетон (1 : 1)

3. Ацетон

4. Бензол : ацетон (3 : 9)

III.2. Госсиполнинг турли табиатли аминлар билан Шифф асосларининг синтези.

III.2.1. Госсиполнинг N-фенилацетамид билан Шифф асосини олиш.

Госсипол моддасидан 0,1036 гр (0,0002 моль) тортиб олиб 50 мл ли туби ясси колбага солдик ва уни эритиш учун 10 мл бензол кўшдик. Яхши эриши учун уни магнитли айлантиргичда 30 дақиқа айлантирдик. Эритмадаги госсиполга нисбатан икки марта кўп миқдорда 0,054 гр (0,0004 моль) ацетанилиддан кўшдик ва магнитли айлантиргичда 7 соат 70°C да киздириб реакцияни давом этирдик. Реакция тугагандан сўнг эритма хона хароратида чўктиришга кўйиб кетдик. Олинган чўкмани пўкакли филтрдан ўтказиб ажратиб олдик. Чўкма таркибидаги реакцияга киришмаган госсиполни чиқариб юбориш учун чўкмани 3 марта бензолда ювдик. Госсипол қолмаганини текшириш учун юпқа қатламли хроматография қилдик. Госсипол йўқлигини текширгач чўкма таркибидаги реакцияга киришмай қолган ацетанилидни чиқариб юбориш учун уни бензол:ацетон (1:1) системали аралашма билан ишлов бердик. Бунда ҳосил бўлган янги Шифф асоси чўкмада қолади. Эритмага ацетанилид ўтади. Чўкмани филтрлаб олдик ва чўкмани ацетонда эритдик. Монокристал олиш учун идишга солиб 3 суткага кўйгандик монокристал ҳосил бўлмади.

Системалар: 1. бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

$$m=0,1158 \text{ гр (77\%)}$$

$$T_{\text{суюқ}}=234-237^{\circ}\text{C}$$

$${}^1R_f=0,23; {}^2R_f=0;$$

III.2.2. Госсиполнинг (S)-2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-6-(пропиламин) бензотиазол билан Шифф асосини олиш.

Госсипол моддасидан 0,1036 гр (0,0002 моль) тортиб олиб 50 мл литуби ясси колбага солдик ва уни эритиш учун 10 мл бензол қўшдик. Яхши эриши учун уни магнитли айлантиргичда 30 дақиқа айлантирдик. Эритмадаги госсиполга нисбатан икки марта кўп миқдорда 0,0844 гр (0,0004 моль) прамипексолдан қўшдик ва магнитли айлантиргичда 7 соат 70⁰С да қиздириб реакцияни давом этирдик. Реакция тугагандан сўнг эритма хона хароратида чўктиришга қўйиб кетдик. Олинган чўкмани пўкакли филтрдан ўтказиб ажратиб олдик. Чўкма таркибидаги реакцияга киришмаган госсиполни чиқариб юбориш учун чўкмани 3 марта бензолда ювдик. Госсипол қолмаганини текшириш учун юпка қатламли хроматография қилдик. Госсипол йўқлигини текширгач чўкма таркибидаги реакцияга кирашмай қолган прамипексолни чиқариб юбориш учун уни бензол:ацетон (1:1) системали аралашма билан ишлов бердик. Бунда ҳосил бўлган янги Шифф асоси чўкмада қолади. Эритмага прамипексол ўтади. Чўкмани филтрлаб олдик ва чўкмани ацетонда эритдик. Монокристал олиш учун идишга солиб 3 суткага қўйгандик монокристал ҳосил бўлмади.

Системалар: 1. бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

$m=0,1808$ гр (68%)

$T_{\text{суюк}}=298-301^{\circ}\text{C}$

${}^1R_f=0,15; {}^2R_f=0;$

III.2.3. Госсиполнинг изониазид билан Шифф асосини олиш

Госсипол моддасидан 0,1036 гр (0,0002 моль) тортиб олиб 50 мл литуби ясси колбага солдик ва уни эритиш учун 10 мл бензол қўшдик. Яхши эриши учун уни магнитли айлантиргичда 30 дақиқа айлантирдик. Эритмадаги госсиполга нисбатан икки марта кўп миқдорда 0,0548 гр (0,0004 моль) изониазиддан қўшдик ва магнитли айлантиргичда 7 соат 70⁰С да қиздириб реакцияни давом этирдик. Реакция тугагандан сўнг эритма хона хароратида чўктиришга қўйиб кетдик. Олинган чўкмани пўкакли филтрдан

Ўтказиб ажратиб олдик. Чўкма таркибидаги реакцияга киришмаган госсиполни чиқариб юбориш учун чўкмани 3 марта бензолда ювдик. Госсипол қолмаганини текшириш учун юпқа қатламли хроматография қилдик. Госсипол йўқлигини текширгач чўкма таркибидаги реакцияга қиришмай қолган изониазидни чиқариб юбориш учун уни бензол:ацетон (1:1) системали аралашма билан ишлов бердик. Бунда ҳосил бўлган янги Шифф асоси чўкмада қолади. Эритмага ацетанилид ўтади. Чўкмани филтрлаб олдик ва чўкмани ацетонда эритдик. Монокристал олиш учун идишга солиб 3 суткага қўйгандик монокристал ҳосил бўлди.

Системалар: 1.бензол : ацетон (3 : 9) 2. бензол: этил ацетат (1 : 9)

$m=0,1239$ гр (82%)

$T_{\text{суюк}}=293-294^{\circ}\text{C}$

${}^1R_f=0,3; {}^2R_f=0;$

III.3. Олинган Шифф асосининг биологик фаоллигини ўнганиш.

III.3.1.Синтез қилинган Шифф асосини бўккан митохондрияга таъсири

Каламушни жигари ажратиб олдик. Олинган жигарни пресдан ўтказдик. Пресдан ўтказиш учун уни гомогенезаторга солдик ва устига ажратувчи мухит қўйдик ва пресладик. Кейин центрифуга қилиш мақсадида центрифуга идишига солдик. Центрифугада биринчи 7 дақиқа 1500 айланма/мин.да айлантirikдик. Бу холда чўкма ҳосил бўлди. Бу чўкма ҳар хил қолдиқлар яъни тўқима, қон ва унда эриган бошқа моддалар. Устки суюқ қисмини бошқа идишга қуйиб олдик. Бу эритмани иккинчи марта центрифугалаш учун 15 дақиқа 6000 айланма/мин.да айлантirikдик. Бунда яъна чўкма ҳосил бўлди. Мана шу бўккан чўкма митохондрия ҳисобланади. Чўкмага тушган митохондрияни ажратиб олдик. Митохондрияни мегапора каналини очиш учун митохондрияни инкубацион мухитда эритдик. Бу инкубацион мухит таркиби сахароза - 200, $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ - 1, сукцинат - 5, Ca^{2+} -

ЭГТА-буфер 0,02, Нерес – 20, трис-НСl - 20, ротенон – 0,002, рН 7,2. Эриган митохондрияни оптик зичлигини аниқладик ва уни бўктириш мақсадида $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ тузидан 10 мкМ эритмасидан солдик. 10 мкМ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ тузини эритмасини тайёрлаш учун тарозида туздан 16,4 мк тортиб олиб уни 100 мл сувга солиб эритдик. Бўкиш жараёнидаги ўзгаришни белгилаб олдик. Синтез қилинган Шифф асосини мегапорага таъсирини текшириш учун эса эриган митохондрияга синтез қилган изониазид+госсипол Шифф асосидан 50 мкМ эритмасидан солдик. Эритмани тайёрлаш учун Шифф асосидан 37,8 мк тортиб олиб 100 мл ДМСО да эритдик. Оптик зичлиги маълум митохондрия эритмасига 50 мкМ Шифф асосини солдик ва устидан 10 мкМ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ тузидан солиб жараён ўзгаришини белгилаб олдик. Шифф асоси моддаси эритмасидан 100, 150, 200 ва 250 мкМ эритмаларини тайёрлаб хар бири учун алохида жараён ўтказилиб ўзгаришларни ёзиб олдик ва шулар асосида график чиздик. Синтез қилган Шифф асосимиз мегапора каналига таъсир этиб митохондрияни бўкишини тўхтатишини ўргандик.

Ш.3.2. Синтез қилинган Шифф асосини Fe^{2+} +аскорбат системасида бўккан митохондрияга таъсири

Оксидловчи сифатида ишлатиладиган Fe^{2+} +аскорбат системасини тайёрлаш учун FeSO_4 тузининг эритмасининг 5 мкМ тайёрладик. Аскорбат кислотасидан 10 мкМ тайёрладик. FeSO_4 тузини 5 мкМ эритмасини тайёрлаш учун тарозида FeSO_4 тузидан 7,6 мг тортиб олиб идишга солдик. Ўша идишга аскорбат кислотасидан 17 мг тортиб олиб ўша идишга солдик ва устидан 100 мл сув солдик.

Чўкмага тушган митохондрияни инкубацион мухитда эритдик. Бу инкубацион мухит таркиби КСl - 125, трис-НСl - 10, рН 7,4. Эриган митохондрияни оптик зичлигини аниқладик ва уни оксидлаш учун Fe^{2+} +аскорбат системасини солдик. Оксидланиш жараёнидаги ўзгаришни белгилаб олдик. Синтез қилинган Шифф асосини антиоксидантлик хоссасини текшириш учун эса эриган митохондрияга синтез қилган изониазид+госсипол Шифф асосини ДМСО даги 2 мкМ эритмасидан солдик

ва Fe^{2+} +аскорбат системасини солиб, жараён ўзгаришини белгилаб олдик. Шифф асоси моддаси эритмасидан 4, 6, 8 ва 10 мкМ эритмаларини тайёрлаб хар бири учун алохида жараён ўтказиб ўзгаришларни ёзиб олдик ва шулар асосида график чиздик. Синтез қилган Шифф асосимиз антиоксидантлик хоссага эга бўлиб митохондрияни оксидланиш жараёнини тўхтатишини кўрдик.

Ш.3.3. Синтез қилинган Шифф асосини K^+ каналига таъсири

Митохондрияни инкубацион мухитда эритдик. Бу инкубацион мухит ўзида АТФ сақлаган бўлади ва унинг таркиби 125 мМ KCl , 1 мМ MgSO_4 , 10 мМ Neres , 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4. Эриган митохондрияни оптик зичлигини аниқладик ва унга 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 системасини солдик. Жараёндаги ўзгаришни белгилаб олдик. Синтез қилинган Шифф асосини таъсирини текшириш учун эса эриган митохондрияга синтез қилган изониазид+госсипол Шифф асосини 10 мкМ ДМСО даги эритмасидан солдик ва 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 системасини солиб, жараён ўзгаришини белгилаб олдик. Шифф асоси моддаси эритмасидан 20, 40, 60, 80 ва 100 мкМ эритмаларини тайёрлаб хар бири учун алохида жараён ўтказилиб ўзгаришларни ёзиб олдик ва шулар асосида график чиздик. Синтез қилган Шифф асосимиз митохондрияни калий каналининг ион ўтказиш жараёнини ошириб юборди.

Хулосалар

1. Госсипол билан изониазид, ацетанилид ва прамипексолларнинг Шифф асослари синтез қилинди, бунда изониазид билан ҳосил қилган Шифф асосининг унуми юқорилиги кузатилди.

2. Синтез қилинган Шифф асосини тузилиши ва индивидуаллиги ренгтеноспектроскопия усули ёрдамида текширилди.

3. Биринчи марта синтез қилинган Шифф асослари дастлабки модда яъни госсиполдан фарқли равишда бензолда эримаслиги кузатилди.

4. Митохондрия Ca^{2+} тасирида бўкади ва мегапора канали очилиб кетиши натижасида ишемия кузатилади. Изониазид билан ҳосил қилинган Шифф асоси махсус инкубацион мухитда эритилган митохондрияга таъсир этирилганда уни бўкиши тўхташи ва мегапора каналини очилишини олди олиниши ўрганилди.

5. Митохондрияни калий канали K^{+} ионини ўтказувчанлиги камайиши оқибатида ҳам ишемия кузатилади. Изониазид билан ҳосил қилинган Шифф асосини махсус инкубацион мухитда эритилган митохондрияга таъсир этирилганда калий каналини K^{+} ионини ўтказувчанлигини оширигани ўрганилди.

6. Митохондрияни хар хил оксидловчилар тасирида оксидланиши натижасид митохондрия ўлиши кузатилади. Изониазид билан ҳосил қилинган Шифф асоси антиоксидантлик хоссасини ўрганиш учун махсус инкубацион мухитда эриган митохондрияга таъсир этирилганда оксидланиш жараён тўхтагани ўрганилди.

АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

1. Барам Н.И., Исмаилов А.И. Биологическая активность госсипола и его производных. /Хим. природ. соедин.–Ташкент, 1993.– №3.–С. 334–348.
2. Глушенкова А.И., Назарова И.П. Госсипол его производные и их использование. Ташкент: Фан, 1993. с.
3. Мухаммеджанова Е.Н., Долимов Д.Н. Тиябаев З., Шнейвайс В.Камаев Ф.Г., Бектемиров Л., Исмаилов А.И. . Синтез, строение бис-диэтил-анилинимингоссиполов, их антиокислительная и антихолинэстеразная активность //Химия природ. соедин. 1991 184.
4. Мирзаабдуллаев А.Б., Асланова Д.Х., Ершов Ф.И., сб.Природные полифенолы и их производные –противовирусные препараты и индукторы интерферона. Фан. Ташкент 1981,129.
5. HeinsteiP.F. Hernam, L.D.Tuveb.C.,Smit G.F. " Биосинтез Госсипола".J. Chem(1970).245(18): 4658-4665. PMID 431879.
6. Талипов С.А., Ибрагимов Б.Т., Охаши Ю., Харада И., Салех М.И. Клатратообразование госсипола. Строение комплекса госсипола с трополоном. // Кристаллография 2002. - 47(3). - С. 88-93.
7. Талипов, С. А.; Ибрагимов, Б. Т. Клатраты госсипола. Строение комплекса госсипола с бутилацетатом.// Журнал структурной химии. 2003. - 43, - С. 534-539.
8. Clark E.P. Studies on Gossypol. I. The Preparation, Purification, and Some of the Properties of Gossypol, the Toxic Principle of Cottonseed. // J. Biol. Chem. 1927. –V. 75. –P. 725–739.
9. А.Л.Маркман, В.П.Ржехин. *Госсипол и его производные*.М.: "Пищевая промышленность", 244 (1965).
10. Ibragimov B.T., Tiljakov Z.G., Beketov K.M., Talipov S.A. Polymorphism of Inclusion Complexes and Unsolvated Hosts. I.Trimorphism of the host-guest complex of gossypol with dichloromethane. The structure of the β -phase. // J.Inclusion Phen.Molec. Recognition. -1997. -V.27.,-P.99-104.

11. Талипов С.А., Ибрагимов Б.Т., Охаши Ю., Харада И., Салех М.И. Клатратообразование госсипола. Строение комплекса госсипола с трополоном // Кристаллография 2002. - №. 47(3). – С. 88-93.
12. Ибрагимов Б.Т., Талипов С.А., Дадабаев Б.Н., Абдувахабов А.А. Рентгеноструктурное исследование госсипола и его производных. XXII. Строение Н-клатрата госсипола с диметилсульфоксидом. // Химия природных соед. 1992. - С. 330-335.
13. Талипов С.А., Ибрагимов Б.Т., Назаров Г.Б., Арипов Т.Ф., Садыков А.С. Рентгеноструктурное исследование госсипола и его производных. III. Структура кристаллической модификации госсипола, выращенного из раствора в хлористом метиле // Химия природных соед. –1985. -С.835-837.
14. Мирзаабдуллаев А.Б., Асланова Д.Х., Ершов Ф.И., сб. Природные полифенолы и их производные –противовирусные препараты и индукторы интерферона. Фан, Ташкент 1981,129-с.
15. Зияев Х.Л., Барам Н.И., Ходжаниязов Б., Камаев Ф.Г., Бектемиров Л, Джурабекова А.И., Исмаилов А.И., Госсипол, его производные и их комплексы в растворах//ХПС. 1998. № 1. 52.
16. В.П. Ржехин, Ф.Б. Белова, Новые способы выделения госсипола из хлопковых семян, масла и шрота. – М.: ЦИНТИ Пищепром, 1961
17. В.П. Ржехин, Ф.Б. Белова, Новые способы выделения госсипола из хлопковых семян, масла и шрота. – М.: ЦИНТИ Пищепром, 1961
18. Барам Н.И., Зияев Х.Л., Исмаилов А.И., Зиямов Ю.С., Новые азопроизводные госсипола//ХПС.2000. 145.
19. Садыков А.С., Вичканова С.А., Исмаилов А.И., Горюнова А.В., Шукуров З.Ш. Петерс В.В., Мартинова Р.Р изучение противовирусных свойств госсипола в эксперименте и клинике. Экспресс информация-новая лекарственные вещества,1983, №10 С. 18.
20. Назарова И.П., Ульченко Н.Т., Глушенкова А.И., Бабиевский К.К., Ямсков И.Я. Получение сырого хлопкового масла и технического госсипола на хитинивом сорбенте. //Химия природ.соедин. 1991 № 6. С. 753.

21. Масагутова Г.М., Фомина А.Н., Мирютова Т.Л., сб. Индуктора интерферона . Масква.82-с.
22. Барам Н.И., Исмаилов А.И., Зияев Х.Л.,Режепов К.Ж. Структурно-функциональный анализ производных госсипола и создание медицинских препаратов на их основе. // VI симпозиум по фенольным соединениям.- Москва, 2004. –С.116.
23. Данилова Т.А., Миронова А.Н. Спектроскопическое изучение строения и некоторых свойств госсипола / Сб. Тр. ВНИИЖа. – Ленинград, 1963. - вып. - С. 202.
24. Edwards, J. D.; Cashaw, J. L., Studies in the Naphthalene Series. III. Synthesis of Apogossypol Hexamethyl Ether¹. Journal of the American Chemical Society 1957, 79, 2283-2285.
25. Edwards, J. D., Total synthesis of gossypol. Journal of the American Chemical Society 1958, 80, 3798-3799.
26. Meyers, A. I.; Willemsen, J. J., The synthesis of (S)-(+)-gossypol via an asymmetric Ullmann coupling. Chemical Communications 1997, 1573-1574.
27. Meyers, A. I.; Willemsen, J. J., An oxazoline based approach to (S)-Gossypol. Tetrahedron 1998, 54, 10493-10511.
28. Исмаилов А. Химическое исследование госсипола специфического пигмента хлопчатника.-Автореф.дис.канд.техн.наук -Ташкент,1959.-21 с.
29. Маркман А.Л.,Вилькова С.Н. О свойствах госсипола хлопкового масла //Узбекский химический журнал,1969, N 1. -С.63.
30. Маркман А.Л., Залесов В. Новая качественная реакция на госсипол //Масло-жировая пром-сть,1960, N 3. -С.3.
31. Clark E.P. Studies on Gossypol. III. The Oxidation of Gossypol // Biol. Chem. 1928. –V.77. –P 81–87.
32. K.N. Campbell, R.C. Morris and Adams R. The Structure of Gossypol // Amer. Chem. Soc. 1937. –V.59. –P. 1723–1728.
33. Wood AB & Robin FB, Conformation and hydrogen bonding of gossypol, Chemistry & Industry, (1969), 48, 1738-1739

34. Boathner Ch. H., Ed. Balley A. E. Pigments of cottonseed. Cottonseed and cottonseed products. Their Chemistry and Chemical Technology. // Interscience 1948. -P. 441-442.
35. Murty K.S., Seshadri T.R. Chemistry of gossypol. I. Preparation and properties // Proc. Indian Acad. Sci. 1942. V. 16. - P.146.
36. Залесов Ю.П., Маркман А.Л. Новая качественная реакция на госсипол. // Маслобойно-жировая промышленность. 1960.- №3.- С.8.
37. Talipov S. A.; Mardanov R. G., Ibragimov B. T., Beketov K. M., Kholbekov O. Kh. Molecular and crystal structure of a complex of gossypolic acid lactone with acetic acid // Chemistry of Natural Compounds 2000. –V. 35(4). –P. 409-414.
38. Ibragimov B.T., Talipov S.A., Zorky P.M. Inclusion complexes of natural product gossypol. // Supramol. Chem. 1994. V.3.- P. 147-165
39. Ibragimov B.T., Gdaniec M., Dadabaev B.N. Inclusion complexes of the natural product gossypol. Strong influence of the guest on the host structure in channel type isostructural inclusion complexes of gossypol. // J. Inclus. Phen. Mol. Recognit. Chem. 1990. V. 8.- P. 333-348.
40. Ибрагимов Б. Т. Кристаллохимия госсипола: дис. ... док. хим. наук – Москва: 1991. 46-54 с.
41. Clark E.P. Studies on Gossypol. I. The Preparation, Purification, and Some of the Properties of Gossypol, the Toxic Principle of Cottonseed. // J. Biol. Chem. 1927. –V.75. –P. 725–739.
42. Nazarova I.P., Glushenkova A. I. Determination of the solubility of gossypol // Chemistry of Natural Compounds. 1983. -V.19. - P. 779.
43. Bhakuni D.S., M.M. Sharma and V.N. Sharma. The Chemistry of Thespesin // Experientia 1968. –V. 24. –P.109-110.
44. Huang L., Y.K. Si G. Snatzke and D.K. Zheng. Absolute Configuration of Gossypol. Coll. // Czech. Chem. Commun. 1988. –V.53. –P. 2664-2666.
45. Dowd M.K., and E.D. Steven. The (-)-Gossypol-2,4-pentanedione (1:2) Inclusion Complex. // J. Chem. Crystallogr. 2004. –V. 34. –P. 559-564.

46. Cass G.B., E. Tiritan S.A. Matlin and E.E. Freire. Gossypol Enantiomer Ratios in Cotton Seeds // *Phytochemistry* 1991. –V. 30. –P. 2655-2657.
47. Robert D. Stipanovic, Lorraine S. Puckhaber, Alois A. Bell. Ratios of (+)- and (-)-Gossypol in Leaves, Stems, and Roots of Selected Accessions of *Gossypium hirsutum* Var. *marie galante* (Watt) Hutchinson. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006. –V. 54(5). –P. 1633-1637.
48. Clark EP(a) , Studies on gossypol. II. Concerning the nature of Carruth's D gossypol, *J. Biol. Chem.*, (1928), 76, 229-235
49. Adams R(g), Morris RC, Kirkpatrick EC, Structure of gossypol. V. Anilino derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, (1938), 60, 2158 -2160
50. Clark EP, Studies on gossypol. I. The preparation, purification, and some of the properties of gossypol, the toxic principle of cottonseed, *J. Biol. Chem.*, (1927), 75, 725-739
51. Pons WA, Gossypol analysis: Past and Present, *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, (1977), 60 (2), 252-259
52. Kuk M.S., Sr. Hron R.J., Abraham G. Adsorptive Gossypol Removal. // *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1993.- V. 70.- P. 209–210
53. Kuk M.S., Sr. Hron R.J. Cottonseed Extraction with a New Solvent System: Isohexane and Alcohol Mixtures. // *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1998.- V. 75.- P. 927–930
54. Eskin N.A.M., Akomas O., Latta M. A Study of Gossypol Reduction by Choline and Ethanolamine Using a Model System. // *Food Chem.* 1995.- V. 52.- P. 43–46
55. Cater C.M., Lyman C.M. Reaction of Gossypol with Amino Acids and Other Amino Compounds. // *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1969.- V. 46.- P. 649–653
56. Adams R(d), Geissman TA, Morris RC, Structure of gossypol. XVI. Reduction products of gossypolone tetramethyl ether and gossypolic acid tetramethyl ether, *J. Am. Chem. Soc.*, (1938), 60, 2967-2970

57. Kunesch N, Barbier MP, Dalkafouki A, Poisson JE, Préparation de dérivés de la fonction aldéhyde du gossypol, Ann. Pharmaceutiques Francaises, (1990), 48(1), 1-6
58. Morris RC & Adams R, The structure of gossypol III. Gossypol ethers, J. Am. Chem. Soc., (1937), 59, 1731-1735
59. Seshadri TR(b) & Sharma NN, Futher study of the three forms of (+)-gossypol hexamethyl ether, Indian J. Chem., (1975), 13, 866-868
60. Royer RE(a), Deck LM, Vander Jagt TG, Martinez FJ, Mills RG, Young SA, Vander Jagt DL, Synthesis and anti-HIV activity of 1,1'-dideoxygossypol and related compounds, J. Med. Chem., (1995), 38, 2427-2432
61. Adams R(a), Friedman BS, Price CC, Morris RC, Kirkpatrick EC, Structure of gossypol. VI. Addition products with butadienes, J. Am. Chem. Soc., (1938), 60, 2160-2162.
62. Adams RC(i) & Butterbaugh DJ, Structure of gossypol. X. Apogossypol and its degradation products, J. Am. Chem. Soc., (1938), 60, 2174-2180
63. Adams R(h), Morris RC, Kirkpatrick EC, Structure of gossypol. IX. Oxidation and degradation of gossypol hexamethyl ether; gossic acid, J. Am. Chem. Soc., (1938), 60, 2170-2174
64. Ismailov AI, Shukurov Z, Talipov SA, Kamaev FG, Mardanov RG, Ibragimov BT, Study of gossypol oxidation products. Structure of gossidan, Khim. Prir. Soedin, (1994), 1, 50-58
65. Adams R(h), Morris RC, Kirkpatrick EC, Structure of gossypol. IX. Oxidation and degradation of gossypol hexamethyl ether; gossic acid, J. Am. Chem. Soc., (1938), 60, 2170-2174
66. Абраменко В.Л., Сергиенко В.С. Молекулярные и внутрикомплексные соединения диоксомолибдена (VI) с салицилиден-4-иминобензосульфидами. Кристаллическая структура салицилиден-4-иминобензосульфида-5-этил-1,3,4-тиадазола (L^5) и комплекса $MoO_2L^5_2$ // Журн. неорг. химии. 2002.-Т.47.-№ 6.С. 905-914.

67. T.R.Rao, Archana Prasad. Synthesis and spectral studies on 3d-metal complexes of mesogenic Schiff base ligands. Part 1. Complexes of N-(4-Butylphenyl) Salicylalimine. // Synthesis and reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chem. 2005. V.35. - P. 299-304.
68. Y.S. Moroz, K. Kulon, M. Haukka and other. Synthesis and structure of [2x2] molecular grid copper(II) and nikel(II) complexes with a new polydentate oximecontaining Schiff base ligand. // Inorg. Chem. 2008. V.47, - Epub. 2008 May 24. P. 5656-5665.
69. Рустамова Р.П., Иргашева Г.М., Хушбактова З.А., Клемешева Л.С., Ширинова И.А., Алматов К.Т. Влияние некоторых флавонов на энергетический метаболизм митохондрий. Сообщение 1 // Вопр. биол., мед. и фарм. хим. 2005. №. 4. С. 39-45.
70. Цыбульский А.В., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я., Кривошапко О.Н., Мазейка А.Н., Козловская Э.П. Сравнительное изучение лечебного действия лютеолина, розмариновой кислоты и эхинохрома А при экспериментальной кардиопатологии, индуцированной стрессом // Биомед. химия. 2011. Т. 57. № 3. С. 314-325.
71. Halestrap A.P., McStay G.P., Clarke S.J. The permeability transition pore complex: another view. // Biochimie. 2002. № 84. С. 153-166.
72. Пожилова Е. В., Левченкова О. С., Новиков В. Е.. Регуляторная роль митохондриальной поры и возможности её фармакологической модуляции. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014. Т.12. С. 13-19.
73. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. // Biochemical society. 1999. 341 (Pt 2). P. 133-149.
74. Das M., Parker J. E. and Halestrap A. P. Matrix volume measurements challenge the existence of diazoxide/glibenclamide-sensitive KATP channels in rat mitochondria. // The physiological society. 2003. № 543-3. P. 893-903.
75. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver

- mitochondria. // J. Biol. Chem. 2003. № 278. P. 16755-60.
- 76.Su Y.L., Leung L.K., Bi Y.R. et al. Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Scutellaria rehderiana*.// J. Amer. Oil Chemists' Society. 2000. № 77(8). P. 807-13.
- 77.Даниленко Л.М., Локровский М.В., Королев А.Е., Кочкаров В.И., Романова Т.А., Татаренкова И.А. Митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы как точка приложения действия при дистантном прекондиционировании. // 2010. Журнал Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. № 22 (93). Т 12-2. С. 15-18.
- 78.Schneider W.C., Hageboom G.H. Cutochemical studies of mammalian tissues: The isolation of cell components ba differential centrifugation // Cancer Research. 1951. V. 11(4). P. 1-56.
- 79.He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria. // J. Biol. Chem. 2003. № 278. P. 16755-60.
- 80.Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowre et al. Which is more generally applicable // Analytical biochemistry. 1977. V. 83(2). P.346-356.
- 81.Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowre et al. Which is more generally applicable // Analytical biochemistry. 1977. V. 83(2). P.346-356.