

Ўзбекистон Республикаси
Олий ва Ўрта махсус таълим вазирлиги
Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети
Кимё факультети

Табиий бирикмалар
кимёси кафедраси

Турғунбоев Шавкатжон Шухратжон ўғли

БИТИРУВ МАЛАКАВИЙ ИШИ

***Aconitum leucostomum* ўсимлиги таркибидаги**
углеводларни ўрганиш

Илмий раҳбар:

к.ф.д., проф. Далимов Д.Н.

Илмий маслаҳатчи :

к.ф.д.Рахмонбердиева Р.К.

Тошкент-2014

Мундарижа

КИРИШ.....	4
I БОБ. Адабиётлар шарҳи.....	8
1.1. Полисахаридлар бўйича умумий маълумот ва полисахаридларнинг табиатда тарқалиши.....	8
1. 2. Полисахаридларнинг физик-кимёвий хоссалари.....	9
1. 3. Полисахаридларни ажратиб олиш ва уларнинг тузилишини аниқлаш усуллари.....	10
1. 4. Углеводларни физикавий усулларда ўрганиш.....	16
1. 4. 1. Углеводларнинг ИҚ-спектрлари.....	16
1.5. Углеводларнинг тўлиқ кислотали гидролизи.....	18
1. 6. Углеводларнинг биологик фаоллиги.....	19
II БОБ. Олинган натижалар таҳлили.....	20
2.1. <i>Aconitum leucostomum</i> углеводлари.....	20
2.2. <i>A. Leucostomum</i> нинг сувда эрувчан полисахаридлари.....	24
2.3. <i>A. Leucostomum</i> нинг пектин моддалари.....	25
2.4. <i>A. Leucostomum</i> нинг гемицеллюлозалари.....	27
III БОБ.Тажриба қисми.....	31
ХУЛОСАЛАР.....	38
Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.....	39
Илова.....	42

Қысқартма сўзлар

ПС – полисахарид

СЭПС -суда эрувчи полисахарид

ПМ – пектин моддалари

ГМЦ - гемицеллюза

Rha - рамноза

Ara - арабиноза

Xyl - ксилоза

Man - манноза

Glc - глюкоза

Gal - галактоза

GalA - галактурон кислота

Кс - эркин карбоксил гуруҳи

Кэ - этерификацияланган карбоксил гуруҳи

λ - этерификация даражаси

ММ – молекуляр масса

ИҚ - инфракизил спектроскопия

ҚХ –қоғоз хроматографияси

ГСХ - газсуюқ хроматография

Кириш

Ўсимлик полисахаридлари биополимерларнинг муҳим синфи ҳисобланиб, улар барча ўсимликларнинг таркибига кириб турли специфик функцияларни бажарадилар. Полисахаридлар фармацевтика, тиббиёт, озиқ-овқат, тўқимачилик ва бошқа соҳа саноатларида қўлланиши маълум.

Полисахаридлар биологик фаоллиги жуда кенг полимерлардир. Улар инсон организмидан захарли моддаларни, холестерин, оғир металллар, радионуклидларни чиқариб юборишга ёрдам беради ва ундан ташқари зарарланган хужайраларни тиклаб эркин радикалларни ҳосил бўлишига йўл қўймайди, иммун тизимини тиклайди. Тиббиёт соҳасида қўлланиши учун полисахаридлар асосида реополиглюкин, полиглюкин, гепарин, мукалтин ва бирқанча биологик фаол қўшимчалар яратилган. Бундан ташқари, полисахаридлар озиқ-овқат, фармацевтика, тўқимачилик саноатида ҳам кенг қўлланилиб келинмоқда.

Ушбу илмий изланиш *Aconitum leucostomum* ўсимлигининг полисахаридларини ўрганишга қаратилган. Бу ўсимлик *Ranunculaceae* оиласига мансуб алкалоид сақловчи ўсимлик ҳисобланади. *Aconitum* туркумига кирувчи ўсимликларнинг 300 дан ортиқ тури мавжуд бўлиб, улар шимолий ярим шарнинг тоғли, ўрмонли ва субтропик минтақаларида кўп учрайди.

Ушбу туркумга мансуб *Aconitum leucostomum* ўсимлиги бошқа турларига нисбатан анча олдиндан маълум бўлган. Бу ўсимлик Сибирда, Ўрта Осиёда, Олтойда ва Тянь-Шанда учрайди. Поясининг узунлиги 70-200 см бўлган кўп йиллик ўсимлик. Барглари қалин, эни 40 см гача бўлиб, узунлиги 20 см гача. Гулининг ранги тўқ бинафша ёки кул ранг сарик бўлиб, июн-июл ойларида гуллайди ва августда мева беради. Ўсимликнинг барча қисмлари кўп миқдорда алкалоидлар сақлайди. Илдизида 0.8-4.9%, поясида 0,3-1% баргларида 0,6-3,9% ва гулида 1,3-4,5% алкалоидлар бор. Ер устки

қисмидан лаппаконитин, лаппаконидин, коридин, глаудин, Н-диметилколлетин, о-метиларменавин, сенаконитин каби алкалоидлар ажратиб олинган. Ўсимликнинг илдизида эса мезаконитин, аксин, аксинатин, эксцелзин, лаппаконитин, лаппаконидин алкалоидлари борлиги аниқланган. Шунингдек, ўсимлик илдизида алкалоидлардан ташқари флавоноидлар, кумаринлар ва сапонинлар ҳам учрайди. Ўсимлик ер остки қисмидан олинадиган лаппаконитин алкалоидининг бромли тузи антиаритмик хоссага эга бўлиб, бу туз “*Аллапинин*” препаратининг асосини ташкил қилади. Бу дори юрак-қон томир касалликларида қўлланилади. Айнан ушбу дори воситаси ЎзРФА акад. С. Ю. Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институтида (ЎМКИ) ишлаб чиқарилади. Лекин дори воситаси ажратиб олингандан сўнг хом-ашё чиқинди сифатида ташлаб юборилади, уни иккиламчи хом ашё сифатида ишлатиш экологик томондан масалани ечса, *Aconitum leucostomum* ўсимлигининг назарий ва амалий томондан полисахаридларини тўлиқ ўрганиш долзарб масала ҳисобланади.

Ишдан мақсад: *Aconitum leucostomum* ўсимлиги ер остки қисмидан углеводларни ажратиб олиш ва уларнинг физик-кимёвий хоссаларини ҳамда моносахарид таркибини ўрганиш. Мақсадга эришиш учун қуйидаги **вазифаларни** ҳал этиш вазифа қилиб қўйилди:

- ўсимликдаги сувда эрувчан полисахаридларни, пектин моддалари ва гемицеллюлозаларни ажратиб олиш;
- ажратиб олинган полисахаридларнинг айрим хоссаларини кимёвий ва спектрал усулларда ўрганиш;
- полисахаридларнинг моносахарид таркибини сифат ва миқдор жиҳатдан аниқлаш.

Илмий ишнинг янгилиги: Илк бор *A.leucostomum* ўсимлиги ер остки қисмидан турли типдаги полисахаридлар ажратиб олинди. Ажратиб олинган полисахаридларнинг моносахарид таркиби, айрим хоссалари ва ИҚ-

спектрлари ўрганиб чиқилди. *A.leucostomum* ўсимлигидан глюкоза типидagi полисахарид ажратиб олинди.

Тадқиқот объекти: *Aconitum leucostomum* ўсимлигининг ер остки қисми.

Тадқиқот усуллари: кимёвий усуллар (экстракция, тўлиқ кислотали гидролиз, ацетат альдононитрил ҳосилаларини олиш);

Аналитик усуллар: полисахарид эритмаларининг қовушқоқлигини аниқлаш ва пектин моддасининг этерификация даражасини титрлаш усулида аниқлаш.

Физик-кимёвий усуллар: ИҚ-спектроскопия, газ-суюқлик хроматографияси (ГСХ)

Илмий иш структураси ва ҳажми. Илмий иш 44 бет компьютер текстида ёзилган бўлиб, у кириш қисми ва 3 та бўлим - адабиётлар шарҳи, олинган натижалар таҳлили, тажриба қисми, хулоса, 24 та фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан ва иловадан иборат. Илмий иш 2 та жадвал, 4 та расм ва 1 та схемани ўз ичига олади.

Илмий иш материаллари 2014 йил 1-3 май Термиз шаҳрида ўтказилган IV Республика “Аналитик кимёнинг долзарб муаммолари” илмий-амалий анжуманининг илмий мақолалар тўпламида chop этилган.

Битирув малакавий иш ЎзР ФА академик С. Ю. Юнусов номидаги Ўсимлик моддалар кимёси институтининг “Юқори молекулали ўсимлик моддалари кимёси” лабораториясида бажарилди.

Мавзунинг бажарилиши бўйича шароит яратиб берганликлари ва иш мобайнида берган илмий маслаҳатлари, ҳамда амалий ёрдамлари учун ЎзР ФА академик С. Ю. Юнусов номидаги Ўсимлик моддалар кимёси институти раҳбарияти ва жамоасига ўз миннатдорчилигимни билдираман. **Муаллиф**

I БОБ

АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

1.1. Полисахаридлар бўйича умумий маълумот ва полисахаридларнинг табиатда тарқалиши

Полисахаридлар моносахаридларнинг поликонденсатланишидан ҳосил бўлган юқори молекуляр бирикмалар бўлиб, унда моносахаридлар бири-бири билан гликозид боғи орқали боғланган. Уларнинг шакли чизиксимон ёки шохланган бўлади [1]. Полисахаридларнинг мономер звенолари турли мономерлардан ташкил топган. Масалан, энг кўп учрайдигани D-глюкоза, шунингдек, D-манноза, D- ва L-галактоза, D-ксилоза, L-арабиноза, D-глюкурон, D-галактурон, D-маннурон кислоталари, D-глюкозамин, D-галактозамин ва аминоурон кислоталар. Ҳар бир моносахарид полисахарид таркибида пираноза ёки фураноза ҳалқа ҳосил қилиб жойлашади. Бу моносахаридлар ўзларининг гидроксил гуруҳлари ҳисобига бошқа моносахарид қолдиғи билан α - ва β - гликозид боғи орқали боғланган.

Полисахаридлар ердаги органик моддаларнинг асосий қисмини ташкил этади. Ер усти ўсимликлари ва сув ўтлари қуруқ массасининг катта қисми полисахаридлардан ташкил топган, полисахаридларнинг биров камроқ лекин жуда муҳим миқдори скелетлик функциясини ҳосил қилади, каттиқликни таъминлайди ва уларнинг агрегатини таъминлайди. Бундай полисахаридлардан целлюлоза ва хитин табиатда кенг тарқалган. Целлюлоза ўсимликларнинг асосий қурилиш материали ҳисобланади. Полисахаридларни қандай мономер звенолардан ташкил топганига кўра икки гуруҳга бўлиш мумкин:

- 1) Гомополисахаридлар - бир хил моносахаридлардан ташкил топган полисахаридлар.
- 2) Гетерополисахаридлар - ҳар хил моносахаридлардан ташкил топган полисахаридлар [2].

1. 2. Полисахаридларнинг физик-кимёвий хоссалари

Полисахаридларнинг молекуляр массаси бир неча мингдан то бир неча миллион оралиқда бўлади. Макромолекулаларнинг молекуляр массалари уларнинг физик ва кимёвий хоссаларида ўз аксини топади. Полисахаридлар молекуласининг катталиги ва уларнинг эгилувчанлиги сабабли эритмалари хоссалари билан кичик молекулали бирикмаларникидан фарқ қилади. Умуман олганда полисахаридлар эритмада калава ҳолида бўлиб, эритувчилар билан кўплаб боғланишлар ҳосил қилади. Калава эритмага ўтганда ўз ҳажмидан бир неча марта катталашиб кетади ва улар бир-бири билан маълум масофада таъсирлашиб туради. Полимер эритмалари идеал эритмалардан ўзларининг юқори қовушоқликка эга бўлиши билан фарқ қилади.

Полисахаридларнинг эрувчанлиги уларнинг кимёвий табиатига боғлиқ бўлиб, улар таркибида кўп миқдордаги эркин карбоксил гурухлар мавжудлиги туфайли юқори полярлик хусусиятига эга. Улар бундай хусусиятга эга бўлиши туфайли сувда эрийди, диметилсулфоксид, формаамид ва диметилформаамидда яхши эримади, камроқ полярликка эга бўлган органик эритувчиларда эса умуман эримади.

Полисахаридлар учун хос бўлган молекулалараро таъсирнинг энг характерли тури бу - молекулалараро водород боғланиш бўлиб, унинг ҳисобига молекулаларнинг тартиблилик даражаси ортади ва ўзига хос тузилиши ҳосил бўлади.

Полисахаридларнинг эрувчанлигига турли омиллар (ноорганик тузлар, эритманинг муҳити рН ва бошқ.) ўзининг таъсирини кўрсатади. Тузлар молекулалараро водород боғларни узади ва натижада полисахаридларнинг эрувчанлиги ортади. Аксинча тузларнинг юқори концентрацияли эритмалари полисахаридларнинг гидратланишини камайтиради ва натижада уларнинг эрувчанлиги камади. Полиэлектrolит полисахаридлар (полиурон

кислоталар, сульфатли ҳосилалари) да молекулалараро таъсирнинг яна бири мавжуд бўлиб, у электростатик кучдир. Полисахаридларнинг макромолекуляр хусусияти уларнинг кимёвий хоссаларига ҳам кучли таъсир кўрсатади. Умуман олганда полисахаридлар молекулалари охирида битта альдегид гуруҳ сақлайди. Полисахаридлар мономер звенолари бир-бирлари билан гликозид боғлари орқали боғланган бўлиб, бу боғлар кислотага сезгирдир. Шунинг учун уларни кислоталар билан қайта ишланганда деполимерланиш жараёни содир бўлади. Полисахаридлар таркибидаги энг асосий функционал гуруҳ гидроксил (OH^-) бўлиб, бу гуруҳ турли бирикмаларга, масалан оддий ва мураккаб эфирларга айланган ҳолда ҳам учрайди. Бу эфирлар сувда ёмон эрийди, лекин органик эритувчиларда яхши эрийди. Полисахаридлар таркибида учрайдиган карбоксил гуруҳлар ҳам турли кимёвий реакцияларга киришади. Масалан, этерификация, қайтарилиш, аминогуруҳлар эса ациллаш реакцияларга киришади. Полисахаридларда юқоридаги реакцияларни амалга ошириш учун тажриба шароитларини тўғрилаш лозим (эритувчи, реагентлар, вақт, температура ва б.). Полисахаридлар кимёвий реакциялари учун умумий характер макромолекулалар таркибидаги барча функционал гуруҳларни реакцияга кириштириб бўлмаслиги бўлиб, полисахаридлар реакциялари қийинчилик билан амалга оширилади [1,3].

1. 3. Полисахаридларни ажратиб олиш ва уларнинг тузилишини аниқлаш усуллари

Полисахаридлар ўсимликлардан ёки бошқа манбалардан турли усулларда ажратиб олинади. Полисахаридлар манбалардан бир хил усулда ажратиб олинганда ҳам турли хил натижалар олинади. Бунга сабаб шу кунгача уларни ажратиб олишнинг аниқ белгиланган қонун қоидаларга асосланган усули ишлаб чиқилмаганлигидадир. Шунингдек ажратиб олиш давомида ҳар сафар қўшимчалар йўқолиши ва деструкция жараёнининг турлича бориши ҳам натижаларнинг турлича бўлишига олиб келади.

Экстракция деярли барча ажратиб олиш усулларининг бошланғич босқичи бўлиб хизмат қилади. Экстракция натижасида барча экстракция қилинаётган эритувчида эрийдиган полисахаридлар ва турли қўшимчалар ажралиб чиқади [1, 3].

Экстракциянинг оддий варианты бу - эритувчиларни танлаб полисахаридларни ажратиб олишдир. Масалан: совуқ сувда гликопротеинлар, баъзи бактериал полисахаридлар эрийди. Сувни қиздириш ёки унинг рН ни ўзгартириш орқали эрувчанликни ошириш мумкин. Кўплаб полисахаридлар таркибида кислота гурухлари мавжуд (сульфоланган полисахаридлар) бўлиб, улар табиатда туз ҳолида учрайди. Шунинг учун бундай полисахаридлар суюлтирилган минерал кислоталар эритмаларида яхши эрийди [4, 5]. Бошқа турдаги полисахаридлар эса ишқорда яхши эрийди. Масалан: гемицеллюлозалар сувда эримади, бироқ КОН суюлтирилган эритмасида яхши эрийди. Шунинг учун уларни экстракция қилишда асосан 5% КОН эритмасидан фойдаланилади [6]. Баъзан экстракцияда тузларнинг эритмаларидан ҳам фойдаланилади. Масалан: литий тиоцианат, баъзи комплекс бирикмалар (бор кислота тузлари).

Шунингдек, алоҳида полисахаридларни ажратиб олиш учун турли эритувчилар (ДМСО, ДМФА ва сувли спирт) ишлатилади. Бундай эритувчилар ёрдамида молекуляр массаси кичик бўлган ва қутблилиги юқори бўлмаган полисахаридлар экстракция қилиб ажратиб олинади [4].

Экстракция усулининг асосий камчилиги шундан иборатки, унинг натижасида баъзи қутбли кичик молекулали моддалар (ноорганик тузлар, гликозидлар, оксиллар, нуклеин кислоталар) ҳам аралаш ҳолда ажралиб чиқади ва уларни тозалаш талаб қилинади.

Чўктириш. Баъзи полисахаридлар қайноқ сувда совуқ сувга нисбатан яхши эрийди ва ажралади. Уларни тозалаш учун қайта чўктириб олинади [7].

Сувга турли органик эритувчиларни қўшиб полисахаридларни чўктириб олиш мумкин. Масалан: 82% C_2H_5OH эритмасида биологик объектдан полисахаридларни экстракция қилишда аралашиб чиққан кичик молекулали бирикмалар ва олигосахаридлар яхши эриб, полисахаридлар эса чўкмага тушади. Чўктирувчи сифатида метанол, ацетон, сирка кислотаси ва бошқаларни ҳам қўллаш мумкин [4].

Оддий чўктириш ёрдамида полисахарид аралашмаларини ажратиб бўлмайди. Уларни бир-биридан ажратиш учун фракциялаб чўктириш усули қўлланилади. Бу усулда эритма таркибидаги полисахаридлар турли концентрациядаги чўктирувчи эритувчилар ёрдамида чўктирилиб бир-биридан ажратилади. Бу усул билан индивидуал полисахаридни аралашма таркибидан ажратиш мумкин [8].

Кислотали полисахаридларни нейтрал турларидан ажратиш учун уларни эримайдиган туз ҳолига ўтказиш керак. Альгин ва пектин кислоталар одатда Ca ва Na ли туз ҳолида чўктирилади [4]. Шунингдек, экстракция қилиб олинган полисахаридларни комплекс бирикма ҳолига ўтказиб ҳам чўктириш мумкин. Масалан: амилоза бир қатор органик моддалар (спиртлар, органик кислоталар, нитробирикмалар, кетонлар, мураккаб эфирлар ва феноллар) билан эримайдиган комплекс бирикмалар ҳосил қилади. n -Бутанол ёрдамида крахмални амилоза ва амилопектинга ажратиш усули қўлланилади. Полисахаридларни ҳосилаларидан ҳам фракциялаб чўктириш орқали ажратилади. Бунда эритувчилар сифатида ацетон, хлороформ, чўктирувчилар сифатида эса эфирлар ва петролей эфир қўлланилади.

Диализ, ультрафилтрлаш. Ферментатив тозалаш. Турли усулларда чўктириб олинган полисахаридлар таркиби тоза бўлмайди. Улар таркибида кичик молекулали моддалар (асосан ноорганик тузлар), баъзи оксиллар бўлади.

Кичик молекулали кўшимчалардан полисахаридларни ажратиш учун диализ қўлланилади. Унда ярим ўтказувчан мембраналардан одатда целлофандан фойдаланилади. Полисахарид эритмаси целлофанга солиниб оқар сувда диализ қилинади. Кичик молекулали моддалар целлофан орқали осонлик билан сувга ўтиб кетади. Диализ тезлиги эритма аралаштириб турилганда, сув тез-тез алмаштирилганда ортади. Эритма таркибидаги электролитларни йўқотишда яна электродиализ усули ҳам қўлланилади. Бунда ионларнинг диффузия тезлиги электр майдони таъсирида ортади.

Ярим ўтказувчан мембрана орқали ультрафилтрлаш ва филтрлаш ёрдамида эритма таркибидаги кичик молекулали моддалардан полисахаридларни тозалаш мумкин. Бу усулларда эритма тозаланиш билан бирга концентрланади.

Диализ, филтрлаш ва ультрафилтраш усуллари ёрдамида полисахаридларни юқори молекулали моддалардан тозалаб бўлмайди. Юқори молекулали моддаларни турли ферментлар ёрдамида парчалаб ажратиб олиш мумкин.

Шунингдек, полисахаридларни ажратиб олиш учун юқоридаги усуллардан ташқари яна хроматографик ва электрофорез каби усуллар ҳам мавжуд [4].

Полисахаридлар молекуласи таркибида ҳар бир моносахарид бир-бири билан гликозид боғи ҳосил қилиб боғланган бўлади. Ўз навбатида ҳар бир моносахарид бир ёки бир неча моносахарид қолдиқлари билан боғланган бўлади. Бу эса полисахариднинг шаклини белгилайди. Агар моносахарид битта қолдиқ билан боғланган бўлса, бу молекула шохланмаган бўлиб, чизикли тузилишни ҳосил қилади. Макромолекула бошидаги ва охиридаги моносахаридлар ўзаро боғланган бўлса, у ҳолда ҳалқасимон тузилиш ҳосил бўлади. Бундан ташқари яна турли даражада шохланган тузилишлар ҳам мавжуд.

Турли шакллардаги полисахаридларнинг тузилишини аниқлаш улар таркибидаги моносахаридларни идентификация қилиш билан бошланади. Кейинги босқичда эса ҳар бир моносахариднинг ўринбосарлар билан ҳосил қилган боғлари сони ва ўрни аниқланади.

Полисахарид тузилишини аниқлашнинг асосий усуллари макромолекулани фрагментларга ажратиш бўлиб, олинган фрагментларни ўрганиш орқали дастлабки макромолекулани тузилишини аниқлаш мумкин.

Ўсимликдаги полисахаридларнинг миқдори ва уларнинг моносахарид таркиби ўсимликнинг ривожланиш даврига, тупроқ ва иқлим шароитига боғлиқлиги борасида анча илмий изланишлар олиб борилган [9]. Ҳаттоки ўсимликнинг турли органлари: илдизи, барги, пояси, меваси ва уруғида турлича полисахаридлар турли миқдорда жойлашган бўлиши мумкин [10].

Aconitum zeravschanicum ўсимлигининг ўсиш динамикаси унинг таркибида учрайдиган полисахаридларнинг миқдorigа боғлиқлиги ўрганилган [11]. Ўсиш динамикаси 6 та гуруҳга бўлинган ҳолда, ҳар бир вегетация даврида СЭПС лар ва ПМ ларнинг миқдорлари ўзгаришлари ўрганиб чиқилган (1-жадвал). Жадвалдан кўриниб турибдики, ўсимлик ўсишининг барг очилиш даврида СЭПС лар миқдори энг кўп 8.3% ни ташкил қилса, ПМ лар миқдори 5.7% ташкил этиб, у ўсимликнинг гуллаш даврига тўғри келар экан. Полисахаридларнинг моносахарид таркиби кислота билан тўлиқ гидролиз қилиниб, КХ ва ГСХ ўрганилганда СЭПС лар таркибида вегетациянинг барча даврларида глюкоза асосий моносахарид бўлиб, бу эса СЭПС лар кўпроқ глюкан типидagi полимерлар эканлиги исботланган.

*A.zeravschanicum*нинг пектин моддаларининг моносахарид таркиби рамноза, арабиноза, ксилоза, глюкоза ва урон кислоталаридан ташкил топган. ПМ лар таркибидаги урон кислоталар миқдори 32-50% ни ташкил этган. Пектин моддасидаги рамноза ва арабинозанинг максимал миқдори вегетациянинг охириги даврига тўғри келар экан. Титриметрик анализлар

пектин моддасидаги этерификация даражаси 18.8% дан 55% ташкил этса, вегетация даврининг охирига келиб этерификация даражаси 27% ни ташкил этди. О-CH₃ гурухларининг микдори 2.4-5.5% тенг. Демак, алкалоид сакловчи ўсимликлар СЭПС ва ПМ ларнинг олишдаги перспектив хом-ашё хисобланар эканлар.

1-жадвал.

Aconitum zeravschanicum полисахаридларининг унуми ва моносахарид таркибининг ўсимликнинг вегетация даврларига боғлиқлиги

Углеводлар	Вегетация даврлари	Унум %	Моносахарид қолдиқлари нисбати					
			<i>Rha</i>	<i>Ara</i>	<i>Xyl</i>	<i>Man</i>	<i>Glc</i>	<i>Gal</i>
СЭПС-1	вегетация	7.5	Сл	2.0	6.0	1.0	6.5	2.4
ПМ-1	даврининг бошланиши	2.9	1.6	3.4	2.0	-	1,0	-
СЭПС-2	Барг	8.3	1.0	6.3	10.3	1.3	16.5	6.0
ПВ-2	очишиш даври	3.6	1.4	6.2	1.0	-	1.0	-
СЭПС-3	Ғунчалаш	8.0	1.0	3.6	5.2	1.0	10.0	3.3
ПМ-3	даври	4.6	1.1	5.5	1.0	-	1.0	-
СЭПС-4	Гуллаш	7.8	1.0	5.0	2.8	1.0	17.0	3.0
ПМ-4	даври	5.7	4.0	6.7	1.0	-	2.0	-
СЭПС-5	Ҳосил	4.6	1.0	6.7	2.6	1.0	10.0	2.6
ПВ-5	бериш даври	5.2	4.0	7.9	1.0	-	2.0	-
СЭПС-6	Уруғ	2.4	1.0	7.0	2.7	1.0	9.0	2,6
ПВ-6	пишиш даври	5.3	5.6	8.1	1.0	-	2.0	-

A.carmichaelae ва *A. kuznesoffi* ўсимлик пояларидан қайноқ сувда экстракция қилиниб ММ 14000Da бўлган глюкоанлар типдаги полисахаридлар ажратиб олинган [12]. *A. kuznesoffi* ўсимлигини 95° С да 2 N NaOHда экстракция қилиб 6% гача ишқорда эрувчи полисахарид ажратиб олинди [13-14].

Aconitum coreanum ўсимлиги илдизидан сув ёрдамида полисахаридлар ажратиб олиниб, газ хроматографияси ёрдамида ўрганилганда таркиби D-манноза ва D-глюкозадан иборат (1.2:3.5.), ММ $3,2 \times 10^5$ га тенг полисахарид ажратиб олинди. Олинган полисахарид хроматография қилинганда 3 та фракцияга ажралди [15, 16, 17].

Демак, алкалоид сақловчи ўсимликлар сувда эрувчи полисахаридлар, пектин моддалари олиш учун потенциал хом-ашё хисобланади. Улардаги полисахарид унуми, моносахарид таркиби ва физик-кимёвий хоссалари ўсимликнинг вегетация даврига, иқлим шароитига боғлиқ.

1. 4. Углеводларни физик-кимёвий усулларда ўрганиш

1. 4. 1. Углеводларнинг ИҚ-спектрлари

Моносахаридлар ва улар ҳосилаларининг ИҚ-спектроскопиясига бағишланган ишларнинг кўплигига қарамасдан, ушбу усул билан олинган натижалар ҳамон соддалигича қолмоқда. Буни моносахаридлар ИҚ-спектрларининг интерпретациясининг мушкуллиги ва моносахаридларнинг ўзига хослиги билан боғлиқ кўплаб экспериментал қийинчиликлар билан тушунтирилади [18].

Қандлар кимёсида органик кимёнинг бошқа қисмларида бўлгани каби ИҚ-спектроскопиядан аввало бирикмаларнинг функционал гуруҳлари характеристикаси ва уларнинг қай ҳолатда жойлашганини ўрганишда фойдаланилади. Бундан ташқари ИҚ-спектр ёрдамида баъзан моносахарид молекуласининг баъзи структуралари ва стереокимёси ҳақида маълумот

олиш мумкин. Ниҳоят, ИҚ-спектроскопия икки намунанинг мутаносиблиги ёки номутаносиблигини белгилашда қўлланилади.

Моносахаридлар, ИҚ-спектроскопияда қўлланадиган эритувчилар (CCl_4 , CHCl_3 , CS_2) да эрмаганлиги сабабли эритувчи сифатида сувнинг қўлланилиши махсус мураккаб техникани талаб этади.

Моносахаридлар ва уларнинг ҳосилалари спектрларини олишда одатда вазелин мойи ёки таблеткада (намуна билан KBr дан ташкил топган) олиб борилади. Бу усулларнинг ҳар бири принципиал камчиликлардан ҳоли эмас. Уларнинг қўлланиши баъзи техник қийинчиликлар билан боғлиқ. Моносахаридларнинг аморф ва кристалл ҳолатда олинган ИҚ-спектрлари бир-биридан (20 см^{-1}) фарқ қилиши ҳам аниқланган. ИҚ-спектроскопия углеводлар тузилишини аниқлашда муҳим маълумотлар берганлиги билан бу усулни қўллаш чегараланган.

М.П.Филиппов полисахарид намуналаридан эмас, балки ўсимлик намуналарини ИҚ-спектрини ўрганиб унда қандай функционал гуруҳлар сақланишини айтиш имкониятларини очиб берди. *Gleditsia macracantha* уруғи пўстлоғининг ИҚ-спектрлари олиниб, уларни ушбу ўсимликдан олинган полисахарид билан солиштириб ўрганилганда полисахаридлар таркибидаги гуруҳлар турли соҳаларда ютилишлар бериши кўрсатиб берилди. Спектрда $1200\text{-}1500 \text{ см}^{-1}$ соҳаларда полисахаридлар таркибидаги C=O , C=C , C=C гуруҳларнинг деформацион тебранишлари кузатилади. Шунингдек, функционал гуруҳлар - гидроксил, карбоксил, мураккаб эфир, ацетиллар ҳам шу соҳаларда намоён бўлади [19-20].

Бу функционал гуруҳларнинг турли ҳолатда жойлашиши уларнинг ИҚ-спектрда ютилиш соҳаларини ўзгартиради:

Карбоксил гуруҳ – COOH мураккаб тебраниши:

1250 см^{-1} – C_6OH , CO , OC , C=O

1399 см^{-1} – C_6OH , CO , CC=O , OC

1740 см^{-1} – $\text{C}_6=\text{O}$, CO , CONH .

Мураккаб эфир гурухи – COOCH_3

1225 см^{-1} - $\delta(\text{COC})_{\text{E}+}$ $\nu(\text{CO})_{\text{E}}$

1375 см^{-1} - $\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)_{\text{E}}$

1460 см^{-1} - $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)_{\text{E}}$

1735 см^{-1} - $\nu(\text{CO})_{\text{E}}$

Ацетил гурухи – OCOCH_3

1240 см^{-1} $\nu(\text{CC},\text{CO})_{\text{a}+}$ $\delta(\text{OCO},\text{CCO})_{\text{a}}$

1735 см^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{a}}$.

Ионланган карбоксил гурухи – COO^- карбоксил гурух водородиметалл катионига алмашган:

1430 см^{-1} - $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$

1620 см^{-1} - $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$

1630 см^{-1} соҳада сувнинг кучсиз деформацион $\delta(\text{HOH})$ тебраниши намоён бўлади.

Оқсиллар таркибидаги пептид боғи:

1560 см^{-1} $\delta(\text{NH})+(\text{CN})$ – Амид II (А II)

1650 см^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})+\nu(\text{CN})+\nu(\text{NH})$ - Амид I (А I)

1.5. Тўлиқ кислотали гидролиз

Углеводларнинг моносахарид таркибини аниқлаш учун улар тўлиқ гидролиз қилинади. Гидролизни амалга оширишда минерал кислоталар ва тузлар эритмаларидан фойдаланиш мумкин. Бунда ҳосил бўлган гидролизатлар сифат моносахарид таркиблари ҚХда, моносахариднинг микдорий таркиблари ГСХ да ацетоальдонитрил, триметилсилил ҳосилалари ёки полиоллар ҳолида аниқланади.

Ҳозирда полисахаридларнинг моносахарид таркиблари юқори самарали юпқа қатлам хроматография (ЮСЮҚХ) ва юқори самарали суюқлик хроматографиясида (ЮССХ) тўғридан-тўғри полисахарид

гидролизатини ҳам сифат ҳам миқдор жиҳатдан турли системаларда кўриб аниқлаш мумкин [21].

1. 6. Углеводларнинг биологик фаоллиги

Полисахаридлар фақат назарий томондан эмас, балки амалий томондан ҳам катта қизиқиш уйғотади. Улар юқори ва турли хил физиологик фаолликка эга. Полисахаридлар эмульгатор, дисперс системаларда стабилизатор, бинар бирикмаларда гель ҳосил қилувчи сифатида қўлланилади. Тиббиётда эса капсулалар тайёрлашда, баъзи доривор препаратларнинг таъсирини узайтиришда (пролонгик хусусият) ва доривор препаратларнинг иммобилизациясида матрица сифатида ҳам қўлланилмоқда.

Баъзи бир мисолларни келтирадиган бўлсак, *Aconitum coreanum* ўсимлиги илдизидан ММ $3,2 \cdot 10^5$, D-манноза ва D-глюкоза (1.2:3.5.) дан таркиб топган сувда эрувчи полисахаридининг фармакологик хусусиятлари ўрганилганда улар антиоксидантлик ва экспериментал сичқонларда саратон касаллигини келтириб чиқарувчи H22 моделда *in vitro* ва *in vivo* кўриб чиқилиб, уларда цитотоксик хусусиятларини намоён этиши кўрсатиб берилди [15-17].

Aconitum carmichaeli поясининг ишқорда экстракция қилиб олинган полисахаридлари эса иммуностимуляторлик хоссасига эга эканлиги олимлар томонидан исботлаб берилди [12].

Полисахаридларнинг биологик фаоллиги ва уларнинг турли саноат соҳаларида қўлланиши борасида илмий изланишлар олиб борилсада, хали полисахаридлар структурасининг биологик фаолликка боғлиқлигини кўрсатиб берувчи омиллар тўлиқ ўрганилмаган.

II БОБ

ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ТАХЛИЛИ

2.1. *Aconitum leucostomum* углеводлари

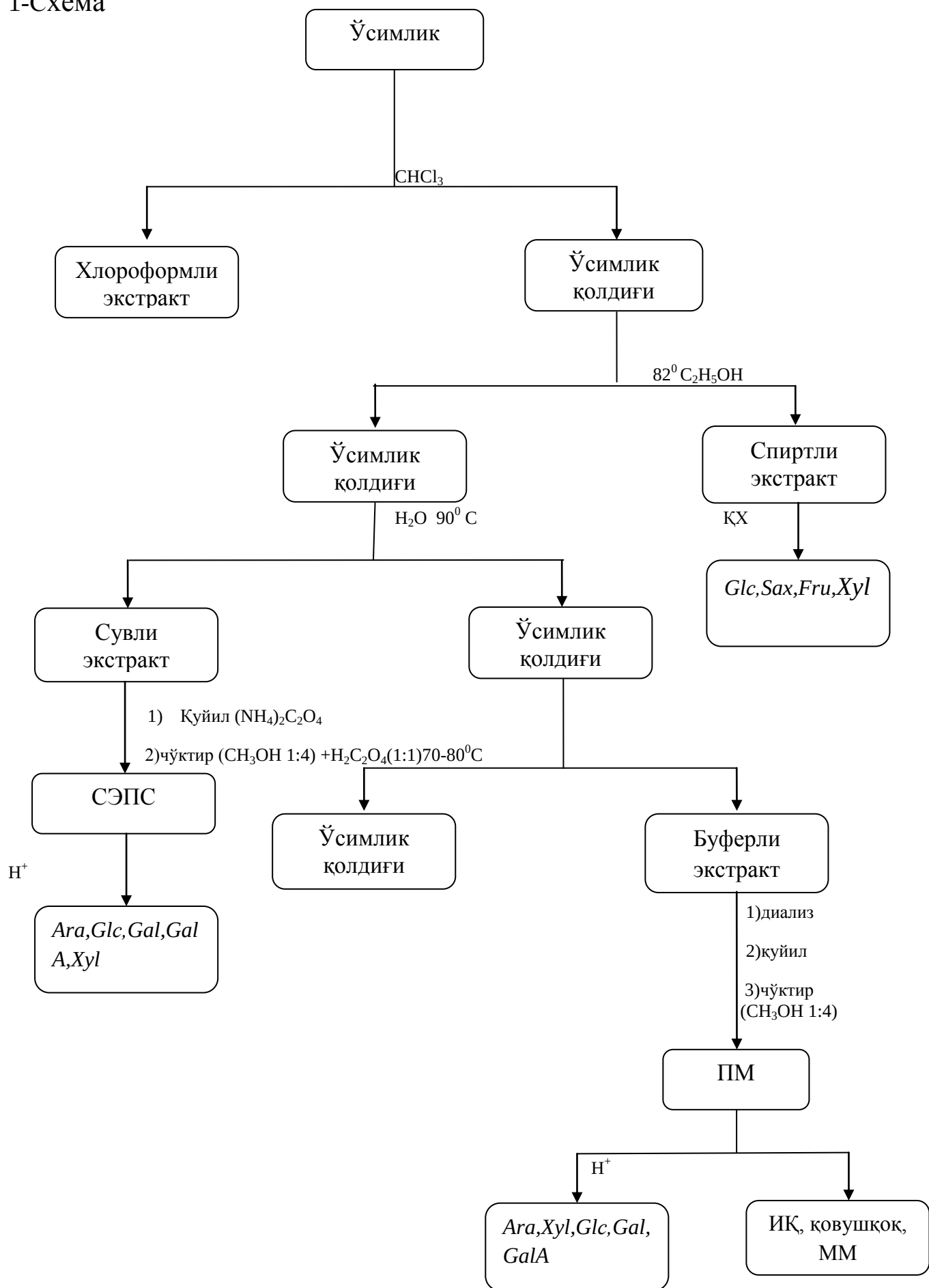
Ўзбекистон флораси ўсимликларга жуда бой бўлиб, унда турли синф полисахаридлар ҳар хил кўринишда жойлашган.

Ушбу илмий изланишлар алкалоид сақловчи *Ranunculaceae* оиласига мансуб *Aconitum leucostomum* ўсимлигининг ер остки қисмидаги углеводларини ўрганишга бағишланган бўлиб, у ўз ичига қуйида келтирилган вазифаларни олади:

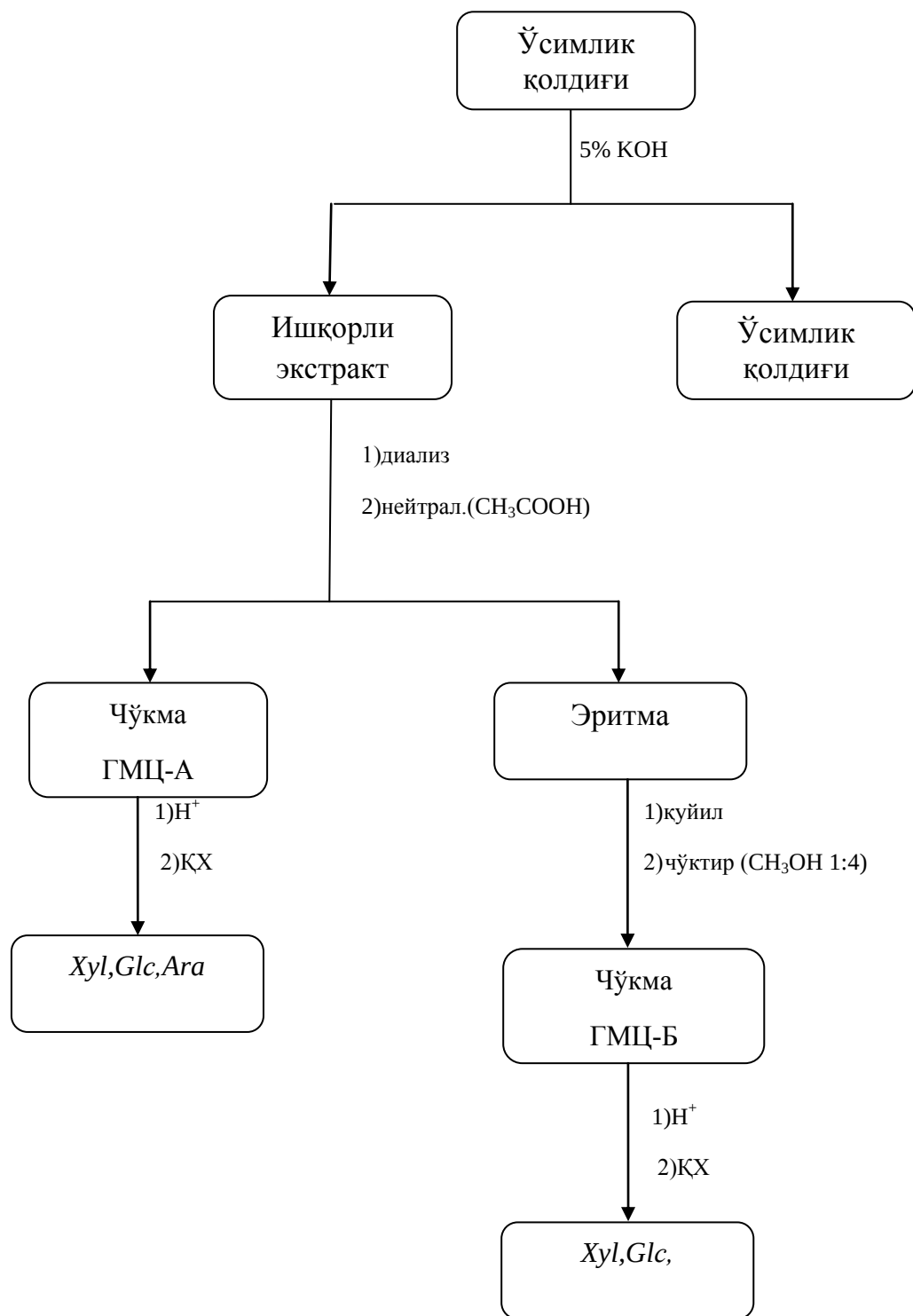
- *A. Leucostomum* ўсимлигидаги сувда эрувчан полисахаридлар, пектин моддалари ва гемицеллюлозаларни ажратиб олиш;
- уларнинг моносахарид таркибларини аниқлаш;
- хоссаларини кимёвий ва спектрал усулларда ўрганиш.

Биз ўрганишимиз керак бўлган *Aconitum leucostomum* ўсимлиги 2013 йил Олтой тоғларидан гуллаш фазасида териб келтирилган. Ўсимликдаги углеводларни қуйида келтирилган 1-схема асосида кетма-кетликда ажратиб олинди. Бунинг учун ҳавода қуритилиб майдаланган ўсимликни аввал қуйи молекулали моддалардан қутилиш учун хлороформда, сўнг 82% этил спиртда экстракция қилиб олинди. Спиртли экстракт (СЭ) қуюлтирилиб, унинг таркибини қоғоз хроматографиясида (ҚХ) кўрганимизда, СЭ глюкоза (Glc) моносахариди, сахароза ва фруктозадан таркиб топганлиги аниқланди. Қуйи молекулали моддаларни ажратиб олгач, ўсимлик қолдиғи 1-схемада кўрсатилгандек кетма-кетликда иссиқ сувда эрувчи полисахаридлар (СЭПС), 0.25%-ли оксалат кислотаси ва аммоний оксалат эритмаларининг 1:1 нисбатдаги эритмасида, пектин моддалари (ПМ) ва гемицеллюлозалар 5%-ли ишқор эритмасида экстракция қилинди.

1-Схема



1-схема давоми



Полисахаридларнинг унуми ва моносахарид таркиблари 2-жадвалда келтирилган. Натижалар шуни кўрсатдики, *A.leucostomum* ўсимлигида полисахаридлар унуми турлича тақсимланган бўлиб, уларнинг унуми 2.4 - 4.7% ни ташкил этади, бунда гемицеллюлозаларнинг унуми энг кўп 7% ташкил этди [22].

2-жадвал

A.leucostomum полисахаридларининг унуми ва моносахарид таркиблари

№	Полисахарид тури	Унуми, %	Моносахарид таркиби, ГСХ						
			<i>Rha</i>	<i>Ara</i>	<i>Xyl</i>	<i>Glc</i>	<i>Man</i>	<i>Gal</i>	$\eta_{\text{сол}}$
1.	СЭПС	2,64	—	1.0	из	4.9	—	1.8	1,34
2.	ПМ	2,88	—	3.5	1.9	6.0	-	1.0	3,46
3.	ГМЦ-А	4,74	—	из	1.0	10.0	—	-	2,34
4.	ГМЦ-Б	2,35	—	—	1.0	8.0	—	-	1,4

Барча ажратиб олинган полисахаридларнинг моносахарид таркибларини аниқлаш мақсадида уларни минерал кислота билан тўлиқ гидролизга учратилди. Моносахаридларнинг сифат таркиби коғоз хроматографиясида (ҚХ) моносахариднинг микдорий таркиблари ацетат альдононитрил ҳосилалари кўринишида газ-суюқлик хроматографиясида аниқланди (ГСХ) (2-жадвал). Олинган натижалар шуни кўрсатдики, барча полисахаридларнинг таркибида глюкоза асосий моносахарид ҳисобланади. Урон кислоталари ҚХ да идентификация қилинди, натижалар ГМЦ-Бдан фарқли, барча полисахаридларда галактурон кислотаси борлигини кўрсатди.

Ҳар бир экстракция қилиб ажратиб олинган полисахаридларнинг кимёвий изланишлари бўйича олинган натижалар қуйида алоҳида бўлимларда келтирилган.

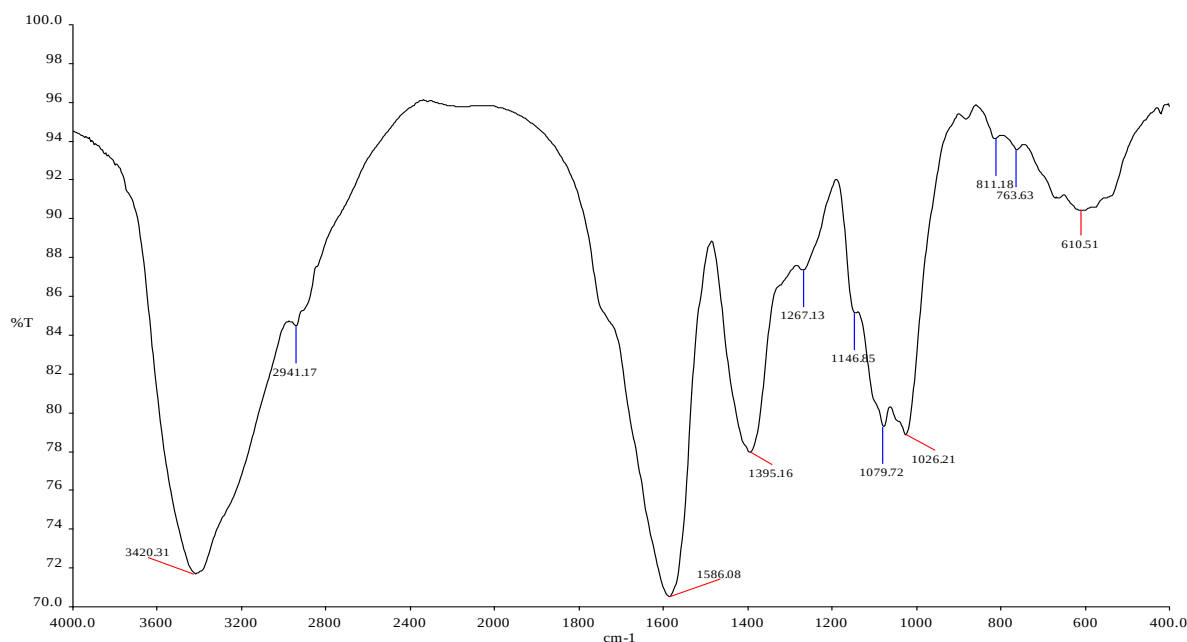
2.2. А. *Leucostomum*нинг сувда эрувчан полисахаридлари

Ўсимликдан қуйи молекулали моддалар ажратиб олингандан сўнг қолган ўсимликни 1-схема бўйича экстракция қилинди. Ўсимликни иссиқ сувда 90°C температурада экстракция қилиниб, унуми 2.64 % га тенг СЭПС ажратиб олинди [22].

Сувда эрувчи полисахарид (СЭПС) солиштира ковушоклиги юқори бўлмаган ($\eta_{\text{сол}}=1,34$) тўқ жигар ранг аморф кукун модда. Полисахариднинг моносахарид таркиби тўлиқ кислотали гидролиз усулида аниқланиб, ҚХ ва ГСХ (ацетат альдонитрил ҳосиласи кўринишида) арабиноза (Ara), глюкоза (Glc), галактоза (Gal), галактурон кислотасидан (GalUA) иборат эканлиги аниқланди (2-жадвал). Жадвалдан кўриниб турибдики, СЭПС таркибини асосан глюкоза ва галактоза моносахаридлари ташкил этар экан, бунда Glc:Gal нисбати 2.7:1 тенг. Шунинг ҳам айтиш жоизки, СЭПС гидролизатида GalUA нинг бўлиши уни нордон полисахаридлар таркибига киришини кўрсатади.

СЭПС таркибида урон кислотасининг борлиги яна бир бор ИҚ-спектроскопия орқали ҳам тасдиқ топди. Унинг ИҚ-спектри ўрганиб чиқилганда қуйидаги ютилишлар кузатилди: спектрда интенсивлиги юқори бўлган $3420,31\text{см}^{-1}$ соҳа бўлиб гидроксил (ОН) гурухига, $2941,17\text{см}^{-1}$ эса водород боғланишли ОН⁺ гурухига хос эканлиги аниқланди (1-расм). Спектрдаги $1586,08\text{см}^{-1}$ ва $1395,1\text{см}^{-1}$ ютилиш соҳалари етарли даражада ионланган –COOH гурухларнинг тебранишини кўрсатади. –C-O-C- гурухларнинг валент тебранишлари $1267,13\text{см}^{-1}$ соҳада кам интенсивликдаги ютилишни беради. Полисахарид таркибидаги этерификацияланган –COOH гурухлар $1146,85\text{см}^{-1}$ соҳада кам интенсивликдаги ютилишни берди. 1079-

1026 cm^{-1} соҳадаги ютилишлар C-O, C-C, C-OH, CH_2 - гуруҳларга, 890 cm^{-1} (пираноза халқаси) хос бўлган ютилишлардир [20].



1-расм *A. Leucostomum* СЭПС нинг ИҚ-спектри

СЭПС таркибида икки турдаги α - ва β -гликозид боғлари 811,18 cm^{-1} ва 763,63 cm^{-1} соҳалардаги ютилишларни берди [18].

Шундай қилиб, СЭПС *A. leucostomum*нинг тўлиқ гидролиз натижалари ва ИҚ-спектр анализ таҳлиллари ушбу полимер гетероген полисахарид эканлиги ва моносахарид таркибига кўра галактоглоукоуронандан иборат эканлиги тахмин килинди.

2.3. *A. Leucostomum*нинг пектин моддалари

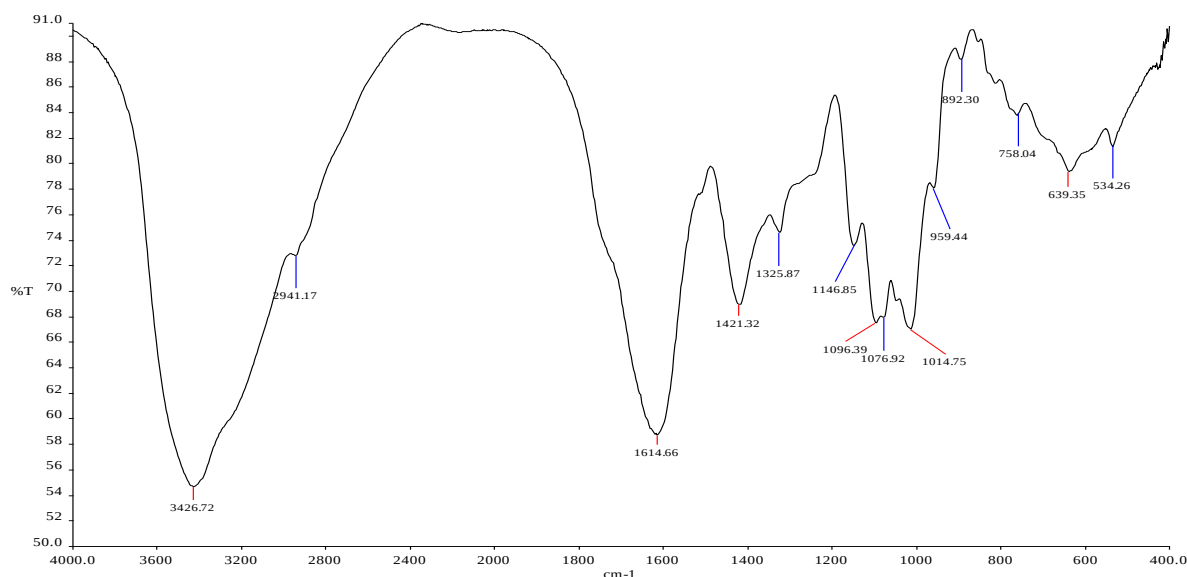
Пектин моддалар – деб полиуронид полисахаридларга айтилди. Бундай бирикмалар ўсимликларнинг барча турларида, сув ўтларида ҳам учрайди. Пектин моддаларнинг эрийдиган ва эримайдиган турлари мавжуд бўлиб эримайдиган турлари протопектин деб аталади. Протопектинлар ўсимлик хужайра оралиғи моддаларининг асосий қисмини ташкил қилади, шунингдек ёш ўсимликларнинг хужайра деворини ҳам ташкил қилади. Эрувчан пектин моддалар ўсимлик шираси таркибида бўлади. Протопектинларни эрувчан ҳолатга ўтказиш учун ўсимлик суюлтирилган кислота билан қайта ишланиши

керак. Баъзан бу иш аммоний оксалат эритмасида амалга оширилади. Ҳосил бўлган полисахарид спирт ёрдамида чўктирилади. Пектин моддаларнинг асосий моносакхарид таркиби D-галактурон кислотадир. Шунингдек, одатда пектин моддалар таркибида оз миқдорда L-арабиноза ва D-галактозалар учрайди, яна L-рамноза, D-ксилоза, L-фукоза ва бошқалар ҳам учрайди.

Биз пектин моддасини *A.leucostomum* ўсимлигидан СЭПС ажратиб олингандан сўнг қолган хом-ашёни $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ва $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ аралашмасининг 1:1 нисбатида температура остида экстракция қилиб, метанолда чўктириш натижасида жигар ранг аморф, сувда тўлик эрийдиган кукун пектин моддаси (ПМ) ажратиб олдик. ПМ сувдаги эритмасининг солиштира қовушқоқлиги юқори бўлмаган ($\eta_{\text{сол}}=3.5$), молекулярмассаси 11200 Da тенг полисахарид.

Адабиётлар шарҳидан маълумки, пектин моддаларининг асосий занжири урон кислоталаридан иборат бўлиб, нейтрал моносакхаридлар уларнинг ён занжирларини ташкил этади. *A.leucostomum* ПМ гетерополисахарид бўлиб, унинг моносакхарид таркиби *Ara*, *Xyl*, *Glc*, *Gal* ва *Gal UA* дан иборат (2-жадвал).

ПМ нинг ИҚ-спектрида уларга хос бўлган ютилишлар кузатилди: 639.35 см^{-1} ; 758.04 см^{-1} ; 892.30 см^{-1} ; 959.44 см^{-1} ; 1014.75 см^{-1} ; 1076.92 см^{-1} ; 1096.9 см^{-1} ; 1146.85 см^{-1} ; 1325.87 см^{-1} ; 1421.32 см^{-1} ; 1614.66 см^{-1} ; 3426.72 см^{-1} [19].



2-расм. *A. Leucostomum* ПМ нинг ИҚ-спектри

Спектрдаги интенсивлиги кам 815 , 870 ва 89.32 см^{-1} соҳадаги триплет ютилиш соҳалари ПМ таркибидаги галактурон кислотасининг $\alpha\text{-}1\rightarrow 4$ боғи билан боғланганлигини кўрсатади.

Пектин моддалар таркибидаги урон кислоталар метил спирт билан этерификацияланганлиги адабиётлардан маълум. Этерификация даражасига (λ) қараб уларни юқори ва паст этерификацияланган пектинларга ажратилади.

Этерификация даражаси 50% дан юқори бўлган пектин моддалари юқори этерификацияланган, ундан кам фоизга эга бўлганлари паст этерификацияланган пектинларга киради.

Aconitum leucostomum ПМ нинг этерификация даражасини титрлаш усули [23] ёрдамида аниқланиб, пектин полисахаридининг $\lambda=76,92\%$ тенг эканлиги аниқланди (3-жадвал). Демак, *A.leucostomum* пектин моддаси юқори этерификацияланган пектиндир.

*A.leucostomum*нинг пектин моддасининг титриметрик анализ натижалари

$K_c, \%$	$K_3, \%$	$K_y, \%$	$\lambda, \%$	ММ (Да)
1.08	3.6	4.68	76.9	11200

Эслатма: K_c -этерификацияланмаган карбоксил гурухи; K_3 - этерификацияланган карбоксил ($-\text{COOH}$) гурухлари; K_y - умумий карбоксил гурухлар; λ - этирификация даражаси

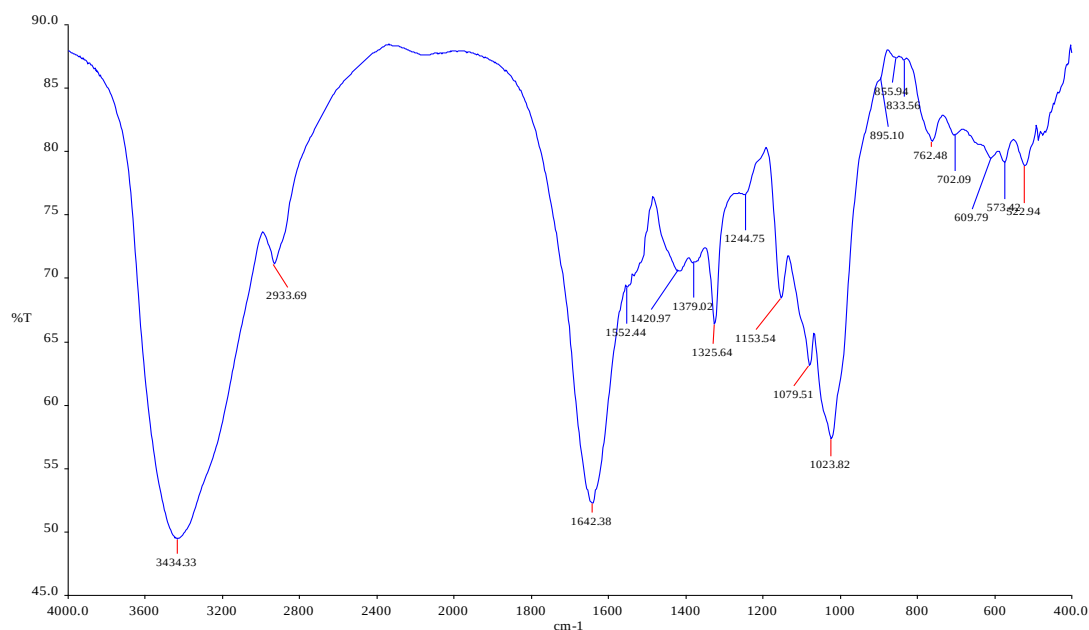
2.4. *A. Leucostomum*нинг гемицеллюлозалари

Гемицеллюлозалар- ўсимлик ҳужайра деворини ҳосил қилувчи полисахаридлар йиғиндисига айтилади. Уларни ишқорнинг сувли эритмаси ёрдамида экстракция қилиш орқали ажратиб олиш мумкин. Гемицеллюлоза полисахаридларнинг мураккаб аралашмаси бўлиб, бу полисахаридлар бир турдаги ўсимликнинг турли тўқималарида ҳосил бўлгандир. Кимёвий жиҳатдан бу полисахаридлар аралашмаси нейтрал ёки кислотали хоссани намоён қилади. Гемицеллюлозаларнинг асосий моносахарид таркиби уч турдаги моносахаридлардан ташкил топган. Булар: ксиланлар, глюкоманнанлар ва галактанлар. Гемицеллюлозалар МО 30000 бўлган гетерополисахаридлардир. Гемицеллюлоза пентозалар: D-ксилоза, D-арбиноза, ҳамда гексозалар: D-галактоза, D-манноза, D-глюкозалардан тузилган ва улар гидролизда парчаланадилар, аммо одам организмида ҳазм бўлмайдилар [6].

A. Leucostomum ўсимлиги қолдигидан гемицеллюлозаларни ПМ ажратиб олингандан сўнг (1-схема) ишқор эритмаси билан хона хароратида экстракция қилиб олинди. Ишқорий экстракт CH_3COOH билан нейтралланди ва диализга қўйилди. Натижада массалари 4,74% ГМЦ-А ва 2,36% ГМЦ-Б ажратиб олинди [22].

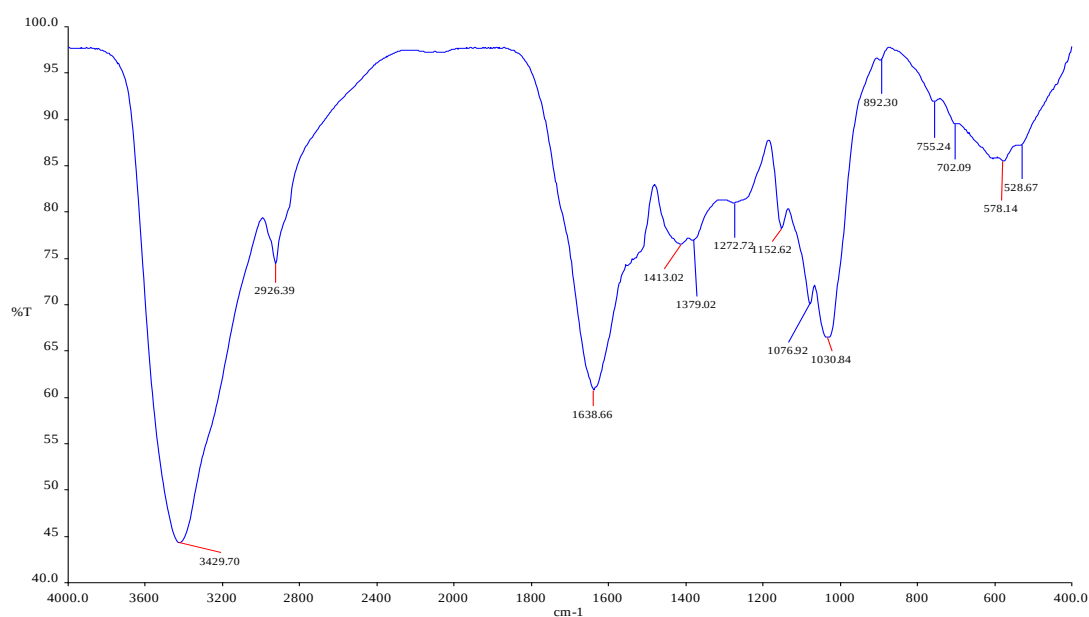
Гемицеллюлоза-А – кўнғир рангли аморф гетероген модда бўлиб, сувда тўлиқ эримайди, суюлтирилган ишқор эритмасида жуда яхши эрийди. Ўсимликдан ажралиб чиқиш вақти 1,5-2 соат. Унинг солиштира ковушоқлиги $\eta = 2,34$ га тенг. Моносахарид таркиби асосан ксилоза, глюкоза, урон кислотасидан ташкил топган. ИҚ-спектрда $3434,33\text{ см}^{-1}$ (ОН-гурухи), $1244,75\text{ см}^{-1}$ (О-CH₃ гурухи) ва $1642,38\text{ см}^{-1}$ (COOH), $895,10\text{ см}^{-1}$ (пираноз халка), $762,48\text{ см}^{-1}$ (α -гликозид боғи) ва бошқа деформацион ва валент тебранишларининг ютилиш соҳаларини кузатиш мумкин (3-расм).

Гемицеллюлоза-Б – солиштира ковушоқлиги 1,4 га тенг кўнғир рангли аморф кукун бўлиб, суюлтирилган ишқор эритмасида эрийди. ГМЦ-А спектридан фарқли улароқ, ГМЦ-Б ИҚ-спектрида галактурон кислоталар учун характерли бўлган триплет $815, 870$ ва 890 см^{-1} ютилиш соҳаларининг йўқлиги (4-расм) ГМЦ-Б нейтрал полисахарид эканлигини кўрсатди.



3-расм. *A. Leucostomum* ГМЦ-А ИҚ-спектри

Шуни ҳам айтиб ўтиш керакки, ҳар иккала гемицеллюлозаларнинг гидролизатлари таркибида глюкоза доминант моносахарид ҳисобланиб, улар глюкан типигаги полисахаридлар эканлиги тахмин қилинди. ГМЦ-А ва ГМЦ-Бнинг эритмаларининг йод эритмаси билан реакцияга киришмаслиги уларнинг крахмал типигаги полисахаридлар эмаслигини исботлади.



4-расм. *A. Leucostomum* ГМЦ-Б ИҚ-спектри

Демак, *A. leucostomum* гемицеллюлозалари гетероген полисахарид бўлиб, улар бир-биридан моносахаридларнинг (Xyl:Glc) нисбатлари ва галактурон кислотасининг қатнашиши билан фарқ қилади. Моносахарид таркибига кўра ГМЦ-Б глюканлар типига кирадилар.

III БОБ

ТАЖРИБА ҚИСМИ

Углеводлар моносахаридлар таркибини аниқлашда қоғоз хроматографияси *Filtrak-FN 18* қоғозда олиб борилди. Система: н-бутанол-пиридин-сув (6:4:3); очувчилар: 1) 5% ли мочевино эритмаси, 2) анилин-фталат кислоталар эритмаси.

ИК-спектр *KBr* тузида таблетка кўринишида *Perkin-Elmer-2000* ИК-Фурье спектрометрида олинган.

Газ-суюқликхроматографияси *Chrom-5* хроматограф аппаратида оловли ионланувчан детектор ёрдамида қуйидаги шароитда олинди:

-зангламайдиган пўлатдан ясалган колонка (200x0.3 см), 5%*Silicone* XE-60 хроматон NAW-0,200-0,250 меш, газ-ташувчи-азот, газ тезлиги 60 мл/мин. Полисахарид гидролизатлари ацетаталь дононитрил ҳосилалари кўринишида олинган [24].

Ўсимликни инактивация қилиш

100 г тарозида тортиб олинган *A. Leucostomum* ўсимлигининг ер устки қисми қуйи молекулали моддалардан қутилиш учун икки марта қайноқ CHCl_3 ёрдамида экстракция қилинди (гидромодуль 1:5; 1:4). Бунинг учун тортиб олинган ўсимлик қолбага солинди ва устига 500 мл хлороформ қуйилди. Тайёр бўлган аралашма қайтар совуткич ёрдамида 45 минут давомида қайнатилди. Экстракциядан сўнг ҳосил бўлган аралашмани филтрдан ўтказиб олдик (Бюхнер воронкаси ва Бюнзен қолбаси ёрдамида вакуум ҳосил қилган ҳолда. Бунда филтрлаш тезлиги ортиб филтрлаш вақти камаяди). Қолган ўсимлик қолдиғи яна бир марта хлороформ ёрдамида юқоридаги усул билан 45 минут давомида экстракция қилинди. Лекин бу сафар қуйилган хлороформ миқдори 400 мл ни ташкил қилди. Иккала сафар ҳам олинган экстракт тўкиб юборилди. Олинган ўсимлик қолдиғи қуритилди.

Спиртда эрувчан кандларни ажратиш

Қуритиб олинган ўсимлик қолдиғи 82% C_2H_5OH ёрдамида экстракция қилинди (1:4; 1:4). Бунинг учун ўсимлик қолдиғи колбага солинди ва устига 400мл 82% этанол қуйилди. Аралашма 1 соат давомида қайтар совуткичга уланган ҳолда қайнатилди. 1соатдан кейин аралашма олинди ва филтрдан ўтказилди. Ўсимлик қолдиғи яна бир марта юқоридаги усул билан экстракция қилинди. Бу сафар ҳам 400 мл спирт ишлатилди. Аралашмани филтрдан ўтказиб олинди. 2 та экстракт бир бирига қўшилди ва роторли буғлаткич ёрдамида 15 мл гача қуйилтирилди. Бунда спиртли экстракт ҳосил бўлди. Ҳосил бўлган спиртли экстракт қоғоз хроматографияси ёрдамида ўрганилди.

Сувда эрувчан полисахаридларни ажратиш

Ўсимлик қолдиғи 1 марта 600 мл дистилланган сув билан (90^0C) экстракция қилинди (гидромодуль 1:6). Бунинг учун ўсимлик қолдиғи колбага солиниб устига 600 мл дистилланган сув қуйилди. Олинган аралашма қайтар совуткич ёрдамида 3 соат давомида қайнатилди. Олинган экстракт центрифуга қилинди, сўнгра роторли буғлаткич ёрдамида 15мл гача қуйилтирилди. Қуйилтириб олинган эритмадан полисахаридлар метанол (1:3) ёрдамида чўктирилди. Бунинг учун қуйилтирилган эритма устига 45 мл метанол қуйилди (аралаштириб турган ҳолда). Эритма хона ҳароратида қолдирилди. Бунда чўкма ҳосил бўлди. Олинган чўкма 2 марта метанол ва 2 марта ацетон ёрдамида ювиб қуритиб олинди. Олинган сувда эриган полисахаридлар унуми 2,64 гр.

Пектин моддаларни ажратиш

Ўсимлик 0,25% аммоний оксалат ва оксалат кислоталар аралашмаси (1:1 нисбатда) ёрдамида 2 марта $70-80^0C$ да экстракция қилинди. Бунинг учун сувли экстракциядан сўнг қуритиб олинган қолдиқ колбага солинди. Унинг устига 400 мл аммоний оксалат ва оксалат кислоталар аралашмаси

(1:4) куйилди. Тайёр бўлган аралашма сув ҳаммомида 1 соат давомида экстракция қилинди. Филтрдан ўтказилган қолдиқ 2-марта ҳам юқоридаги усул билан экстракция қилинди. Олинган экстрактларни бирлаштириб дастлаб центрифуга қилинди сўнгра роторли буғлаткичда 40 мл гача куйилтириб олинди. Ҳосил бўлган эритмадан пектин моддалар метанол ёрдамида (1:5) чўктириб олинди. Бунинг учун эритмани стаканга солинди ва устига 200 мл метанол куйилди (аралаштириб турган ҳолда). Эритма хона ҳароратида қолдирилди. Олинган чўкма метанол ва ацетон ёрдамида ювиб куриптиб олинди. Олинган пектин моддалар унуми 2,88 гр.

Гемицеллюлозаларни ажратиш

Пектин моддалар ажратиб олингандан сўнг қолган ўсимлик қолдиғи хона ҳароратида 2 марта КОН эритмаси (1:4, 1:2) билан экстракция қилинди. Бунинг учун ўсимлик қолдиғи колбага солиб устига аввалдан тайёрлаб олинган КОН эритмасидан 400 мл куйилди ва хона ҳароратида 2-3 соат давомида экстракция қилинди. Экстракция тугагандан кейин экстракт ўсимликдан филтрлаб ажратиб олинди. Қолдиқ 2- марта ҳам юқоридаги усул билан экстракция қилинди. Бироқ бу сафар куйилган ишқор эритмаси ҳажми 200 мл ни ташкил қилди. Иккала экстрактлар бирлаштирилди. Олинган экстрактни нейтрал ҳолатга келтириш учун концентрланган сирка кислота эритмасидан аралаштириб турган ҳолда нейтрал ҳолга келгунича куйилди. Эритма нейтрал ҳолга келгандан сўнг уни дастлаб роторли буғлаткич ёрдамида 100 мл гача куйилтириб олинди, сўнгра эритма диализга кўйилди (диализ 2 сутка давомида оддий сувда олиб борилди). Диализга кўйишдан мақсад эритма таркибидаги ионларни эритма таркибидан чиқариб юборишдан иборат. Диализ вақтида эритмада чўкма ҳосил бўлди. Бу чўкма центрифуга ёрдамида эритмадан ажратиб олинди. Бу чўкма Гемицеллюлоза-А бўлиб, уни дастлаб 2 марта метанол билан сўнгра эса ацетон билан ювиб, куриптиб олинди. Ажратиб олинган Гемицеллюлоза-А унуми 4,74 гр.

Гемицеллюлоза-Б. Гемицеллюлоза-А чўктирилгандан сўнг қолган эритмадан метанол (1:4) ёрдамида чўктириб олинди. Олинган чўкма дастлаб метанол билан кейин эса ацетон билан ювиб, қуришиб олинди. Олинган Гемицеллюлоза-Б унуми 2,35гр.

Пектинларнинг этерификация даражасини аниқлаш

1) Пектинлардаги бўш карбоксил (-COOH) гуруҳлар миқдори (K_6) ни аниқлаш учун ювиб тозаланган ва қурилган моддадан 0,25гр тортиб олинди, спирт билан ҳўлланди сўнг 100 мл дистилланган сув қуйилди. Ҳосил бўлган эритма 40°C гача аралаштириб турган ҳолда илитилди. Эритма 2 соат қолдирилди ва 0,1 Н ли ўювчи натрий эритмаси билан фенолфталеин эритмаси оч пушти ранга келгунича титрланди. Этерификацияланмаган карбоксил гуруҳлар миқдори қуйидаги формула билан аниқланди: [23]

$$K_6 = \frac{a}{p}$$

Бу ерда: **a**- титрлашга сарфланган 0,1 N NaOH миқдори (бунда 1 ml NaOH 0,045 gr -COOH гуруҳларни нейтраллашга сарф бўлади)

p- олинган пектин миқдори.

Олинган пектин массаси **p** = 0,25 гр. Титрлашга сарфланган NaOH миқдори, **a**=0,6 мл

$$K_6 = \frac{a}{p} = \frac{0,6}{0,25} \cdot 0,45 = 1,08$$

Демак олинган пектин моддаларнинг этерификацияланмаган карбоксил гуруҳлар миқдори 1,08 га тенг экан.

2) Этерификацияланган карбоксил гуруҳлар (K_6) миқдорини аниқлаш. Бунинг учун этерификацияланмаган карбоксил гуруҳлар миқдори аниқланган эритма устига пипетка ёрдамида 50 мл 0,1 N ўювчи натрий эритмаси қуйилди. Идиш усти ёпиқ ҳолда хона ҳароратида 2 соат давомида

колдирилди. Кейин эритма устига 0,1 N HCl эритмасидан 50 мл қуйилди. Ортиқча HCl миқдори яна 0,1 N NaOH эритмаси билан титрланди. Этирификацияланган карбоксил гуруҳлар миқдори қуйидаги формула ёрдамида аниқланди:

$$K_3 = \frac{B}{P} \cdot 0,45$$

В- иккинчи марта титрлашга сарфланган NaOH миқдори.

Р-олинган пектин миқдори

Олинган пектин массаси =0,25 гр. Иккинчи марта титрлашга сарфланган NaOH миқдори = 2 мл

$$K_3 = \frac{B}{P} \cdot 0,45 = \frac{2}{0,25} \cdot 0,45 = 3,6$$

Демак, олинган пектин модданинг этирификацияланган карбоксил гуруҳлар миқдори 3,6 га тенг. Карбоксил гуруҳларнинг умумий миқдори

$$K_y = K_6 + K_3$$

Бу ерда: K_6 - карбоксил гуруҳларнинг умумий миқдори. K_3 - этирификацияланмаган карбоксил гуруҳлар миқдори. K_6 -этирификацияланган карбоксил гуруҳлар миқдори.

$$K_y = 1,08 + 3,6 = 4,68$$

Этерификация даражаси (λ) қуйидаги формула билан топилади.

$$\lambda = \frac{K_3}{K_y} \cdot 100\% = \frac{3,6}{4,68} \cdot 100\% = 76,92\%$$

Демак олинган пектин моддаларнинг этирификатсия даражаси 76,92% га тенг бўлиб улар юқори этирификацияланган пектин моддалар гуруҳига киради.

Олинган полисахаридларни тўлиқ гидролиз қилиш

Экстракция қилиб қуришиб олинган моддалар (СЭПС, ПМ, ГМЦ-А, ГМЦ-Б) ларнинг ҳар биридан 100 мг дан тортиб олинди. Олинган полисахаридлар аввалдан тайёрлаб қўйилган 4 та ампулаларга солинди. Уларнинг устига 2Н H_2SO_4 эритмасидан солинди. Кейин ампулаларнинг оғзи ёпилди. Тайёр бўлган эритмалар 100°C ҳароратда гидролиз қилинди. Бунда гемиселлюлозалар ва пектин моддалар 24 соат , сувда эрувчан полисахаридлар эса 8 соат давомида гидролиз қилинди. Гидролиз тугагандан сўнг эритмалар стаканларга олинди ва устига BaCO_3 тузидан солинди. BaCO_3 тузи эритмани нейтрал ҳолатга келтириш учун ишлатилди. Эритма нейтрал ҳолатга келгандан сўнг филтрлаб олинди ва устига катионит солинди. Катионит солинган эритма тахминан 5 соат атрофида хона ҳароратида қолдирилди. Бундан мақсад эритма таркибидаги металл ионларини йўқотиш. Қўшилган катионит миқдори тахминан 2 гр атрофида. Катионит олингандан кейин эритма яна филтрланди ва роторли буғлаткич ёрдамида қуйилтирилди. Буғлатиб қуйилтирилган тайёр гидролизатлар қоғоз хроматографиясига қўйилди. Бу хроматография юқоридан пастга тушувчи тури. Система сифатида бутанол-пиридин-сув (6;4;3) аралашмасидан фойдаланилди.

Системадан олинган қоғозга аниқлагич пуркаб 100°C атрофида 3-5 дақиқа давомида қиздирилганда моносахарид доғлари кўринди.

Полисахаридларнинг қовушқоқлигини ўлчаш

Полисахаридлар қовушқоқликлари Оствалд вискозиметри(0,73D) ёрдамида ўлчанди. Бунинг учун ҳар бир полисахариднинг 1% эритмалари олинди. Биз ажратиб олган та полисахаридлардан ПМ ва СЭПС ларни эритишда дистилланган сувдан фойдаланилди. Чунки улар сувда яхши эрийди. ГМЦ-А

ва ГМЦ-Б ларни эса 0,1 N ишқор эритмасида эритилди. Улар сувда эримади. Тайёр бўлган эритмаларнинг навбат билан қовушқоқликлари ўлчанди.

1)Сувда эрувчан полисахаридларни(СЭПС)қовушқоқлигини ўлчаш: дастлаб вискозиметр 20⁰С ли ўрнатилди. Дастлаб солиштириш учун дистилланган сувнинг вискозиметрдан оқиб ўтган вақти ўлчанди. Ўлчаш 2-3 марта давом этади. Олинган натижаларнинг ўртачаси олинди. Сувнинг оқиб ўтиш вақти (ўртача 32 секунд).

Сувнинг оқиб ўтиш вақти ўлчангандан сўнг вискозиметр яхшилаб қуритилди ва яна ўрнатиб унинг ичига СЭПС нинг 1% ли эритмаси қуйилди. Бунда эритма миқдори 10 мл бўлди. Эритма қуйилгандан сўнг уни ичида 10-15 дақиқа давомида қолдирилди. Бунга сабаб вискозиметр ичидаги ҳарорат эритманинг ҳарорати билан тенглашиши учун. 10-15 дақиқадан кейин эритманинг оқиб ўтиш вақти ўлчанди. Ўлчаш 3 марта давом этди. Олинган натижаларнинг ўртача қиймати олинди. Олинган учта натижа бир-бирига жуда яқин бўлди. Ўлчаш натижалари:

$$t_1= 43 \text{ с. } t_2=42 \text{ с. } t_3=43 \text{ с. } t_{0,r}=43 \text{ с.}$$

Полисахариднинг солиштирма қовушқоқлиги ($\eta_{\text{сол}}$) қуйидаги формула билан топилади:

$$\eta_{\text{сол}} = \frac{t_1}{t_0}$$

бу ерда: t_1 - полисахариднинг вискозиметрдан оқиб ўтиш вақти. t_0 = дистилланган сувнинг вискозиметрдан оқиб ўтиш вақти.

$$\eta_{\text{сол}} = \frac{t_1}{t_0} = \frac{43}{32} = 1.3475$$

Демак олинган СЭПС ларнинг қовушқоқлиги унчалик юқори эмас.

2) Пектин моддаларнинг қовушқоқлигини ўлчаш: пектин моддаларнинг қовушқоқлигини ўлчаш ҳам СЭПС ларники каби борди. Дастлаб дистилланган сувнинг оқиб ўтиш вақти ўлчанди ва ўртачаси олинди. Кейин вискозиметр қуритилиб ПМ эритмасининг оқиб ўтиш вақти ўлчанди. Ўлчаш марта давом эттирилди. Ўлчаш натижалари:

$$t_1 = 112 \text{ с. } t_2 = 111 \text{ с. } t_3 = 111 \text{ с. } t_{0,r} = 111 \text{ с.}$$

$$\eta_{\text{сол}} = \frac{t_1}{t_0} = \frac{111}{32} = 3.47$$

3) Гемицеллюлоза-А нинг қовушқоқлигини аниқлаш ҳам СЭПС ва ПМ моддаларники каби олиб борилди: Ўлчаш натижалари:

$$t_1 = 75 \text{ с. } t_2 = 74 \text{ с. } t_3 = 75 \text{ с. } t_{0,r} = 75 \text{ с.}$$

$$\eta_{\text{сол}} = \frac{t_1}{t_0} = \frac{75}{32} = 2.34$$

4) Гемицеллюлоза-Б нинг қовушқоқлиги ҳам юқоридаги усул билан ўлчанди. Ўлчаш натижалари:

$$t_1 = 45 \text{ секунд. } t_2 = 44 \text{ секунд. } t_3 = 45 \text{ секунд. } t_{yp} = 45 \text{ секунд.}$$

$$\eta_{\text{сол}} = \frac{t_1}{t_0} = \frac{45}{32} = 1.4$$

Юқоридаги натижалардан маълум бўладики *Aconitum leucostomum* ўсимлигидан олинган полисахаридларнинг қовушқоқликлари паст.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор *Aconitum leucostomum* ўсимлигининг углеводлар комплекси ўрганилиб, сувда эрувчи полисахаридлар, пектин моддалари ва гемицеллюзалар ажратиб олинди.
2. Изланишлар ўсимликнинг ер остки қисмида ишқорда эрувчи полисахаридлар-гемицеллюлозалар максимал миқдорда тўпланганлигини кўрсатди.
3. *Aconitum leucostomum* ўсимлигидан юқори этерификацияланган пектин моддаси ажратиб олинди.
4. Гемицеллюлоза Б моносахарид таркибига кўра глюкан полисахариди турига киради.
5. Ажратиб олинган полисахаридлар ҚХ, ГСХ, ИҚ спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганилиб, барча полисахаридлар гетероген ҳолда эканлиги кўрсатиб ўтилди.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Н.К. Кочетков, А.Ф. Бочков, Б.А.Дмитриев, А.И. Усов, О.С. Чижов, В.Н. Шибаев. «Химия углеводов» Издательство “Химия” Москва. 1967.
2. В. П. Черных, Б. С. Зименковский, И. С. Гриценко Органическая химия.Под ред. чл.корр. НАН Украины В. П. Черных. Харьков. Изд. НФ АУ.«Оригинал» 2007.стр. 678-685.
3. Б.Н.Степаненко Химия и биохимия углеводов (полисахариды). - Москва: Высшая школа, 1978. -52 с.
4. Методы химии углеводов» Перевод с английского под реакцией Н.К. Кочеткова. Издательство «Мир» Москва . 1967. стр 442-447
5. Р. В. Меньшова, С. П. Ермакова, Т. Н. Звягинцева Состав и структурные характеристики полисахаридов бурой водоросли *Eoseniabicyclis*(Корея) // Тез. докл. 14 Всероссийской молодежной школы-конф.по актуальным проблемам химии и биологии. Владивосток, 2012. с. 38
6. В.Н.Шарков, Н.И. Куйбина Химия гемицеллюлоз Изд. Лесная промыш. Москва 1972.
7. Т.В.Орловская, А.В.Съедин, М.Х. Маликова Изучение углеводов семян *Raphanus sativus* и *Brassica napus* //Химия природ соедин., 2013, №2, С. 277
8. К.С.Жауынбаева, З.Э.Ёркулов, М.Х.Маликова, Р.К.Рахманбердыева Арабиногалактаны двух видов *Ferula* X Межд.симп. по химии природных соедин. 2013, 21-23 ноября, Бухара, Узбекистан
9. Р.К.Рахманбердыева, А.М. Нигматуллаев Сезонная динамика содержания и состава углеводов в *Cardariarepens* (Schrenk) Jarm // Растительные ресурсы. – Санкт-Петербург, 2003. вып.1. – С. 78 – 80

10. Ф.А.Кадыралиева, Р.К.Рахманбердыева, М. Х. Маликова, Л.Г. Межлумян.
Динамика накопление углеводов семян *Crotalaria alata* // Раст. ресурсы,
2013, №4, с. 421
11. Р.К.Рахманбердыева, Д.А. Рахимов. Полисахариды *Aconitum
zaravchanicum* // Химия природ.соедин. –Ташкент, 1993 - № 3. - С.357-
359
12. Chi Zhao, Min Li, Yifan Luo and Weikang Wu Isolation and structural
characterization of an immunostimulating polysaccharide from fuzi, *Aconitum
carmichaeli* // Carbohydr. Res. 2006, 341, P. 485–491
13. Tingting Gao, Shuai Ma, Jiayin Song, Hongtao Bi, Yanduo Tao. Antioxidant and
immunological activities of water-soluble polysaccharides from *Aconitum
kusnezoffii* Reichb // Inter. J. of Biol. Macromol. 2011, v.49, P.580-586
14. Tingting Gao, Hongtao Bi, Shuai Ma, Jingmei Lu Structure elucidation and
antioxidant activity of a novel (1→3),(1→4)-d-glucan from *Aconitum
kusnezoffii* Reichb. // Inter. J. of Biol. Macromol. 2010, v.46, P. 85-90.
15. Ming Liang, Shuchen Li, Bin Shen, Jianping Cai, Cong Li , Zhenyu Wang,
Xiaoguang Li, Jie Gao, Haiying Huang, Xiaoyu Zhang, Jingyuan Li Anti-
hepatocarcinoma effects of *Aconitum coreanum* polysaccharides // Carboh.
Polym. 2012, v.88, P. 973-975
16. Huisheng Li, Meina Sun, Jin Xu, Hui Li, Meng Zang, Yunfu Cui
Immunological response in H22 transplanted mice undergoing *Aconitum
coreanum* polysaccharide treatment // Inter. J. of Biol. Macromol. 2013, v.55,
P.95-300

17. Bin Li, Xian-Jun Meng and Li-Wei Sun Isolation, chemical characterization and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides from *Aconitum coreanum* “ //J. of Med. PlantsRes. 2012 ,v. 6(5), P. 876-883
18. Р.Г. Жбанков. Инфракрасные спектры и структура углеводов. Минск, Изд. «Наука и техника», 1972. стр. 192.
19. М.П. Филиппов. Инфракрасные спектры пектиновых веществ // Проблемы аналитической химии. –Москва, 1988. Т.8. – С. 198-215
20. Р.К.Рахманбердыева, М.П. Филиппов. Исследование семян *Gleditsia macracantha* методом ИК-спектроскопии //Химия природ соедин., 2011, №2, С. 166-168
21. Р.В. Соколова, Ермакова С.П., AwadaS.M., Т.Н. Звягинцева, Hussein K.M. Состав, структурные характеристики и противоопухолевые свойства полисахаридов бурых водорослей *Dictyopterispolypodioidesi Sargassum*sp.//Химия природ соедин., 2011, №4, С. 297-303
22. М.Х. Маликова, Тургунбоев Ш. Ш., Рахманбердыева Р.К. Углеводный комплекс *Aconitum leucostomum* //Аналитик кимё фанининг долзарб муаммолари IV Респуб. илмий-амалий анжумани, Термиз. 2014. т. 1, 287-288
23. Г.Б. Аймухамедова, Дж.Э. Алиева. Н.П. Шелухина. Свойства и применение пектиновых сорбентов. Изд. Илим, Фрунзе. 1984.
24. Lance D.G., Jones J.K.N. Gas chromatography of derivatives on the methyl ethers of D-xylose // Can. J.Chem. - Ottawa, 1967. - № 17(45). P. 1995-1998

И Л О В А