

АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. акад. А. С. САДЫКОВА

На правах рукописи
УДК 547.917

РАХМАНБЕРДЫЕВА РАНО КАРИМОВНА

Полисахариды растений рода *Gleditsia* и *Cardaria repens*

02.00.10 – Биоорганическая химия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук**

Ташкент-2011

Работа выполнена в Институте химии растительных веществ
им. акад. С. Ю. Юнусова Академии Наук Республики Узбекистан

Научный консультант: доктор химических наук, профессор
Рахимов Дильшат Ахмедович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, академик
Рашидова Сайёра Шарафовна

доктор химических наук, профессор
Мавлянов Саидмухтор Максудович

доктор химических наук
Исаев Магомед Иса оглы

Ведущая организация: Национальный Университет Узбекистана
имени Мирзо Улугбека, химический
факультет

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2011 г в ____ часов на
заседании Специализированного совета Д.015.21.01 при Институте
биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз по адресу: 100125,
Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262 35 40, факс (99871) 262 70 63

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз

Автореферат разослан « ____ » _____ 2011 года

**Ученый секретарь
Специализированного совета
кандидат химических наук**

Гафуров М. Б.

Актуальность проблемы. Растительные полисахариды являются важным классом биополимеров, входят в состав практически всех растений и выполняют разные специфические функции, обладают широким спектром биологического действия. Полисахариды могут быть ценным сырьем для фармацевтической, пищевой, текстильной и других отраслей промышленности, и новыми источниками лекарственных средств, обладающих антибиотической, противовирусной, противоопухолевой, антидотной активностью. Кроме того, они способствуют выведению из организма токсичных веществ, холестерина, тяжелых металлов, радионуклидов и препятствуют образованию свободных радикалов, восстанавливают поврежденные клетки, а также являются антирадиационным средством, активизируют иммунную систему.

Естественно, что физиологическая активность полисахаридов непосредственно связана с их структурными особенностями. О структуре полисахаридов накоплена достаточна обширная информация, тем не менее, установление структуры гетерополисахаридов с сохранением их нативных особенностей и применением всего арсенала современных методов, остаётся *актуальной задачей*. Однако выделить полисахариды в нативном виде достаточно трудно, ещё сложнее разделить смесь природных полисахаридов и получить каждый из них в индивидуальном состоянии. Хотя основные черты химического строения полисахаридов выяснены, но взаимосвязь с биологической активностью остаётся полностью не раскрытой из-за недоступности определения тонких структурных особенностей биополимера существующими структурными методами исследования углеводов, что играет определяющую роль в физиологической активности и проявлении физико-химических свойств этих соединений.

Настоящая работа посвящена исследованию полисахаридов *Cardaria repens* сем. *Brassicaceae* (*Cruceferae*) и некоторых видов *Gleditsia* сем. *Fabaceae*, произрастающих в Узбекистане. Эти растения являются богатыми источниками алкалоидов, гликозидов, флавоноидов и дубильных веществ, но данные о содержании углеводов отсутствуют.

В народной медицине стебли с плодами *C. repens* применяются в виде компрессов при доброкачественных опухолях, водные вытяжки листьев обладают бактерицидной и фунгицидной активностью, плоды применяются при метеоризме, а также как средство, улучшающее деятельность желудка. В связи с этим, исследование полисахаридов *C. repens* представляет большой интерес, как в химическом, так и в практическом отношении.

Растение рода *Gleditsia*, особенно его семена, является источником водорастворимого полисахарида - галактоманнана. Установлено строение галактоманнанов некоторых видов данного рода и показано их практическое использование в различных отраслях промышленности, а реологические свойства позволяют использовать их в качестве загустителей, эмульгаторов, как геле- и структурообразователей.

Большим пробелом в изучении химического состава *Gleditsia* является

отсутствие полных сведений об углеводном составе плодов и данных о динамике накопления полисахаридов в процессе роста и развития растения.

Исходя из этого, исследование полисахаридов растений *C. repens* и неизученных ранее видов *Gleditsia* местной флоры, установление структурных особенностей и взаимосвязи их с биологической активностью, и создание на их основе новых препаратов, представляющих практический интерес для некоторых отраслей народного хозяйства, является *актуальной задачей*.

Степень изученности проблемы. Строение и свойства растительных полисахаридов к настоящему времени исследованы достаточно полно (Gupta R., 1991; Щербухин В.Д., 1993, и др.- галактоманнаны, Aspinall G.O., 1969.; Оводов Ю.С., 1998.- арабиногалактаны, пектиновые вещества).

Структурное исследование полисахаридов в ИХРВ АН РУз начато в 1971 году с созданием лаборатории химии углеводов. Были изучены строения и свойства полисахаридов растений сем. *Liliaceae*, *Amaryllidaceae* и др. (Рахимов Д.А. и др., 1995 - глюкоманнаны, маннаны), выявлена их биологическая активность, однако галактоманнаны и арабиногалактаны высших растений местной флоры не изучены. Поэтому для выбора наиболее интересных и малоизученных полисахаридов была разработана универсальная схема их выделения и сравнительного анализа, проведен скрининг химического состава полисахаридов 48 видов растений 7 семейств: *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Cruciferae*, *Solanaceae*, *Umbelliferae*, *Ranunculaceae*, *Fabaceae*. Результаты показали, что наиболее перспективными для углубленного химического изучения являются семена 8 видов растений рода *Gleditsia* сем. *Fabaceae*, а также надземная и подземная части растения *Cardaria repens* сем. *Cruciferae*, поскольку эти объекты особенно богаты искомыми веществами.

Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР. Работа выполнена в соответствии с проблемно-тематическим планом научных работ ИХРВ АН РУз по проблеме 2.29. «Химическое исследование углеводов 8 видов растений» № гос. рег. 81093783; по проблеме 2.29.4 «Химическое исследование углеводов 10 видов растений» № гос. рег. 01860026968. По ГНТП «Разработка и создание лекарственных средств на основе тритерпеновых гликозидов и полисахаридов» № гос. рег. 01970005121 (2003-2005гг.), по ГНФП ФА-ФЗ-Т-146 «Исследование структуры и свойств биополимеров и липидов перспективных технических и дикорастущих растений местного региона» (2007-2011 гг.) и по ГНТП ФА-А2-Т149 «Создание БАДов на основе растительных полисахаридов, пищевых волокон, белковых гидролизатов и разработка биореактива» (2008-2011 гг.).

Целью диссертационной работы является комплексное изучение полисахаридов надземной части *Cardaria repens* и семян *Gleditsia* местного региона; установление структурных особенностей химического строения арабиногалактана *Cardaria repens* и галактоманнанов неизученных ранее видов *Gleditsia*, выявление их специфической биологической активности и путей применения в народном хозяйстве.

В связи с этим были решены следующие задачи:

-разработка универсальной схемы выделения различных групп полисахаридов из растений рода *Gleditsia* и *Cardaria repens*, изучение их структурных особенностей и физико-химических свойств;

-углубленное химическое изучение водорастворимых полисахаридов надземной и подземной частей *Cardaria repens*, выяснение динамики накопления отдельных групп полисахаридов в органах растения, установление структуры арабиногалактана, концентрирующегося в надземной части и выяснение его распределения в других органах растения;

-изучение содержания и состава полисахаридов семян 8 видов растений рода *Gleditsia* и влияния на эти показатели места произрастания растений; выяснение хемотаксономической роли галактоманнанов для систематики растений сем. *Fabaceae*;

-исследование структуры галактоманнанов семян неизученных ранее видов *Gleditsia*: *G. aquatica*, *G. delavayi*, *G. macracantha*, *G. texsana* и влияния видовой принадлежности на структуру указанных углеводов;

-создание на основе выделенных биологически активных полисахаридов новых препаратов, представляющих практический интерес для некоторых отраслей народного хозяйства;

-подготовка нормативно-технической документации (НТД) на полисахаридные препараты для регистрации в Главном Управлении по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники МЗ РУз (ГУККЛС и МТ МЗ РУз) и внедрение их в практику.

Объект и предмет исследования. Объекты исследования – надземная и подземная части растений *Cardaria repens*, плоды и семена 8 видов *Gleditsia*, произрастающих в Узбекистане.

Предметом исследования являются водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы; содержание, состав и физико-химические свойства углеводов, установление строения арабиногалактанов и галактоманнанов.

Методы исследования. В работе использованы: химические методы - качественный и количественный анализ моносахаридного состава полисахаридов, методы перйодатного и хромового окисления, метилирования и частичного кислотного гидролиза полисахаридов. Аналитические методы определения содержания азота, метоксильных групп полисахаридов, степени этерификации пектиновых веществ. Физико-химические методы: ИК -, ЯМР ^{13}C и ^1H спектроскопии, двумерные гомоядерные (^1H , ^1H COSY, TOCSY, ROESY) и гетероядерные ^1H , ^{13}C (HSQC HSQC-TOCSY) спектральные методы.

Основные положения, выносимые на защиту:

-результаты химических исследований углеводов семян 8 видов растений рода *Gleditsia*: *G. aquatica*, *G. caspia*, *G. delavayi*, *G. macracantha*, *G. japonica*, *G. texsana*, *G. triacanthos*, *G. sinensis*, надземной и подземной частей *Cardaria repens*;

-результаты исследований динамики накопления водорастворимых

полисахаридов в надземной части *Cardaria repens* и семенах *Gleditsia macracantha*;

-результаты экспериментальных исследований структуры арабиногалактана *Cardaria repens* и галактоманнанов семян *G. macracantha*, *G. texsana*, *G. aquatica*, *G. delavayi*;

-результаты экспериментальных исследований по установлению строения арабиногалактоманнана и глюкофруктана *G. macracantha*;

-некоторые установленные закономерности по строению полисахаридов *Gleditsia* и *Cardaria repens*, сделанные выводы и обобщения;

-разработка на основе водорастворимого полисахарида *G. macracantha* нового закрепителя краски «гледан», используемого при печатании текстильных материалов.

-результаты изучения биологической активности исследованных полисахаридов;

-разработка рецептуры на основе галактоманнана семян *G. triacanthos* новой биологически активной добавки (БАД) – «глефуд» к пище, предназначенной для коррекции веса людей с избыточной массой тела.

-разработка на основе полисахаридов *G. triacanthos* нового реагента «гледол», используемого для создания среды градиента плотности, применяемой для выделения лимфоцитов крови;

Научная новизна работы: Дана химическая характеристика галактоманнанов семян 8 видов растений рода *Gleditsia*: *G. aquatica*, *G. caspia*, *G. delavayi*, *G. macracantha*, *G. japonica*, *G. senensis*, *G. texsana* и *G. triacanthos*, произрастающих в Узбекистане. Установлено, что в семенах растений рода *Gleditsia* содержание водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и соотношение галактозы и маннозы (*Gal:Man*) в галактоманнанах зависят от места произрастания, т.е. от почвенно - климатических условий. Выяснено, что галактоманнаны семян являются хемотаксономическим маркером растений этого рода, и эти данные дополняют хемосистематику представителей сем. *Fabaceae*.

Разработана универсальная схема выделения различных групп углеводов на примере не изученных ранее растений *G. macracantha* и *G. texsana*. На основании данных по содержанию и составу моно- и олигосахаридов, водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ и гемицеллюлоз в семенах 8 видов растений рода *Gleditsia* и *Cardaria repens* выявлено, что у представителей этого рода основными полисахаридами являются галактоманнаны, а в надземной части *Cardaria repens* – арабиногалактан.

Доказано, что структурной особенностью полисахаридов *Gleditsia* является разветвленность их основной цепи с β -1,4 связанными маннопиранозными остатками, где некоторые маннозные остатки замещены в положении 6 α -D-галактопиранозой. Показано, что галактоманнаны семян рода *Gleditsia* различаются между собой соотношением *Gal:Man*, молекулярной массой (ММ), степенью полимеризации (СП) и распределением повторности галактозных остатков вдоль основной цепи.

Обнаружено, что замещенные β -маннаны аналогичного строения и

близкого состава могут иметь различную локализацию в семенах (эндосперм и кожура) и, соответственно, выполнять две разные функций - запасную и структурную.

Впервые из семян *G. macracantha* выделен новый разветвленный галактоманнан с боковыми ответвлениями, состоящими из остатков арабинофуранозы, которые по С-1 присоединены к С-6 атому галактозы.

Впервые из семян *G. macracantha* выделен глюкофруктан инулинового типа, состоящий из β -2,1-связанных фруктофуранозных единиц с концевым сахарозным фрагментом.

Изучена динамика накопления углеводов в подземных и надземных органах *C. repens* по периодам вегетации и определён их качественный и количественный моносахаридный состав. Установлено, что в надземной части растения во всех фенофазах в составе углеводов преобладают водорастворимые полисахариды. Максимальное их количество отмечено в начале вегетации растения.

Впервые изучен углеводный состав надземной части *Cardaria repens* и выделен полисахарид - арабиногалактан. Химическими и спектральными (ИК-, ^{13}C - и ^1H ЯМР - спектры) методами установлено, что в арабиногалактане основная цепь состоит из β -1,6-связанных галактопиранозных остатков, а некоторые галактозные остатки замещены арабинозой в положении С-3.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Получены новые сведения о строении и свойствах галактоманнанов растений рода *Gleditsia* и арабиногалактана *Cardaria repens* с широкими возможностями их применения.

На основе галактоманнана *G. triacanthos* создан и внедрен в практику иммунологических исследований новый реагент «гледол» в качестве диагностирующего средства, предназначенного для выделения иммунокомпетентных клеток из периферической крови. «Гледол» заменяет импортный синтетический препарат «фиколл».

В лаборатории фармакологии ИХРВ АН РУз д.м.н., проф. Сыровым В.Н. и д.б.н., проф. Хушбаковой З.А. выявлено гипохолестеринемическое и гипогликемическое действие водорастворимых полисахаридов растений рода *Gleditsia*.

На основе галактоманнана семян *G. triacanthos* разработана рецептура новой биологически активной добавки (БАД) – «глефуд», предназначенной для коррекции веса людей с избыточной массой тела.

У водорастворимого полисахарида из надземной части *Cardaria repens* («кардарин») д.м.н. Вахабовым А.А (лаборатория токсикологии ИХРВ АН РУз) обнаружены выраженная антикоагулянтная активность прямого действия и малая токсичность.

На основе водорастворимого полисахарида *G. macracantha* разработан закрепитель красок «гледан», используемый при печатании текстильных материалов. Проведено производственное испытание «гледана» на отделочной фабрике Ташкентского текстильного комбината, где было

напечатано 550 метров ткани. На основании положительных результатов рекомендовано использовать его в качестве закрепителя при печатании текстильных материалов активными красителями, диазолями и нерастворимыми азокрасителями. Установлено, что качество окраски с «гледаном» превосходит таковое, полученное с использованием действующего загустителя (крахмал). Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение «гледана» из семян *G. macracantha*.

Реализация результатов. Разработан способ получения реагента «гледол», подготовлены и утверждены технические условия (ТУ) и техническая инструкция (ТИ). В ГУККЛС и МТ МЗ РУз передана нормативно-техническая документация (НТД), включая опытно-промышленный регламент (ОПР), на регистрацию для реализации реагента.

Опытные партии 4,0 л «гледола» упакованные во флаконы по 100 мл были реализованы по хоз. договору на сумму 1 млн. сум (2007-2008 г.г.). 1 л «гледола» обеспечивает проведение 650 анализов.

От Ташкентского текстильного комбината получены положительное Заключение и Акт о промышленном испытании препарата «гледан» как закрепителя красок для печатания текстильных материалов с водорастворимыми и азокрасителями.

Разработан способ получения биологически активной добавки (БАД) - «глефуд», подготовлены ТУ на БАД.

Результаты диссертационной работы могут быть использованы при чтении общего курса «Биоорганическая химия, химия природных и биологически активных веществ» в ВУЗах.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на Международных симпозиумах 3-7th Int.Symp.on the Chemistry of Natural Compounds, (Bukhara, 1998; Tashkent, 2003; Ankara, 2005; Tashkent, 2007), Inter.Symp.on Edible Plant Resources and Bioactive Ingredients (China-Urumqi, 2008), «Наука о полимерах на пороге XXI века» (Ташкент, 1999), 5-7-Молодежной научной школы-конференции по органической химии (Екатеринбург, 2004; Казань, 2005; Сыктывкар, 2006), Республиканской научной конференции, посвященной памяти акад. О.С.Садыкова «Актуальные проблемы развития биоорганической химии в Узбекистане» (Ташкент, 1998), Конференции молодых ученых (Ташкент, 1999).

Практические результаты работы были представлены на 2-ой и 3-ей Республиканских ярмарках «Инновационные идеи технологии и проектов», Ташкент, 2009- 2010 гг. Результаты работы отражены в научных статьях, тезисах, НТД и защищены патентом РУз.

Опубликованность результатов. По результатам диссертационной работы опубликовано 20 научных статей и 21 тезис докладов, представленных на научных конференциях и симпозиумах. Получен патент РУз: № IAP 04111 на «Способ получения полисахарида для создания на его основе среды градиента плотности».

Нормативно-техническая документация (НТД) и опытно-

промышленный регламент (ОПР) на «гледол» переданы для регистрации и реализации в ГУККЛС и МТ РУз.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 207 страницах компьютерного текста, состоит из введения, трех глав, выводов и библиографии, включающей 233 ссылки. В первой главе приводится краткий обзор литературы по основным химическим и биологическим свойствам галактоманнананов и арабиногалактанов высших растений. Глава II включает обсуждение результатов собственных исследований. В третьей главе описывается экспериментальная часть работы. В диссертации приведены 19 рисунков, 34 таблицы и 8 схем.

В приложение внесены заключения об изучении биологической активности и о разработке нормативно-технической документации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ *CARDARIA REPENS*

Cardaria repens (сердечница ползучая) – обычное, однолетнее сорное растение, ареал распространения весьма широк.

Для установления максимального содержания различных групп полисахаридов в подземных и надземных органах *C. repens* изучена динамика накопления углеводов по периодам вегетации, определены их качественный и количественный моносахаридные составы. Растение собрано на территории Ташкентской области в 1994 году в следующие фазы развития: начало вегетации, бутонизации, цветение, плодоношение, созревание семян. Полисахариды выделяли последовательно из измельченного воздушно-сухого сырья, обрабатывая его смесью хлороформ-ацетон, затем метанолом для удаления красящих и низкомолекулярных соединений. Экстракцией водой были получены водорастворимые полисахариды (ВРПС), смесью 0,5%-ных растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония - пектиновые вещества (ПВ) и 5%-ным раствором щелочи - гемицеллюлозы (ГМЦ).

В надземной части *C. repens* во все фенофазы содержание ВРПС выше, чем в подземной части; в начале вегетации оно составляет 8% от массы воздушно-сухого сырья. По мере развития растения количество ВРПС постепенно снижается до минимального (4.5%) в начале плодоношения и немного повышается в период созревания семян (5.3%). В подземной части минимальное содержание ВРПС отмечено в фазе бутонизации, цветения и созревания семян.

В динамике содержания ПВ и ГМЦ в обеих частях растений отмечены два максимума: в начале вегетации и в начале плодоношения, за исключением содержания ГМЦ в подземной части, где второй максимум наблюдается в период цветения (табл.1). Установлено, что моносахаридные составы ВРПС, выделенных из надземной и подземной части качественно резко не отличаются, но есть различия в количестве отдельных моносахаридов. В ВРПС, выделенных из надземной части, преобладающими моносахаридами являются арабиноза, манноза, галактоза, а в ВРПС из подземной части – арабиноза, ксилоза и галактоза. Полученные данные

свидетельствуют о том, что в составе ВРПС основными моносахаридами являются арабиноза и галактоза, содержание которых максимально в период бутонизации и цветения. В этот период, вероятно, больше накапливаются полисахариды типа галактоарабанов и выделенные из *C. repens* ВРПС являются смесью галактанов и галактоарабанов. В составе ПВ, выделенных из надземной части *C. repens*, в фазе начала вегетации, отмечено преобладание арабинозы, в фазе бутонизации - галактозы, а в начале плодоношения - рамнозы. Следовательно, в эти фенофазы в составе ПВ надземной части происходит накопление полисахаридов типа галактанов и

Таблица 1

Динамика накопления различных групп полисахаридов, их моносахаридный состав в надземной и подземной частях *Cardaria repens* в различные фазы развития

Часть растения	Фенофаза	Группа ПС	Содержание ПС, %	Моносахаридный состав					
				<i>Rha</i>	<i>Ara</i>	<i>Xyl</i>	<i>Man</i>	<i>Glc</i>	<i>Gal</i>
Надземная	Начало вегетации	ВРПС	8.0	1.7	7.5	1.0	4.4	2.7	3.7
		ПВ	2.6	1.0	20.8	сл.	-	-	10.1
		ГЦ	3.2	1.1	9.3	66.6	1.0	1.4	1.6
Подземная		ВРПС	5.5	-	9.7	8.6	1.4	1.0	5.4
		ПВ	3.4	1.0	4.4	-	-	1.8	1.5
		ГЦ	5.7	-	1.0	3.4	-	1.0	4.2
Надземная	Бутонизация	ВРПС	6.8	1.0	12.2	3.2	сл.	3.6	6.7
		ПВ	2.5	-	3.4	1.7	1.0	1.0	22.8
		ГЦ	1.8	1.5	2.6	2.8	1.0	-	-
Подземная		ВРПС	1.1	1.0	9.0	1.0	1.3	6.0	9.3
		ПВ	3.0	2.5	4.0	1.0	-	3.7	2.5
		ГЦ	1.3	1.0	1.4	38.0	-	1.2	1.5
Надземная	Цветение	ВРПС	6.7	1.0	8.0	1.2	3.1	-	39.4
		ПВ	2.0	2.3	2.0	3.9	-	1.0	-
		ГЦ	1.6	1.5	2.6	2.8	1.0	-	-
Подземная		ВРПС	1.1	1.6	6.5	2.1	сл.	1.0	8.3
		ПВ	2.0	1.0	2.4	1.3	5.3	-	-
		ГЦ	5.0	2.4	-	6.3	1.0	-	-
Надземная	Начало плодоношения	ВРПС	4.5	1.0	3.0	1.2	1.0	Сл.	13.3
		ПВ	3.4	12.0	1.0	1.9	-	2.8	-
		ГЦ	5.7	-	4.2	6.0	1.0	-	-
Подземная		ВРПС	2.8	2.0	5.4	1.0	2.8	-	8.3
		ПВ	3.1	3.4	1.0	1.2	1.0	-	-
		ГЦ	3.7	-	2.0	5.4	1.0	-	-
Надземная	Созревание семян	ВРПС	5.3	1.3	2.1	Сл.	1.0	-	5.2
		ПВ	1.4	1.0	2.1	2.1	4.9	3.3	4.5
		ГЦ	2.1	4.0	1.0	13.3	1.7	-	-
Подземная		ВРПС	1.0	1.0	2.1	1.0	Сл.	4.0	1.2
		ПВ	2.4	5.4	1.0	1.0	-	27.0	1.0
		ГЦ	2.0	1.0	-	13.4	-	16.8	1.8

рамноглюкоуронанов. В большинстве выделенных ГМЦ доминирующим моносахаридом является ксилоза, следовательно, в ГМЦ преобладают ксиланы.

Таким образом, изучение динамики содержания и моносахаридного состава углеводов *C. repens* в течение периода вегетации показало, что в надземной части растения во всех фенофазах в составе углеводов преобладают водорастворимые полисахариды и по моносахаридному составу являются арабиногалактанами.

1.1. Водорастворимые полисахариды *C. repens*. ВРПС из надземной части *C. repens* представляет собой белый порошок с кремоватым оттенком, который, растворяясь в воде образует слабо мутный раствор, где нерастворимый в воде полисахарид (ВНРПС) составляет 2,3%. Полный кислотный гидролиз и идентификация моносахаридного состава методами БХ, ГЖХ показали, что ВРПС представлен остатками рамнозы, арабинозы, ксилозы, глюкозы, галактозы в соотношении 1.5:13.3:1.0:1.0:21.0 соответственно, а также галактуроновой, глюкуроновой кислот. Фракционным осаждением ВРПС спиртом получили пять фракций с выходами 0.43; 13.2; 20.0; 7.3 и 36.8% соответственно. Изучение их моносахаридного состава методами БХ и ГЖХ (в виде ацетатов альдононитрилов) показало, что доминирующими во всех фракциях являются арабиноза и галактоза. Полученные фракции I и II частично растворяются в воде, фракции III и IV, растворяясь в воде, образуют прозрачный раствор. Метод седиментационного анализа позволил установить для фракций II и III молекулярные массы 63000 и 56000 соответственно. Определение содержания метоксильных групп показало, что частично растворимые в воде фракции I и II содержат наибольшее количество метоксильных групп – 2.5 и 3.6%, а растворимые в воде фракции III и IV – 1.3 и 0.7% соответственно.

С целью выявления причин нерастворимости в воде исследуемых полисахаридов были изучены Фурье ИК-спектры ВРПС, ВНРПС, фракции I-V. Полученные частотные характеристики представлены в таблице 2.

Таблица 2

ИК-спектры ВРПС, фракций I-V и ВНРПС

Водонерастворимые фракции				Водорастворимые фракции			
Фр.	ν_{OH} см ⁻¹	ν_{C-O} см ⁻¹	δ_{O-H} см ⁻¹	Фр.	ν_{OH} см ⁻¹	ν_{C-O} см ⁻¹	δ_{O-H} см ⁻¹
ВНРПС	3382	1092	555	ВРПС	3394	1122	619
Фр.1	3387	1096	602	Фр.IV	3424	1114	618
Фр.II	3387	1096	602	Фр.V	3409	1111	618
				Фр.III	3332	1196	658
						1126	602
						1095	

ИК-спектры фракций I, II и ВНРПС существенно отличаются от фракций III-V в областях 600-750, 1000-1070 и 3000-3500 см⁻¹, причем наибольшая разница в значении частот характерна для двух первых областей. Фракции I,

II и ВНРПС имеют широкий максимум 602-655 см^{-1} , интенсивное поглощение около 1095 и 3390 см^{-1} , которые в водорастворимых фракциях IV,V смещены в высокочастотную область и имеют значения 620, 1115 и 3420 см^{-1} соответственно. Особенностью ИК-спектров фракций IV,V является присутствие узкого интенсивного максимума около 620 см^{-1} , в отличие от нерастворимых фракций I и II.

Согласно обобщениям, сделанным по ИК-спектрам ассоциированных молекул, валентное С-О- колебание, попадая в область 1000-1070 см^{-1} , при образовании водородных связей (ВС) смещается в низкочастотную область валентных и деформационных колебаний О-Н...О, имеющих низкие частоты порядка $\leq 200 \text{ см}^{-1}$, им соответствуют обертоны в области 600-700 см^{-1} , внеплоскостные крутильные колебания О-Н поглощаются ниже 800 см^{-1} .

На основании вышеизложенного можно предположить, что появление широкого максимума 602 см^{-1} и смещение ν_{OH} и $\nu_{\text{C-O}}$ в низкочастотную область во фракциях I и II с высоким содержанием О-СН₃ групп относительно фракции IV свидетельствует об образовании групп С ОН...ОСН₃. В то время как, появление узкого высокочастотного максимума 612 см^{-1} и повышение значения частот $\nu_{\text{C-O}}$ и $\nu_{\text{O-H}}$ предполагает менее прочные водородные связи (ВС) между функциональными группами молекул во фракциях IV и в исходном ВРПС. Проявление тонкой колебательной структуры полос поглощения в областях 600-700 см^{-1} и 1000-1070 см^{-1} во фракциях III объясняется, по-видимому, колебательным взаимодействием соседних функциональных групп, ослабляющих прочность ВС в данном полисахариде. Полученные спектральные данные позволяют предположить, что растворимость фракций I-V связана со степенью прочности ВС.

Таким образом, из полученных фракций фракция III отличалась растворимостью в воде, высоким выходом (20%), соотношением сахаров и была объектом дальнейшего химического исследования.

1. 2. Структурное исследование кардарана *C. repens*

Фракция III - белый аморфный порошок, с $[\alpha]_{\text{D}} - 40,1^{\circ}$ (с 1% ; Н₂О), ММ 56000 Да и состоит из L-арабинозы (2), D-галактозы (3) в соотношении 1:2,2 и 1,1% галактуроновой кислоты (4). Следовательно, она относится к арабиногалактаном и названа кардараном.

Для установления строения кардарана (1.1) применяли методы полного и частичного кислотного гидролиза, перйодатного, хромового окисления и метилирования. При окислении кардарана перйодатом натрия и последующим восстановлением боргидридом натрия образуется полиспирт, в гидролизате которого БХ обнаружили, в основном, глицерин (5) и (2). Образование (5) возможно при наличии 1,3, или 1,6 связи между пиранозными звеньями, идентификация свободной (2) свидетельствует о разветвленной структуре полисахарида.

Метилированием кардарана по методу Хакомори получили полностью метилированный продукт с $[\alpha]_{\text{D}} - 78,3^{\circ}$ (с 0,2%; СНСI₃). Перметилат подвергли формолизу и гидролизу, продукты гидролиза разделяли на колонке с

силикагелем L 150/250 меш. элюированием смесью хлороформ-метанол (9:1), анализировали ТСХ. Идентифицировали 2,3,4,6-тетра-О-*Me-D-Gal* (6), 2,3,4-три-О-*Me-D-Gal* (7), 2,3,5-три-О-*Me-L-Ara* (8), 3,4,6-три-О-*Me-D-Gal* (9), 2,4-ди-О-*Me-Galp* (10) и 2,5-ди-О-*Me-L-Ara* (11). Преобладание (7) в гидролизате кардарана доказывает, что галактопиранозные звенья в полимерной цепи связаны 1,6 - связью. Присутствие (6) показывает, что цепь кардарана на невосстанавливаемом конце имеет галактопиранозный остаток. Следует отметить, что в кардаране было идентифицировано незначительное количество 3,4,6-три-О-*Me-D-Galp*, вероятно, в (1.1) галактуроновая кислота имеет 1,2 тип связи. Обнаружение следовых количеств (10) и (11) ещё раз подтверждает данные перйодатного окисления о возможном разветвлении в цепи кардарана. Деметилированием диметилпроизводных получили галактозу и арабинозу.

Высокое отрицательное удельное вращение кардарана и его метильного продукта свидетельствует о том, что в арабиногалактане галактозные остатки имеют β -, а остатки арабинозы α -конфигурацию. Это предположение подтверждается также окислением полностью ацетилированного (1.1) хромовым ангидридом. В гидролизате конечного продукта методом БХ обнаружена лишь свободная арабиноза. Это говорит о том, что арабиноза связана с основной цепью α -гликозидной связью, об этом также свидетельствуют сигналы спектра ^{13}C ЯМР кардарана.

Частичное расщепление макромолекул кардарана проводили методом частичного кислотного гидролиза. С целью выбора оптимальных условий получения олигосахаридов частичный гидролиз проводили при различных условиях с применением минеральных и органических кислот. Во всех случаях получили арабинозу, галактозу, следы глюкозы, галактуронозой кислоты и три индивидуальных олигосахаридов (О-1-О-3) с Rf_{gal} 0.075; 0.045 и 0.032 соответственно. Кроме того, выявили незначительное количество дисахаридов с Rf_{gal} 0.08, дающего при гидролизе только арабинозу.

Состав и строение олигосахаридов устанавливали на основании полного кислотного гидролиза до и после восстановления NaBH_4 , метилирования и ^{13}C ЯМР - спектроскопии. Степень полимеризации олигосахаридов определяли методом ГЖХ по соотношению моносахаридов.

Олигосахарид О-1, $[\alpha]_D^{+17,8^\circ}$ (с 0,1%; H_2O), состоит из (3) и (2). В продуктах гидролиза после восстановления NaBH_4 обнаружили (3) и арабит в соотношении 1:1. Метилирование приводит к получению перметилата, образующего при гидролизе 2,4,6-три-О-*Me-L-Ara* и (8) в соотношении 1:1. Обнаружение 2,4,6-три-О-*Me-L-Ara* позволяет предположить наличие 1 \rightarrow 3 связи в основной цепи олигосахаридов.

В результате распада по Смитсу идентифицировали эритрит и (5) в соотношении 1:1. На основании вышеизложенных данных, олигосахарид О-1 представлен дисахаридом, т.е. α -*L-Araf*(1 \rightarrow 3)- β -*D-Galp* (12).

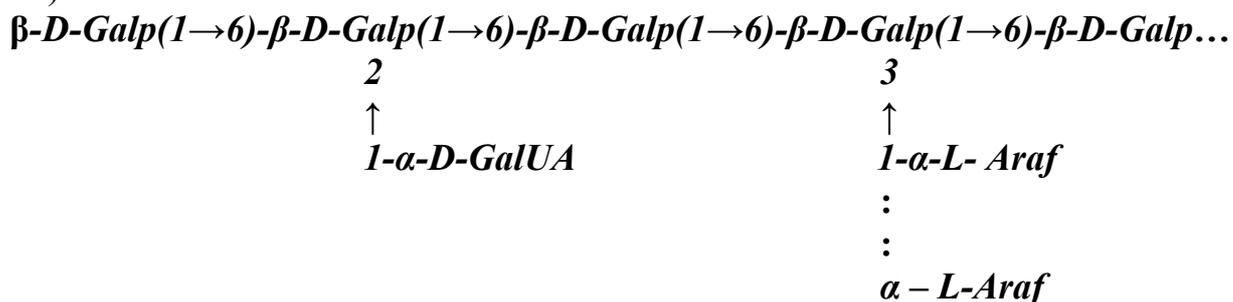
Олигосахарид - О-2, $[\alpha]_D^{+42,3^\circ}$ (с 0,25%; H_2O). При полном кислотном гидролизе олигосахаридов О-2 идентифицирована только (3), в продуктах его восстановления - дульцит и галактоза в соотношении 1:2. Идентификация (7)

в гидролизате перметилата, как основного свидетельствовало о наличии 1→6 связи в моносахаридных остатках олигосахаридной цепи. В продукте периодатного окисления получен глицерин. Совокупность полученных результатов доказывает, что олигосахарид О-2 является трисахаридом, т.е. β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp (13).

Олигосахарид - О-3, $[\alpha]_D^{20} +34.2^\circ$ (с 0,23%; H₂O), состоит лишь из (3), восстановление его NaBH₄ и гидролиз привели к образованию дульцита и (3) в соотношении 1: 3. Наличие в продуктах метилирования (7) и присутствие (5) в продукте периодатного окисления говорит в пользу 1→6 связи. Из вышеизложенного следует, что олигосахарид О-3 является тетрасахаридом, т.е. β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp (14).

В спектре ЯМР - ¹³C кардарана обнаруживаются сигналы с химическими сдвигами 104,4 (С-1), 72,01 (С-2), 73,82 (С-3), 68,7 (С-4), 76,5 (С-5), 61,8 (С-6) м.д., характерные для 1→6 связанных галактопиранозных остатков. Сигнал при 82,1 м.д., вероятно, относится к замещенному по С-3 галактопиранозному остатку. На присутствие уроновой кислоты в спектре кардарана указывают химические сдвиги 171,6 и 179,1 м.д. В спектре имеются три аномерных сигнала при 101,07; 104,4 и 108,2 м.д., первые два сигнала относятся к С-1 атомам галактуроновой кислоты и галактопиранозы, химический сдвиг 108,2 м.д. характерен для С-1 L-арабинофуранозы. Сигнал при 104,4 м.д. относится к С-1 атому Galp, находящейся в точке ответвления, 101,07 м.д. - к С-1 галактуроновой кислоты. Сигнал при 53,7 м.д. свидетельствует о наличии в полисахариде О-СН₃ - групп в виде метильных эфиров уроновой кислоты. Химические сдвиги, относящиеся к арабинофуранозному остатку, находятся в области резонанса 68,7 м.д., 108,2 м.д.

На основании полученных химических и спектральных данных арабиногалактан-кардаран имеет следующую наиболее вероятную структуру (1.1):



(1.1)

2. УГЛЕВОДЫ СЕМЯН РАСТЕНИЙ РОДА *GLEDITSIA*

В целях выяснения распространения полисахаридов в растений рода *Gleditsia* местного региона и влияния почвенно-климатических условий на количественное содержание полисахаридов, физико-химические свойства, а также на химическую структуру мы изучали семена 8 видов *Gleditsia*: *G. aquatica*, *G. delavayi* French, *G. caspia* Desf., *G. macracantha* Desf, *G. japonica* Miq, *G. texsana* Sarg., *G. triacanthos* L., *G. sinensis* L., культивируемые в ботаническом саду им. Ф. Н. Русанова АН РУз. Сырье собирали в октябре

1997 года в период созревания семян и полисахариды выделяли по вышеописанному методу.

Водорастворимые полисахариды *Gleditsia* представляют собой аморфные порошки белого цвета с кремоватым оттенком; растворяясь в воде, они образуют гелеобразные растворы с высоким значением относительной вязкости от 43.4 (*G. macracantha*) до 184.7 (*G. aquatica*) и положительным удельным вращением (табл.3). Из данных табл. 3 видно, что содержание водорастворимых полисахаридов в семенах колеблется в зависимости от их вида и составляет от 6.3% (*G.sinensis*) до 21.2% (*G. aquatica*). Наиболее высокое содержание ВРПС наблюдалось в семенах *G. aquatica* (21.2%), *G. triacanthos* и *G. texsana* (18%).

Таблица 3

Физико-химические и ИК-спектральные характеристики галактоманнанов семян *Gleditsia*

№	Вид растения	Выход ВРПС, %	Соотношение <i>Gal:Man</i>	$\eta_{\text{отн}}$ (с 0,5%; H ₂ O)	$[\alpha]_{\text{D}}$ (с 0.1%; H ₂ O)	$\nu_{\text{с-н}}$ см ⁻¹	$\nu_{\text{он}}$ см ⁻¹
1	<i>G.aquatica</i>	21.2	1:2.6	184.7	+4.0	768.799	3293
2	<i>G.caspia</i>	11.5	1:8.3	101.5	+5.2	768.799	3336
3	<i>G.delavayi</i>	11.9	1:1.7	121.1	+8.0	768.799	3398
4	<i>G.japonica</i>	10.0	1:5.0	119.9	+6.8	767.799	3393
5	<i>G.macracantha</i>	14.6	1:5.0	43.4	+14.0	-	3429
6	<i>G.sinensis</i>	6.30	1:2.8	92.5	+8.8	768.799	3361
7	<i>G.texsana</i>	18.0	1:3.8	139.4	+14.0	768.799	3394
8	<i>G.triacanthos</i>	18.0	1:4.6	101.5	+2.8	768.769	3293

Макромолекула ВРПС состоит из D-маннозы (14) и D-галактозы, количественное соотношение их варьирует от 1.7:1 (*G.delavayi*) до 8.3:1 (*G.caspia*). Следовательно, ВРПС исследуемых 8 видов растений рода *Gleditsia* относятся к галактоманнанам (ГМ) и отличаются между собой и ранее описанных в литературе галактоманнанов количественным соотношением моносахаридных остатков, относительной вязкостью, значением удельного вращения и молекулярной массой.

Интересно отметить, что ГМ *Gleditsia* отечественной флоры отличаются от других известных галактоманнанов более высоким содержанием маннозы, например, в ГМ *G. caspia* соотношение *Gal:Man* составляет 1:8.3, *G. triacanthos* - 1:4.6, а в ГМ *G. japonica* и *G. macracantha* - 1:5 соответственно. Фракционирование ВРПС растворами солей тяжелых металлов, таких как ацетат свинца, раствор Фелинга и гидроокись бария, позволило предположить наличие в них β -1 \rightarrow 4 связанных маннопиранозных остатков в цепи. Выделенные полисахариды являются гетерополисахаридами, а не смесью гомополисахаридов – галактана и маннана. Доказательством наличия ковалентной связи между моносахаридными остатками служит постоянство соотношений *Gal:Man* в процессе очистки, а также наличие галактозы в олигосахаридах.

При анализе ИК-спектров ВРПС исследуемых образцов *Gleditsia* были выделены две наиболее информативные области частот $700-900\text{ см}^{-1}$ и $3000-3600\text{ см}^{-1}$. Выявление этих полос поглощения свидетельствовало о том, что маннозные остатки в исследуемых ГМ являются пиранозами, соединенными β -1 \rightarrow 4 гликозидными связями, а второй компонент D-галактоза имеет α -конфигурацию гликозидного центра с наиболее вероятной конформацией кресла пиранозного цикла. Выводы, сделанные на основании ИК-спектрального анализа исследуемых полисахаридов *Gleditsia*, находятся в соответствии с полученными физико-химическими характеристиками.

Таким образом, установлено, что ВРПС семян 8 видов растений рода *Gleditsia* относятся к галактоманнанам и являются маркёрами данного рода растений. Полученные данные дополняют хемосистематику представителей сем. *Fabaceae* на наличие галактоманнанов. Сделан вывод о том, что содержание ВРПС и количественное соотношение *Gal:Man* в галактоманнанах зависит от места произрастания, т.е. почвенно-климатические условия влияют на содержание галактоманнанов, на величины количественного соотношения *Gal:Man* и на их физико-химические характеристики.

2. 1. Углеводный состав плодов *G. macracantha* и *G. texsana*

Для определения содержания и состава углеводов, а также для выяснения распространения ВРПС в различных частях плодов растений рода *Gleditsia*, изучены стручки, кожура и зародышевая часть плодов *G. macracantha* и *G. texsana*. Исследование двух видов показало, что углеводы распределены не одинаково. По данным изучения углеводного состава плодов *G. macracantha* и *G. texsana* можно констатировать, что ВРПС и ПВ преобладают в коже семян *G. macracantha* (21% и 8% соответственно), а ГМЦ - в зародышевой части (ГМЦ-А-7.6 и ГМЦ-Б-3.2% соответственно). В коже плодов *G. texsana* содержание ВРПС и ПВ достигает 23.7% и 4.04% соответственно. ГМЦ-Б превалирует в зародышевой части и составляет 4.3% (табл.4).

Исследование разных типов полисахаридов плодов *G. macracantha* и *G. texsana* показало, что углеводные компоненты этих видов растений отличаются не только содержанием полисахаридов, но и моносахаридным составом. Следует отметить, что отличительной стороной является моносахаридный состав гемицеллюлоз А и Б. В гемицеллюлозах А и Б *G. texsana* (в зародышевой части) преобладающими моносахаридами являются глюкоза и ксилоза, в ГМЦ *G. macracantha* эти моносахариды отсутствуют или содержатся в незначительных количествах. Моносахаридный состав ВРПС кожуры семян двух видов *Gleditsia* по хроматографическим данным показал наличие галактозы и маннозы.

Таким образом установлено, что ВРПС накапливаются, в основном, в коже семян *G. macracantha* и *G. texsana* по моносахаридному составу являются галактоманнанами.

Таблица 4

Содержание и моносахаридный состав полисахаридов плодов

G. macracantha и *G. texsana*

Сырье	Тип ПС	Выход,%	Соотношение моносахаридных остатков						
			<i>Gal</i>	<i>Glc</i>	<i>Man</i>	<i>Xyl</i>	<i>Ara</i>	<i>Rham</i>	<i>UAc</i>
<i>G. macracantha</i>									
Стручки	ВРПС	2.6	1.3	4.0	2.4	7.4	1.0	3.5	-
	ПВ	0.8	1.0	5.7	1.7	4.8	сл.	+	+
	ГМЦ-А	0.8	1.0	1.0	1.1	-	-	1.3	-
	ГМЦ-Б	1.6	1.0	1.0	сл.	-	-	0.2	сл.
Кожура	ВРПС	21.0	1.0	-	5.0	-	-	-	-
	ПВ	8.0	2.6	-	9.6	1.0	18.6	-	+
	ГМЦ-А	0.3	7.5	-	13.3	3.0	3.3	1.0	-
	ГМЦ-Б	1.9	1.1	-	9.1	2.0	2.0	1.8	-
Зародыше вая часть	ВРПС	5.3	1.0	+	-	-	-	5.5	+
	ПВ	1.2	1.0	4.7	0.1	1.0	сл.	-	-
	ГМЦ-А	7.6	1.0	1.0	4.7	-	сл.	0.7	-
	ГМЦ-Б	3.2	5.0	-	сл.	7.5	сл.	6.0	-
<i>G. texsana</i>									
Стручки	ВРПС	2.60	1.0	1.42	1.2	2.0	-	-	-
	ПВ	1.53	1.0	5.0	5.0	9.0	-	2.0	+
	ГМЦ-А	0.48	1.0	2.6	1.1	-	-	сл.	-
	ГМЦ-Б	1.10	-	-	1.2	11.6	-	-	+
Кожура	ВРПС	23.72	1.0	-	3.8	-	-	-	-
	ПВ	4.04	4.6	-	6.7	3.0	4.7	-	+
	ГМЦ-А	1.78	9.5	2.0	17.3	4.0	7.3	-	+
	ГМЦ-Б	0.42	4.1	3.8	8.7	3.0	1.6	-	+
Зародыше вая часть	ВРПС	3.20	1.0	4.6	6.2	-	-	-	сл.
	ПВ	0.90	1.8	1.0	5.2	2.2	-	сл.	+
	ГМЦ-А	1.50	-	86.6	3.6	-	-	1.0	сл.
	ГМЦ-Б	4.33	сл.	96.0	2.5	33.0	-	1.0	-

Для выявления периода максимального содержания галактоманнанов *G. macracantha* изучали динамику накопления ВРПС и их моносахаридный состав, а также зависимость вязкости растворов полисахарида от роста и развития семян. Образцы семян заготавливали с момента формирования семян до конца вегетационного периода. Выявлено, что с развитием и ростом семян увеличивается содержание галактоманнанов и количественное содержание маннозы. В начале вегетации соотношение *Gal:Man* составляло 1:3.9, а в конце периода покоя оно достигало 1:5, увеличивалась при этом и вязкость растворов. Следовательно, в этот период формируются макромолекулы галактоманнана с высокими молекулярными массами.

Таким образом, в результате исследований установили, что максимальное накопление галактоманнанов в семенах *G. macracantha* наблюдается в стадии покоя и образцы полисахаридов этого периода имеют высокое значение вязкости.

2. 2. Исследование структуры галактоманнанов кожуры семян *Gleditsia*

При изучении строения галактоманнанов *Gleditsia* большое внимание уделяется их гомогенности, критерием которой является постоянство соотношения *Gal:Man*. Гомогенность полисахарида контролировали методами ультрацентрифугирования и гель-фильтрации. Строение галактоманнанов *Gleditsia* изучали методами полного и частичного кислотного гидролиза, периодатного и хромового окисления, метилирования и спектральными методами (ИК-, ^{13}C - и ^1H ЯМР- спектроскопией).

Галактоманнан *G. macracantha*. Фракционным осаждением спиртом ВРПС кожуры семян *G. macracantha* получили гомогенный галактоманнан – ГММ.

ГММ - белый аморфный порошок с $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +14^\circ$ (с 0,1%; H_2O), растворимый в воде с образованием вязких растворов ($\eta_{\text{хар}}$ - 7.64; с 0,5%; H_2O), окрашивания с йодом не даёт. Молекулярный вес его, определенный по константе седиментации, составляет $750000 \pm 10\%$. В ИК-спектре ГММ присутствуют полосы поглощения при 815 см^{-1} (пиранозное кольцо), 872 см^{-1} (β -гликозидная связь), 720 см^{-1} (α -гликозидная связь), 3394 см^{-1} (ОН-группы).

При окислении ГММ периодатом натрия с последующим распадом по Смитту в продуктах БХ обнаружили, в основном, эритрит (16) и (5). Соотношение (16) и (5) по данным ГЖХ составляло 2.5:1.0 соответственно. Обнаружение глицерина свидетельствовало о высокой степени полимеризации галактоманнана и говорит о существовании 1→6 связи между гексозными остатками, а наличие эритрита - об 1→4 связи между маннозными остатками, а также о пиранозной форме колец последних.

Метилированием (2.1) получили перметилат с выходом 63%, $[\alpha]_{\text{D}} +27^\circ$, в ИК-спектре которого отсутствовали полосы поглощения гидроксильной группы ($3200\text{-}3600 \text{ см}^{-1}$). Перметилат ГММ подвергали последовательно формолизу и гидролизу. В продуктах гидролиза методами ТСХ и ГЖХ с заведомыми образцами идентифицировали 2,3,4,6-тетра-О-Ме-*D-Manp* (17), 2,3,4,6-тетра-О-Ме-*D-Galp* (6), 2,3,6-три-О-Ме-*D-Manp* (основной продукт) (18) и ди-О-Ме-гексозу в соотношении 9.8:2.6:18.3:1.0 соответственно. Деметилированием последней получили маннозу. Обнаружение (6) и 2,3-ди-О-Ме-*D-Manp* подтверждают данные о возможности разветвления в цепи макромолекулы, где второй компонент - галактоза присоединена к основной цепи 1→6 типом связи. Наличие (18) в гидролизате перметилата доказывает, что полимерная цепь ГММ состоит в основном из 1→4 связанных маннопиранозных остатков, а образование (17) показывает, что цепь на невозстанавливаемом конце имеет маннопиранозные остатки.

Положительное удельное вращение перметилата галактоманнана и полоса поглощения при 720 см^{-1} в ИК-спектре свидетельствуют о наличии α -гликозидной связи, это предположение подтвердили окислением полностью ацетилированного ГММ хромовым ангидридом. В конечном продукте окисленного перацетата ГММ идентифицировали БХ только галактозу. Следовательно, остатки галактозы имеют α -, а остатки маннозы - β -

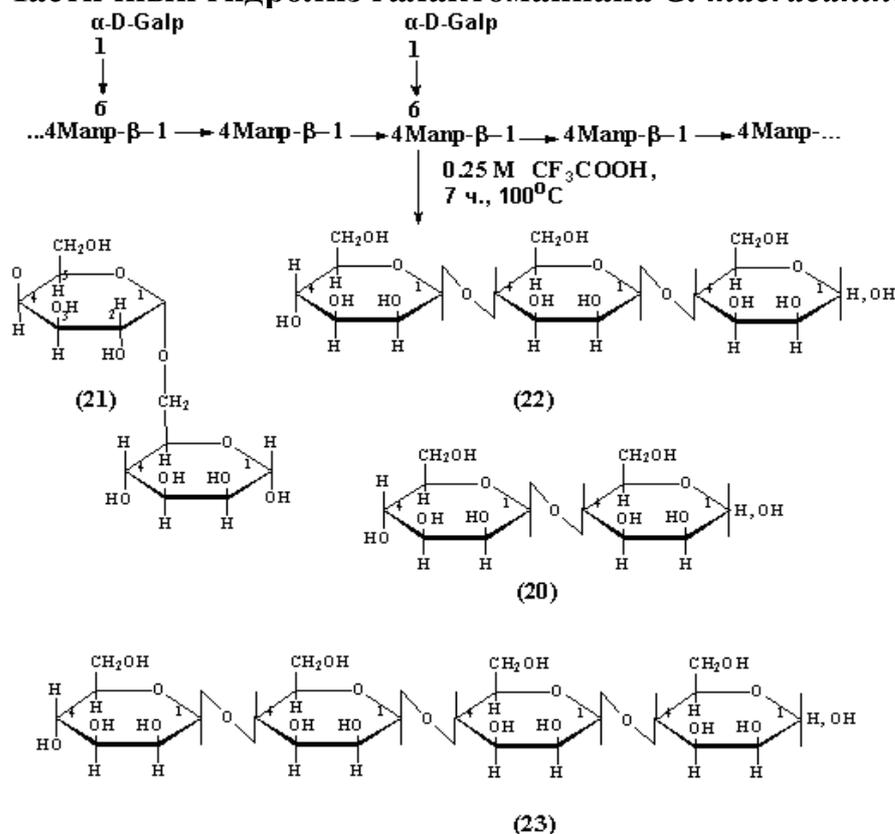
конфигурацию гликозидной связи.

Таким образом, с помощью химических методов и ИК-спектроскопии установили, что ГММ кожуры семян *G. macracantha* является разветвленным полисахаридом, основу которого составляет β -1,4 маннан с боковыми ответвлениями галактозы.

Для установления последовательности моносахаридных остатков в цепи ГММ подвергали частичному гидролизу 0.25 М трифторуксусной кислотой. В гидролизате обнаружили галактозу, маннозу и четыре олигосахариды О-20 - О-23, которые выделяли индивидуально препаративной БХ (схема 1).

Схема 1

Частичный гидролиз галактоманнана *G. macracantha*



Строение олигосахаридов установили методами полного и частичного гидролиза до и после восстановления боргидридом натрия, перйодатного окисления и метилирования. Идентифицировали следующие олигосахариды:

Олигосахарид - О-20, $[\alpha]_D^{20} -15^\circ$ (с 0.2%; H_2O), при полном кислотном гидролизе БХ идентифицировали только маннозу. В продуктах гидролиза восстановленного О-20 обнаружили маннозу и маннит в соотношении 1.05:1. Метилирование по Хакомори приводит к получению перметилата, образующего при гидролизе (17) и (18) в соотношении 1:1. В продуктах распада по Смитсу идентифицировали эритрит и (5) в соотношении 1:1. На основании вышеизложенных данных следует заключить, что олигосахарид О-20 является 4-О- β -D-Manp(1 \rightarrow 4)- О- β -D-Manp, т.е. маннобиозой.

Олигосахарид-О-21, $[\alpha]_D^{20} +119^\circ$ (с 0.1%; H_2O), состоит из галактозы и маннозы в соотношении 1:1. В гидролизате перметилата олигосахарида идентифицировали (6) и (18) в соотношении 1:1, а в продуктах окисления -

только (5), что свидетельствует о наличии 1→6 гликозидной связи между маннозой и галактозой. Полученные данные свидетельствуют о том, что олигосахарид О-21 представлен *6-0-α-D-Galp(1→4)-β-D-Manp*, т.е. галактозил-D-маннозой.

Олигосахарид-О-22, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -27° (с 0.1%; H₂O) и олигосахарид - О-23, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -38° (с 0.1%; H₂O) по данным химического исследования представляют собой *4-β-D-Manp(1→4)-β-D-Manp(1→4)-β-D-Manp*, т.е. маннотриозу и *4-β-D-Manp(1→4)-β-D-Manp(1→4)-β-D-Manp-(1→4)-β-D-Manp*, т.е. маннотетраозу.

¹³C ЯМР спектр галактоманнана ГММ. Галактоманнан - ГММ образует весьма вязкий водный раствор даже при небольших концентрациях, что в значительной степени ухудшает разрешение спектра ЯМР ¹³C, поэтому ГММ деполимеризовали до фрагментов с меньшей молекулярной массой. Соотношение моносахаридов при этом мало изменяется, а вязкость водных растворов сильно уменьшается, что даёт возможность изучать деполимеризованный ГММ методом ¹³C ЯМР - спектроскопии и получить хорошо разрешенные спектры.

Деполимеризованный ГММ - белый аморфный порошок с $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ +24°, ММ 19000, полностью растворяется в воде и имеет $\eta_{\text{хар}}$ 1.93. В гидролизате деполимеризованного образца обнаружили галактозу и маннозу в соотношении 1:4.97.

В спектре ¹³C ЯМР ГММ резонансные сигналы расположены в пределах 60.0-105.0 м.д. Положение сигнала С - 6 галактозы 62.39 м.д. свидетельствует о её пиранозной форме, что также одновременно указывает на отсутствие замещения по СН₂ОН группе галактопиранозы. Об отсутствии замещения при остальных гидроксильных группах С-2, С-3, С-4, С-6 этого углеводного остатка свидетельствуют величины химических сдвигов соответствующих углеродных атомов (табл.5).

Из вышесказанного можно предположить, что галактопиранозы в полисахариде присутствуют в виде разветвлений при гидроксильной группе СН₂ОН маннозного остатка. В спектре деполимеризованного ГММ значительно больше сигналов принадлежат маннозным остаткам. В области сильного поля наблюдаем два сигнала, из которых один при 61.76 м.д. принадлежит углероду незамещенной СН₂ОН - группы маннозы, тогда как появление слабопольного сигнала при 67.76 м.д. свидетельствует о замещении части маннозных остатков по С-6 ($\Delta\delta$ =+5.66 м.д). Положение этих сигналов свидетельствует также о пиранозной форме маннозных остатков.

Величина химического сдвига сигнала С-6 замещенных маннопиранозных остатков указывает на присоединение в этой позиции α-аномера галактопиранозы.

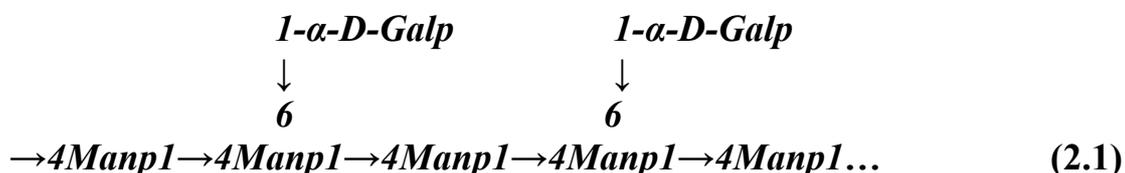
Важную информацию о структуре несет сигнал углеродного атома С-4, который проявляется в виде трех отдельных резонансных линий и смещен в слабое поле на 9.8 м.д. по сравнению с одноименными сигналами свободной маннопиранозы. Это свидетельствует о замещении маннопиранозных остатков в положении С-4, т.е. о существовании связи 1→4 между остатками

Отнесение сигналов в спектре ^{13}C ЯМР ГММ *G. macracantha*

Моносахаридный остаток	Химические сдвиги, δ м.д.					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α -D-Galp-	69.64	70.60	71.15	72.45	62.39	
4- β -D-Manp \rightarrow (незам.)	101.45	71.15	77.15	77.68	76.26	61.76
4,6-ди- β -D-Manp \rightarrow (зам.)	101.28	1.76	72.65	77.98 77.18	74.59	67.76

маннозы. Резонансные линии углеродного атома C-4 в сильном поле 77.68 м.д. принадлежат незамещенному блоку *Man-Man*, сигналы при 77.98 м.д. - монозамещенному *Man-Man-Gal*, а сигнал 78.17 м.д. характерен для двузамещенного блока *Man-Man(Gal)₂*. Этот факт подтверждается при рассмотрении сигнала C-5 при 76.26 м.д. незамещенных и 74.59 м.д. замещенных маннопираноз, второй из которых смещен в сторону сильного поля на $\Delta\delta=2.61$ м.д. Кроме того, наличие незамещенных маннозных остатков свидетельствует о неравномерном распределении галактозных остатков вдоль главной маннановой цепи.

Исходя из результатов химических и спектральных исследований, установили, что макромолекула галактоманнана кожуры семян *G. macracantha* состоит из β -1 \rightarrow 4- связанных маннопиранозных остатков, которые в шестом положении замещены единичными остатками α -D-галактозы с 1 \rightarrow 6 - связью и имеет следующее повторяющееся звено (2.1):



2.3. Глюкофруктан *G. macracantha*

Из водно-спиртового маточного раствора, после выделения и осаждения ВРПС *G. macracantha*, выделили две гомогенные фракции: низкомолекулярную - НМФ и высокомолекулярную - ВМФ.

НМФ имеет $[\alpha]_D -32^\circ$ (с 0,25%; H₂O), ММ 4000 Да, моносахаридный состав представлен 93,4% фруктозой и 6,6 % глюкозой, следовательно, она является глюкофруктаном (ГФ). В ИК-спектре ГФ имеются полосы поглощения при 860 и 940 см⁻¹, характерные для глюкофруктанов типа инулина. Данные ИК-спектроскопии, отрицательное удельное вращение указывают на преобладание β -гликозидной связи в ГФ, а легкость кислотного гидролиза говорит в пользу фуранозной формы D-фруктозы.

В продуктах периодатного окисления ГФ с последующим распадом по Смитсу БХ и ГЖХ обнаружили глицерин, что свидетельствует о наличии 2 \rightarrow 1 связи между гексозными остатками.

В продуктах метанолиза метилированного продукта ТСХ и ГЖХ выявили в основном 1,3,4,6-тетра-Ме-D-фруктозу (а), 2,3,4,6-тетра-Ме-D-

глюкозу (b), 3,4,6-три-Ме-D-фруктозу (c) и 2,3,4-три-О-Ме-D-глюкозу (d) в соотношении (a+b):c, 1:22. Наличие 3,4,6-три-О-Ме-D-фруктозы подтверждает данные периодатного окисления о преобладании в цепи ГФ 2→1 связей между фруктофуранозными остатками. Присутствие 2,3,4-три-Ме-D-глюкозы позволяет предположить возможность замещения глюкозы при C-6. В спектре ¹³C ЯМР глюкофруктана главные сигналы 62.2 (C-1), 104.5 (C-2), 77.4 (C-3), 76,5 (C-4), 82.2 (C-5) и 63.3 м.д. (C-6) соответствовали углеродным атомам остатков фруктозы. Их положение подтверждает вывод о фуранозной форме фруктозных остатков и β-конфигурации гликозидных связей. В аномерной области спектра ГФ имеется сигнал с химическим сдвигом 104.5 м.д., принадлежащий соответственно 1-О-замещенному остатку β-D-фруктофуранозы, что характерно для глюкофруктанов инулинового типа. Сигнал с химическим сдвигом 104,65 м.д. можно отнести к 2,6-замещенному остатку β-D-фруктофуранозы. Сигналы 93.1 (C-1), 71.9 (C-2), 73.4 (C-3), 70.3 (C-4), 73.2 (C-5), 61.5 м.д. (C-6) относятся к α-D-глюкопиранозным остаткам. Химический сдвиг 93.1 м.д. в спектре относится к C-1 α-D-глюкопиранозы, которая находится на восстанавливающем конце полимера, присоединяясь к C-2 остатка фруктофуранозы. Отсюда следует, что глюкофруктан имеет в цепи β-2→1 связанные фруктофуранозные звенья с концевым глюкозным остатком. Сигналы 98.8 и 92.9 м.д. характерны для C-1 восстанавливающей β-D-фруктофуранозы и α-D-глюкопиранозы соответственно. В области резонанса C-5 имеется сигнал с химическим сдвигом 82.25 м.д., относящийся соответственно к 1-О-замещенным остаткам β-D-фруктофуранозы. Положение сигналов C-3 и C-4 фруктофуранозных остатков подтверждает отсутствие замещения при этих углеродных атомах. В ГФ отмечено наличие двух типов остатков D-глюкопиранозы: первый из них представляет собой концевые невосстанавливающие группировки, это фрагмент сахарозы. Остальные глюкозные остатки находятся в цепи и замещены в положении 6, об этом свидетельствуют менее интенсивные сигналы 69.1 м.д. и 99.3 м.д., относящиеся к C-6 α-D-глюкопиранозы и C-2 β-D-фруктофуранозы соответственно.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что глюкофруктан из семян *G. macracantha* состоит из β-2,1 связанных фруктофуранозных единиц с концевым сахарозным фрагментом. Вероятно, остатки глюкозы дополнительно замещены в положении О-6 остатками β-D-фруктофуранозы.

2. 4. Арабиногалактоманнан *G. macracantha*

ВМФ - белый аморфный порошок, полностью растворяется в воде, ММ 25000, состоит из *Ara* : *Man* : *Gal* в соотношении 1 : 3.2 : 2,8. Следовательно, ВМФ относится к арабиногалактоманнанам (АГМ).

Строение АГМ изучали классическими химическими и спектральными методами. Данные окисления ацетилированного АГМ хромовым ангидридом указывают на то, что в полисахариде галактоза и арабиноза имеют α - конфигурацию. В результате окисления полисахарида периодатом натрия с последующим распадом по Смитсу обнаружили эритрит, арабинозу и

незначительное количество галактозы. Наличие эритрита свидетельствовало о 1→4 - связи между моносахаридными остатками, присутствие моносахаридов говорит о возможном разветвлении в цепи.

Метилирование АГМ проводили по методу Хакомори, получили полностью метилированный продукт с $[\alpha]_D^{20} -15,8^\circ$ (с 0,9%; ацетон), O-CH₃ - 40,8%. В гидролизате перметилата ТСХ обнаружили 2,3,4,6-тетра-О-Ме-*D*-Манп, 2,3,4,6-тетра-О-Ме-*D*-Галп и как основной продукт 2,3,6-три-О-Ме-*D*-Ман, а также незначительные количества 2,3,4-три-О-Ме-*D*-Гал, 2,3,5-три-О-Ме-*L*-Ара.

Строение АГМ исследовали с помощью спектроскопии ЯМР на ядрах ¹H и ¹³C, сигналы в одномерных спектрах относились при использовании двумерных гомоядерных методик ¹H-, ¹H COSY, TOCSY, ROESY, а также гетероядерных ¹H, ¹³C HSQC и HSQ-TOCSY.

В спектрах ЯМР ¹H в области резонанса протонов при аномерных атомах углерода наблюдались четыре сигнала при δ_H 4.78 (наиболее интенсивный), 5.06; 5.02 и 5.13 (последние два - минорные) Остальные протонные сигналы находились в области 3.4 - 4.2 м.д (рис.5).

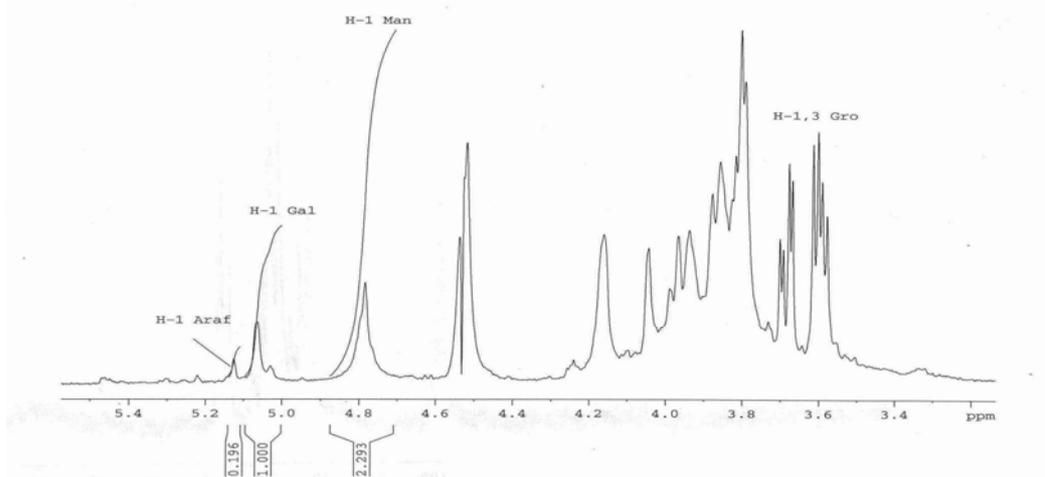


Рис. 5. ¹H ЯМР спектр арабиногалактоманнана *G. macracantha*

В спектре ЯМР ¹³C АГМ в области резонанса аномерных атомов углерода также имелись четыре сигнала при δ_C 101.7 (наиболее интенсивный), 101.5; 100.4 и 109.1 (минорный) (табл.6). Расшифровка двумерных спектров позволила сделать отнесение основных сигналов в одномерных спектрах (табл. 6, 7). Совокупность данных по химическим сдвигам ¹H и ¹³C указывала на наличие в полисахариде остатков 4-замещенной β-маннопиранозы (основной компонент цепи), 4,6-дизамещенной маннопиранозы, терминальных остатков α-галактопиранозы и в качестве минорного компонента - остатков α-арабинофуранозы. Анализ спектров ROESY показал, что основная цепь полимера образована остатками 1,4 - связанной маннопиранозы, часть (примерно 30%) из которых замещена по гидроксилу у С-6 остатками α-галактопиранозы. Ввиду малого содержания остатков α-арабинофуранозы (менее 5%) не удалось достоверно локализовать их в цепи полимера.

Расщепление сигнала Н-1 α-галактопиранозы в спектре ЯМР ¹H на основной

(5.06 м.д.) и минорный (5.02 м.д.) сигналы позволили предположить, что остатки α -арабинофуранозы связаны с остатками α - галактопиранозы по гидроксилу у С-6, как это ранее наблюдалось для других растительных арабиногалактоманнанов.

Таблица 6

Химические сдвиги атомов углерода в ^{13}C ЯМР- спектре арабиногалактоманнана *G.macracantha*

Остаток	Химические сдвиги ^{13}C ЯМР (δ_c , ацетон 31.45)					
	С-1 С-1'	С-2	С-3	С-4	С-5	С-6
$\rightarrow 4) - \beta\text{-Manp}-(1 \rightarrow$	101,7 101,5 ^{b)}	71,3	72,9	78.0	76,6	62.0
$\rightarrow 4) - \beta\text{-Manp}-(1 \rightarrow$ 6)	101.7 101.5 ^{b)}	71.3	72.9	78.3	74.8	68.0
\uparrow $\alpha\text{-Galp}-(1 \rightarrow$	100.4	69.9	70.9	70.8	72.7	62.6
$\alpha\text{-Araf}-(1-$	109.1					

b) Значение для остатка, гликозилирующего 4,6-замещенную маннопиранозу

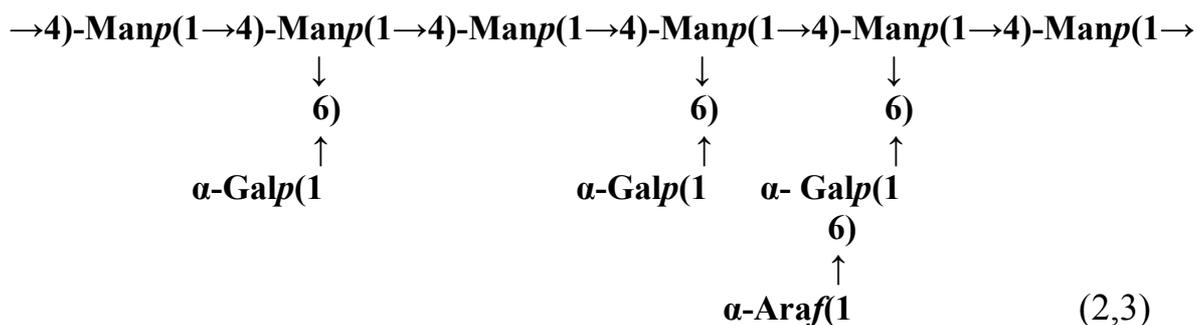
Таблица 7

Химические сдвиги ^1H в спектре ЯМР арабиногалактоманнана *G. macracantha*

Остаток	Химические сдвиги ^1H (δ_H .)					
	Н-1 Н-1'	Н-2	Н-3	Н-4	Н-5	Н-6 Н-6'
$\rightarrow 4) - \beta\text{-Manp}-(1 \rightarrow$	4,78	4,17	3,85	3,87	3,59	3,96
$\rightarrow 4) - \beta\text{-Manp}-(1 \rightarrow$ 6)	4,78	4,17	3,85	3,87	3,80	4.00 3.85'
\uparrow $\alpha - \text{Galp}-(1$	5.06 5.02 ^{a)}	3,87	3,99	4,04	3,94	3.81 3.81'
$\alpha - \text{Araf}-(1 \rightarrow 6)$	5,13					

a) Значение для остатка, замещенного α - арабинофуранозой

Таким образом, впервые из семян *G. macracantha* выделен арабиногалактоманнан и установлено его строение как разветвленного галактоманнана с боковыми ответвлениями, состоящими из остатков арабинофуранозы, боковые ответвления, вероятно, присоединены к галактозе по С-6 и имеет следующую наиболее возможную структуру (2,3):

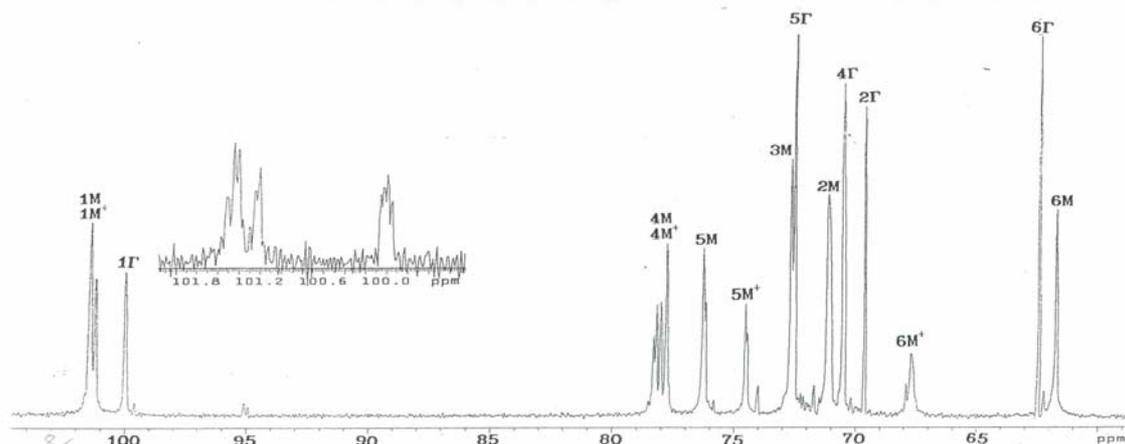


3. Галактоманнаны кожуры семян *Gleditsia texsana*

G. texsana является гибридом *G. triacanthos* и *G. aquatica*. Из ВРПС кожуры семян *G. texsana* был получен галактоманнан (ГМТ) с ММ 795000, который состоял из *Man:Gal* в соотношении 3.8 : 1.

Результаты периодатного окисления, метилирования и частичного кислотного гидролиза свидетельствовали о существовании β -1 \rightarrow 4 связи между маннозными и галактозными остатками и о разветвленности структуры ГМТ, где в основной цепи к С-6 маннозных остатков присоединяется галактоза по С-1. Из гидролизата частично деполимеризованного ГМТ препаративной БХ выделили олигосахариды идентичные олигосахаридам, выделенным из ГММ. Установили, что галактоза и манноза в олигосахаридах связаны между собой ковалентно; на восстанавливающих концах олигомеров находятся остатки маннозы, отсутствие дульцита на хроматограмме свидетельствует о том, что галактоза представлена нередуцирующим звеном.

В ^{13}C ЯМР спектре деполимеризованного ГМТ, $\eta_{\text{хар}}$ 2.50; ММ 25000; соотношение *Gal:Man* 1.0 : 3.97, легко идентифицируются сигналы С-1 и С-6 гексозных остатков, расположенных в слабом (100 м.д.) и относительно



M+ - 4,6-ди-О-замещенный остаток маннозы; Г-остаток галактозы
Цифры обозначают номера атомов углерода моносахаридного состава

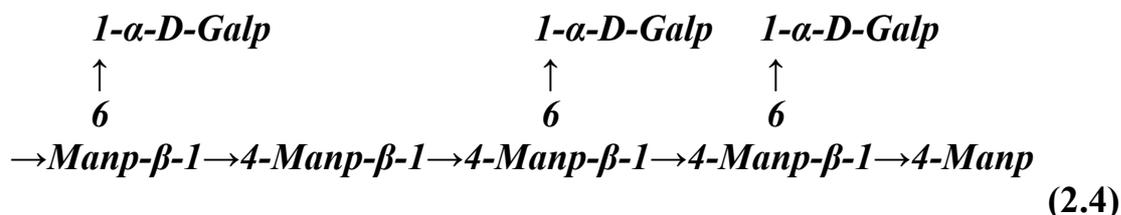
Рис. 6. ^{13}C ЯМР- спектр ГМТ *G. texsana*

сильном (61.77 м.д.) полях соответственно. Сигнал С-6 галактозы при 62.49 м.д свидетельствует о том, что галактозные остатки в цепи находятся в пиранозной форме, тогда как для фуранозидов характерен сигнал в области 64-65 м.д. В рассматриваемом спектре такой сигнал отсутствует.

Существенную информацию о тонком строении цепи ГМТ даёт сигнал при С-4. Важно отметить, что впервые в спектре ЯМР ^{13}C ГМТ в области резонанса этого углеродного атома наблюдались четыре разрешенные линии (рис.6), тогда как в других исследуемых ГМ гледичий только три. Появление четырех разрешенных линий в области С-4 показывает неравноценность маннозных остатков: часть из них замещена только по С-4, а часть по С-4 и С-6, что способствует смещению сигнала в сторону слабого поля на 10.22 м.д. На основе принципа влияния замещения на величину сдвига сигнала,

нами проведено отнесение пиков в области 78 м.д. (рис. 6), разделив их попарно на два сильнополюсных (77.80 и 78.03 м.д.) и два слабополюсных. Сигнал в сильном поле 77.80 м.д. относится к незамещенной паре маннозных остатков *Man-Man*, а линии при 78.02 м.д. и 78.19 м.д. - к монозамещенному блоку *Man-Man-Gal* или *Gal-Man-Man*; слабополюсный сигнал – к двузамещенному блоку *Gal-Man-Man-Gal*. Наличие сигнала при 78.02 м.д. (*Man-Man*) свидетельствует о неравномерном распределении галактозных остатков вдоль цепи ГМТ.

Совокупность данных, полученных химическими и спектральными методами, позволяет характеризовать галактоманнан *G. texsana* как гетерополисахарид, состоящий из маннозы и галактозы, где главная цепь состоит, как у галактоманнанов всех представителей растений рода *Gleditsia*, из β -1,4-связанных остатков маннопиранозы, где некоторые маннозные остатки замещены α -галактопиранозой по шестому углеродному атому. Распределение галактозных остатков вдоль главной цепи не является равномерным и ГМТ имеет следующую наиболее возможную структуру (2.4):



4. Галактоманнаны *G. delavayi* и *G. aquatica*

Из семян *G. delavayi* и *G. aquatica* водной экстракцией выделили гетерогенные полисахариды с выходами 11,9 и 21,2% соответственно.

Для получения гомогенных фракции ВРПС фракционно осаждали спиртом, получили три фракции D₁-D₃ (*G. delavayi*) и A₁-A₃ (*G. aquatica*) (табл.8). При полном кислотном гидролизе фракций D₁-D₃ и A₁-A₃ образуются только галактоза и манноза. Выделенные фракции отличаются друг от друга соотношением моносахаридов и молекулярной массой. Следует отметить, что в отличие от других фракций, во фракции D₃ была идентифицирована глюкоза. Вероятно, в семенах *G. delavayi* наряду с галактоманнанами накапливаются глюкогалактоманнаны.

Таблица 8

Физико-химические характеристики фракции галактоманнанов
G. aquatica и *G. delavayi*

Характеристика фракций	Фракции ГМ <i>G. aquatica</i>			Фракции ГМ <i>G. delavayi</i>		
	A ₁	A ₂	A ₃	D ₁	D ₂	D ₃
Выход, %	18	72	0.18	54	30	2.0
ММ, Да	-	58000	-	100800	79000	-
Соотношение <i>Gal:Man</i>	1:3,4	1:4,9	1:2,2	1:2	1:2,0	1.5 : 1 : 2 <i>Gal:Glc:Man</i>

По данным седиментационного анализа и гель-хроматографии фракции A₂ и D₂ были гомогенными и обозначены нами ГМА и ГМД.

Галактоманнаны ГМА и ГМД - белые аморфные порошки, растворимые в воде, в ИК-спектрах присутствуют полосы поглощения при 880 см⁻¹ (β-гликозидная связь), 817 см⁻¹ (пиранозное кольцо), а полоса поглощения при 722 см⁻¹ свидетельствует о возможном наличии α-гликозидной связи. Это предположение подтверждают данные окисления полностью ацелированных ГМА и ГМД хромовым ангидридом, где в продуктах реакции идентифицирована галактоза (БХ).

Информация о структурных особенностях ГМД была получена с помощью исчерпывающего метилирования по Хакомори. Метилированием ГМ получили перметилат с содержанием O-CH₃-40,8% (ГМА) и 41% (ГМД).

В гидролизате перметилата последних получили (17), (6), (18) (основная) и следы ди-O-Me-гексозы. Эти данные находятся в соответствии с результатами периодатного окисления, где в продуктах распада по Смиту ГМА и ГМД обнаружили, в основном, эритрит, который указывал на наличие 1,4- связи между гексозными остатками, и глицерин, свидетельствующий о присутствии либо 1→6, либо 1→2 типов связи.

Последовательность моносахаридных остатков установили методом частичного расщепления ГМД и ГМА с CF₃COOH. БХ с известными метчиками в продуктах расщепления ГМД идентифицировали галактозу, маннозу, а также олигосахариды: β-D-Manp1→4-β-D-Manp, β-D-Manp1→4-α-D-Galp или α-D-Galp1→4-β-D-Manp, β-D-Manp1→4-β-D-Manp1→4-β-D-Manp и β-D-Manp1→4-β-D-Manp1→4-β-D-Manp1→4-β-D-Manp.

В продуктах расщепления ГМА, кроме вышеуказанных, была идентифицирована маннопентоза. Поскольку галактоза составляет боковые ответвления, то в условиях данного частичного гидролиза происходит её отщепление и из олигосахаридов идентифицирована только галактозилманноза (или маннозил-галактоза).

Установление структуры галактоманнанов, ГМД и ГМА, основывалось также на данных ЯМР -спектроскопии. Изучены спектры деструктурированных ГМД и ГМА, в которых соотношение моносахаридов мало отличается от исходных (табл.9).

Таблица 9

Сравнительная характеристика исходных и деполимеризованных галактоманнанов *G. aquatica* и *G. delavayi*

Основные параметры	<i>G. aquatica</i>		<i>G. delavayi</i>	
	Исходный	Деполимеризованный	Исходный	Деполимеризованный
Соотношение Gal:Man	1:2,6	1:2,4	1:1,12	1:1,10
ММ	580000	25000	790000	37000
η _{отн} (с 0.25%; H ₂ O)	7,52	1,80	9,68	2,42

Галактоманнаны исследовали с помощью одномерной ¹H и ¹³C спектроскопии ЯМР и двумерных гомоядерных ¹H/¹H методик COSY,

TOCSY, ROESY, а также гетероядерных $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ методик HSQC и HSQC-TOCSY. Спектры ЯМР ^{13}C полисахаридов ГМД и ГМА содержали в области резонанса аномерных атомов углерода три сигнала: δ с 100.6, 101.4 и 100.3 .

В спектре ^1H ЯМР полисахаридов в аномерной области наблюдались два сигнала при δ н 4.78 и 5.06. Более разрешенный спектр ^1H ЯМР полисахарида ГМД был расшифрован с использованием двумерных методик COSY и TOCSY (табл. 10). Анализ положения и тонкой структуры корреляционных пиков в двумерных спектрах показал, что ГМД содержит остатки манно- и галактопираноз. Положение сигналов Н-1 маннопиранозных остатков в спектре (δ н 4.78) свидетельствовало об их β -конфигурации, в то время как химический сдвиг Н-1 галактопиранозных остатков (δ н 5.06) отвечал α -конфигурации.

Таблица 10

Химические сдвиги ЯМР ^1H в спектре ГМД

Остаток	Химические сдвиги ^1H , δ м.д.						
	Н-1	Н-2	Н-3	Н-4	Н-5	Н-6	Н-6
$\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Manp-(1}\rightarrow$	4.78	4.16	3.82	3.87	3.59	3.95	3.80
$\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Manp-(1}\rightarrow$	4.78	4.16	3.85	3.87	3.80	4.01	3.83
6) ↑							
$\alpha\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$	5.06	3.87	3.99	4.05	3.93	3.79	3.79

Двумерный спектр ROESY ГМД содержал, помимо внутриостаточных корреляционных пиков, также транс-гликозильные пики δ н/ δ н 4.78/3.87 (Н-1 Man/Н-4Man) и 5.06/3.955 (Н-1 Gal /Н-6 Man), доказывая наличие 1 \rightarrow 4 связи между остатками маннопиранозы и 1 \rightarrow 6 связи между остатками галактопиранозы и маннопиранозы.

Отнесение сигналов в спектре ^{13}C ЯМР (табл.11), выполненное при анализе спектра HSQC, подтвердило замещение в ГМД всех остатков маннопиранозы по С-4 и части из них - по С-6.

Величиной химических сдвигов для С-5 маннопиранозных остатков, замещенных только по С-4 (δ с 76.5), независимо подтверждалась β -конфигурация этих остатков, α -конфигурации галактопиранозных остатков отвечал сильнополюсный химический сдвиг С-1 этих остатков (δ с 100.3 м.д.).

Таблица 11

Химические сдвиги углеродных атомов ГМД в спектре ЯМР ^{13}C

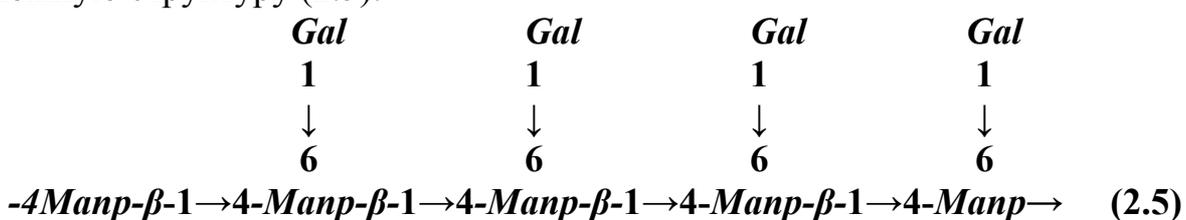
Остаток	Химические сдвиги ^{13}C , δ м.д.					
	С-1	С-2	С-3	С-4	С-5	Н-6
$\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Manp-(1}\rightarrow$	101.6; 101.4 ^а	71.5 71.4 ^а	72.9	77.9	76.5	62.0
$\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Manp-(1}\rightarrow$	101.6	71.5	72.8	78.3	74.8	68.0
↑ 6						
$\alpha\text{-D-Galp-(1}$	100.3	69.9	70.9	70.75	72.7	62.6

а) Для остатка, гликозилирующего 4,6-замещенный остаток маннопиранозы.

Остальные химические сдвиги остатков галактопиранозы по величинам совпадают с таковыми для α -метил-галактопиранозиды, что свидетельствует об отсутствии каких-либо замещений в остатках.

Таким образом, полисахарид ГМД представляет собой галактоманнан с типичными для растительных полисахаридов β -1 \rightarrow 4 связями между остатками маннопиранозы, часть которых замещена по гидроксилу у С-6 терминальными остатками α -галактопиранозы. Полисахарид ГМА имел плохо разрешенный спектр ЯМР ^1H , что затрудняло его исследование методами двумерной спектроскопии. Однако полное совпадение сигналов в спектре ЯМР ^{13}C двух рассматриваемых полисахаридов позволило идентифицировать ГМА как полисахарид того же строения, как и ГМД. Различие в структуре полисахаридов, очевидно, связано с большей степенью полимеризации ГМА, что отразилось в дополнительном уширении спектральных линий как в спектре ЯМР ^1H , так и в спектре ЯМР ^{13}C последнего по сравнению со спектрами ГМД.

Сопоставляя полученные результаты с данными литературы о галактоманнанах рода *Gleditsia*, можно заключить, что полисахариды кожуры семян *G. delavayi* и *G. aquatica* по данным химических и спектральных методов являются галактоманнанами с β -1 \rightarrow 4 - связанными маннопиранозными остатками, у которых 6 положение замещено α -D-галактопиранозой. Галактоманнаны ГМД и ГМА отличаются от ранее изученных в литературе галактоманнанов и от галактоманнанов *G. macracantha* и *G. texsana* ГММ и ГМТ степенью полимеризации, молекулярной массой, а также последовательностью распределения галактозных остатков вдоль основной цепи и имеют следующую наиболее возможную структуру (2.5):



5. ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ *GLEDITSIA MACRACANTHA* В ЛЕГКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Создан закрепитель красок «гледан» при печатании текстильных материалов. В Ташкентском институте текстильной и легкой промышленности на кафедре ОТМ и ТХВ под руководством д.т.н. Эргашева К. Э. и д.т.н., проф. Абдукаримовой М.З. был испытан 2,5%-ный водный раствор «гледана» в качестве загустителя при печатании хлопчатобумажной ткани активными, кубовыми, нерастворимыми азокрасителями и пигментами, при печатании ацетатных тканей и трикотажа дисперсными красителями, при печатании натурального шелка активными красителями. Проведенные лабораторные испытания показали, что «гледан» может заменить крахмал и дорогостоящий альгинат натрия при печатании вышеназванными классами красителей целлюлозных, белковых и ацетатных

тканей и трикотажа. Рисунки, полученные с печатной краской на основе «гледана», имели четкие контуры, более высокую интенсивность цвета. Качество окраски отвечает требованиям стандарта (ГОСТ 9733-0-27.83).

Проведено производственное испытание гледана на отделочной фабрике Ташкентского текстильного комбината и рекомендовано использовать его в качестве закрепителя при печатании текстильных материалов активными красителями, диазолями и нерастворимыми азокрасителями. Было напечатано 550 метров ткани. Установлено, что качество окраски с «гледаном» намного лучше, чем при использовании загустителя крахмала, применяемого на отделочной фабрике. Разработан лабораторный регламент на получение «гледана» из семян *G. macracantha*.

6. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТЕНИЙ *CARDARIA REPENS* И *GLEDITSIA*

Изыскание путей применения полисахаридов растений *Cardaria repens* и *Gleditsia* в медицине привело к выявлению целого ряда биологически активных свойств.

6. 1. Антикоагулянтная активность полисахарида *Cardaria repens*

В лаборатории фармакологии и токсикологии ИХРВ АН РУз д.м.н. А.А. Вахабовым и с.н.с. Ким С. М. была изучена антикоагулянтная активность водорастворимого полисахарида - кардарина *C. repens*. Исследование свёртываемости крови проводили в концентрациях от 0,1 до 100 мг/мл раствора кардарина. Антикоагулянтное действие кардарина определяли в опытах на собаках (*in vitro*) по влиянию на показатели тромбоэластографии (ТЭГ) с использованием аппарата тромбоэластограф Тромб-2. Выявлено, что кардарин проявляет антикоагулянтную активность, которая прямо пропорционально связана с концентрацией препарата. Определена токсичность кардарина и установлена ЛД₅₀ 800 мг/кг. Установлено, что кардарин является малотоксичным соединением и обладает выраженной антикоагулянтной активностью прямого действия.

6. 2. Гипохолестеринемическая и гипогликемическая активность галактоманнанов *Gleditsia* и создание на их основе БАДа

Исследования гипохолестеринемической и гипогликемической активности были проведены в лаборатории фармакологии ИХРВ АН РУз. д.м.н., проф. Сыровым В.Н. и д.б.н. Хушбаковой З.А. Установлено, что галактоманнаны *G. macracantha* и *G. triacanthos* относятся к малотоксичным соединениям, существенно не влияющим на общее поведение животных при различных путях введения. Галактоманнаны оказывает довольно заметное гипогликемическое действие на животных с аллоксановой гипергликемией и диабетом, а также в целом существенно устраняет токсическое воздействие аллоксана на организм.

На основе галактоманнана семян *G. triacanthos* разработана рецептура новой БАД – «глефуд», предназначенная для коррекции веса людей с избыточной массой тела, подготовлены ТУ на БАД.

6. 3. Реагент «Гледол» - новая среда градиента плотности для выделения лимфоцитов крови

На основе галактоманнана *G. triacanthos* создан и внедряется в медицинскую практику реагент «гледол», в качестве диагностирующего средства, предназначенного для выделения иммунокомпетентных клеток периферической крови. «Гледол» используется как составная часть градиента плотности для выделения лимфоцитов крови и рекомендуется для проведения иммунологических и цитологических исследований в диагностических центрах и научно-исследовательских учреждениях.

Реагент применяется для следующих целей:

- определение маркёрных характеристик мембран и функциональной активности лимфоцитов при изучении антигенов гистосовместимости;
- изучение иммунного статуса больных;
- определение чувствительности к лекарственным препаратам и оценка эффективности различных методов терапии.

«Гледол» позволяет выделить жизнеспособные лимфоциты периферической крови, возможность использования которых в иммунологической диагностике определяется сохранностью рецепторного аппарата и функциональной активностью выделенных клеток. Учёт результатов характеризуется по следующим параметрам: выход лимфоцитов, примесь других клеток, число жизнеспособных лимфоцитов.

«Гледол» заменяет импортный синтетический реагент «фиколл». Преимущества «гледола» заключается в простоте и удобстве употребления, 1л препарата «гледол» рассчитан на 650 анализов.

Получен патент РУз № IAP 04111 на «Способ получения полисахарида и создание на его основе среды градиента плотности». Подготовлены технические условия (ТУ), техническая инструкция (ТИ) на способ получения реагента, нормативно-техническая документация (НТД) и опытно-промышленный регламент (ОПР) переданы в ГУККЛС и МТ МЗ РУз для регистрации и разрешения реализации реагента. Разрешен на клиническое испытание реагента.

Заключение

Исследован углеводный состав надземной части *Cardaria repens* и семян 8 видов растений рода *Gleditsia*, произрастающих на территории Узбекистана.

Выделено в гомогенном виде 7 полисахаридов, 16 олигосахаридов и установлено их химическое строение.

Впервые из *C. repens* выделен арабиногалактан - кардаран и 3 олигосахарид. Установлено, что основная цепь кардарана состоит из β -1 \rightarrow 6 связанных галактопиранозных остатков, где арабинофуранозные остатки и галактуроновая кислота находятся в боковой цепи полисахарида и присоединены к С-3 и С-2 остаткам галактозы. Показано, что кардаран относится к арабино-3,6-галактанам т.е. к типу 2.

Изучено фармакологическое действие полисахарида - кардарина, выявлена антикоагулянтная активность прямого действия.

Показано, что галактоманнаны, в основном, локализованы в кожуре

семян, содержание ВРПС *Gleditsia* и соотношение моносахаридов (*Gal:Man*) в них зависит от места произрастания. Изученные свойства галактоманнанов дополняют хемосистематику представителей семейства бобовых.

Установлена химическая структура галактоманнанов *Gleditsia* - ГМА (*G. aquatica*), ГМД (*G. delavayi*), ГММ (*G. macracantha*), ГМТ (*G. texsana*). Галактоманнаны являются гетерополисахаридами и соотношение мономеров в них (*Gal:Man*) варьирует в пределах от 1:2 до 1:5. Основная цепь галактоманнанов имеет регулярное строение, состоящая из D-маннопиранозных единиц связанных β -1 \rightarrow 4-связью, боковая цепь содержит α -D-галактопиранозу. Выявлена их гипохолестеринемическая и гипогликемическая активность. Из семян *G. macracantha* впервые выделены галактоманнан с боковым ответвлением (по С-6), состоящим из остатков арабинофуранозы и глюкофруктан инулинового типа.

Водорастворимые полисахариды *Gleditsia* являются действующими активными компонентами препарата «гледан», рекомендованного в качестве закрепителя красок в текстильной промышленности. Разработан лабораторный регламент на препарат «гледан» и проведены опытно-промышленные испытания в Ташкентском текстильном комбинате.

На основе галактоманнана *G. triacanthos* создана биологически активная добавка – «глефуд», подготовлены ТУ таблеточной формы БАДа. Проводятся фармакологические исследования действия препарата на животных.

Создан реагент «гледол» для выделения лимфоцитов периферической крови. Препарат рекомендован в медицинскую практику в качестве диагностирующего средства импортозамещающего реагента «фиколл». Подготовлен весь пакет научно-технической документации на реагент «гледола» и передан на утверждение в ГУККЛС и МТ МЗ РУз.

В настоящее время «гледол» проходит клиническое испытание в институте Иммунологии АН РУз, Научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови МЗ РУз.

ВЫВОДЫ

1. Изучены углеводы надземных и подземных органов *Cardaria repens*. Исследована сезонная динамика содержания и состава отдельных групп полисахаридов, установлено, что максимальное накопление водорастворимых полисахаридов наблюдается в надземной части растения в период бутонизации, пектиновых веществ и гемицеллюлоз - в начале периода плодоношения.

2. Из водорастворимого полисахарида надземной части *C. repens* получен гомогенный разветвленный арабиногалактан-кардаран, главную цепь которого составляют β -1 \rightarrow 6-связанные галактопиранозные остатки, у которых по С-2 и С-3 имеются боковые ответвления, состоящие из остатков арабинозы и галактуроновой кислоты.

3. Дана общая характеристика полисахаридов 8 видов семян *Gleditsia*, выделены галактоманнаны и проведена сравнительная физико-химическая характеристика их свойств. Показано влияние почвенно-климатических

условий на содержание и моносахаридный состав галактоманнанов. Установлено, что последние являются маркёрами данного рода растений и дополняют банк данных по хемосистематике представителей сем. бобовых на наличие галактоманнанов.

4. Из суммы водорастворимых полисахаридов *G. macracantha*, *G. texsana*, *G. aquatica* и *G. delavayi* местного региона выделены гомогенные галактоманнаны - ГММ, ГМТ, ГМА и ГМД соответственно. Установлено, что галактоманнаны представляют собой разветвленные полимеры, в которых основная полигликозидная цепь состоит из β -1,4 - связанного маннана, где часть маннозных остатков замещена в положении 6 α -D-галактопиранозой, отличительной стороной являются их молекулярная масса, соотношение моносахаридных остатков и последовательность замещения β -D-маннана α -D-галактозой.

5. Впервые из кожуры семян *G. macracantha* выделен новый по структуре арабиногалактоманнан. На основании химических превращений и спектральных методов с использованием двумерных гомоядерных (^1H - ^1H COSY, TOCSY, ROESY) и гетероядерных ^1H - ^{13}C (HSQC HSQC-TOCSY) методик установлено, что арабиногалактоманнан является разветвленным галактоманнаном с боковыми ответвлениями, состоящими из остатков арабинофуранозы. Боковые ответвления, вероятно, присоединены к галактозе по C-6 .

6. Впервые из семейства бобовых (семена *G. macracantha*) выделен глюкофруктан с β -2,1-связанными фруктофуранозными единицами с концевым сахарозным фрагментом и вероятно, остатки глюкозы дополнительно замещены в положении O-6 остатками β -D-фруктофуранозы.

7. На основе водорастворимых полисахаридов *G. macracantha* создан препарат «гледан», рекомендованный как закрепитель краски при печатании текстильных материалов, дающий четкие контуры рисунка на ткани и более высокую интенсивность окраски, чем действующий закрепитель крахмал.

Разработан лабораторный регламент на способ получения гледана из семян *G. macracantha*.

8. Фармако-токсикологическими исследованиями установлено, что:

- полисахарид *C. repens* обладает антикоагулянтной активностью прямого действия и является малотоксичным соединением;

- выявлено гипохолестеринемическая и гипогликемическая активность галактоманнанов *G. macracantha* и *G. triacanthos*.

9. На основе галактоманнана семян *G. triacanthos* разработана рецептура новой биологически активной добавки (БАД) - «глефуд» к пище, предназначенной для коррекции веса людей с избыточной массой тела.

10. Впервые на основе галактоманнана семян *G. triacanthos* создан отечественный, импортозамещающий реагент «гледол» для иммунологических и цитологических исследований, отличающийся простотой и удобством применения. Составлены нормативно-техническая документация и опытно-промышленный регламент на «гледол», которые переданы для регистрации и реализации препарата в ГУККЛС и МТ МЗ РУз.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Журнальные статьи:

1. Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А. Полисахариды *Aconitum zeravshanicum* // Химия природ.соедин.–Ташкент, 1993. - № 3.–С.357-359
2. Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Нигматуллаев А.М. Полисахариды отходов овощебахчевых культур // Химия природ.соедин. – Ташкент, 1994. - № 5 -С. 597-600.
3. Рахманбердыева Р.К., Кристаллович Э.Л., Абдуллаев Н.Д. Полисахариды *Cardaria repens* и изучение их ИК-спектров // Химия природ.соедин. – Ташкент, 1995.- № 2. – С. 202-205.
4. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Кристаллович Э.Л., Рахимов Д.А., Штонда Н. И. Водорастворимые полисахариды семян *Gleditsia* //Химия природ. соедин. –Ташкент, 1998. -№ 6. –С.727-73.
5. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Межлумян Л.Г., Рахимов Д.А. Углеводы и белки семян *Gleditsia macracantha* //Химия природ. соедин. спец. вып. –Ташкент, -1998. –С.18-20.
6. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Кариев А.М., Ниезметов У. К. Динамика накопления галактоманнанов в семенах *Gleditsia macracantha* и их влияние на прорастание семян хлопчатника //Химия природ. соедин. –Ташкент, 1999. -№ 2. –С. 171-173.
7. Мирзаева М. Р., Рахманбердыева Р. К., Рахимов Д. А. Структура галактоманнана *Gleditsia macracantha* //Химия природ. соедин. - Ташкент, 1999. - № 5. – С. 573-576.
8. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д. А. Галактоманнаны семян *Gleditsia texsana* Sarg. //Химия природ. соедин. –Ташкент. 1999. № 5. –С. 670-671.
9. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А. Галактоманнаны *G.macracantha* и *G.texsana* //Химия природ.соедин. спец. выпуск - Ташкент. 1999. – С.10-12.
10. Рахманбердыева Р.К., Мирзаева М.Р., Рахимов Д.А., Абдуллаев Н.Д. Изучение методом ¹³C ЯМР спектроскопии двух видов галактоманнанов *Gleditsia* //Химия природ. соедин. -Ташкент.1999. -№ 5. – С. 566 – 569.
11. Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Вахабов А.А. Водорастворимый полисахарид *Cardaria repens* и его биологическая активность //Химия природ. соедин. 2002. - № 1. – С. 77- 78.
12. Рахманбердыева Р.К., Талипова М., Газизов Ф., Рахимов Д.А. Углеводы и липиды семян *Gleditsia triacanthos*. // Химия природ. соедин. –Ташкент, 2002. - № 1. –С. 19-21.
13. Рахманбердыева Р.К., Нигматуллаев А. М. Сезонная динамика содержания и состава углеводов в *Cardaria repens* (Schrenk) Jarm. // Растительные ресурсы. – Санкт-Петербург, 2003. вып.1. – С. 78 – 80.
14. Rakhmanberdieva R. K. Structure of galactomannans from *Gleditsia delavayi* Seeds //Chem. of Natural Compounds. –New-York. Springer. 2004 -№ 3 (40)/ -P.215-217.
15. Rakhmanberdieva R.K., Rakhimov D.A., Vahabov A.A., Khushbaktova Z.A.,

Syrov V.N. Galactomannans from *Gleditsia macracantha* Seeds and its biological activity //Chem. of Natural Compounds. –New-York. Springer. 2005 -№ 1 (41). -P.11-13.

16. Рахманбердыева Р.К. Галактоманнаны *Gleditsia aquatica* //Химия природ.соедин. -Ташкент. 2005. № 2. -С.176-177.
17. Рахманбердыева Р.К., Шашков А.С. Изучение строения галактоманнанов *Gleditsia delavayi* и *G. aquatica* методами ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии. // Химия природ. соедин. –Ташкент, 2005. - № 1. -С.12-14.
18. Rakhmanberdieva R. K. Arabinogalactomannan from *Gleditsia macracantha* Seeds //Chem.of Natural Compounds. –New-York. Springer. 2009. -№ 2 (45). -P.145-147.
19. Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Нигматуллаев А.М. UZ IAP 04111 (13) C; A 61 K 36/00 (21) IAP 2005 0379 Способ получения полисахарида для создания на его основе среды градиента плотности // Перспективное изобретение Республики Узбекистан. Ташкент. Илим. 2010. –С.118.
20. Рахманбердыева Р.К., Филиппов М.П. исследование семян *Gleditsia macracantha* методом ИК-спектроскопии // Химия природ. соедин. – Ташкент, 2011. - № 2. -С.166 - 168.

Патенты:

21. Патент РУз IAP № 04111Способ получения полисахарида для создания на его основе среды градиента плотности / Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Нигматуллаев А.М. // Расмий ахборотнома. -2010. № 3 . 18 с.

Статьи, опубликованные в сборниках трудов и тезисов конференций:

22. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К. Получение D-маннозы из семян *Gleditsia macracantha* // Химия природ. соедин. Спец. вып. Материалы второй конференции молодых ученых. -Ташкент: ИХРВ АН Руз, 1998. – С. 33-35.
23. Рахимов Д. А., Рахманбердыева Р. К., Мирзаева М. Р. Гетерополисахариды типа глюко- и галактоманнанов из семейства *Liliaceae* и *Caesalpinaceae* //Актуальные проблемы развития биоорганической химии в Узбекистане. Тез. докл. ИБОХ 3 - 4 ноябрь 1998. - Ташкент, 1998. – С. 85.
24. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Кристаллович Э.Л., Рахимов Д.А. Углеводы семян гледичии // Тез. докл. конф. молодых ученых, ИХФП АН РУз 7 сентября 1998, - Ташкент, 1998. - С. 20.
25. Rakhmanberdieva R.K., Mirzaeva M.R., Rakhimov D.A., Abdullaev N.D. Galactomannans of seed of *Gleditsia* Genern. Structure, properties and function // 3th Intern.Symp. on the Chemistry of Natural Compounds (SCNC): Proceed of the symp. 22- 24 october, 1998.-Bukhara, Uzbekistan. 1998. -P. O 30.
26. Рахимов Д.А., Рахманбердыева Р.К., Мирзаева М.Р. Растительные биополимеры. Галактоманнаны свойства, структура и биологическая активность // Наука о полимерах на пороге XXI века Тез. докл. Межд. симпозиума 20-22 октября 1999. – Ташкент, – С.99.
27. Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Вахабов А.А. Антикоагулянтный полисахарид *Cardaria repens* // Наука о полимерах на пороге XXIвека

- Тез. докл. Межд. симпозиума -Ташкент, 20-22 октября 1999. – С. 96.
28. Мирзаева М.Р., Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А., Огай Д.К., Ахунов А.А, Ахмедова З.Р. Гледан-заменитель микробиологическое агар-агара // Тез. докл. научн. конф. Инс-та микробиологии АН Руз. –Ташкент, 27-29 октября 1999. – С.156.
 29. Рахманбердыева Р.К., Абдукаримова М.З., Рахимов Д.А. Эргашев К.Э., Возможности применения полисахаридов при печатании различных тканей // «Прогресс- 2000». Тез.докл. -Бухара, 2000. -103 с.
 30. Rakhmanberdieva R.K., Rakhimov D.A. Polysaccharides of *Gleditsia* and their biological activity //5th Inter. Symp. on the Chemistry of Natural Compounds. –Tashkent, 20-23 May 2003. - P. 49.
 31. Shevchenko L.I., Rakhmanberdieva R.K., Rakhimov D.A. Gledol within density gradient for separating blood cells // 5th Inter.symp. on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 20-23 May 2003. - P. 163
 32. Рахманбердыева Р. К. Полисахарид *Cardaria repens* // Тез. докл. VII Молодежной научной школы-конф. по органической химии. - Екатеринбург. 5 июня, 2004. –С. РО-018.
 33. Рахманбердыева Р.К.Галактоманнаны *Gleditsia delavayi* // Тез. докл. VII Молодежной научной школы-конф. по органической химии. - Екатеринбург. 5 июня, 2004. –С. РО-019.
 34. Rakhmanberdieva R.K. Composition of a polysaccharide from *Cardaria repens* // 6th Int.Symp. on the Chemistry of Natural Compounds - Turkey: Ankara. 28-29 June 2005. -РО-34.
 35. Рахманбердыева Р. К. Пектиновые вещества *Gleditsia macracantha* // Тез.докл.VIII Молодежной школы-конф. по органической химии. - Казань, 2005. –128 с.
 36. Rakhmanberdieva R.K. Structure, properties and biological activity of galacto- and glucomannans belongeng to the family of *Liliaceae* and *Cesalpinaceae* // 6th Inter. Symp. On the Chemistry of Natural Compounds. Turkey: - Ankara, 25-29 June 2005.–P. 014.
 37. Rakhmanberdieva R.K. Polysaccharides of *Gleditsia* and *Cardaria*, their biological activity // 7th Inter.Symp. on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 16-18 october 2007. - P. 140.
 38. Rakhimov D.A., Qodiralieva F.A., Zhauynbaeva K.S., Malikova M.H., Rakhmanberdieva R. K., Nigmatullaev A., Sultanov S. Water-soluble polysaccharides of some seeds of the plants // 7th Inter. Symp. on the Chemistry of Natural Compounds. –Tashkent, 16-18 October, 2007. - P. 395.
 39. Rakhmanberdieva R.K. Polysaccharides of *Gleditsia triacanthos* L. // The Inter. Symp.on Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients. China: - Urumqi, 15-17 June 2008. – P. 211.
 40. Кадиралиева Ф., Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А. Водорастворимые полисахариды семян сем. *Fabaceae*. //Актуальные проблемы химии природных соединений. Тез. докл. Респ. науч.конф. – Ташкент, 9-10 ноябрь. 2009 – С.50.

Нормативно-техническая документация:

41. Лабораторный регламент на получение экстракта Гледана из семян *Gleditsia*. /Рахманбердыева Р.К., Рахимов Д.А. Утв. ИХРВ АНРУз–Т.: 2000. -7с.
42. Технические условия Гледола / Р.К.Рахманбердыева, Д.А.Рахимов. Утв. ИХРВ АН РУз. –Т.: 2006. -18 с.
43. Технологическая инструкция по производству биореактива гледол /Р.К.Рахманбердыева, Д.А.Рахимов Утв. ИХРВ АН РУз. 2006. -10 с.

Кимё фанлари доктори илмий даражасига талабгор Рахманбердыева Рано Каримовнанинг 02.00.10-биоорганик кимё ихтисослиги бўйича «*Gleditsia* тур ва *Cardaria repens* ўсимликларининг полисахаридлари» мавзусидаги диссертациясининг

РЕЗЮМЕ СИ

Таянч сўзлар: полисахарид, пектин, гемицеллюлоза, галактоманнан, арабиногалактоманнан, арабиногалактан, глюкофруктан.

Тадқиқот объектлари: *Gleditsia* уруғи, *Cardaria repens* ер устки қисми.

Ишнинг мақсади: Маҳаллий ўсимлик бўлган *Cardaria repens* ер устки қисми ва *Gleditsia* уруғининг полисахаридларини комплекс ҳолда ўрганиш; *Cardaria repens* арабиногалактанини ва илгари ўрганилмаган *Gleditsia* галактоманнанларини хоссаларини ва кимёвий тузилишини ўрганиш; уларнинг биологик фаоллигини аниқлаб халқ хужалигига тадбиқ этиш.

Тадқиқот усуллари: кимёвий услублар, тадқиқотнинг физик услублари (ИК- ва ^{13}C , ^1H ЯМР- спектроскопия).

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги. *Gleditsia* тур ўсимлиги галактоманнанлари ва *Cardaria repens* арабиногалактани структураси ва хоссалари бўйича янги маълумотлар олинди ва уларнинг биологик фаоллиги аниқланди.

C. repens дан олинган арабиногалактан асосий занжири β -1,6 боғи билан боғланган галактопираноза қолдиқларидан иборат бўлиб, арабиноза ва галактурон кислотаси занжирга С-3 ва С-2 боғлар билан боғланганлигини кимёвий ва спектрал усуллар билан исботланди.

Gleditsia галактоманнанлари тармоқланган полимер бўлиб, уларнинг асосий полигликозид занжирлари β -1,4 боғи билан боғланган маннандан иборат, баъзи манноза қолдиқлари О-6 ҳолатда α -D-галактопираноза билан бирикканлиги исботланди. Биринчи марта *G.macracantha* уруғидан тармоқланган арабиногалактоманнан ва инулин типисидаги глюкофруктан ажратиб олинди, уларнинг кимёвий тузилиши аниқланди.

Галактоманнанлар *Gleditsia* ўсимликлари учун хемотаксономик маркёрлар ҳисобланиб, уларнинг ўсимликда тарқалиши бўйича олинган натижалар *Fabaceae* оиласи галактоманнанларининг хемосистематикасини тўлдиради.

Амалий аҳамияти: Полисахаридлар асосида инсонлардаги ортиқча вазни йўқотувчи биологик фаол қўшимча-«глефуд» ва иммунология ва цитология диагностикасида қўлланиладиган хориждан келтириладиган

«фиколл»ни ўрнини босувчи «гледол» реактиви яратилди ва ишлаб чиқилди.

Тўқимачилик матоларига гул босишда ишлатиладиган «гледан» препарати яратилди.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: «гледол» реагентига таалукли меёрий-техник хужжатлар ЎзР ССВ дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш бош Бошқармасига рўйхатга олиш ва амалиётга тадбиқ этишга рухсат бериш учун топширилди.

Қўллаш соҳаси: тиббиёт, тўқимачилик саноати.

РЕЗЮМЕ

диссертации Рахманбердыевой Рано Каримовны на тему: «Полисахариды растений рода *Gleditsia* и *Cardaria repens*» на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия

Ключевые слова: Полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы, галактоманнаны, арабиногалактаны, глюкофруктаны

Объекты исследования: семена *Gleditsia*, надземная часть *Cardaria repens*

Целью работы является комплексное изучение полисахаридов надземной части *Cardaria repens* и семян *Gleditsia* местного региона; установление структурных особенностей химического строения арабиногалактана *Cardaria repens* и галактоманнанов неизученных ранее видов *Gleditsia*, выявление их специфической биологической активности и путей применения в народном хозяйстве.

Методы исследования: химические и физические (ИК-, ^{13}C , ^1H ЯМР-спектроскопия).

Полученные результаты и их новизна: Получены новые сведения о строении и свойствах галактоманнанов растений рода *Gleditsia* и арабиногалактана *Cardaria repens* с широкими возможностями их применения.

Химическими и спектральными методами установлено, что арабиногалактан *C. repens* состоит из β -1 \rightarrow 6 связанных галактопиранозных остатков, боковые ответвления по С-3 и С-2 составляют остатки арабинозы и галактуроновой кислоты.

Доказано, что галактоманнаны *Gleditsia* представляют собой разветвленный полимер, в котором основная полигликозидная цепь состоит из β -1,4 - связанного маннана, где часть маннозных остатков замещена в О-6 положении α -D-галактопиранозой. Впервые из семян *G. macracantha* выделен разветвленный арабиногалактоманнан и глюкофруктан инулинового типа, установлены их строения.

Установлено, что галактоманнаны являются хемотаксономическими маркерами данного рода растений и дополняют банк данных по хемосистематике представителей сем. *Fabaceae* на наличие галактоманнанов.

Практическая значимость: На основе полисахарида создана биологическая активная добавка – «глефуд» для коррекции веса для людей с избыточной массой тела.

Создан и разработан новый реагент «гледол» для иммунологических и цитологических исследований, он заменяет импортный синтетический препарат «фиколл».

Создан закрепитель красок «гледан», используемый при печатании текстильных материалов.

Степень внедрения и экономическая эффективность: Переданы нормативно-технические документации на «гледол» в ГУККЛС и МТ МЗ РУз на регистрацию для реализации реагента.

Область применения: медицина, текстильная промышленность.

RESUME

Thesis by Rakhmanberdieva Rano Karimovna on the scientific degree competition of sciences in chemistry on speciality 02.00.10-Bioorganic chemistry subject: "Polysaccharides of *Gleditsia* and *Cardaria repens*".

Key words: polysaccharide, pectic substance, hemicellulose, galactomannan, arabinogalactan, glucofructan

Subject of research: *Gleditsia* seeds, aerial parts of *Cardaria repens*

Purpose of work: comprehensive study of polysaccharides in the aerial part of *Cardaria repens* and seeds of *Gleditsia*, both grown in the local region; establishing structural features of the chemical constitution of arabinogalactan *Cardaria repens* and galactomannanes of unstudied species of *Gleditsia*, detection of their specific biological activity and ways of their use in the national economy.

Methods of research: chemical and physical (IR-, ^{13}C , ^1H - NMR spectroscopy).

The results obtained and their novelty: New data received on the structure and properties of herbal galactomannanes of *Gleditsia* genus and arabinogalactan *Cardaria repens* with wide opportunities for their use.

Chemical and spectral methods revealed that arabinogalactan *C. repens* consists of β -1 \rightarrow 6 linked galactopyranose residues, lateral branches along C-3 and C-2 are made of the residues of arabinose and galacturonic acid.

It is proved that galactomannanes of *Gleditsia* represent a branched polymer, the main polyglycoside chain of which consists of β -1,4 linked mannan, where a part of mannose residues is substituted by α -D-galactopyranose in O-6 position.

For the first time, a branched arabinogalactomannan and inulin-type glucofructan are isolated from seeds of *G. macracantha* and their structures identified.

It is determined that galactomannanes are chemotaxonomic markers for this genus of plants and complement the database on chemosystematics of the representatives of *Fabaceae* family in order to identify galactomannanes.

Practical value: A biologically active supplement «glefud» is created on the basis of polysaccharide to control weight of overweight people.

A new reagent called «gledol» is developed and produced for immunological and cytological studies. It substitutes an imported synthetic medication, «ficoll».

«Gledan», a paint hardener is developed to be used in textile printing.

Degree of embed and economic effictivity: All documentation on gledol has been submitted to the Head Department of Drug and Medical Equipment Quality Control of Public Health Ministry of the Republic of Uzbekistan to register and sell the reagent.

Field of application: medicine, textile industry.