

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ  
ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

Кўлёзма ҳуқуқида  
УДК 577.153.321

**ДЖАЛИЛОВА НИГИНА РУСТАМОВНА**

**“Қорамол ошқозон ости безидан  $\alpha$ -амилаза, протеаза ва липаза  
ферментлари комплексини олиш технологияси”**

**5A510602 -иммунобиологик ва микробиологик препаратлар  
технологияси мутахассислиги**

**МАГИСТР**

**академик даражасини олиш учун ёзилган  
диссертация**

**Илмий раҳбар:  
биология фанлари номзоди,  
доцент Нормуродова Қ.Т.**



ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

Саноат фармацияси факультети  
Биотехнология кафедраси  
2012-2014 ўқув йиллари

Магистратура талабаси: Джалилова  
Нигина Рустамовна  
Илмий раҳбар: б.ф.н.Нормуродова  
Қундуз Тоғаевна Мутахасистлиги:  
5А510602 - иммунобиологик ва  
микробиологик препаратлар  
технологияси

МАГИСТРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АННОТАЦИЯСИ

**-Мавзунинг долзарблиги:** Қорамол ошқозон ости безида амилаза, протеаза ва липаза ферментлари комплексларини олиниши ва уларнинг фаолликларини ўрганиш.

**-Ишнинг мақсади ва вазифалари:** Қорамол ошқозон ости беги фаол ферментлар комплексини ўрганиш. Қорамол ошқозон ости беги ферментлар комплексини ажратиб олиш, ажратиб олинган комплексни изопропил спирти билан чўктириш, чўкмадаги ферментлар фаоллигини аниқлаш ва ферментлар фаоллигига физик-кимёвий омиллардан рН ва ҳароратнинг таъсирини ўрганиш.

**-Тадқиқот объекти ва предмети:** Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиш ва физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш.

**-Тадқиқот услубияти ва услублари:** Ишни бажариш жараёнида Анъанавий биокимёвий ва технология усулларидадан фойдаланилди.

**-Тадқиқот натижаларининг илмий жихатдан янгилик даражаси:** Қорамол ошқозон ости беги фаол ферментлар комплекси фаоллиги ўрганилди. Ферментларни чўктиришда изопропил спиртидан фойдаланилди.

ва хосил бўлган чўкмадаги ферментлар комплекси фаоллиги аниқланди ва ферментлар фаоллигига физик-кимёвий омилларнинг таъсири ўрганилди.

**-Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти ва тадбиқи:** Қорамол ошқозон ости безидан панкреатин олишнинг қулай ва самарали усулини схемаси ишлаб чиқилди.

**-Бажарилган ишнинг асосий натижалари:** Қорамол ошқозон ости беги ферментлар комплекси (панкреатин) нинг фаоллиги аниқланди ва физик-кимёвий омилларнинг таъсири ўрганилди.

**-Хулоса ва таклифларнинг қисқача умумлаштирилган ифодаси:** олинган натижалар арзон ва рақобатбардош панкреатинни қорамол ошқозон ости безидан ажратиб олишнинг технологик регламентини ишлаб чиқишда асос бўлади.

**Илмий раҳбар:**

Қ.Т. Нормуродова

**Магистратура талабаси:**



Н.Р. Джалилова

MINISTRY OF HIGHER AND SECONDARY SPECIAL EDUCATION OF  
THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

Faculty of Industrial pharmacy

Master Djalilova N.R.

Biotechnology chair

Scientific head Normurodova K.T.

2012-2014 year

5A510602- technology of

immunobiological and microbiological  
preparations

- **Relevance of work.** Receiving and studying of activity of enzymes amylase, protease and lipase of a complex from cattle pancreas.
- **Purpose and research problems.** Receiving and studying of activity of enzymes of a complex from cattle pancreas, determination of activity of in enzymes complex and studying influence of physical and chemical factors on activities of enzyme.
- **Object and object of research.** As object of research served cattle pancreas. Object of research were the office of enzymes complexes of Pancreatinum, allocation and purification of enzymes, physical and chemical properties of the received enzymes preparations.
- **Research methods.** When performing work classical biochemical and technological methods of allocation of in pancreas were used.
- **Scientific novelty.** The office of in enzymes complex from cattle pancreas is received and studied. It is defined activities of in enzymes complex of Pancreatinum. Influence of physical and chemical factors on activities of enzyme is studied.

- **Scientific and practical importance of results of research.** The reproduced method receiving Pancreatinum of enzymes complex amylase, protease and lipase of cattle is developed effective and easy.

- **Conclusions.** Influence factors pH and temperature dependence amylase, protease and lipase activity and activation of the enzymes complex of cattle is defined and studied.

Scientific head:

Dots. Normurodova K.T.

Master:



Djalilova N.R.

## ASOSIY IJSM

### 2-BOB. TAJRIBALAR VA ULARNING METODIKASI

1. Tajribalar faermentlar va ularning metodikasi	28
2. Faermentlar va ularning metodikasi	29
3. Tajribalar va ularning metodikasi	30

### 3-BOB. TAJRIBOT NA QILKALARI VA ULARNING MUHOAMASI

1. Tajribot na qilka va ularning muhoamasi	30
2. Tajribot na qilka va ularning muhoamasi	35
3. Tajribot na qilka va ularning muhoamasi	40

Xulosa

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

## МУНДАРИЖА

Кириш.....	7
<b>1-БОБ. АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ.....</b>	<b>7</b>
1. Қорамол ошқозон ости беги комплекс ферментларининг умумий тавсифи.....	16
2. Қорамол ошқозон ости беги комплекс ферментларининг фармацевтика саноатида қўлланилиши.....	23
3. Қорамол ошқозон ости беги таркибидаги ферментларнинг физик-кимёвий хусусиятлари.....	26
<b>АСОСИЙ ҚИСМ</b>	
<b>2-БОБ. ТАЖРИБАЛАР ВА УЛАРНИНГ МЕТОДИКАСИ.....</b>	<b>28</b>
1. Комплекс ферментларни олиниши ва уларнинг фаоллигини аниқлаш.....	28
2. Ферментларнинг баъзи бир физик-кимёвий хусусиятларини аниқлаш.....	29
<b>3-БОБ. ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ МУҲОКАМАСИ.....</b>	<b>30</b>
1. Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиб олиш .....	30
2. Ферментлар комплексини тозалаш ва фаоллигини аниқлаш.....	35
3. Олинган комплекс ферментларига ташки омилларнинг таъсири ўрганиш.....	42
Хулоса.....	50
Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.....	52

## Кириш

**Мавзунинг долзарблиги.** Ҳозирги вақтда ошқозон - ичак тракти билан касалланган беморлар сонининг ортиб бораётганлиги ва бу нотўғри овқатланиш туфайли юзага келаётганлиги ҳеч кимга сир эмас. Овқат ҳазм қилувчи ферментлар ошқозон ости беши ферментлари сусайганида уларнинг ўрнини тўлдирувчи восита сифатида, яъни овқатни парчаловчи панкреатин қўлланилади. Панкреатин соқининг асосий компонентлари – бу бикарбонат ишқорий муҳит бўлиб, ошқозондаги кислотали муҳитни, яъни ўн икки бармоқли ичак ва озик-овқатни парчаловчи ферментларни рН муҳитини 6–8 гача нейтраллайди, овқатнинг асосий компонентларини парчалайди. Панкреатин ферментлар амилolitik (крахмални гидролизловчи), протеolitik (оқсилларни гидролизловчи), липolitik (ёғларни гидролизловчи) ва нуклеотид (нуклеин кислоталарни гидролизловчи) қисмларга бўлинади.

Республикада ҳам қорамол ошқозон ости безидан панкреатин ферментларини олинишига бўлган қизиқиш ортмоқда ва уларни фармацевтик ишлаб чиқаришда амалий вазифаларни ечиш имкониятлари кенгаймоқда.

Ҳозирги вақтда тоза ҳолда олинган ферментлар саноатнинг турли тармоқларида кенг қўлланилмоқда, асосан, ишлаб чиқаришнинг тиббиётда, фармацевтикада ва озик-овқат саноатларида ва ҳ.к. Ферментларнинг бу даражада кенг қўлланилиши иккита омилнинг ўзаро боғлиқлигидан далолат беради: биринчидан, уларнинг қўлланилиши моддий жihatдан мақсадга мувофиқ бўлса, иккинчидан, уларни саноатда ишлаб чиқариш имкониятларини кенг йўл очилади. Қорамол ошқозон ости безидан, хайвон органларидан ва тўқималаридан олинган фермент препаратларининг озик-овқат, тиббиёт ва фармацевтика саноатида қўлланилиши ва ишлаб чиқарилиши замонавий биотехнологиянинг ривожланишидан далолат беради.

Бугунги кунда кўпчилик озиқ-овқат ва фармацевтика саноати ишлаб чиқаришларида, тозаланган ферментлар (амилаза, протеаза, липаза), углеводлар (глюкоза, мальтоза, изомальтоза), глюкоза-фруктозали сироплар ва олигасахарид-декстринлар олиш мақсадида, карантин килинган қорамол ошқозон ости безидан фермент комплексларни ажратиб олиш, крахмални гидролитик парчалаш усулларини такомиллаштириш жуда ҳам муҳим ҳисобланади. Юқори фаолликка эга оксил, ёғ ва крахмал парчаловчи ферментлар, яъни комплекс ферментларни уларнинг продуцентларидан технологик ва самарали олиш, барқарорлаштириш усуллари яратиш борасида ўтказилаётган фундаментал тадқиқотлар Ўзбекистон Республикаси иқтисодиётининг устувор йўналишлари, шунингдек жаҳон фанининг истиқболли йўналишлари ривожига мувофиқ келиши лозим [1-2].

Республикамиз мустақилликка эришгандан буён ватанимиз иқтисодиёти ва ижтимоий ҳаётда қатор ислохотлар ўтказилмоқда ва улар ўзининг меvasини бермоқда. Мамлакатимиз иқтисодиётини янги босқичга кўтаришнинг самарали йўлларида бири маҳаллий хом-ашёлардан биологик фаол моддалар олиш ва уларни саноатнинг турли тармоқларида қўллашдир. Шу муносабат билан сўнги 10-15 йил ичида республикамизда ҳам бир қатор янги маҳсулотлар маҳаллий хом-ашёлардан ферментлар олиниб, улар асосида олинган турли хил фермент препаратлари сифатли ҳамда самарали маҳсулотлар ишлаб чиқарувчи корхоналарида синовдан ўтказилмоқда.

Овқат ҳазм қилиш системасида зарур ҳисобланган дори маҳсулотлари: мезим, фестал, тризинларнинг асосий таркибий қисми қорамол ошқозон ости безидан ажратиб олинган комплекс фермент препаратлари ҳисобланади. Йирик масштабларда ушбу ферментлар қорамол ва чўчқанинг ошқозон ости беzi ва уларнинг Лангерганс оролчаларидан тозалаш усуллари орқали олиниши иқтисодий ва экологик самаралироқ эканлиги мутахассислар томонидан аниқлаб берилган.

Мамлакатимиз Президенти Ислом Каримов ташаббуслари мамлакатимизда инсон саломалигига доир конференция ва маърузалар ташкил этилган. Шулардан бири “Соғлом она – соғлом бола” мавзусидаги Халқаро симпозиумлардир. Аҳоли саломатлигини муҳофаза қилишни такомиллаштириш, ташхис қўйиш ва даволашнинг энг илғор услубларига асосланган юқори малакали тиббий ёрдам тизимини яратиш, Ўзбекистонда амалга оширилаётган ижтимоий йўналтирилган сиёсатнинг устувор вазифаларидан биридир [6-8].

Мустақиллик йилларининг дастлабки кунлариданоқ ёшларнинг билим ва ҳунар ўрганишларига, энг муҳими “Таълим тўғрисида”ги қонун ва “Кадрлар тайёрлаш миллий дастури” қабул қилинган, бу борадаги ишларда ижобий натижаларга эришиб келинмоқда. “Кадрлар тайёрлаш миллий дастури” асосида амалга оширилаётган таълим соҳасидаги ислохотларнинг барча босқичларининг вазифалари муваффақиятли ҳал қилиниб келинмоқда.

Ўзбекистон Республикаси «Кадрлар тайёрлаш миллий дастури» [3] ва “Таълим тўғрисида”ги қонунда [4] жаҳон андозаларига жавоб бера оладиган мутахассислар тайёрлаш, шунингдек таълимнинг барча соҳаларини ислох қилишни асосий вазифа қилиб белгилайди.

Шу ўринда аҳоли саломатлигини муҳофаза қилишни такомиллаштириш ҳам назардан четда қолгани йўқ [5]. Инсонлар саломатлигида уларнинг овқат ҳазм қилиш системаси ҳам катта роль ўйнайди. Овқат ҳазм қилувчи препаратлар сифатида қўлланиладиган доридармонларнинг асосий хом – ашёси қорамол ошқозон ости беши фермент саноатида ўзининг катта мавқеига ва аҳамиятига эга. Бу 1-дан: маҳаллий хом ашёнинг арзон ва қулайлиги билан тушунтирилса; 2-дан эса унинг таркибидаги ферментлар жамланмасини катта миқдорда йиғиб олиш мумкин.

Бугунги кунда тоза ҳолда ажратиб олинган амилаза ферментлари(ФК-3.2.1.) кўпроқ саноатнинг тиббиёт, фармацевтика, озиқ-овқат ҳамда илмий изланишларда кенг қўлланилмоқди. Углеводга бой маҳсулотларни

парчалашдакимёвий гидролиз усулларидан ферментатив усули бир қатор афзалликларга эга. Бу жараёнда иштирок этувчилар фермент препаратлари орасида амилаза, протеаза ва липаза ферментлари муҳим ўринни эгаллайди. Лекин ушбу фермент препаратларини тоза ҳолда ажратиб олиш ва дори саноатида қўллаш ва кенг миқдорда ишлаб чиқаришда бир қатор муаммолар ўз ечимини топганича йўқ. Юқори фаолликка эга фермент комплекслари продуцентлари фермент препаратларини технологик ва самарали олиш, барқарорлаштириш усулларини яратиш, маҳаллий дори саноатининг миқдорини кенгайтириш жуда ҳам зарурдир.

Шунинг учун, саноатда маҳаллий хом-ашёлардан ажратиб олинadиган доривор моддалар, биологик фаол моддаларга бўлган талаб ортиб бормоқда ва ҳайвон орган ва тўқималаридан фермент препаратларини ишлаб чиқариш, уларнинг потенциал манбалари сифатида фойдаланиш уларнинг долзарб эканлигидан далолат беради. Саноатнинг дори-дармон тармоқларида комплекс ферментларини қўлланилиши ҳам Республикамизда асосий ўринлардан бирини эгаллайди. Бундан ташқари, қорамол ошқозон ости безидан олинган ферментлар комплексини республикамиздаги ишлаб чиқариш шароитларида амалга ошириш, фермент ишлаб чиқаришнинг маҳаллий технологияларини яратишни талаб этади ҳамда валютани тежайди ва ишлаб чиқаришнинг иқтисодий самарадорлигини оширади.

Шунга қарамасдан, Ўзбекистонда тоза ҳолда ажратиб олинган ферментлар комплексининг фаол, юқори даражадаги тоза ферментларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилмаган ва маҳаллий саноатнинг уларга бўлган талаби хориждан импорт қилиш йўли билан қондирилмоқда. Маҳаллий фермент саноатини ривожлантиришнинг муҳим шартларидан бири сифатли фермент комплексини тоза ҳолда ажратиш, уларнинг хусусиятларини ўрганиш, фаол фермент препаратларини олишнинг янги технологияларини яратиш ва уларни амалиётда самарали қўллашдир.

Қорамол ошшқозон ости безидан ферментлар олишнинг муҳим томони шундаки, бу ферментлар комплекси сифатли овқат ҳазм қилувчи препаратлар олишда асосий хом-ашёлардан бири ҳисобланади. Унинг бу хусусияти саноат, қишлоқ хўжалиги, тиббиёт, биотехнология ва бошқа тармоқларда кенг қўллаш имкониятларини очиб беради. Таъкидлаш жоизки, фермент препаратлари илмий тадқиқотларда, тиббиётда ва фармацевтикада кенг қўлланилади, шунинг учун ҳам ҳозирги вақтда тоза препаратларга бўлган талаб янада ортмоқда.

**Тадқиқотнинг ўрганилганлик даражаси:** хайвон орган ва тўқималаридан ажратиб олинган ферментлар орасида амилаза, протеаза ва липаза ферментлари кўпроқ ўрганилган, шунга қарамасдан ушбу ферментларни комплекс ҳолда ва улардан фермент препаратларини алоҳида ажратиш ҳамда тозалаш нисбатан кам ўрганилган бўлиб, ҳозирги вақтда бу ишлаб чиқаришга тадбиқ этиш тўлиқ йўлга қўйилмаган. Бу ўрганилаётган ферментларни махсус мақсадлар учун янада тозароқ ажратиб олиш, кенгроқ қўлланилиш истиқболларини очади. Амилаза ферменти углеводга бой маҳсулотларни ферментатив парчалайдиган ноёб ферментлардан ҳисобланганлиги учун уни синтез қилиш ва амалиётда қўллаш мақсадида 50-60 йиллардан бошлаб жаҳон бўйича анча илмий изланишлар олиб борилган. Бугунги кунда овқат ҳазм қилувчи препаратлар бўйича жуда кўп патентлар, ихтиролар, дарслик ва илмий мақолалар жамланган. Бу йўналишда жаҳон олимларидан М.Д. Машковский, Прист, Павлова, Квеситадзе, Глемжи, Pandey, Wellingta Cristina Almeida do Nascimento, Безбородов ва шу каби бир қатор олимлар фермент препаратларни ажратиш, тозалаш ва ишлаб чиқаришга тадбиқ этиш борасида илмий ишлар олиб борганлар. Ватанимиз Ўзбекистонда ҳам панкреатин ферментларини ажратиш, тозалаш ва саноатга тадбиқ қилиш ва уни амалиётда қўллаш борасида жуда катта ишлар қилинган ва ҳозирда ҳам бир қанча ишлар олиб борилмоқда.

Шу муносабат билан бу йўналишда истикболли объектлардан бири қорамол ошқозон ости беши ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг объекти:** Қорамол ошқозон ости фаол ва маҳсулдор ферментлар комплексини ажратиш олиш.

**Тадқиқот мақсади.** Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини олиш технологиясини ўрганиш.

**Тадқиқот вазифалари:**

1. Қорамол ошқозон ости безидан фаол ферментлар комплексини олиш;
2. Ажратиш олинган ферментлар комплексини тозалаш ва ферментлар фаоллигини аниқлаш;
3. Олинган ферментлар комплексининг физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш.

**Кутиладиган натижа:** Қорамол ошқозон ости безидан овқат ҳазм қилувчи фаол ферментлар комплексини ажратиш олинади ва ишлаб чиқариш қархоналарига тавсия этилади.

**Тадқиқотнинг методлари:** Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиш, тозалаш жараёнларида анъанавий биокимёвий усуллардан фойдаланилади.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги:** Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплекси ажратиш олинди ва ферментлар фаоллиги ўрганилди. Ферментларни жамлашда изопропил спирти билан чўктирилди. Олинган ферментларнинг физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди. Қорамол ошқозон ости безидан ферментларни олишнинг қулай ва самарали усулининг технологик схемаси ишлаб чиқилди.

**Тадқиқотнинг амалий аҳамияти:** Қорамол ошқозон ости беши гомогенизацияланиб, ундановқат ҳазм қилувчи панкреатин препаратини олинади, бу препаратнинг ўзига хос бўлган гидролизлаш хусусияти уни биотехнология ва тиббиётда қўллаш имкониятларини очади. Бундан ташқари



## АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ

### I БОБ. ҚОРАМОЛ ОШҚОЗОН ОСТИ БЕЗИ ТАВСИФИ

#### 1. Қорамол ошқозон ости беzi комплекс ферментларининг умумий тавсифи

Замонавий биотехнологияда қорамол ошқозон ости беzi мураккаб ферментларкомплекси сақлаган бўлиб, ҳар хил моддаларга қуйидагича таъсир қилади – оксиллар, ёғлар, нуклеин кислоталар, углеводлар. Баъзи бир ферментлар (нуклеаза, амилаза) қорамол ошқозон ости беzi сокига секретланади ва дарҳол фаол ҳолатга ўтади, шунда бошқа ферментлар – ҳар хил протеазалар, фосфолипаза – без тўкимасига синтезлайди ва нофаол ҳолатда бўлади. Ошқозондан ингичка ичакга эвакуация қилингандан кейин ейилган овқатнинг нисбатан интенсив равишда ҳазм бўлиши кийинрок бўлади. Бундай жараёнда ошқозон ости беzi, тўғрироғи унинг секретлари муҳим роль ўйнайди. Панкреатин сокининг асосий компонентлари – бу бикарбонат ишқорий муҳит бўлиб, ошқозондаги кислотали муҳитни, яъни ўн икки бармоқли ичак ва озиқ-овқатни парчаловчи ферментларни рН муҳитини 6–8 гача нейтраллайди, овқатнинг асосий компонентларини парчалайди. Ошқозон ости беzi экзокрин (секретловчи) ва бир вақтнинг ўзида эндокрин (инкретирловчи) органлардан ташкил топган, овқат ҳазм бўлишида, моддо алмашинувини бошқаришда, шунингдек бошқа орган ва системаларда иштирок этади[31].

Ошқозон ости безининг массаситахминан 110 гр, бир суткада 1,5дан 2,5 литргача сок ажралиб чиқади. Сок стимуляцияга боғлиқ бўлмаган изотоник қон плазмаси, бир қатор электролит ва тузлардан, шунингдек озиқ-овқатни парчаловчи ферментлардан ташкил топган. Сокнинг асосий анионлари –  $\text{Cl}^-$

ва  $\text{HCO}_3^-$ , катионлари —  $\text{Na}^+$  ва  $\text{K}^+$  иборат. Бундан ташқари, соқда  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Mg}_2^+$  катионы ва  $\text{HPO}_4^-$  анионлари иштирок этади. Стимуляция концентрациясида катионлар ўзгаришсиз қолади, анионлар эса қарама-қарши йўналишга ўтиб олади. Секрециянинг максимал концентрацияси  $\text{HCO}_3^-$  бўлиб, 130–140 ммоль/л, рН — 8,2 ни ташкил қилади [31-32].

Ошқозон ости безининг экзокрин функцияси овқат ҳазм бўлишида ҳақиқатан ҳам муҳим роль ўйнайди. Рухий, алиментар, гуморал ва бошқа таъсир қилувчи аинус ҳужайралар таъсирига ошқозон ости бези ўн икки бармоқли ичакга 20дан ортиқ ичакдаги ҳар хил овқатнинг қолдиқларини парчаловчи ферментларни синтезлайди ва ажратади. Овқат ҳазм қилувчи ферментларда панкреатин соқидаги оксилнинг 90 % бўлади. Ошқозон ости безининг бу функцияси экболитик деб номланади ва экзокрин функциясида фарқ қилади, яъни унда— гидрокинетик, сувни секрецияланишини тугатувчи, бикарбонатлар (150 ммоль/л гача) ва бошқа электролитлардан иборат бўлади. Ошқозон ости безининг гидрокинетик функцияси ошқозоннинг кислоталигини нейтралланишини таъминлайди ва ичакларда панкреатин ва ичак ферментларининг фаолияти учун ишқорий муҳит яратади.

Ҳозирги вақтда ишлаб чиқариладиган панкреатин дунё микёсида ишлаб чиқариладиган препаратнинг ўртача 30-35% ни ташкил қилади [10-15].

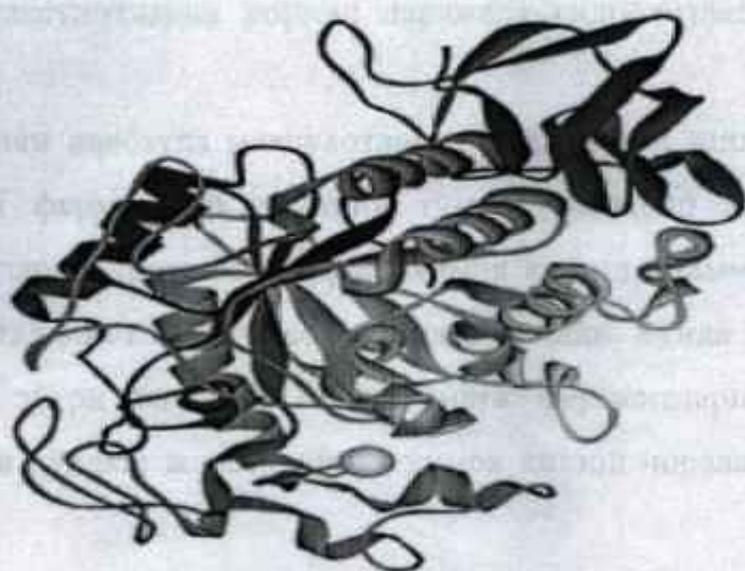
Панкреатин (Pancreatinum) — бу қорамол ошқозон ости бези препарати [9-10,16-17]. У асосий ферментларнинг фаол формаларини ўзида сақлайди, ошқозон ости безига ошқозон соқини ҳам ажратади, масалан:

1. Трипсин протеолитик фермент бўлиб, кучсиз ишқорий муҳитда оксилларни қуйи пептидлар ва эркин аминокислоталаргача парчалайди;
2. Амилаза амилитик фермент бўлиб (диастазу), крахмални мальтозагача парчалайди;
3. Липаза липолитик фермент бўлиб, (стеапсин) — ёғларни глицирин ва ёғ кислоталаригача парчалайди.

**Амилолитик ферментлар– амилазалар.** Крахмални парчалашни амилаза бошлайди, бир нечта изоферментлардан ташкил топган, тахминан 20 % оксилни панкреатин секретлайди. Бу ферментнинг фаол ҳолатинининг асосий миқдорини ошқозон ости беши ажратади. Изоферментларнинг синтезланиши темир сўлакларини чиқишини,  $\alpha$ -амилаза полиқандларни (крахмал, гликоген) декстринларгача парчалайди, мальтоолигоқандлар, мальтозалар ва глюкозанинг чегараланмаган миқдори ҳосил бўлади. Келтирилган полимерларичак ферментлари– мальтаза,  $\alpha$ -амилаза, изомальтазалар таъсирида глюкозага айланади.

Амилолитик фермент препаратлари (альфа, бетта, глюкоамилазалар) ферментларнинг энг катта гидролоза (КФ 3.2.1.1) синфига киради, яъни ушбу ферментлар сувли шароитда ўз фаолиятини намаён этади, ҳамда хом – ашёгани тезда деградацияга учратади. Ҳозирги пайтда крахмалли хом ашё гидролизида, шунингдек, саноатнинг турли тармоқларида кенг қўлланилади. А-амилаза амилоза, амилопектин, мальто-олигосахаридлардаги гликозид боғларини гидролизлайди. Амилазанинг иммобилизацияланган шакллари уларни ишлаб чиқариш бир неча мартаба ишлатиш имкониятини беради ва глюкоза олишдаги самарадорлиги юқори эканлигидан далолат беради.

**$\alpha$ -Амилаза** - крахмални гидролизлашда крахмал сақловчи субстратлардан озик-овқат этил спиртини олиш учун кандли сироп ва пиво ишлаб чиқаришда ишлатилади. Кўпчилик амилолитик ферментлар ва фермент препаратлари ўз фаолликларини уларни культура суюқлигидан ажратиб олишда, тозалашда, сақлаш ва ишлаб чиқаришда қўллаш жараёнларида йўқотади [70]. Шу сабабли уларни биотехнологик жараёнларда қўллашдан олдин турғунлаштириш керак бўлади. Умуман олганда ферментлар муҳандислигида ферментларни турғунлаштириш асосий муаммо хисобланади (1-расм).



**1-расм.  $\alpha$ -амилазанинг фазовий структура кўриниши.**

Шу сабабли сўнгги йиллар давомида шу муаммо ечимига қаратилган тадқиқотлар катта улушни ташкил этди ва назарий ва амалий жихатдан қатор муваффақиятларга эришилди. Шу билан бирга ферментлар турғунлигининг асосий сабаби иссиқлик таъсири, ингибиторлар ва рН муҳитдир. Аммо ферментларнинг фаоллигини йўқолишига асосий омиллардан бири бўлган протеазалардир, яъни протеаза фермент препарати амилаза фермент препаратининг асосий ингибиторидир. Агар протеаза юқори ҳароратда инкубация қилинса, унинг амилазага таъсир этиш жараёни бир оз йўқолади. Бунга сабаб, ферментлар фаоллигини йўқотишнинг асосий сабаби ҳароратнинг салбий таъсири деган хулоса ўринлидир. Аммо оптимал, ҳатто паст ҳароратларда ва муҳитнинг қисқа вақтли юқори ҳароратдаги таъсирида ҳам ферментларнинг протеаза натижасидаги фаолсизланиши кузатилади.

Оқсилларнинг, шу жумладан протеаза фермент препаратлари яхши ўрганилган соҳа бўлишига қарамасдан ферментларнинг фаолсизланишида протеазанинг ва бошқа сабабларни ажратиш муҳим. Бу эса амилolitik

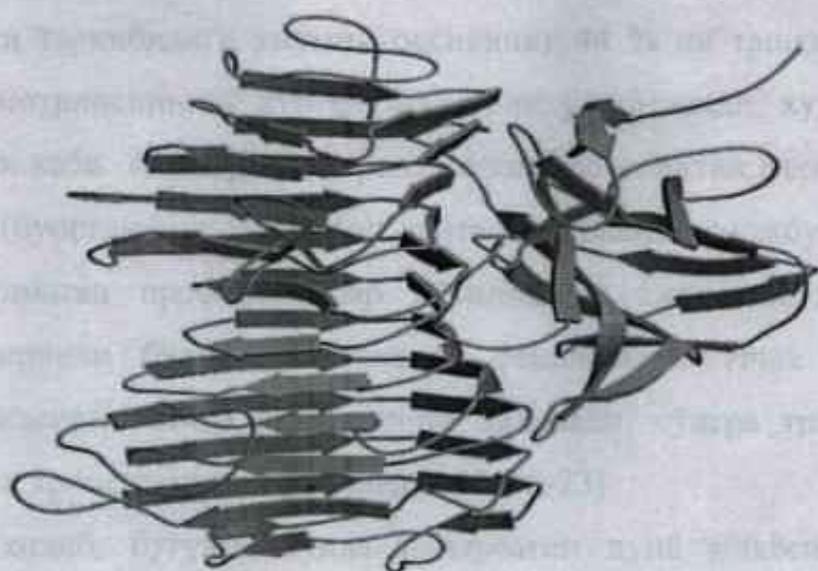
ферментларнинг маҳсулотларни нормал даражада гидролизлашига салбий таъсир курсатади.

Демак, биринчи навбатда маҳсулотларга амилолитик ишлов беришда аввал протеолитик ферментлар омилини тўғри баҳолаш зарур. Бошқа томондан ферментларни протеазага қарши химоя қилиш муаммоси назарий ва экспериментал тадқиқотлар ўтказишни талаб қилади. Бунда протеолитик омил аҳамиятини тўғри баҳолаш билан бирга ферментларни ажратиш, тозалаш, сақлаш ва қўллаш жараёнларида химоя қилиш чораларини топиш керак.

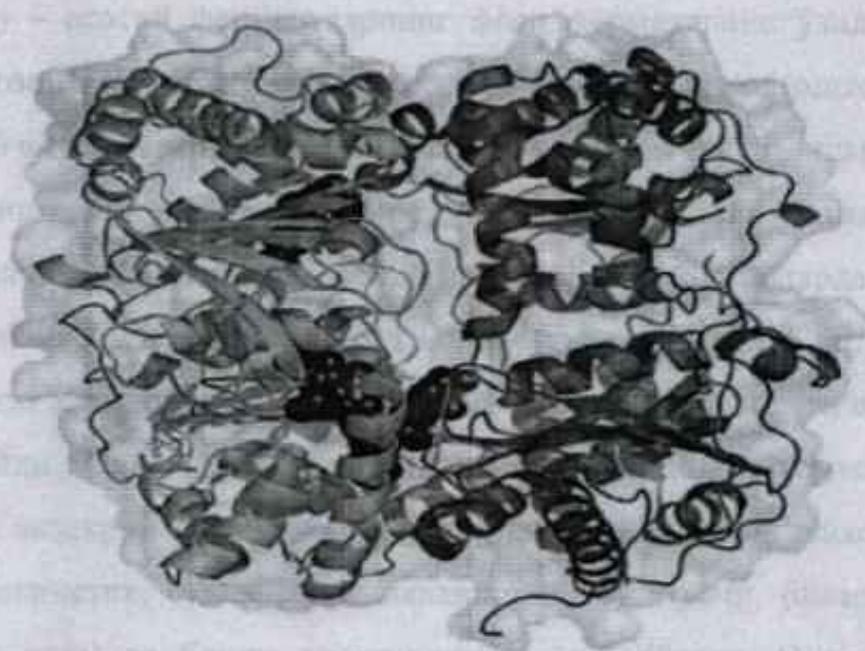
Маълумки амилаза сақловчи фермент препаратлари амалиётда кенг қўлланилади. У амилаза, амилопектин ва бошқалардаги глюкозид боғларни гидролизлайди. Шу сабабли фермент фаоллигининг пасайишини олдини олиш мақсадида ферментлар табиий ингибитори бўлган протеазадан ва қушимча моддалар, яъни оксиллардан тозаланади, ишлаб чиқаришга тавсия этилади. Шундагина амилолитик ферментларнинг таъсир этиш жараёни ва гидролизлаши осон ва тез, ҳамда самарали бўлади.

**Липолитик ферментлар**— липазалар. Бу липаза ферментлари панкреатин ферментларини липолизини амалга оширади (триглицеридларгача гидролизлайди). Панкреатин сокидан яна фосфолипаза (фосфолипидлар, лецитин гидролизлайди) ва карбоксил-эстераза (ёғ кислоталарининг эфирларини гидролизлайди). Ошқозон ости бези липазанинг асосий миқдорини ажратади (озгина липаза сақлаган сўлак ва ичак соки), мембранани энтероцитлари орқали ўтадиган триглицеридларни моноглицерид ва ёғ кислоталаригача парчалайди. Липаза сувда эримайдиган субстратларни гидролизлайди, ёғнинг майда эмульцияланувчи юқори қисмлари ҳам бўлиши мумкин. Фермент миқдорининг бирлиги эмульсия сифатидан турли хил фаолликка боғлиқлигини кўрсатади: у қанча ингичка бўлса, шунча фермент фаоллиги юқори бўлади. Липаза ингичка ичакда ёғларни эмульсияловчи ҳайдовчи кислоталар киритилганда фаол бўлади.

Протеолитик ферментлар – протеазалар хисобланади. Ушбу фермент кислота (а) табиатли ва ишқорий (б) табиатли бўлади (2-расм).



А) кислотали табиатга эга.



Б) ишқорий табиатга эга.

2-расм. Протеолитик ферментларнинг кислота (а) табиатли ва ишқорий (б) табиатли формаларининг фазовий структура кўриниши.

Ошқозон ости беши таркибидаги панкреатин сокида жуда кўп бўлади (эндопептидазалар – трипсин, химотрипсин, эластаза, экзопептидазалар – карбоксипептидазалар А ва Б). Улар серинли протеаза гуруҳига киради ва панкреатин соки таркибидаги умумий оксилнинг 44 % ни ташкил қилади. Трипсин ва химотрипсиннинг кўп формаларини ўзгартиради, худди меъда ости пепсинлари каби. Ацинар хужайралар фаол протеолитик ферментларни синтезламайди (буорганнинг ўзини ўзи қайта парчалашига мажбур қилади). Улар фаол бўлмаган проферментлар кўринишида ажралади ва ичакда фаолланади. Биринчи бўлиб трипсиноген фаоллашади. Ичак ферменти энтерокиназа таъсири остида у трипсинга айланади, сўнгра трипсиннинг фаол молекуласи трипсиногенни фаоллайди [9, 18-23].

Шундай қилиб, бугунги кунда панкреатин дунё микёсида ишлаб чиқариладиган препаратнинг ўртача 30-35% ни ташкил қилади ва панкреатин (Pancreatinum) – асосий ферментларнинг фаол формаларини ўзида сақлаб, қорамол ошқозон ости беши препарати ҳисобланади. Қорамол ошқозон ости беши мураккаб ферментлар комплекси сақлайди ва овқат ошқозондан ингичка ичакга ўтгач интенсив равишда ҳазм бўлиши кузатилар экан. Ошқозон ости беши секретловчи ва бир вақтнинг ўзида инкретирловчи органлардан ташкил топган ваунинг массаси тахминан 110 гр, бир суткада 1,5дан 2,5 литргача сок ажратади. Овқат ҳазм қилувчи ферментларда панкреатин сокидаги оксилнинг 90 % учрайди. Ошқозон ости бешининг бу функцияси экболитик деб номланади ва экзокрин функциясидан фарқ қилади. Қорамол ошқозон ости бешида– гидрокинетик, сувни секрецияланишини тугатувчи, бикарбонатлар (150 ммоль/л гача) ва бошқа электролитлар ҳам бўлади. Ошқозон ости бешининг гидрокинетик функцияси ошқозоннинг кислоталигини нейтралланишини таъминлайди ва ичакларда панкреатин ва ичак ферментларининг фаолияти учун ишқорий муҳит яратади. Панкреатин кўплаб овқат ҳазм қилиш органлари касалликларида қўлланилади [9-10].

## 2. Қорамол ошқозон ости беши комплекс ферментларининг фармацевтика саноатида қўлланилиши

Маълумки, панкреатин ферментлар амилolitik (крахмални гидролизловчи), протеолitik (оқсилларни гидролизловчи), липolitik (ёғларни гидролизловчи) и нуклеотид (нуклеин кислоталарни гидролизловчи) қисмларга бўлинади, яъни қорамол ошқозон ости беши ҳам бир қатор ферментлардан ташкил топган бўлиб, турли хил махсус субстратларга, қисман трипсин ( КФ 3.4.21.4),  $\alpha$ - химотрипсин ( КФ 3.4.21.1), карбоксипептидаза ( КФ 3.4.16.1) липаза ( КФ 3.1.1.3), амилаза ( КФ 3.2.1.13), ферментлар комплекси кўринишида ажралади, олинган ферментлар комплекси «панкреатин» деб номланади. Бу препарат тиббиётда ва фармацевтикада кенг қўлланилади, шунинг учун ҳам ҳозирги вақтда тоза препаратларга бўлган талаб янада ортмоқда [9-16].

**Панкреатин – овқат ҳазм қилиш жараёнини яхшиловчи дори воситаси.** Доривор препаратлар, таркибига панкреатин киради, бугунги кунда жудаям талаб катта, инсонларни соғлиғи учун овқатланиш сифатини яхшилади. Нотўғри овқатланиш овқат ҳазм қилиш системасининг бузилишига олиб келади ва овқатлангандан кейин ноқулай вазиятлар юзага келади, яъни овқат ҳазм қилиш системасининг сурункали хасталикларига сабаб бўлади. Бундай ҳолатда панкреатин препарати ушбу муаммони ҳал қилишга ёрдам беради [9, ].

**Панкреатиннинг таъсир қилиш механизми.** Панкреатин таркибига кўплаб таниш бўлган дори воситалари: мезим, фестал, трезим, креон кабилар киради (панзинорма, креон ва бошқалар). Панкреатин – чўчка ва қорамол ошқозон ости бешини экстракти бўлиб, оқсил, углеводлар ва ёғларни парчаловчи ферментлар жамланмасидан иборат [45-49].

**Панкреатин қандай қабул қилинади.** Панкреатин овқат ҳазм қилиш органларининг функцияси сусайганда қўлланилади. Масалан, сурункали



панкреатит касаллик аломатларини вақтинчалик заифлашганидатовсия этилади, худди шундай ошқозон ости безини бир қисми оғриқ кучайганидан кейин ўрнини босувчи ўриндош сифатида бириктирувчи тўқималарга ўтади. Бу овқат ҳазм қилиш соқининг ажралиши билан боғлиқ бўлади.

**Панкреатин қачон жуда хавфли ҳисобланади.** Ўткирпанкреатитда сурункали панкреатит кўчаяди ва бу вақтда панкреатин қабул қилиш мумкин эмас. Бу ҳолат ошқозон ости безининг некроз хужайралари билан боғлиқ бўлиб, кўп бўлмаган миқдорда ошқозон ости соқи ажратади, яъни ҳазм қилиш бир оз қийинлашади ва қўшимча берилган панкреатин бемор ҳолатини ёмонлаштиради [8].

Сурункали гастритларда ҳам панкреатин тавсия этилиб, босқичма – босқич амалга оширилади. Бу беморларнинг ҳолатини яхшилаб қолмасдан, балки ошқозон ости соқининг ажралишини стимуллади [51].

Соғлом одамлар ҳам жудаям ёғли ва қийин ҳазм бўладиган овқат нисътемоқ қилишганларида бу препаратни қабул қилишлари мумкин бўлади [52].

**Панкреатит** (pancreatitis- греч. Pankreasitis–ошқозон ости бези) – ошқозон ости безининг яллиқланиши. Панкреатит ўткир ва сурункали турга бўлинади. Панкреатин таблетка шаклида ишлаб чиқарилади (3-расм).

**Ўткирпанкреатит**–ошқозон ости безининг ўткир яллиғланиш ва некротик шикастланиши ҳисобланади. Одатда, тез кучаяди ва қийин ўтади. Ўткир панкреатит катта миқдорда ўта ёғли овқат, асосан спиртли ичимликлар нисътемоқ қилинганида, ўткир холециститда ёки ўт пуфагида тош бўлганида, ошқозон ости безининг тромбоз ёки эмболия томирларида, баъзи бир ўткир интоксикацияда ва ҳақозаларда кузатилади. Бу ошқозон ости бези соқи таркибидаги протеолитик ферментлар ҳисобига соқир бўлади. Шунинг учун ҳам тез-тез спиртли ичимликлар ичиш, ўта ёғли овқатни меъёрдан ташқари кўп ейиш овқат ҳазм қилиш системасига оғирлик қилади ва турли хил касалликларни юзага келишига сабабчи бўлади.



**3-расм. Препаратни ишлаб чиқариш технологияси.**

3-расмда панкреатин препаратини таблетка ҳолида ишлаб чиқарувчи корхоналарнинг ишлаб чиқариш технологиясининг ташқи кўриниши келтирилган.

Сурункали панкреатит – ошқозон ости безининг сурункали яллиғланиши ҳисобланади. Бирламчи сурункали панкреатин яллиғланиш ошқозон ости бези содир бўлади, иккиламчи сурункали панкреатит эса бирламчининг ҳамроҳи бўлиб, ошқозон ости бези бошқа овқат ҳазм қилиш органларининг касалланиши ҳисобига келиб чиқади (масалан, холецистит, ошқозон ости бези яраси). Сурункали панкреатитнинг ривожланиш сабаби ва механизми ўткир панкреатит ҳисобига содир бўлади. Сурункали панкреатитни овқатланиш рационал режимга асосланганида, соғлом муҳит яратилганида, овқат ҳазм қилиш системаси касалликлари ўз вақтида даволанганида бартараф этиш мумкин [21, 23, 24, 27].

Шундай қилиб, панкреатитни халқ табобатида анъанавий тарзда ўтлар билан даволаш мумкин. Панкреатитни олдини олиш эса рационал режимга асосланган бўлади.

### 3. Қорамол ошқозон ости беџи таркибидаги ферментларнинг физик-кимёвий хусусиятлари

Қорамол ошқозон ости беџиферментлари яхши ўрганилганига қарамасдан, уларнинг тўлиқ катализлаш механизмида баъзи бир саволлар тушунарсизлигича қолиб кетмоқда, уларнинг таъсирини ҳеч қандай концепция билан изоҳлаб ёки бойитиб бўлмайди. Ферментларнинг механизми аниқ тушунарли бўлсада, лекин уларнинг спецификлигини кенглигини тушуниш бироз мушкул. Амилаза ферментини олсак, у асосан бир компонентли фермент бўлиб, молекуляр массаси жуда кичик (23-25кДа), уларнинг молекуласи бир томонлама суббирликлардан ташкил топган [40-41].

Адабиётлардаги маълумотларга қараганда рН муҳитини ва ҳарорат ферментлар фаоллигига ўз таъсирини кўрсатади ва ферментлар фаоллигини паст ҳароратда пасайтиради. Панкреатин липаза жудаям кислота таъсирига мойиллиги юқори ва рН 4.0 да инактивацияга учраши мумкин. Шунинг учун кислотага чидамли препаратлар ошқозон ости беџи касалликларини даволашда кенг ишлатилади. дан

Қорамол ошқозон ости беџидан олинган трипсиннингасосий хусусияти унинг изоэлектрик нуқтаси билан боғлиқ бўлиб,ўртача рН 10.5ни ташкил қилади. Баъзи бир ферментлар шундай хусусиятга эгаки, улар рН муҳитини ўзлари регуляция қилади. Худди шундай ферментлардан бири, ҳар хил химотрипсин и химотрипсиногенлардир [15-17].

Протеолитик ферментлар ҳам кислотали, паст кислотали, нейтрал, ишқорий ва паст ишқорий гуруҳларига бўлинади. Кислотали протеазалар фаоллиги максимум рН 1.7-3.0 да, паст кислоталилари рН 4.0-6.0 да, нейтрал протеазалар рН 6.5-7.5 да, паст ишқорийлилари рН 7.5-8.0 да, ишқорийлари эса рН муҳити 8.0-8.5 ва ундан юқори бўлган муҳитда ўз фаолликларини

намоён қилади. Масалан, трипсин 70-100 °С да иситилганда тўлик денатурацияга учрайди.

Реакция тезлигининг фермент миқдorigа боғлиқлиги график шаклида тўғри чизик кўринишида ифодаланади. Бундан шундай хулоса қилиш мумкин: организм хужайрасида шу фермент молекулалари сони бошқаларига нисбатан қанча кўп бўлса, унда шу фермент катализлайдиган кимёвий реакцияларнинг тезлиги ҳам шунча юқори бўлади. Агар бирор бир фермент миқдори кам бўлса (синтез бузилса), унда у катализлайдиган реакциялар тезлигини унга боғлиқ биокимёвий жараёнлар йўли чегаралайди [54-58].

Табийий стимуляция йўли билан ёки препаратлар ёрдамида фермент молекуласининг сонини оширилиши бузилган реакция тезлигини қайта тиклаш ёки ҳаёт фаолиятининг янги шароитларига зарурий биокимёвий реакцияларни мослаштириш имконини беради.

Шундай қилиб, ушбу бобда ошқозон ости беzi ферментларининг умумий тавсифи, қорамол ошқозон ости безидан олинган трипсиннингасосий хусусияти унинг изоэлектрик нуктаси билан боғлиқлиги,шунингдек, химотрипсин и химотрипсиноген каби баъзи бир ферментлар рН мухитини ўзлари регуляция қилиши ва унга ташқи омилларнинг таъсири ҳақида маълумотлар келтирилган. Бундан ташқари, протеолитик ферментларнинг ҳар хил рН мухитли бўлиши ва уларнинг фармацевтика саноатида ишлатилиши кабилар ёритилган.

## II. БОБ. ТАЖРИБАЛАР ВА УЛАРНИНГ МЕТОДИКАСИ

### 1. Комплекс ферментларни олиниши ва уларнинг фаоллигини аниқлаш

Ишни олиб боришда қорамол ошқозон ости безидан фойдаланилди. Олинган суспензиядаги ферментлар, яъни амилаза, протеаза ва липазаларнинг фаоллиги аниқланди. Намуна сифатида қорамол ошқозон ости бези 100 млдан 400 мл гача суспензияси ҳосил қилинди, яъни 100 грамм муздан эритилган қорамол ошқозон ости бези майда бўлақларга бўлинди ва дистилланган сувда гомогенизация қилинди. Гомогенизация 100, 200, 300 ва 400 мл бўлиб, олинган суспензияга ҳар хил 1:1, 1:2, 1:3 ва 1:4 нисбатларда изопропил спирти билан чўктирилди, ҳамда чўкмадаги ферментлар фаоллиги ҳам аниқланди.

Фермент фаоллигини аниқлаш усули амилolitik, протеolitik ва липolitik ферментлар комплексининг крахмални декстринларнинг ҳар хил массаларигача, казеинни аминокислоталаргача, пахта ёғини глицирин ва ёғ кислоталаригача парчаланиши асосида олиб борилади. Амилolitik фаоллик крахмални декстринларнинг ҳар хил массаларигача гидролизлаш хусусияти билан характерланади ва 1 грамм препаратда ферментларнинг бирлигини билдиради. Протеolitik ва липolitik ферментларнинг ҳам бирлиги худди амилolitik ферментларники кабидир.

Бир бирлик  $\alpha$ -амилазанинг фаоллиги ферментнинг оптимал шароитда ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), pH муҳити 6.5 да 10 дақиқа мобайнида 1 гр эрувчан крахмални декстринларнинг ҳар хил массаларигача гидролизлаш хусусияти билан характерланади.

Протеolitik фермент фаоллиги Ансон методи бўйича аниқланди. Ферментнинг фаоллик бирлиги деб 1%-ли казеинни ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH-4.5)

трихлоруксус кислотатада чўкмайдиган ҳолатдаги миқдорга олиб келиши ва бу миқдор 1 дақиқада 1 мкмоль тирозинга тўғри келиши қабул қилинган.

**Липаза ферментини фаоллигини аниқлаш усуллари.** Реагентлар сифатида сахароза, глюкоза, лактоза, крахмал, маккажўхори экстракти, ачитки автолизати, меласса, пахта ёғи, поливинил спирти, желатин, ош тузи, кальций карбонат, кальций хлорид, аммоний сульфат каби микро элементларидан фойдаланилди. Реагентларни «кимёвий тоза»-«хч» ёки «ЧДА»-«анализ учун тоза»лари ишлатилди. Махсус қўйилган тажрибаларда колбага қўйилган озуқа муҳитини ҳажмини тажрибаларда колбага қўйилган озуқа муҳитини ҳажмини тажриба мақсадига тегишли равишда ўзгартирилди.

**Ёғларни (субстратларини) стабил эмульсиясини тайёрлаш.** Ҳар хил ёғларни эмульсиясини сувли шаротда қўшимча стабилизация қилиш учун ультратовуш ёрдамида ишлов берилди. Бунинг учун 5 мл мМ ош тузини сувли эритмасига (рН-7,5), 100мкддан 300 мкл гача 20% ли дезоксихолат натрий эритмасини қўшдик (бу концентрация, сирт таранглиги модданинг (СТМ) оптимал концентрацияси ҳисобланади, чунки бу кўрсаткич махсус тажрибалар ўтказиш, яъни ферментатив фаолликни СТМ миқдорига боғлиқлигини ўрнатиш орқали аниқланган), ва унга 60-100 мкл пахта ёғи қўшилди. Аралашмага икки мартаба 10 дақиқадан ультратовуш билан ишлов берилди. Ультратовуш билан ишлов бериш оралиғида эмульсияни яхшилаб аралаштирдик. Ҳосил қилинган аралашмага 1% фенолфталиендан 1 томчи томизилиб пушти ранг ҳосил бўлгунига қадар 0,05 М КОН эритмаси билан титрланди [13-18].

## **2. Ферментларнинг баъзи бир физик-кимёвий хусусиятларини аниқлаш**

Ферментлар фаоллигини аниқлаш учун оптимал рН кўрсаткичи, 0.05 М ацетат буфериди (рН 3.5-5.5), 0.05 М фосфат буфериди (рН 6.0-8.0), 0.05 М  $\text{NaHCO}_3$  буфериди (рН 8.5-11.5) ҳарорат  $28^\circ\text{C}$  дан  $40^\circ\text{C}$  оралигида олиб борилди. Бунда 1% эрувчан крахмал ва 1% казеин ишлатилди.

Қорамол ошқозон ости безидан олинган ферментлар фаоллиги чўчқанинг ошқозон ости безидан олинган ферментлар фаоллиги ҳам таққослаб ўрганилди.

Шундай қилиб, қорамол ошқозон ости безидан ферментларни олиниши ва уларнинг фаоллигини, уларнинг баъзи бир физик-кимёвий хусусиятларини аниқлаш каби параметрлар аниқланди.

### III. БОБ. ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ МУҲОКАМАСИ

#### 1. Қорамол ошқозон ости безидан ферментларкомплексини ажратиб олиш

Ҳозирги вақтда овқат ҳазм қилиш системасида зарур ҳисобланган дори маҳсулотлари, шунингдек қорамол ошқозон ости безидан ажратилган ферментлар саноатнинг турли тармоқларида, асосан, ишлаб чиқаришнинг тиббиётда, фармацевтикада ва озиқ-овқат саноатларида ва ҳ.к. кенг қўлланилмоқда. Ҳайвон орган ва тўқималаридан ажратиб олинган фермент препаратларининг қўлланилиши ошқозон - ичак тракти билан касалланган беморлар учун кенг ишлатилади ва ушбу препаратга бўлган талабнинг ортишига сабаб бўлади. Бундан ташқари тоза ҳолда ажратиб олинган ферментлар ҳар хил жароҳатларни, кўйиш, яллиғланиш кабиларда кенг миқёсда фойдаланилади. Қорамол ошқозон ости безидан олинган ферментлар комплексидан ҳар хил таблеткалар, эмульсиялар, аэрозоллар ва протеолитик ферментлар асосида тез ҳазм бўладиган, яъни тез суриладиган дори воситалари тайёрланади. Шунинг учун ҳам ушбу препаратни ажратиш ва тозалаш жараёнига бўлган талаб юқори бўлади [43, 46].

Ҳеч кимга сир эмаски овқат ҳазм қилувчи ферментлар ошқозон ости беги ферментлари сусайганида уларнинг ўрнини тўлдирувчи восита сифатида, яъни овқатни парчаловчиҳар хил панкреатин препаратлари (мезим, креон, тризин, фестал) қўлланилади. Панкреатин сокининг асосий компонентлари – бу бикарбонат ишқорий муҳит, яъни ошқозондаги кислотали муҳитни, шунингдек ўн икки бармоқли ичак ва озиқ-овқатни парчаловчи ферментларни рН муҳитини 6–8 гача нейтраллайди ва овқатнинг асосий компонентларини майда бўлакчаларга парчалайди. Панкреатин ферментлар амилolitik (крахмални гидролизловчи), протеолитик

(оксилларни гидролизловчив), липолитик (ёғларни гидролизловчи) ҳамда нуклеотид (нуклеин кислоталарни гидролизловчи) қисмларга бўлинади ва исътемом қилинган овқат таркибидаги маҳсулотларни ўзига тегишли ферментлар осон ҳазм бўладиган майда бўлақларгача парчалаб беради. Худди шу каби қорамол ошқозон ости безидан панкреатин ферментларини олиниши ва улар фармацевтик ишлаб чиқаришда кенг ишлатилишига талаб ортиб бормоқда.

Қорамол ошқозон ости безидан, ҳайвон органларидан ва тўқималаридан олинган фермент препаратларининг тиббиёт ва фармацевтика саноатида қўлланилиши кўпчилик озиқ-овқат ва фармацевтика саноати ишлаб чиқаришларида, тозаланган ферментлар (амилаза, протеаза, липаза), углеводлар (глюкоза, мальтоза, изомальтоза), глюкоза-фруктозали сироплар ва олигасахарид-декстринлар олиш мақсадида, карантин қилинган қорамол ошқозон ости безидан фермент комплексларни ажратиб олиш, крахмални гидролитик парчалаш усуллари тақомиллаштириш жуда ҳам муҳим ҳисобланади.

Овқат ҳазм қилиш системасида зарур ҳисобланган дори маҳсулотлари:– мезим, фестал, тризинларнинг асосий таркибий қисми қорамол ошқозон ости безидан ажратиб олинган комплекс фермент препаратлари ҳисобланади. Қорамол ошқозон ости безининг асосий қисмларидан бири қорамол кристал трипсини (К.Ф. 3.4.4.4) биринчи марта Нортропом ва Кунитцем томонидан 1931 йилда ажратиб олинган.

**Панкреатин** – бу дори препарати бўлиб, таркиби ошқозон ости бези ферментларидан иборат, овқат ҳазм бўлишида иштирок этади. Шу билан бирга ошқозон-ичак тракти органларига овқат ҳазм қилувчи ферментлар секретияланишини ҳам таъминлайди. Бу препарат овқат ҳазм қилиш органлари касалланганида исътемом қилинади, яъни ёғли ва қийин парчаланадиган овқат танаввул қилинганида ҳам тавсия этилади (4-расм).



4-расм. Овқат ҳазм қилувчи панкреатин инструкцияси.

Расмда панкреатин препаратининг ташқи кўриниши келтирилган. Бу препарат чўчка ва қорамол ошқозон ости безидан олинади. Уларнинг таркиби бир хил бўлиб, амилаза крахмални гидролизловчи, протеаза оқсилларни гидролизловчи, липаза ёғларни гидролизловчи ферментлардан ташкил топган. Турли хил фармацевтик ташкилотларда панкреатин таблеткалар, капсулалар, биозим, вестал, гастенорм, зимет, креон, ликреаза, мезим, микразим, пангрол, панзим, панзинорм, панкреазим, панкреалипаза, панкреаль, панкреенорм, панкреон, панцитрат, пензитал, пролипаза, трифермент, фестал, энзистал, эрмиталькаби дрозелар кўринишида тез ҳазм бўладиган, яъни тез суриладиган дори воситалари сифатида ишлаб чиқарилади [60-70]. Бу эса исътемом қилинган овқат таркибидаги маҳсулотларни ўзига тегишли ферментлар осон ҳазм бўладиган майда бўлақларгача парчалаб беришини таъминлайди.

Панкреатин кўплаб овқат ҳазм қилиш органлари касалликларида қўлланилади:

- ошқозон ости безидан ажратиб олинган комплекс фермент препаратлари сурункали панкреатитда;
- кийин ҳазм бўладиган овқат исътемом қилинганида, ичаклар фаоллиги сусайганида;
- рентген ва ультра товуш текширувлари учун газ ҳосил бўлишини камайтириш мақсадида ва ҳ.к.

Панкреатин жуда кам ҳолларда ножўя таъсир кўрсатади, шунинг учун ҳам беморга қай тарзда шифокор тавсиясиз ушбу препаратни қабул қилиш мумкинлигини билиш лозим. Ошқозон-ичак трактида эса панкреатин дам бўлиш, кўнгил айнаши каби ҳолатларни юзага келтириши мумкин. Бундан ташқари катта дозалар қабул қилинганида тери қичиши, терлаши ва аллергия реакциялар бериши мумкин.

Шунинг учун ҳам ушбу препаратга бўлган талаб юқори эканлигини ва унинг жуда кам ҳолларда ножўя таъсир кўрсатишини инобатга олиб, қорамол ошқозон ости безидан панкреатин ферментларини олиш ва уларни фармацевтик ишлаб чиқаришга тавсия этиш учун маҳаллий хом-ашёлардан бири қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиб олиш мақсад қилиб олинди.

Илк тадқиқотларимиз маҳаллий хом-ашё қорамол ошқозон ости безида амилаза, протеаза ва липаза ферментларини ажратиб олиш ва уларнинг фаолликларини аниқлашга доир тажрибалар олиб борилди (1-жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, музлатилган қорамол ошқозон ости беги муздан эритилиб, суспензия ҳосил қилинди. Суспензияда ферментлар эркин таъсир этишини инобатга олиб, ҳар хил нисбатда суюлтирилди. Муздан эритилган қорамол ошқозон ости беги секин –секин гомогенезация қилиниб, олинган масса 1:1, 1:2, 1:3 ва 1:4 нисбатларда суюлтирилди ва уларнинг ҳар бирида амилаза, протеаза ва липаза ферментлари фаолликлари аниқланди.

**Қорамол ошқозон ости беzi ферментларини  
фаолликларини аниқлаш**

Суюлти-риш, мл	Ферментлар фаоллиги бир./ гр.		
	Амилаза	Протеаза	Липаза
1:1	3,7± 0,1	4,1± 0,2	0,2± 0,1
1:2	4,3± 0,2	4,6± 0,15	0,6± 0,25
1:3	3,8±0,15	3,9±0,25	0,3±0,2
1:4	2,5±0,05	2,6±0,1	0,2±0,15

Олинган натижа шуни кўрсатдики, қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллиги аниқланганда 1:2 нисбатда барча ферментлар амилаза – 4,3 бир./гр ни, протеаза – 4, 6 бир./гр ни, липаза эса 0,6 бир./гр юқори фаолликни намоён этди. 1:1 нисбатда ҳам ферментлар ўз фаолликларини кўрсатган бўлса, 1:3 ва 1:4 нисбатларида липаза ферменти деярли бир хил кўрсаткичга эга бўлди. Кейинги тадқиқотларимиш учун асосий объект 1:2 нисбатда суюлтирилган суспензия танлаб олинди.

Демак, қорамол ошқозон ости беzидан ферментлар комплексини ажратиб олиш, овқат ҳазм қилиш системаси касалликларини олдини олишда зарур ҳисобланган дори маҳсулотлари ишлаб чиқаришда, шунингдек ошқозон - ичак тракти билан касалланган беморлар учун кенг ишлатилади ва ушбу препаратга бўлган талабнинг ортишига сабаб бўлади.

## 2. Ферментлар комплексини тозалаш ва фаоллигини аниқлаш

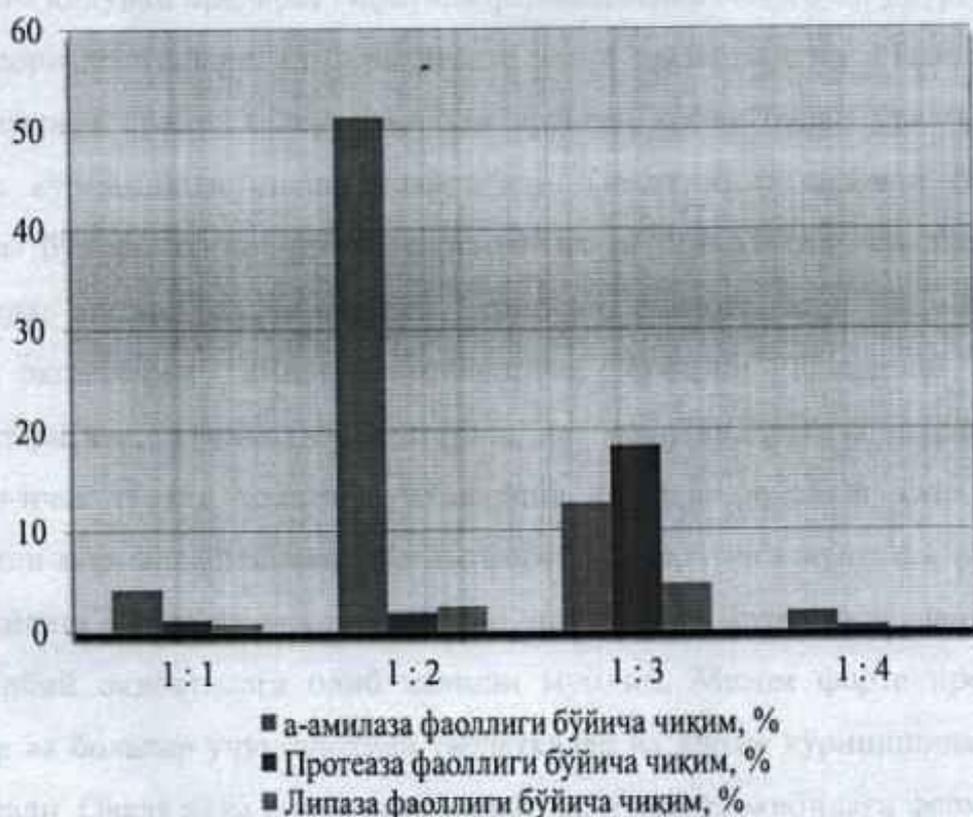
Ҳозирги вақтда фармацевтика саноатида ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиб олиш ва тозалашнинг юқори самарага эга усуллари мавжуд. Биринчи ўринда фермент оксилларини ажратиб олишда уларни бошқа балласт оксиллар ва ҳамроҳ ферментлардан тозалаб олиш тавсия этилади. Масалан, ошқозон ости безида учрайдиган нафаол оксиллар, углеводлар, эркин аминокислоталар ва бошқа моддалар киради. Ажратиб олинган ферментлар филтрланади, центрифуга қилинади ватурли хил органик кислоталарда (этил спирти, ацетон, изопропил спирти ёки уларнинг аралашмаларидан) экстракцияланади [51].

Адабиётларда қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиш ва тозалаш жараёнида турли хил табиий полисахаридлардан сорбентлар сифатида фойдаланилгани хақида маълумотлар келтирилган. Қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиб олинган ва тозаланган ферментлар тиббий панкреатин билан солиштирилади. Бундан мақсад маҳаллий хом-ашёлардан бири қорамол ошқозон ости безидан ажратилган ва тозаланган ферментлар комплекси қай даражада фаол эканлиги аниқланади. Агарда олинган натижалар тиббий панкреатин кўрсаткичларига яқин ёки ундан юқори бўлса, бундай ферментлар комплексини ишлаб чиқаришга тавсия этиш мумкин бўлади.

Саноатда ҳар доим ҳам юқори даражада тозаланган ферментлар ишлатилавермайди. Лекин тиббиёт ва фармацевтика саноатида юқори тозалikka эга, кристалл ҳолатда, таъсир этиш самараси юқори ва ишлаб чиқариш таннархи арзон бўлган фермент препаратларига талаб жуда кўп бўлади. Сўнгги йилларда турли ҳайвон орган ва тўқималаридан янги замонавий истиқболли усулларда тоза ҳолда олинган панкреатинларга талаб ортиб бормоқда. Кўплаб адабиётларда ҳайвон орган ва тўқималаридан

панкреатинни тоза ҳолда олишнинг турли арзон ва қулай усуллари келтириб ўтилган [LindenAetal., 2000, YuarFetal., 2003, WangLetal., 2006].

Навбатдаги тажрибаларимизда, қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиш ва тозалаш учун арзон ва самарали ҳисобланган органик чўктирувчилардан бири изопропил спирти билан ҳар хил нисбатларда чўктирилди (5расм). Юқорида энг фаол фаол ҳисобланган 1:2 нисбатдаги суспензия изопропил спирти билан 1:1, 1:2, 1:3 ва 1:4 нисбатларда чўктирилди ва ҳар бир чўкма фосфат буфериди эритилиб, ундаги амилаза, протеаза ва липаза ферментлари фаолликлари аниқланди.



**5-расм. Қорамол ошқозон ости бези ферментларини изопропил спирти билан ҳар хил нисбатларда чўктириш**

Расмдан кўриниб турибдики, изопропил спирти билан ҳар хил 1:1, 1:2, 1:3 ва 1:4 нисбатларда чўктирилганида, олинган натижалар кўра 1:2 нисбатда

$\alpha$ -амилаза фермент фаоллиги юқори натижани кўрсатган бўлса, 1:3 нисбатда эса протеаза ва липаза ферментлари ўзларининг юқори фаолликларини намоён қилди.

Қорамол ошқозон ости безидан олинган дори воситалари чўчқани ошқозон ости безидан олинган дори воситаларидан фаолликлик жиҳатидан био оз паст кўрсаткични намоён этсада, таннархи жиҳатидан эса жуда ҳам арзон препарат ҳисобланади. Овқат ҳазм қилувчи препаратларни чет элдан импорт ҳисобига эмас, балки маҳаллий хом-ашёлардан ҳам ажратиб олга бўлади. Чўчқани ошқозон ости безидан ажратиб олинган ва бугунги кунда овқат ҳазм қилувчи препарат сифатида фармацевтика саноатида ўз ўрнига эга бўлган дори воситаларидан бири мезим форте препаратидир. Мезим форте дори воситаси драже, капсула, ичакда эрувчан қобиқ билан ўралган ёпик таблетка кўринишида ишлаб чиқарилади. Овқат ҳазм қилувчи фермент воситаси бўлиб, протеолитик, аμιлолитик и липолитик таъсирга эга. Таркибида липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин ферментлари бўлиб, оқсилларни аминокислоталаргача, ёғларни глицерин ва ёғ кислоталаригача, крахмални декстрин ва моноқандларгача парчалайди, ошқозон-ичак тракти ҳолати функциясини яхшилайдди, овқат ҳазм қилиш жараёнини нормаллаштиради. Мезим форте препаратини мунтазам равишда қабул қилиш гиперсезувчанлик, ўткир панкреатит, сурункали панкреатит каби салбий оқибатларга олиб келиши мумкин. Мезим форте препарати катталар ва болалар учун алоҳида таблеткалар ва дроже кўринишида ишлаб чиқарилади. Овқат ҳазм қилувчи препаратлар ичида таркибидаги ферментлар фаоллиги бўйича мезим форте дунё бўйича етакчилик қилади. Мезим форте препарати асосан Германия ва Россия давлатларида ишлаб чиқарилади ва бошқа давлатларга импорт дори воситаси сифатида тарқатилади. Бошқа дори воситалари каби ушбу препаратнинг ҳам ўзига хос нојўя таъсири мавжуд бўлиб, бу дори воситаси ҳам ўткир ва сурункали панкреатитга олиб келиши

мумкин [47-53]. Куйида мезим фортенинг ташки кўриниши келтирилган (6-расм).



6-расм. Мезим® форте (Mezym® forte). Инструкция бўйича қўлланилиши, кўрсаткичлари, таркибива баҳоси, 3D-қадокда

6-расмда Мезим форте препаратининг ишлаб чиқариладиган ташки кўриниши келтирилган. Бу препарат асосан чўчка ошқозон ости безидан олинади. Унинг таркибихам крахмални гидролизловчи амилаза, оксилларни гидролизловчи протеаза ва ёғларни гидролизловчилипаза ферментларидан ташкил топган. Мезим форте препарати овқат ҳазм килувчи энг яхши препаратлардан бири ҳисобланади. Мезим 3500 бирлик липаза 4200 бирлик амилаза ва 250 бирлик протеаза сақлайди. Ёрдамчи моддалар сифатида микрокристалл целлюлоза, натрий карбоксиметилкрахмал, коллоидли кремний икки оксиди ва магний стеаратлар ҳисобланади. Қобиғи: тальк, гипромеллоза, азорубин буёғи (E122), симетикон эмульсияси 30% (курук

масса), полиакрилат дисперсияси 30% (курук масса), титан диоксиди (E171); макрогол 6000 бирликдан ташкил топган (2-жадвал).

2-жадвал

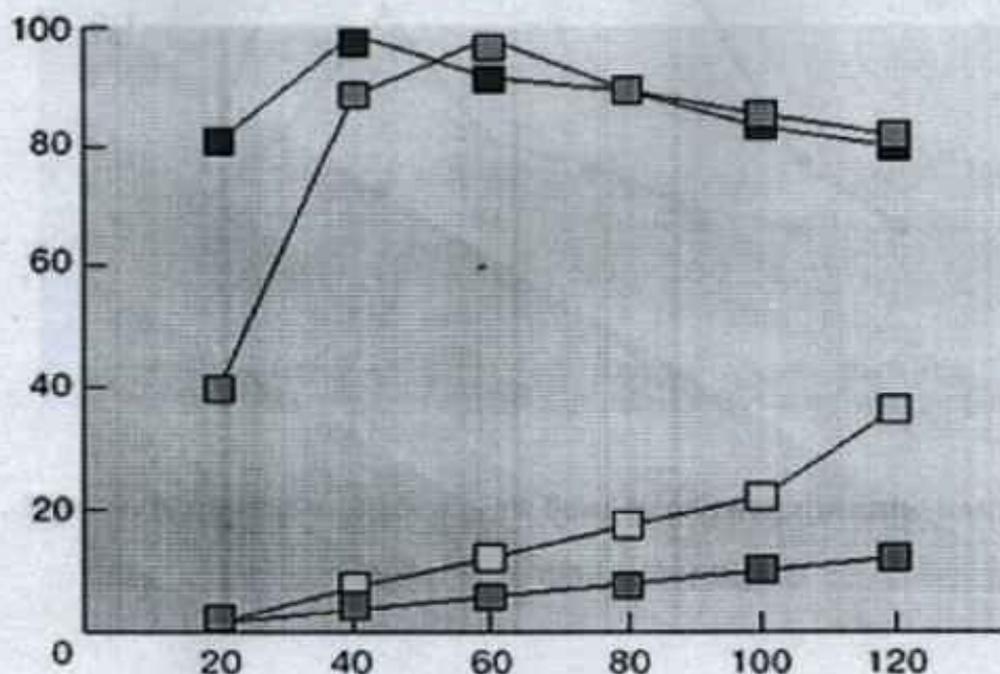
Таркиби	
липаза	3500 ЕД Ph.Eur.
амилаза	4200 ЕД Ph.Eur.
протеаза	250 ЕД Ph.Eur.
Ўрдамчи моддалар:микрoкpисталл целлюлоза, натрий карбоксиметилкрахмал, коллойдли кремний икки оксиди ва магний стеаратлар	
Қобиги: тальк, гипромеллоза, азорубин буёғи (E122), симетикон эмульсияси 30% (курук масса), полиакрилат дисперсияси 30% (курук масса), титан диоксиди (E171); макрогол 6000	

Мезим форте 2013 йилдан бошлаб **МЕЗИМ® ФОРТЕ 10 000 (MEZYM® FORTE 10 000)** кўринишда чиқа бошлади (7-расм).



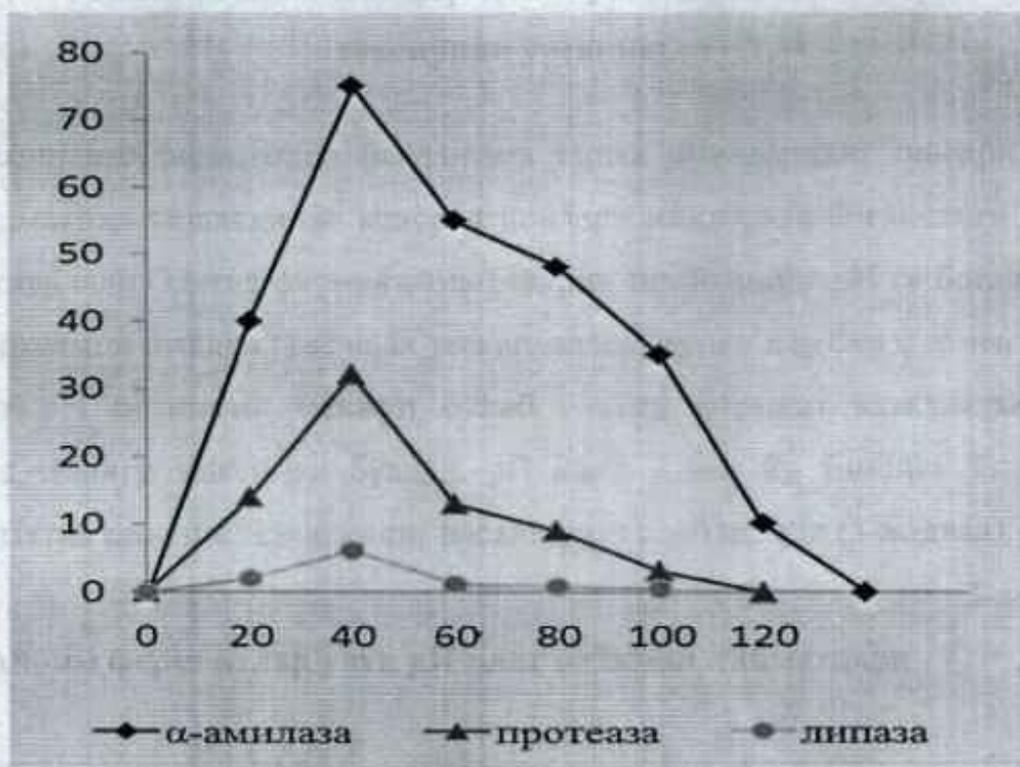
### 7-расм. МЕЗИМ® ФОРТЕ 10 000 нинг кўриниши.

Олинган фаол ферментлар комплекси мезим препарати таркибидаги ферментлар фаоллиги билан солиштирилди. Бунда анъанавий биокимёвий усуллардан фойдаланилди (8-9-расмлар).



### 8-расм. Мезим препаратининг вақтга нисбатан фаолликлари

Бунда, табиий панкреатиннинг вақтга нисбатан юқорида амилаза фаоллиги, ундан кейин протеаза, липаза ва энг кам миқдорда нуклеаза ферменти фаолликлари келтирилган. Углеводларни парчаловчи амилаза ва оксилларни парчаловчи протеаза ферментлари вақтга нисбатан энг фаол ферментлардан экан. Табiiё мезим таркибидаги ушбу ферментлар маҳаллий хом-ашёлардан бири ҳисобланган қорамол ошқозон ости безидан ажратиб олинган ферментлар фаолликлари билан солиштирилиб кўрилди.



**9-расм. Қорамол ошқозон ости беши ферментларининг вақтга нисбатан фаолликлари**

Маҳаллий хом-ашёлардан бири ҳисобланган қорамол ошқозон ости безидан ажратиб олинган ферментлар фаолликлари тиббий мезим препарати таркибидаги ферментлар фаоллиги билан солиштирилиб кўрилганда ҚООБ ферментлари фаолликлари мезим препаратига яқин эканлиги аниқланди.

Демак, бугунги кунда фармацевтика саноатида қорамол ошқозон ости безидан ферментлар комплексини ажратиб олиш ва тозалашнинг юқори самарага эга усуллари мавжуд. Худди шундай усулларида бири ҳосил қилинган аралашмадаги оксилларни тўплаш учун уларни органик чўктирувчилардан бири билан чўктириш лозим. Энг асосийси аралашма таркибидаги оксилларини ажратиб олишда уларни бошқа балласт оксиллар ва ҳамроҳ ферментлардан арзон ва қулай усуллар ёрдамида тозалаб олиш зарур ҳисобланади.

### 3. Олинган комплекс ферментларига ташқи омилларнинг таъсирини ўрганиш

Комплекс ферментлар фаоллигига ташқи омилларнинг таъсири катта бўлиб, реакция тезлигининг водород ионлари миқдорига боғлиқлиги билан тушунтирилади. Одатда ферментатив реакция тезлигининг рН га боғлиқлиги кўнгиноксимон шаклда графикда тасвирланади, чунки ҳар бир фермент учун ўзининг рН оптимуми мавжуд бўлиб, унда фермент катализлайдиган реакция тезлиги максимал бўлади. рН нинг у ёки бу томонга ўзгариши ферментатив реакция тезлигининг пасайишига олиб келади (3-жадвал).

3-жадвал

#### Айрим ферментлар учун рН нинг оптимал қийматлари

Фермент	Пепсин	Кислотали фосфатаза	Амилаза	Трипсин	Липаза
рН оптимуми	1,5-2,5	4,5-5,0	6,4-7,2	7,8	7,0-8,0

Келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, рН оптимуми турли хил ферментларда бир хил эмас, лекин ҳужайранинг кўпчилик ферментлари нейтралга яқинроқ, яъни рН нинг физиологик қийматларига мос келувчи рН оптимумига эга бўлади.

Ферментатив реакция тезлигининг рН га боғлиқлиги асосан фермент фаол марказидаги функционал гуруҳларининг ҳолати тўғрисида маълумот беради. Муҳит рН нинг ўзгариши субстратни боғлашда (контакт қисми) ёки уни ўзгартиришда (каталитик қисми) да иштирок этадиган фаол марказнинг аминокислоталар қолдиғидаги кислотали ва ишқорий гуруҳларининг ионлашишига таосир қилади. Кўпчилик субстратлар кислотали ва ишқорий гуруҳларга эга бўладилар, шу сабабли рН субстратнинг ионлашишига таъсир

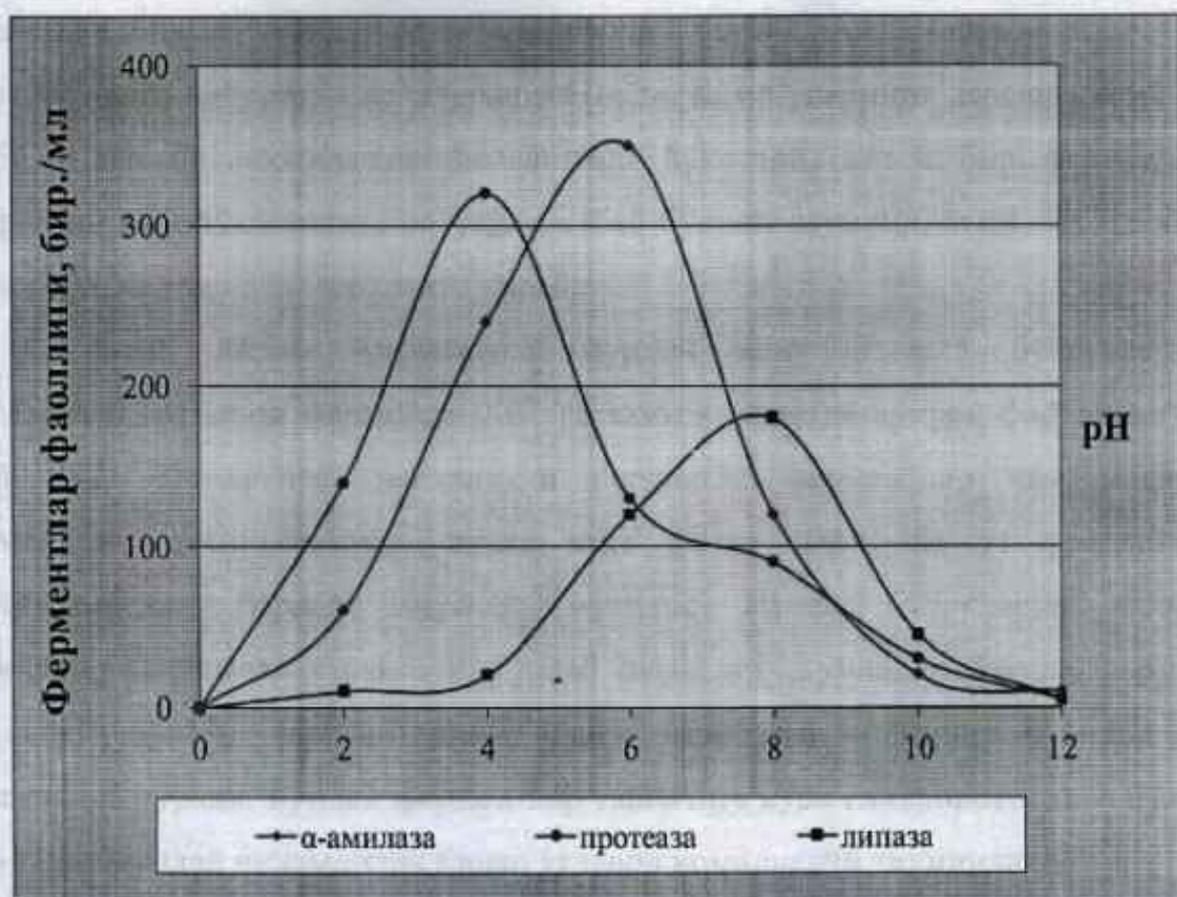
килади. Фермент субстратнинг ионлашган ва ионлашмаган шакли билан ҳам боғланади. Кўриниб турибдики, оптимал рН да фаол марказнинг функционал гуруҳларини реакцияга киришиш қобилияти кучлироқ бўлади, субстрат ҳам ферментнинг бу гуруҳлари билан боғланишга қулай шаклда бўлади.

Ферментатив реакцияларнинг рН га боғлиқлиги амалий аҳамиятга эга. Аввало ферментнинг фаоллигини аниқлаш шу фермент учун оптимал бўлган рН да ўтказилиши керак. Бунинг учун зарурий рНқийматига эга бўлган буфер эритмаси танланади.

Физиологик шароитда рНқиймати деярли ўзгармайди, лекин хужайранинг маълум бир қисмида рН ўзгариши мумкин. Масалан, мускулларнинг жадал ишлаши натижасида сут кислотаси тўпланади, қиска вақт ичида мускул хужайрасида рН нинг кислотали томонга ўзгариши ферментатив реакция тезлигини ҳам ўзгартиради.

Ҳар бир фермент учун рН оптимумини билиш амалий тиббиёт учун жуда муҳим. Масалан, пепсин ошқозонда оксилларни фаол гидролизлаши учун кучли кислотали муҳит талаб этилади. Шу сабабли фаоллиги бузилган эндоген пепсиннинг бузилган фаоллигини тиклаш учун кислотали моддаларни қабул қилиш керак бўлади. Пепсин препарати керакли рН муҳитни ҳосил қилиши учун хлорид кислотаси билан бирга қабул қилинади.

Қорамол ошқозон ости беги таркибидаги ферментлар фаоллигига рН муҳитининг таъсири рН муҳити 2 дан рН муҳити 12 гача бўлган ораликда ўрганилди (10-расм). Расмдан кўриниб турибдики ферментлар ҳар хил рН муҳитларида ўз фаолликларини намоён қилди. Бунда амилаза ферменти рН 6.0-6.5 муҳитда юқори фаолликни кўрсатган бўлса, протеаза ферменти фаоллиги рН муҳити 4.0 да юқори эканлиги маълум бўлди, липаза ферменти эса рН муҳити 7.5-8.0 да энг яхши кўрсаткични кўрсатди. Натижага кўра амилаза ферменти 300-350 бирликни, протеаза ферменти 280-320 бирликни, липаза ферменти эса 150-180 бирлик фаолликларни намоён қилди.



**Рис.10. Қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллигига рН мухитининг таъсири**

Шунингдек ферментатив реакция тезлигига ҳарорат ҳам таъсир қилади. Мухит ҳарорати ошиб бориши билан ферментатив реакция тезлиги ҳам ошиб боради, бирор бир оптимал ҳароратда максимум нуқтага етади ва шундан сўнг нолга қараб пасая боради. Кимёвий реакциялар учун қонда мавжуд бўлиб, унга асосан ҳарорат  $10^{\circ}\text{C}$  га ошганда реакция тезлиги 2-3 мартага ошади. Ферментатив реакциялар учун бу коэффициент пастроқ бўлиб, ҳарорат ҳар  $10^{\circ}\text{C}$  га ошганда реакция тезлиги 2 мартага ёки ундан ҳам камроққа ошади. Ферментатив реакция тезлигининг маълум бир нуқтадан кейин нолга томон пасайиши ферментнинг денатурацияси тўғрисида гувоҳлик беради. Кўпчилик фермент учун  $20-40^{\circ}\text{C}$  оралигидаги ҳарорат оптимал ҳисобланади. Ферментларнинг ҳароратга чидамсизлиги уларнинг

оксил табиатли тузилишга эга эканлигига боғлиқ. Айрим ферментлар  $40^{\circ}\text{C}$  атрофидаги ҳароратда денатурацияланади, аммо уларнинг асосий қисми  $40-50^{\circ}\text{C}$  дан ортиқҳароратда фаоллигини йўқотади. Баъзи бир ферментлар фаоллигини йўқолишига совуқхам сабаб бўлиши мумкин, яъни  $0^{\circ}\text{C}$  га яқин ҳароратда улар денатурацияга учрайди.

Аммо айрим ферментлар бундай қонуниятларга бўйсунмайди. Масалан, каталаза ферменти  $0^{\circ}\text{C}$  га яқин ҳароратда кўпроқ фаолликка эга бўлади. Шунингдек, иссиқликка бардошли ферментлар ҳам мавжуд. Масалан, аденилаткиназа қисқа вақт ичида  $100^{\circ}\text{C}$  да ўз фаоллигини йўқотмасдан бардош бериши мумкин. Иссиқ булоқларда яшовчи микроорганизмлар таркибида кўплаб оксиллар, жумладан ферментлар ҳам мавжуд бўлиб, улар ўзларининг юқори ҳароратга чидамлилиги билан ҳам ажралиб туради. Бундай ферментлар табиатига кўра гликопротеидлар бўлиб, уларни бундай чидамlilik билан углевод компоненти таъминлайди.

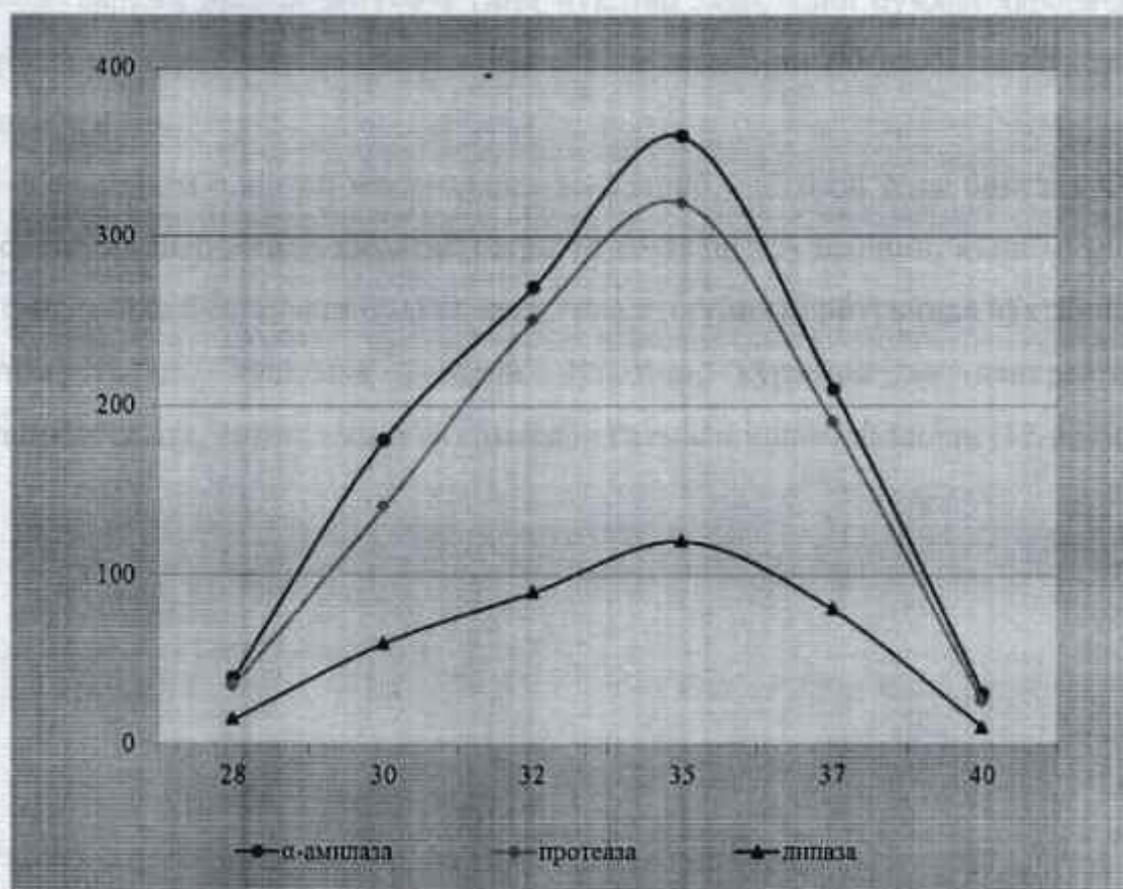
Фермент фаоллигига ҳароратнинг таъсири ҳаётий фаолият жараёнларини тушуниш учун жуда муҳим. Ҳарорат пасайиши билан айрим ҳайвонлар уйку ёки анабиоз ҳолатига ўтади. Бундай ҳолатларда ферментатив реакциялар тезлиги секинлашиб, организмда тўпланган озик моддалар сарфини ва хужайра функциясининг фаоллигини пасайтиришни таъминлайди. Тананинг исиши ферментатив реакцияларнинг боришини тезлаштиради ва ҳайвон организмни фаол ҳолатга қайтаради.

Организмни сунъий совутиш **гибернация** деб аталиб, клиникада жаррохлик операцияларини ўтказишда қўлланилади. Тананинг совутилиши ферментатив реакцияларнинг тезлигини пасайтиради ва бу билан моддаларнинг сарфланиши ҳамда организм хужайраларининг яшовчанлик қобилиятини узоқроқ сақлаш имконини беради.

Тана ҳароратининг ошиши (безгак ҳолати), масалан, юқумли касалликларда ферментлар томонидан катализланадиган биокимёвий реакцияларни тезлаштиради. Тана ҳароратининг ҳар бир градусга

кўтарилиши реакция тезлигини тахминан 20% га оширади. Бундан ташқари 40°C атрофидаги ҳароратда иссиққа чидамсиз ферментлар денатурацияланиб, биокимёвий жараёнларнинг табиий цўлларини издан чиқариши мумкин. Шунинг учун озик-овқат маҳсулотлари музлаткичларда сақланади ва бу билан ўзларининг ҳамда микроорганизмларнинг ферментларининг фаоллиги пасайтирилади [13-16].

Навбатдаги тажрибада қорамол ошқозон ости бези таркибидаги ферментлар фаоллигига ҳароратнинг 28 °C дан 40 °C гача бўлган оралиқларида аниқланди (11-расм).



**Рис. 11. Қорамол ошқозон ости бези таркибидаги ферментлар фаоллигига ҳароратнинг таъсири**

Қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллигига ҳароратнинг таъсири 28°C дан 40°C гача бўлган ораликда текширилганда, олинган натижалар шуни кўрсатдики, қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги деярли барча ферментлар фаоллиги 35 °C – 36 °C ларда ўзларининг юқори фаолликларини кўрсатди. Қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллиги 37 °C дан бошлаб пасайиши кузатилди.

Демак, қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллиги асосан 35 °C – 36 °C ларда максимал фаоллик билан таъсир килиш имкониятларига эга экан. Ферментлар фаолликлари 40°C га келиб, фаолликларини деярли 90-100% тини йўқотар экан, яъни бундай ҳароратда ферментлар фаолликлари деярли ишлаш принципини 90-100% га йўқотар экан.

Юқоридаги олинган натижаларга асосланиб, ошқозон ости безидан ФК лаборатория шароитида ажратиб олиш ва тозалаш усулларини, яъни муздан эритиш, майда бўлақларга бўлиш, филтрлаш, органик эритувчида чўктириш, центрифугалаш, қўшимча ёғларни йўқотиш, қуритиш ва панкреатин олишнинг содда, арзон, қулай ва самарали схемаси ишлаб чиқилди (12-расм).

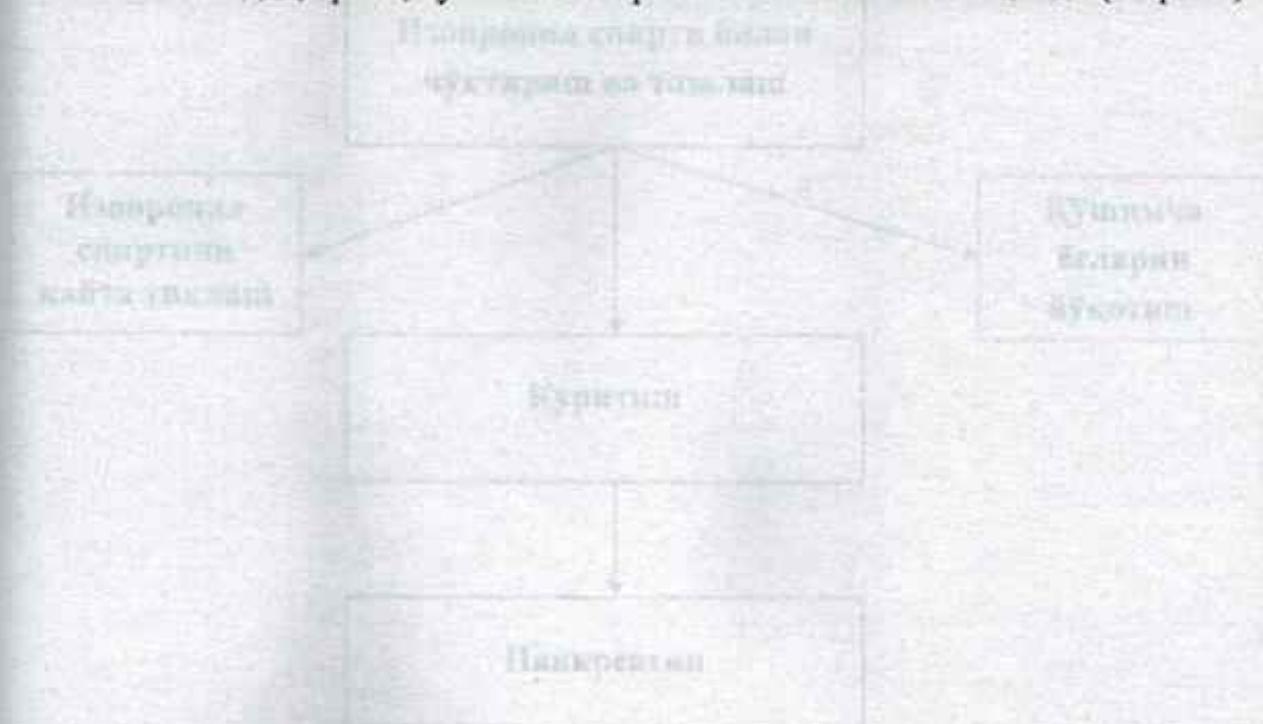
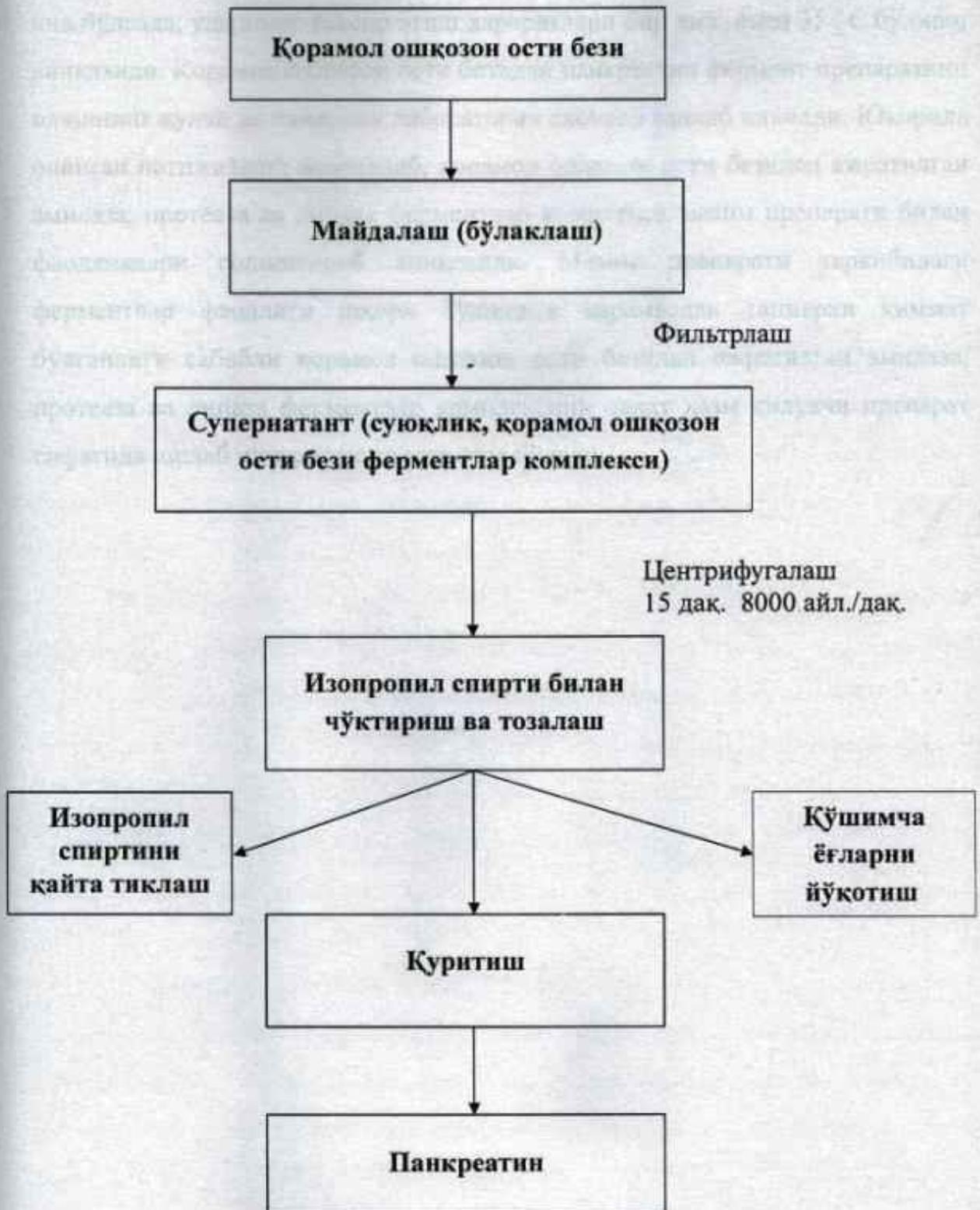


Рис.12.Лаборатория шаронтида қорамол ошқозон ости безидан фермент олиш технологиясининг схемаси



Шундай қилиб, қорамол ошқозон ости безидан ажратилган амилаза, протеаза ва липаза ферментлар комплексига ташқи омиллардан рН муҳити ва ҳароратнинг таъсирлари ўрганилди. рН муҳити ҳар хил ферментлар учун ҳар хил бўлсада, уларнинг таъсир этиш ҳароратлари бир хил, яъни 35 °С бўлиши аниқланди. Қорамол ошқозон ости безидан панкреатин фермент препаратини олишнинг қулай ва самарали лаборатория схемаси ишлаб чиқилди. Юқорида олинган натижаларга асосланиб, қорамол ошқозон ости безидан ажратилган амилаза, протеаза ва липаза ферментлар комплекси мезим препарати билан фаолликлари солиштириб аниқланди. Мезим препарати таркибидаги ферментлар фаоллиги юқори бўлишига қарамадан таннархи қиммат бўлганлиги сабабли қорамол ошқозон ости безидан ажратилган амилаза, протеаза ва липаза ферментлар комплексини овқат ҳазм қилувчи препарат сифатида ишлаб чиқаришга тавсия этса бўлади.

## ХУЛОСА

Бугунги кунда Республикамизда ҳам маҳаллий хом-ашёлардан қиматбаҳо дори воситаларини олиш, тозалаш ва ишлаб чиқаришга тадбиқ этиш, тиббий синовлардан муваффақиятли ўтиши ҳисобига дори саноати ривожланиб бормоқда. Давлатимиз раҳбари томонидан соғлиқни сақлашга доир бир қатор қабул қилинган қарорлари ҳам аҳолини маҳаллий хом-ашё ва дори-дармон билан таъминлашни талаб қилади. Мамлакатимизда нотўғри овқатланиш туфайли юзага келаётган ошқозон - ичак тракти билан касалланган беморлар сонининг ортиб бораётганлиги овқат ҳазм қилувчи дори воситаларига бўлган талабнинг юқорилигидан далолат беради. Бундай дори воситаси ФК панкреатин бўлиб, панкреатин ферментлар амилolitik (крахмални гидролизловчи), протеолитик (оқсилларни гидролизловчи), липолитик (ёғларни гидролизловчи) ва нуклеотид (нуклеин кислоталарни гидролизловчи) қисмларга бўлинади.

Республикамизда қорамол ошқозон ости безидан панкреатин ферментларини олинишига бўлган қизиқиш ортди ва уларни фармацевтик ишлаб чиқаришда амалий вазифаларни ечиш имкониятлари очиб бермоқда. Қорамол ошқозон ости безидан, ҳайвон органларидан ва тўқималаридан олинган фермент препаратларининг озиқ-овқат, тиббиёт ва фармацевтика саноатида қўлланилиши ва ишлаб чиқарилиши учун улардан ажратиб олинган ФК ишлаб чиқаришдаги худди шундай дори воситаси билан таққослаб ўрганилди.

Шунингдек, ошқозон ости безидан ФК лаборатория шароитида ажратиб олиш ва тозалаш усулларининг содда, арзон, қулай ва самарали схемаси ишлаб чиқилди. Ферментларга ташқи омиллардан рН муҳити ва ҳарорат таъсири, мезим препарати билан вақтга нисбатан ферментлар фаоллиги таққослаб ўрганилди.

Ҳар бир фермент учун рН оптимумини билиш амалий тиббиёт учун жуда муҳим бўлганлиги сабабли қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментлар фаоллигига рН муҳитининг таъсири рН муҳити 2 дан рН муҳити 12 гача бўлган ораликда ўрганилганда, амилаза ферменти рН 6.0-6.5 муҳитда юқори фаолликни, протеаза ферменти фаоллиги рН муҳити 4.0 да, липаза ферменти эса рН муҳити 7.5-8.0 да энг яхши кўрсаткични кўрсатди. Натижага кўра амилаза ферменти 300-350 бирликни, протеаза ферменти 280-320 бирликни, липаза ферменти эса 150-180 бирлик фаолликларни намоён қилди.

Бундан кўриниб турибдики, маҳаллий хом-ашёлардан бири қорамол ошқозон ости беzi таркибидаги ферментларни ажратиб, тозалаб, сан-гигиена синовларидан ўтказилгандан кейин ишлаб чиқаришга тавсия қилиш мумкин.

Шунга кўра кўйидагича хулоса қилинди:

1. Қорамол ошқозон ости беzини умумий ферментлар фаоллиги 200 мл суялтирилганда юқори натижани кўрсатди.
2. Қорамол ошқозон ости беzi ферментлар фаоллигига ташқи омилларнинг таъсири ўрганилди (рН муҳити, харорат), бунда  $\alpha$ -амилаза рН муҳити 6.5 да, протеаза 4.5 да ва липаза 7.5 да, барча ферментларнинг фаоллиги эса  $35^{\circ}\text{C}$  да юқори эканлигини кўрсатди.
3. Қорамол ошқозон ости беzидан фермент олиш технологиясининг қулай ва самарали схемаси ишлаб чиқилди.

## АДАБИЁТЛАР РЎЙҲАТИ

### I. Ўзбекистон Республикаси қонуnlари.

1. Закон Республики Узбекистан «О лекарственных средствах и фармацевтической деятельности» №415-и от 25.04. 1997г.
2. Ўзбекистон Республикаси “Хусусий корхоналар тўғрисида”ги Қонуни. 11 декабр 2003 йил (Ўзгартириш ва қўшимчалар билан).
3. Ўзбекистон Республикасининг “Кадрлар тайёрлаш миллий дастури” / Баркамол авлод- Ўзбекистон тараққиётининг пойдевори. –Т.: Шарқ нашриёт- матбаа концерни, 1997. 31-61 б.
4. Ўзбекистон Республикасининг “Таълим тўғрисида”ги Қонуни / Баркамол авлод- Ўзбекистон тараққиётининг пойдевори. –Т.: Шарқ нашриёт- матбаа концерни, 1997. 20-29 б.

### II. Ўзбекистон Республикаси Президенти фармонлари ва қарорлари, Вазирлар Маҳкамасининг қарорлари.

5. Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг қарори. Ўзбекистон Республикаси фармацевтика саноати («ЎЗФАРМСАНОАТ») давлат акционерлик концернининг уставини тасдиқлаш ҳақида. Вазирлар Маҳкамасининг 1993 йил 11 ноябрдаги 542-сон қарори.

### III. Ўзбекистон Республикаси Президенти И.А.Каримовнинг асарлари.

6. Каримов И. А. «Ўзбекистон мустақилликка эришиш оstonасида» («Узбекистан на пороге достижения независимости») Т., 2011 г.
7. Каримов И. А. «Наша высшая цель - независимость и процветание родины, свобода и благополучие народа» Т., 2000г. 511 с.
8. Каримов И.А. “Юксак маънавият енгилмас куч”. Тошкент. “Маънавият” 2008-йил.

#### IV. Асосий адабиётлар

9. Бертрам Г. Базисная клиническая фармакология / Г. Бертрам, Гатцунг -М.: Бином, СПб.: Невский Диалект, 1998. - Т. 1. - 609 с.; - Т. 2. - 669 с.
10. Биотехнология: Учебное пособие для вузов / Под ред. Н.С. Егорова. - М.: 1987.
11. Виестур У.Э., Кузнецов А.М., Савеньков В.В. Системы ферментации. - Рига: Зинатне, 1986. - С. 367.
12. Васканын И.А., Мельникова В.А. Процессы культивирования. - М.: 1987. Вудворд Дж. Имобилизованные клетки и ферменты: Пер. с англ. - М.: Мир, 1988.-215 с.
13. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. М.: Агропромиздат, 1987. - С. 335.
14. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология / Б. Глик, Дж. Пастернак. - М., Мир, 2002. - 589 с.
15. Государственный реестр лекарственных средств / Под ред. А.В. Катлинского и др. - М., 2002. - Т. 1.- 1316с.
16. Дзегиленко Н.Б., Властгина ЕМ. Тромболитики и антикоагулянты, получаемые методом биотехнологии за рубежом. Обзорная информация. Хим.-фарм. пром.-М., 1989.-Вып. 2.-43с.
17. Долинов К.Е. Основы технологии сухих биопрепаратов. - М., 1969. - 170 с. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. - М.: Изд-во МГУ, 1994.-512 с.
18. Зорин И.А. Получение препаратов 3-макроглобулина с заданными свойствами / Н.А. Зорин, Р.М. Зорина, В.Н. Зорина // Гематология и трансфузиология. - 2000. - Т. 45. - № 5. - С. 20-21.
19. Качура В.И. Способ высушивания молочнокислых бактерий // Виноделие и виноградарство СССР. - 1985. - № 2. - С. 49-50.
20. Коваленко Н.К., Касумова С.А. и др. Использование селекционированных штаммов молочнокислых бактерий для получения лечебно-

- профилактических продуктов //Микробиол. журн.- 1990. -№ 8. - С, 45-49.
- 21.Лобанюк А.Г. Биотехнология микробных ферментов / А.Г. Лобанюк, Н.И. Астапович, Р.В. Михайлова. - Минск: Наука и техника, 1989. - 205 с.
- 22.Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1993. Т. 2. -С. 63-95.
- 23.Машковский М. Д. Лекарственные средства (15 - издание, переработанное, исправленное и дополненное). Москва., «Новая волна»,2005. -С. 116.
- 24.Михайлов И.Б. Клиническая фармакология / И.Б. Михайлов. - СПб., 1998. -473с.
- 25.Мосолов В.В., Протеолитические ферменты, Изд-во «Наука», Москва, 1971, стр. 11-95.
- 26.Навашин С.М., Сазыкин Ю.О. Перспективы современной биотехнологии в области антибиотиков. Биотехнология / Под ред. А.А. Баева. - М.: Наука, 1984.-309 с.
27. Навашин СМ. Отечественному пенициллину 50 лет: история и прогнозы // Антибиотики и химиотерапия, - 1994. -Т, 39. -№ 1. -С. 3.
- 28.Н.Х.Туксанова., Нормуродова К.Т., Н.И.Бозоров. Протеолитическая активность ферментного комплекса поджелудочной железы крупного рогатого скота.Фармацевтический журнал. №1. 2013, стр. 59-62.
- 29.Основы молекулярной медицины: В 2-х т. / Под ред. Дж. Джеймсона: Пер.с англ. - М.: Мир, 2002. - т. 1. - 444 с.; Т. 2. - 346 с.
- 30.Петров В.Ф., Сафонова Г.М. Получение природных биологически активных препаратов - новое направление исследований НПО «Биомед» // Микробиология. - 1998. - X» 2. - С. 95-97.
- 31.Панкреатин (Pancreatin): инструкция, применение и формула(недоступная ссылка — история). rlsnet.ru. Проверено 19 марта 2012. Архивировано из первоисточника 12 февраля 2009.

32. Прометная технология лекарств: В 2-х т. / Под ред. В.И. Чуешова. - Харьков: НФАУ, МТК-книга, 2002. -Т. 1. - 557 с.; Т. 2. -714 с.
33. Саблин О.А., Бутенко Е.В. Ферментные препараты в гастроэнтерологии // Consilium-Medicum. — 2004. — Том 6. №1, Гастроэнтерология.
34. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. - М., 2000. - Т. 1,2.
35. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды: Пер. с англ. / А. Сассон. -М.:Мир, 1987.-410 с.
36. Сингер М., Берг П. Гены и геномы: В 2-х т.: Пер с англ. - М.: Мир, 2002. - Т. 1,2.
37. Сорокулова И.Б., Белявская В.А. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования в медицине и ветеринарии. // Вест. Рос. АМН. -1997.-№3.-С. 17-19.
38. Современная микробиология: В 2-х т. / Под ред. Г. Шлегеля: Пер. с англ. - М.:Мир, 2002.-Т. 1,2.
39. Технология лекарственных форм: В 2-х т. / Под ред. Т.С. Кондратьевой, Л.А. Ивановой. - М.: Медицина, 1991. - Т. 1. - 496 с.; Т. 2. - 544 с.

#### V. Кўшимча адабиётлар:

40. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия: Учебник / Под ред. акад. АМН СССР С. С. Дебова.— 2-е изд., перераб. и доп.— М.: Медицина,— 1990.— 528 с., С 99-102.
41. Волькенштейн М. В., Догондзе Р. Р., Мадумаров А. К., Урушадзе З. Д., Харкац Ю. И. К теории ферментативного катализа.- Молекулярная Биология, т. 6, вып. 3, 1972, ст. 431—439  
Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология: Учебники и учеб.пособия для вўсш.учеб.заведений / М.: Агропромиздат., 1987.-368 с.

42. Прист Ф. Внеклеточные ферменты микроорганизмов. - Москва: Мир, 1987. - С. 117.
43. Типовые тестовые задания для итоговой государственной аттестации выпускников высших медицинских и фармацевтических учебных заведений по специальности 040500 • фармация / Под ред. А.П. Арзамасцева, П.Ф. Литвицкого. - М.: ГОУ ВУНЦМЦ МЗ РФ, 2004. - 203 с.
44. Тюрин М.В. Антибиотики, и микроэкология человека и животных. - М., 1988.-С. 175-178.
45. Фармацевтическая микробиология / В.А. Галынкин, Н.А. Закипа, В.И. Кочеровец, Т.С. Потехина. - М.: Арнебия, 2003. - 252 с.
46. Шевелёва С.А. Антибиотики в продуктах питания. Новые аспекты проблемы // Вопросы питания. - 1994. - № 4. - С, 23-28.
47. Фогарти В.М. Микробные ферменты и биотехнология. - Москва: Агропромиздат, 1986. - С. 318.
48. Bairoch A. The ENZYME database in 2000 *Nucleic Acids Res* 28:304-305(2000).
49. Urushadze Z. About a Real Conceptual Framework for Enzyme Catalysis.- *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 173, No 2, Tbilisi, 2006, pp. 421—424.
50. Fischer E, «Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme» *Ber. Dt. Chem. Ges.* 1894 v27, 2985—2993.
51. Диксон, М. Ферменты / М. Диксон, Э. Узбб. — В 3-х т. — Пер. с англ. — Т.1-2. — М.: Мир, 1982. — 808 с.
52. Koshland D. *The Enzymes*, V. I, Ch. 7. New York, Acad. Press, 1959.
53. Urushadze Z. About a Real Conceptual Framework for Enzyme Catalysis.- *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 173, No 2, 2006, 421—424.

#### VI. Даврий нашрлар, статистик тўпламлар ва хисоботлар:

54. Жеребцов Н.А., Корнеева О.С., Тертычная Т.Н. О механизме каталитического действия карбогидраз // Прикл. биохимия и микробиология. Москва, 1999. - № 2 (35). - С.123-132.

55. Жеребцов Н.А., Руадзе И.Д., Яковлев А.Н. О механизме кислотного и ферментативного гидролиза крахмала // Прикл. биохимия и микробиология. Москва, 1995. - № 6 (31). - С. 599-603.
56. Ключникова Л.В., Блинова И.Ю. Ферментные технологии-будущее масложировой промышленности // Масло-жировая промышленность, 2006. - №4. - С. 30-31.
57. Павлова И.Н., Кичакова Н.А., Захарова И.Я. // Методы получения, анализа и применения ферментов. Всесоюз. конф.: Тез. докл. -Рига, 1990. - С. 34.
58. Рахимов М.М., Хасанов Х.Т. Очистка кислых протеиназ биоспецифической хроматографией // Биотехнология.- Москва, 1989, - № 2 (5). - С. 189-193.
59. Фролова Г.М., Сильченко А.С., Пивкин М.В., В.В. Михалков // Прикл. биохимия и микробиология. - Москва, 2002. - № 2 (38). - С. 155-160.
60. Шкуматов В.М., Рудой А.Л., Овсянко С.Л., Фролова Н.С., Царенков В.М., Петров П.Т., Босенко А.М. Химические проблемы создания новых материалов и технологий // Сборник статей к 20-летию НИИФХП БГУ / НИИ физико-химические проблемы.- Минск. 1998. – С. 56-59.
61. Marc J.E.C. van der Maarel <sup>a,b,d,\*</sup>, Bart van der Veen <sup>a,d</sup>, Joost C.M. Uitdehaag <sup>c,d</sup>, Hans Leemhuis <sup>a</sup>, L. Dilkhuizen <sup>a,d</sup>. Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family. J. Biotechnol., 2002, v. 94, p. 137-155.
62. Masayuki Kagawa, Zui Fujimoto, Mitsuru Momma, Kenji Takase, and Hiroshi Mizuno\*. Crystal Structure of *Bacillus subtilis*  $\alpha$ -Amylase in Complex with Acarbose. Journal of Bacteriology, Dec. 2003, p. 6981–6984 Vol. 185, No. 23 0021-9193/03/\$08.00\_0 DOI: 10.1128/JB.185.23.6981–6984.2003.
63. Wellingtona Cristina Almeida do Nascimento; MeireLelisLeal Martins February 03, 2003.

## VII. Интернет сайтлари:

64. <http://www.ihfz.ru/products/element/trypsin>.
65. <http://www.golkom.ru/kme/19/3-243-1-7>.
66. <http://www.lekhim.ua/products/trypsin>.
67. <http://medicalplanet.su/farmacia/329>.
68. <http://medicalplanet.su/farmacia/329>, Yuar Fetal., 2003.
69. <http://medicalplanet.su/farmacia/329>, Wang Letal., 2006.
70. WWW. Google.ru.

## ИЛОВА

### ЧОП ЭТИЛГАН ИЛМИЙ ИШЛАР

1. Н.Р.Джалилова., К.Т.Нормуродова. Получение ферментного комплекса поджелудочной железы крупного рогатого скота // Сборник тезисов докладов «РЕСПУБЛИКАНСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ» посвященной 70-летию Академии наук Республики Узбекистан. 26 декабря, 2013 г. Стр. 39.
2. Н.Р.Джалилова., Қ.Т.Нормуродова. Қорамол ошқозон ости беги фермент комплексининг фаоллигини ўрганиш // Инфекция, иммунитет ва фармакология. № 3. ,Ташкент, 2014.

## ҚОРАМОЛ ОШҚОЗОН ОСТИ БЕЗИ ФЕРМЕНТ КОМПЛЕКСИНИНГ ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ

*Тошкент Фармацевтика Институтини, 100015, Тошкент ш., Ойбек кўчаси, 45.*

*\*ЎзР ФА Микробиология институтини, 100128, Тошкент ш., А.Қодирий кўчаси, 76,  
факс (+99871)-2563648, e-mail: [dj.nigina87-farm@mail.ru](mailto:dj.nigina87-farm@mail.ru)*

Қорамол ошқозон ости беzi хужайралари суспензиясининг фермент комплекси фаоллиги ўрганилди. Фермент комплекси энг юкори фаолликни 35 °С ва рН 6.0 да намоён қилиши кўрсатилди. Қорамол ошқозон ости беzi хужайралари суспензиясининг фермент комплекси энг юкори фаолликни намоён этадиган фермент комплексининг кинетик параметрлари аниқланди.

**Асосий сўзлар:** ошқозон ости безининг фермент комплекси, протеаза, амилаза, липаза, фермент фаоллиги.

Бугунги кунда овқат ҳазм қилувчи ферментлар саноатнинг турли соҳаларида, биринчи галда, тиббиётда, фармацевтикада ва озиқ-овқат саноатида кенг қўлланилмоқда. Овқат ҳазм қилувчи фермент моддаси ошқозон ости беzi ферментларининг тақчиллигини тўлдиради, протеолитик, амилитик ва липолитик таъсир кўрсатади. Унинг таркибига кирувчи панкреатик ферментлар (липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин) оксилларнинг аминокислоталаргача, ёғларни – глицерин ва ёғ кислоталаригача, крахмалнинг – декстринлар ва моносахаридларгача парчаланишига ёрдам беради, овқат ҳажм қилиш трактининг функционал ҳолатини яхшилайдди, овқат ҳажм қилиш жараёнларини нормаллаштиради [1-2]. Тўқималар, ошқозон ости беzi ҳамда ҳайвонлар органларидан олинган фермент препаратларининг асосан озиқ-овқат, тиббиёт ва фармацевтика саноатида қўлланилиши замонавий биотехнологиянинг ривожланганлик даражасини кўрсатади. Юкори даражада тозаланган ферментлардан турли яраларни, куйишларни даволаш, йирингли яралар юзасидан некротик тўқималарни йўқотиш учун фойдаланилади. Фермент комплекслари асосида турли таблеткалар, эмульсиялар, аэрозоллар ҳамда дорили муҳитларнинг турли кукунли шакллари тайёрланади. Шу боис уларни ажратиш ва олишга алоҳида катъий

талаблар кўйилади. Айниқса, озиқ-овқат маҳсулотлари технологиясида ва фармацевтика ишлаб чиқаришида амилолитик, протеолитик, липолитик, нуклеостик фаолликка эга фермент комплексларидан фойдаланилади.

Овқат ҳазм қилиш тракти меъёрида ишлайдиган одамлар нормал овқатланмаганда, шунингдек чайнаш функцияси бузилганда, иммобилизация узок давом этганда, кам ҳаракатли турмуш тарзида овқат ҳазм бўлишини яхшилаш учун. Қорин бўшлиғи органларини рентгенологик ва ультратовушли текширишга тайёргарлик кўриш [3].

Мазкур тадқиқот ишида қорамол ошқозон ости безидан фермент комплексини ажратиб олиш ва ўрганиш натижалари тақдим этилган.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ҚИСМ

Мазкур ишда қорамол ошқозон ости бези (ООБ)дан фойдаланилди. Намуна қорамол ООБдан олинди ҳамда 100 мл дан 400 мл гача суспензия тайёрланди, яъни 100 гр муздан туширилган майдаланган қорамол ООБ 100, 200, 300 ва 400 мл миқдордаги дистилланган сув билан гомогенизация қилинди. Олинган суспензияга 1:1, 1:2, 1:3 ва 1:4 нисбатда изопропил спирти қўшилди.

**α-Амилаза фаоллигини аниқлаш.** α-Амилаза фаоллиги ГОСТ 20264.4-89 бўйича аниқланди. Амилолитик фаоллик бирлиги сифатида оптимал шароитларда (30°C, рН – 6,0) 10 дақиқа ичида 1 г эрувчан крахмални дестринларгача парчалай оладиган фермент миқдори қабул қилинган.

**Протеаза фаоллигини аниқлаш.** Протеолитик фаоллик (Ансоннинг модификацияланган усули) ГОСТ – 20264.2-88 бўйича аниқланди. Протеолитик фаоллик бирлиги сифатида ферментнинг 30°C ҳароратда 1 дақиқа ичида натрий казеинатни чўкмага тушадиган учхлорсирка кислотасига 1 мкмоль тизоринга мос келадиган миқдорда айлантириш хоссаси олинган [4].

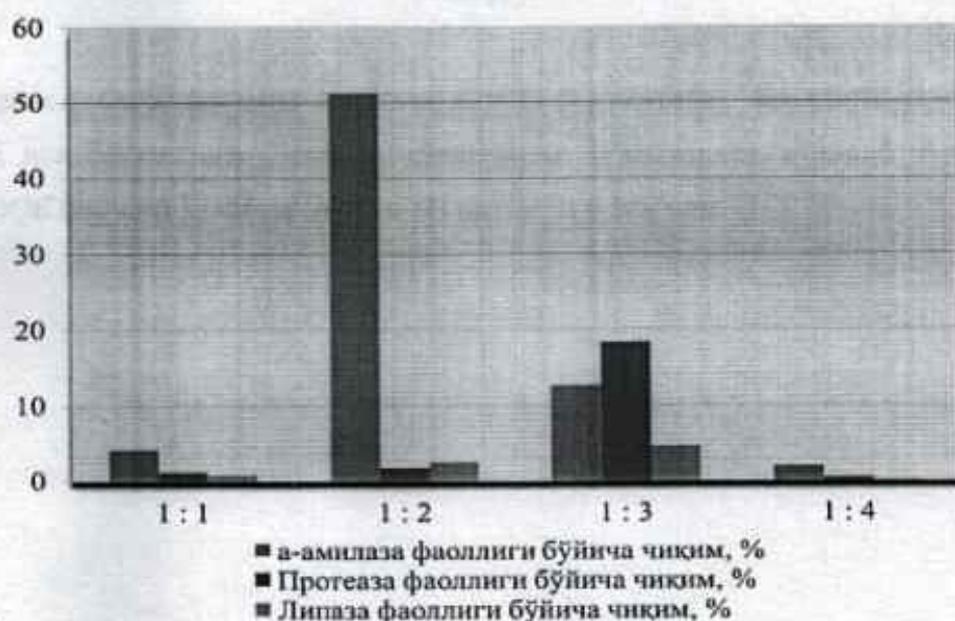
### НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУҲОКАМАСИ

Қорамолдан ошқозон ости безини ажратиб олиш учун муздан туширилган ва майдаланган ООБ дистилланган сув билан гомогенизация қилинди ва 100 мл дан 400 мл гача миқдордаги суспензия ҳосил қилинди. Натижада фермент фаоллиги турлича бўлган ООБ суспензиялари олинди, улар жадвалда келтирилган. Ферментлар фаоллигининг барча намуналари шуни кўрсатдики, энг юқори фаоллик ошқозон ости бези энг кам миқдордаги дистилланган сув (200 мл) билан суюлтирилганда кузатилди.

Олинган натижалар шуни кўрсатдики, қорамолнинг фаол ошқозон ости безини олиш учун 200 мл суспензия 1:10 нисбатдаги фермент-субстрат комплекси (оксил бўйича) 30-35°C ва pH-6.0 шароитларида 2 соат давомида олинади.

Суюлтириш, мл	Ферментатив фаоллик бирл/ гр.		
	Амилаза	Протеаза	Липаза
100	3,7± 0,1	4,1± 0,2	0,2± 0,1
200	4,3± 0,2	4,6± 0,15	0,6± 0,25
300	3,8±0,15	3,9±0,25	0,3±0,2
400	2,5±0,05	2,6±0,1	0,2±0,15

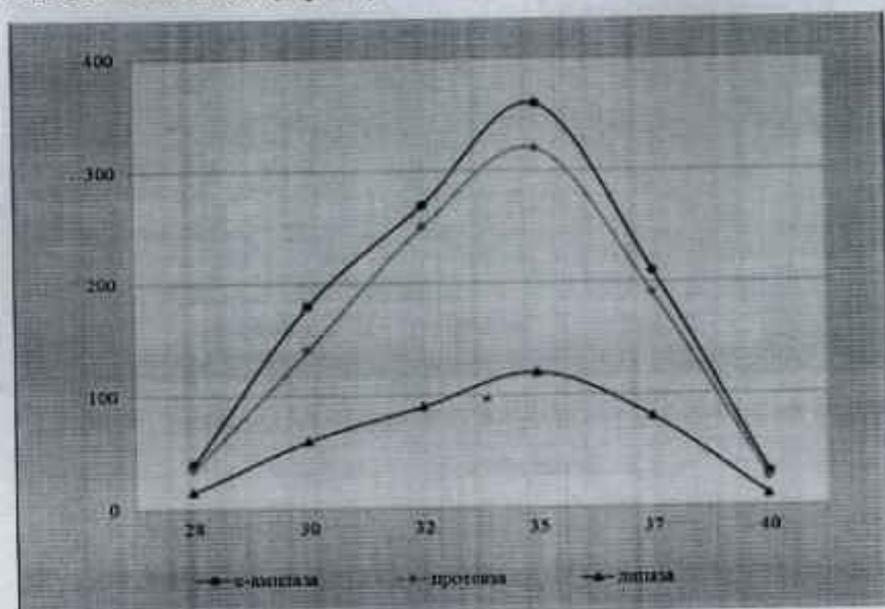
Кейинги тадқиқотларда, хона ҳароратида қорамол ООБ 1:1 дан 1:4 нисбатгача изопропил спирт билан чўктирилди ҳамда бир соат +4 °C совуттичида сакланди, шундан сўнг филтрлаб олинди ва ферментлар фаоллиги аниқланди.



Олнинг физик-кимёвий хоссалари, ҳарорат ва pH оптимуми ўрганилди.

Қорамол ООБ фермент комплексининг ферментлари фаоллигига ҳароратнинг таъсирини ўрганиш шуни кўрсатдики, ферментларнинг энг юқори фаоллиги 28дан 40°C гача интервалда намоён бўлади. Ферментларнинг юқори фаоллиги 35°C ҳароратда

кузатилди ва 60 дақиқа давом этди, 37°C ҳароратда 25-30% сакланди, 40 °C да эса энг юкори фаолликнинг фахат 5-8 фойзи сакланди. Расмдан кўришиб турганидек, корамол ООБ фермент комплексининг амилаolitik, протеolitik ва липolitik фаоллиги 32-35°C ҳароратда энг юкори барқарорликни намоён этади. Бунда ферментлар фаоллиги деярли 90-100% сакланди (1-расм).

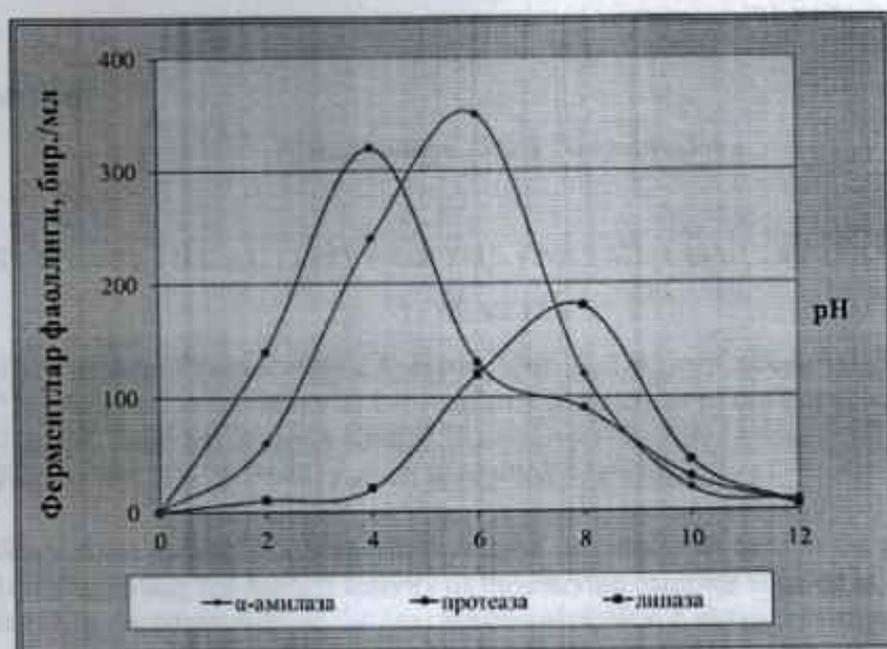


**1-расм.** Корамол ООБ фермент комплексининг ферментатив фаоллигига ҳароратнинг таъсири.

Корамол ООБ фермент комплексининг ферментатив фаоллиги таъсирининг мухит рН ига боғликлиги 2-расмда кўрсатилган. Расмлардан кўришиб турганидек, корамол ООБ фермент комплекси учун рН оптимум 6.5га тенг.

## АДАБИЯТЛАР

1. Маматова М. Д. Ушкентликларнинг 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000.



2-расм. Корамол ООБ фермент комплекси ферментатив фаоллигининг рНга боғлиқлиги.

Шундай қилиб, ферментлар фаоллиги бўйича маълумотларни таққослаб хулоса қилиш мумкинки, мударан тушириб майдаланган суспензияли ООБ фермент препаратлари изопропил спирти билан чўктирилганда, ООБ фермент комплексининг чўкмадаги фермент фаоллиги ўрганилаётган суспензиядаги панкреатин препаратининг фаоллигидан 1.2 баравар юкори. Бу препаратдан нисбатан юмшоқ шароитларда хайвон хом ашёсидан фермент гидролизатини олишда фойдаланиш мумкин. Фермент комплексининг фаоллиги ва барқарорлигига ҳарорат ва рН таъсири оптимумлари ўрганилди.

#### АДАБИЁТЛАР

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая Волна, 2005. 15-е издание, переработанное, исправленное и дополненное. -С. 56-116.
2. Н.Х.Туксанова,К.Т.Нормкродова,Н.И.Бозоров.Протеолитическая активность ферментного комплекса поджелудочной железы крупного рогатого скота.Фармацевтическийжурнал. №1. 2013, стр. 59-62.
3. WWW. Google.ru.
4. ГОСТ 20264.2-74. Препараты ферментные. Метод определения протеолитической активности. – М.: 1975.

N.R.Djalilova., \*K.T.Normurodova.

## STUDYING THE ACTIVITY OF THE ENZYME COMPLEX PANCREAS OF CATTLE

The Tashkent Pharmaceutical Institute, 100015, Tashkent, street Aybek  
\*Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
100128, Tashkent, street A.Kadiry 7b,  
Fax : (+99871)- 2563648, e-mail: [dj.nigina87-farm@mail.ru](mailto:dj.nigina87-farm@mail.ru)

Studied the activity of the enzyme complex suspension of cells in the pancreas of cattle. It is shown that the highest activity of the enzyme complex showed at 35 OS and pH 6.0. Kinetic parameters of the enzyme complex, which enzyme complex suspension of cells of the pancreas of cattle showed the maximum activity of the enzyme complex.

**Keywords:** enzyme complex pancreas, protease, amylase, lipase, the enzyme activity.

Н.Р.Джалилова., \*К.Т.Нормуродова.

## ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ташкентский Фармацевтический Институт, 100015 Ташкент, ул. Айбек45  
\*Институт микробиологии АН РУз, 100128 Ташкент, ул. А.Кадыри 7б,  
факс (+99871)-2563648, e-mail: [dj.nigina87-farm@mail.ru](mailto:dj.nigina87-farm@mail.ru)

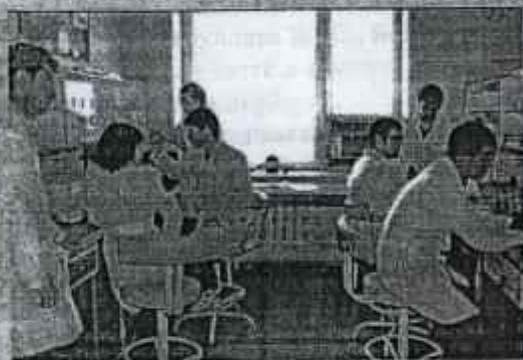
Изучена активность ферментного комплекса суспензии клеток поджелудочной железы крупного рогатого скота. Показано, что наиболее высокую активность ферментный комплекс проявлял при 35 °С и pH 6.0. Определены кинетические параметры ферментного комплекса, при которых ферментный комплекс суспензии клеток поджелудочной железы крупного рогатого скота проявлял максимальную активность.



Ўзбекистон  
Фанлар Академияси



Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академиясининг  
70 йиллигига бағишланган  
**РЕСПУБЛИКА ЁШ ОЛИМЛАР  
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ КОНФЕРЕНЦИЯСИ**  
маъруза тезислари тўплами  
2013 йил 26 декабр



Сборник тезисов докладов  
**РЕСПУБЛИКАНСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ  
КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ**  
посвященной 70-летию Академии наук  
Республики Узбекистан  
26 декабря 2013 г.

ТОШКЕНТ – 2013

Давлетчурин Д.Х., Хайдарова Ф.А., Нурматова С.Б., Адиллов Б.Р., Далимова Д.А. – Первичные данные о полиморфизме Q318X штиохрома р450с21 – фермента стероид-21-гидроксилазы.....	38
Дауылбаева К.К., Бекбергенова З.З. – Эколого-фаунистический обзор видов стафилинид Южного Приаралья.....	38
Джалилова Н.Р., Нормуродова К.Т. – Получение ферментного комплекса поджелудочной железы крупного рогатого скота.....	39
Джумагулов М.Б., Головин А.В., Польшаков В.И. – Исследование третичной структуры ДНК аптамеров к тромбину методами ЯМР.....	39
Джуматанова Т.У. – ВЭЖХ-анализ продуктов п-моно-, п-, с-ди-, п-, с-, о-трибензоилирования 2-метил-5н-(хлор)-, 2-этилбензимидазолов.....	40
Долгов В.В., Ашуров Н.Р., Садыков Ш.Г., Усманова М.М., Mingshu Y., Feng W. – Наноконпозиты на основе полиэтилена с монтмориллонитом.....	40
Жониев С., Рахимов А.У. – Эффективность применения гормонов в пред- и послеоперационном периоде у больных узловым зобом.....	42
Жониев С.Ш. Рахимов А.У. – Роль сердечнососудистой системы при предоперационной подготовке при операции патологии щитовидной железы.....	42
Закирова Д.В., Салахутдинов И.Б., Эгамбердиев Ш.Ш., Раджапов Ф.С., Абдуллаев А.А. – Генетическое картирование локусов, сцепленных с вилтустойчивостью у культивируемых видов хлопчатника.....	43
Закирьева С.И., Нарбаева Х.С. – Имобилизация и сохранность клеток солеустойчивых ризобактерий хлопчатника с полифункциональными свойствами на различных носителях.....	44
Закирьева С.И. – Сухие формы бактериальных удобрений серии Fosstim.....	44
Зокирова У.Т. – Полипrenoлы листьев винограда <i>Vitis vinifera</i> и их химические превращения.....	45
Ибрагимов А., Изотова Л. – Супрамолекулярный комплекс анестезина с бета-циклодекстрином.....	46
Ибрагимова М.Ф., Улугова Х.Т., Гайбуллаев Ж.Ш., Бойтураев Д.С., Каржапова Г. – Бронхообструктивный синдром у детей и факторы риска.....	46
Имирсинова А.А. – Изучение видов рода <i>Aegilops</i> L.....	47
Иноятлов А.Ш., Шаронов С.Г., Мсаходжаева Д.А. – Эффективность иммунотерапии при врожденных пороках челюстно-лицевой области у детей.....	48
Исмаилов О.Ю. – Влияние режимов движения нефти на коэффициент теплоотдачи в двухтрубчатом аппарате.....	48
Исраилов Х.Т., Набиев Т.А., Усманова Н.Х. – Тез - тез кайталанувчи генитал учукни даволашда янгича ёндошув.....	50
Исхаков Ш.А., Аляви Б.А., Турсунов Р.Р., Бабаев М.А. – Влияние полиморфизма гена $\beta 1$ -адренорецепторов на эффективность применения бисопролола у пациентов ХСН.....	50
Йулбарсова М.В., Таджиев С.М., Тухтаев С. – Кизилкум фосфорити ва карбамид асосида олинган ўгитлар.....	51
Кабилова З.Т., Шавази М.Н., Амонов Р.Х., Ибрагимова М.Ф., Лим М.В. – Клинические особенности врожденной цитомегаловирусной инфекции у новорожденных и детей раннего возраста.....	52
Камбаралиева М.И., Махсумханов А.А., Пулатова О.М., Алимова Б.Х. – Разработка биореактора для получения биодизеля из хлопкового масла.....	52
Камилов Х.П., Зокирхонова Ш.А. – Гигиеническое состояние полости рта у детей дошкольного возраста г. Ташкента, посещающих детские дошкольные учреждения.....	53
Каржапов А.Р., Мусуамонов Н.Х., Икромов А., Кодиров О.Ш. – Получение ацеталей от спиртов сивушного масла в качестве добавки к топливным композициям.....	53
Ким А.Л., Турдикулова Ш.У., Мухамедов Р.С. – Получение рекомбинантной формы лактатдегидрогеназы.....	54
Ким В.О. – Острый живот и беременность.....	55
Кличева О.Б., Рашидова С.Ш. - Особенности реакции карбоксиметилирования хитозана <i>Bombux Mori</i> .....	55
Кодирова Д.Р., Бобакулов Х.М., Расулова Х.А., Абдуллаев Н.Д. – Компоненты <i>Haplophyllium griffithianum</i> .....	55
Кулиев Т., Адиллов Б.А., Алибаева Д. – Жўхорининг шўрга чидамли нав намунаси.....	56

Наибольшим таксономическим разнообразием отличается подсемейства *Oxytelinae*, на его приходится 74 видов. В подсемействах: *Aleocharinae* – 68, *Staphylininae* – 62 видов, *Paederinae*, *Tachyporinae* – 18, *Steninae* – 11, *Omalinae* – 4, *Euaesthetinae* – 2, *Micropeplinae* – 1.

## ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Н.Р.Джалилова<sup>1</sup>, К.Т.Нормуродова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ташкентский фармацевтический институт

<sup>2</sup>Институт микробиологии АН РУз.

В настоящее время ферменты широко применяются в различных отраслях промышленности, в первую очередь, в медицине и пищевой промышленности. Его развитие зависит от двух взаимосвязанных факторов: экономической целесообразности их применения и возможности их промышленного производства [1]. Применение препаратов ферментов, полученные из тканей поджелудочной железы и органов животных, предназначаются в основном для пищевой, химической и фармацевтической промышленности определяется уровнем развития современной технологии.

Цель в данной работе получение и изучение активности ферментов комплекса из поджелудочной железы крупного рогатого скота.

Получение и изучение активности ферментов поджелудочной железы из крупного рогатого скота, размороженной измельченной гомогенизировали с дистиллированной водой суспензии от 10 до 600мл. В результате получены различные суспензии СПЖ с ферментного комплекса поджелудочной железы. Для всех образцов активность, pH и влияние температуры ферментов показало что, для получения поджелудочной железы дистиллированной водой 300 мл 35°C и pH-5.6 в течение 3ч.

Таким образом, сравнивая данные по активности ферментных препаратов СПЖ с сухим препаратом, что ферментный комплекс СПЖ в 1.2 раз активны, чем в исследуемый препарат. Этот препарат можно использовать для получения ферментного гидролизата из животного сырья в оптимально мягких условиях. Изучены температуры и pH оптимумы действия на активность ферментного комплекса.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ДНК АПТАМЕРОВ К ТРОМБИНУ МЕТОДАМИ ЯМР

Джумагулов М. Б.<sup>1,2</sup>, Головин А. В.<sup>2</sup>, Пильшаков В. И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии АН РУз

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

E-mail: info@microbio.uz, info@rector.msu.ru

Тромбин – это протеаза, которая играет ключевую роль в коагуляционном каскаде крови и, следовательно, является главной целью при антикоагуляции и терапии заболеваний сосудов. С помощью метода SELEX был получен 15-звенный одноцепочечный ДНК аптамер тромбина 15-TBA, который эффективно ингибирует тромбин.

В данной работе была исследована структура 31-TBA аптамера, основанного на последовательности 15-TBA с комплементарными друг к другу довесками по 8 нуклеотидов на терминальных концах, с помощью метода Ядерного Магнитного Резонанса (ЯМР). 31-TBA отличается большей эффективностью ингибирования тромбина, чем его предшественник 15-TBA.

Перед снятием спектров ЯМР были подобраны условия, которые способствовали появлению наиболее представленной конформации 31-TBA аптамера. Показано, что предварительный отжиг аптамера способствовал улучшению спектров ЯМР. По результатам расшифровки двумерных спектров NOESY H<sub>2</sub>O, NOESY D<sub>2</sub>O, DQF COSY и <sup>13</sup>C HSQC было получено 247 дистанционных взаимодействий между протонами, которые впоследствии были использованы при моделировании структуры 31-TBA аптамера. На основе ЯМР анализа моделированием отжига в течение 2мс от