

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019. К/В.37.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

ОЛИМЖОНОВ ШУҲРАТЖОН СОЛИХЖОН ЎҒЛИ

**МАҲАЛЛИЙЛАШТИРИЛГАН *AMARANTHUS* ЎСИМЛИГИ
УРУҒЛАРИНИ ҚАЙТА ИШЛАШ МАҲСУЛОТЛАРИНИНГ КИМЁВИЙ
ТАРКИБИ ВА УЛАР АСОСИДА БИОЛОГИК ФАОЛ ҚЎШИМЧАЛАР
ЯРАТИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент – 2021

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
по химическим наукам
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)
on chemical sciences**

Олимжонов Шухратжон Солихжон ўғли

Маҳаллийлаштирилган *Amaranthus* ўсимлиги уруғларини қайта ишлаш маҳсулотларининг кимёвий таркиби ва улар асосида биологик фаол қўшимчалар яратиш.....3

Олимжонов Шухратжон Солихжон угли

Химический состав продуктов переработки семян акклиматизированных сортов растения *Amaranthus* и создание на их основе биологически активных добавок..21

Olimjonov Shuhratjon Solixjon o'g'li

Studying the chemical composition of processing products of local *Amaranthus* seeds and creating biologically active additives on their basis.....40

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019.К/В/37.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

ОЛИМЖОНОВ ШУҲРАТЖОН СОЛИХЖОН ЎҒЛИ

**МАҲАЛЛИЙЛАШТИРИЛГАН *AMARANTHUS* ЎСИМЛИГИ
УРУҒЛАРИНИ ҚАЙТА ИШЛАШ МАҲСУЛОТЛАРИНИ КИМЁВИЙ
ТАРКИБИ ВА УЛАР АСОСИДА БИОЛОГИК ФАОЛ ҚЎШИМЧАЛАР
ЯРАТИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент – 2021

Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.3.PhD/K244 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.biochem.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим тармоғида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар: **Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович**
кимё фанлари доктори, катта илмий ходим

Расмий оппонентлар: **Бобоев Бахром Нуриллаевич**
кимё фанлари доктори, кат.и.х.

Раҳманбердыева Раъно Каримовна
кимё фанлари доктори, кат.и.х.

Етакчи ташкилот: **Тошкент фармацевтика институти**

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019. К/В.37.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «___» _____ соат ___ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.:71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83.Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Диссертация автореферати 2020 йил «___» _____ да таркатилди.
(2020 йил _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси.)

Ш.И. Салихов
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Ш.А. Шомуротов
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, к.ф.д.

М.Б. Гафуров
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
кошидаги илмий семинар раиси, к.ф.д.

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Дунёда сўнги йилларда биоорганик кимё ва биотехнология фанларининг ривожланиши кўп жихатдан ўсимликларнинг кимёвий таркибларини тадқиқ қилиш, индивидуал моддаларни ажратиб олиш, тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлаш ҳамда уларни амалиётга тадбиқ этиш бўйича кўплаб тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Тиббиёт амалиётида қўлланилаётган доривор воситаларининг асосий қисми ўсимликлардан олинади. Чунки, ўсимликлардан ажратиб олинган биологик фаол моддалар, синтетик усулда олинган дори воситаларига нисбатан организм учун зарарли таъсири кам, ўзлаштирилиши осон ҳисобланади. Шунинг учун, ўсимликлардан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш, уларнинг тузулиши ва биологик фаоллигини тадқиқ этиш ҳамда улар асосида тиббиёт учун янги самарали дори воситаларини яратиш муҳим аҳамиятга эгадир.

Ҳозирги кунда дунё бўйича ўртача ҳароратнинг кўтарилиши ва экологик мувозанатнинг бузилиши шароитида Ўзбекистонда ҳам сув танқислиги ва шўрланган экин майдонларининг ортиб бориши кузатилмоқда. Бу эса, ўз навбатида, стресс шароитларга барқарор, кам сув талаб этадиган ўсимликларни етиштириш ва халқ хўжалигининг турли соҳаларига тадбиқ қилиш зарурлигини кўрсатади. Шундай ноанъанавий ўсимлик турларидан бири *Amaranthus* туркум ўсимликлари ҳисобланади. Ўтган асрнинг 30-йилларига қадар *Amaranthus* туркумига мансуб ўсимликлардан декоратив, озик-овқат ва технологик мақсадларда фойдаланиб келинган. Кейинроқ эса, унинг уруғидан ажратилган ёғнинг таркибида инсон организми учун жуда муҳим бўлган сквален ва токофероллар топилгандан сўнг, ушбу ўсимликка олимлар томонидан бўлган қизиқишлар янада ортиб кетди. Бугунги кунга келиб амарант ўсимлиги уруғларининг таркибида яллиғланиш, гепатит, диабет, гиперлипидемия, пролифератив, замбуруғларга қарши, шунингдек, радиопротектор, сперматогеник фаолликларни намоён қилувчи моддалар топилган.

Республикамизда *Amaranthus* туркум ўсимликларини Марказий Осиё иқлим шароитига мослаштириш, янги навларни етиштириш, уларни қайта ишлаш юзасидан муайян илмий ва амалий натижаларга эришилмоқда. Хусусан, Ўзбекистон иқлим шароитига маҳаллийлаштирилган амарант ўсимлиги уруғларини қайта ишлаш асосида олинган маҳсулотларни кимёвий таркибини ўрганиш, биологик фаолликлари ва фармакологик хусусиятларини тадқиқ қилиш, уларни халқ хўжалигининг турли соҳаларига тадбиқ этиш муҳим аҳамият касб этмоқда. Бу борадаги ишларни амалга оширишда Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш»¹ юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу ўринда маҳаллий хом ашёлар асосида жаҳон бозорида рақобатлаша оладиган антибактериал дори

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги фармони

воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 28 январдаги ПҚ-4575-сон “Қишлоқ хўжалигини ривожлантиришнинг 2020-2030 йилларга мўлжалланган стратегиясида белгиланган вазифаларни 2020 йилда амалга ошириш чора-тадбирлари тўғрисида” қарорида, Вазирлар Маҳкамасининг 2020 йил 13 майдаги 282-сон «Қишлоқ хўжалиги экинлари навларини синаш маркази фаолиятини такомиллаштириш, қишлоқ хўжалиги ўсимликлари турларининг Миллий генбанкни яратиш тўғрисида» ги қарорида ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳозирга қадар қатор хорижлик олимлар *Amaranthus* туркум ўсимликларининг кимёвий таркиби, биологик фаолликлари ва фармакологик хусусиятларини аниқлаш бўйича чуқур тадқиқотлар ўтказишган. Жумладан, P.R.Venskutonis ва P.Kraujalis нинг (Каунас Технология университети, Литва) ишларида амарант уруғининг оксиллари: альбуминлар (40%), глобулинлар (20%), глутелинлар (25-30%) ва проламинлардан (2-3%) иборат экани кўрсатилган. A.V.Quiroga (Ла Плата университети, Аргентина) эса амарант уруғида жами 15 та асосий оксил: 11S глобулин, 7S глобулин, α -амилаза ингибитори, трипсин ингибитори, антимикроб оксиллар, носпецифик липид-ўтказувчи-оксил-1, супероксид дисмутаза, ring-рух бармоқ оксили, просистемин, амарант альбумин-1, глюкоза-1-фосфат аденилтрансфераза, глюкосилтрансфераза, полиамин оксидаза, гранулага боғланган крахмал синтаза-1 ва ацетолатат синтаза мавжудлигини аниқлаган. Murakami ва ҳаммуаллифлари (Осака шаҳар Соғлиқни сақлаш ва атроф муҳит институти, Япония) хом ва етилган амарант уруғларидаги В гуруҳ витаминларининг миқдорини аниқлаш борасида қатор тадқиқотларни олиб борганлар ва натижада 100 г уруғ таркибида 147 мкг рибофлавин (В₂), 340.15 мкг ниацин (В₃), 1150 мкг пиридоксин (В₆), 47.24 мкг фолий ва пантотен кислоталари борлигини аниқлашган.

Республикамызда амарант ўсимлигининг турли навларини иқлим шароитимизга интродукция қилиш бўйича М.М.Мўминов, амарант ёғларининг липид таркиби тадқиқи юзасидан А.И.Глушенкова ва С.Д.Гусакова кенг қамровли тадқиқотлар олиб борган бўлсалар, С.С.Бозоров ва бошқалар Ўзбекистон иқлим шароитида маҳаллийлаштирилган *Amaranthus hypochondriacus* турига мансуб Харьков ва Лера, *Amaranthus cruentus* турига мансуб Андижон ва Гелиос навлари уруғларида 6.39 дан 7.81% гача ёғ мавжудлиги, унинг 72.72 – 73.28% тўйинмаган ёғ кислоталар эканлиги, 1.17% омега-3-альфа-линолен кислотаси борлиги ҳамда амарант уруғларида 0.35-0.55% атрофида сквален мавжудлиги аниқлашган.

Таъкидлаш лозимки, шу кунгача Республика миқёсида амарант турига

мансуб навларнинг уруғларидан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш, уларнинг кимёвий таркибини ўрганиш, биологик фаолликлари ва фармакологик хусусиятларини тадқиқ қилиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмаган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти ва Андижон давлат университети илмий-тадқиқот ишлари режасининг И-2016-5-6/3 “Амарант ўсимлигини комплекс қайта ишлаш асосида чорвачиликда ем-озуқа, фармацевтика ва озиқ-овқат саноати учун мой, ун яратиш технологиясини жорий этиш” (2015-2017 й.й.) мавзусидаги инновацион лойихасида доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади маҳаллийлаштирилган *Amaranthus* ўсимликлари уруғларидан олинган унларнинг кимёвий таркиби ва фармакологик хусусиятларини аниқлаш, улар асосида функционал озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб-чиқаришда қўлланиладиган янги биологик фаол қўшимчалар яратишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

амарант унининг кимёвий таркибини (оксил, пептид, озод аминокислоталар, витамин, углевод, полисахарид, макро- ва микроэлементлар) ўрганиш;

амарант унидан металл боғловчи пептидларни ажратиб олиш усулини ишлаб чиқиш, пептидларнинг бирламчи тузилишини тадқиқ қилиш;

амарант унининг биологик ва фармакологик фаоллигини ўрганиш;

амарант уни асосида антигиперлипидемик фаолликка эга бўлган биологик фаол қўшимча олиш.

Тадқиқотнинг объекти *Amaranthus cruentus* Гелиос ва Харьков 1 ҳамда *Amaranthus hypochondriacus* – Лера ва Андижон навли амарант уруғлари, уларнинг унлари, улардан ажратиб олинган оксиллар, углеводлар, витаминлар, макро- ва микроэлементлар ҳисобланади.

Тадқиқотнинг предмети Ушбу иқлимлаштирилган амарант уруғи унлари оксиллари, углеводлари, витаминларини ажратиб олиш, уларни сифат ва миқдорий жиҳатдан тадқиқ этиш, макро- ва микроэлементларни аниқлаш ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари: ўсимлик объектларидан биологик фаол моддаларни ажратиш ва таҳлилида қўлланиладиган устунли хроматография, аминокислота таҳлили, юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ), хромато-масс-спектрометрия (LC-MS), оксиллар протеом таҳлили, электрофорез, фаолликни аниқлаш, компьютер графикаси ҳамда фармакологик ва токсикологик усулларида фойдаланилган.

Диссертация тадқиқотининг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор Андижон вилоятида етиштирилган *Amaranthus cruentus* Гелиос ва Харьков 1 ҳамда *Amaranthus hypochondriacus* – Лера ва Андижон навли амарант уруғларидан олинган унларнинг кимёвий таркиби (ёғлилик даражаси, оксил

миқдори, витаминлар, эркин аминокислоталар, углеводлар миқдорлари) аниқланган;

Na-ДДС-электрофорез натижасига кўра, амарант унларининг таркибида молекуляр массалари 8-66 кДа гача бўлган жами 15 та оксил борлиги аниқланиб, LC-MS усулида эса жами 34 та оксил мавжудлиги исботланган;

амарант оксилларининг триптик гидролизати таркибидан рух ионларини боғловчи иккита пептид ажратиб олинди, уларнинг бирламчи тузилиши ва ажратилган пептидлар учун тегишли бўлган оксиллар идентификация қилиниб, SWISS-MODEL таҳлил дастури асосида оксилнинг фазовий тузилиши ва пептидларнинг антирадикал фаолликлари аниқланган;

амарант унидаги алмашинмайдиган эркин аминокислоталарнинг миқдори буғдой унига нисбатан: Lys ва Arg - 5 марта; Ile - 4 марта; Phe, Met, Leu, His, Val - 2 марта ва Trp - 1.5 марта кўп эканлиги, амарант уни таркибидаги B1, B2, B3, B6, B9, C, PP витаминлари миқдори аниқланган;

амарант унининг антигиперлипидемик ва антиоксидант фаолликлари аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари куйидагилардан иборат:

маҳаллийлаштирилган *Amaranthus* ўсимликлари уруғларидан олинган унлар асосида янги биологик фаол кўшимчани (БФҚ) олиш усули ишлаб чиқилган;

“SIFAT AGRO SERVIS” МЧЖ билан ҳамкорликда амарант унидан “БИО ДАРМОН” номли БФҚни капсула шаклида ишлаб чиқариш технологияси яратилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги ўрганилган бирикмаларни ажратиш, тузилиши ва функцияларини аниқлашда замонавий физик-кимёвий усуллари - ЮССХ, хромато-масс-спектрометрия ва электрофорез кўлланилганлиги, олинган натижаларнинг Республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси, мутахассисларнинг эксперт хулосаси, натижаларнинг даврий илмий нашрларда чоп этилиши билан тасдиқланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, табиий хом-ашё компонентлари таркибидан физиологик фаол моддаларни нафақат натив ҳолатда, балки биологик фаолликка эга бўлган фрагментлар кўринишида ажратиб олиш ва бу фрагментлар асосида бошланғич тузилишни аниқлаш имконияти кўрсатилган. *Amaranthus cruentus* ва *Amaranthus hypochondriacus* уруғларининг кимёвий таркибини (ёғлилик даражаси, оксил, витаминлар, эркин аминокислоталар, углеводлар миқдорлари) ўрганиш жараёнида таҳлил услубиётлари ва металл боғловчи пептидларни олиш усуллари такомиллаштирилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, амарант ўсимлиги уруғларининг кимёвий таркиби ва гиперлипидемик таъсирини аниқлашдан олинган натижалар “БИО ДАРМОН” номли БФҚни ишлаб чиқариш жараёнида илмий-амалий асос бўлиб хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Амарант уруғларидан

олинган унларнинг кимёвий таркиби, биологик ва фармакологик хусусиятларини аниқлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

маҳаллийлаштирилган *Amaranthus* ўсимликлари уруғларидан олинган унлар асосида янги биологик фаол кўшимча олиш усулидан “SIFAT AGRO SERVIS” МЧЖда амарант ўсимлиги Helios нави уруғидан биологик фаол кўшимча олишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Инновацион ривожланиш вазирлигининг маълумотномаси). Натижада, “БИО ДАРМОН” биологик фаол кўшимчасини ишлаб чиқариш имконини берган;

амарант унидан биологик фаол оксилларни ажратиб олиш усулидан Хитой Фанлар академиясининг Шинжон физик-кимёвий техника институтида бажарилаётган “International Science and Technology Center Projects” лойиҳасида турли хил ўсимлик уруғларидан биологик фаол оксилларни ажратиб олиш жараёнида фойдаланилган (Хитой Фанлар академиясининг Шинжон физик-кимёвий техника институтининг маълумотномаси). Натижада, ушбу услуб *Amaranthus stuventus* уруғидан биологик фаол оксил ва пептидлар олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 10 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертация асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 3 та мақола, жумладан, 2 таси Республика ва 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, учта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 115 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикасида фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий этиш асослари келтирилган, нашр қилинган илмий ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган, нашр қилинган илмий ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар берилган.

Диссертациянинг “**Амарант ўсимлигининг тарқалиши, унинг ўсиши ва хосилдорлигига турли омиллар таъсири, уруғининг кимёвий таркиби тадқиқи**” (адабиётлар шарҳи) деб номланган биринчи бобида амарант турлари уруғларидаги оксил, ёғ, углевод, витамин, макро- ва микроэлемент микдорлари, аминокислоталар таркиби, оксилларнинг бирламчи тузилишлари ҳамда уларнинг биологик фаолликларига доир замонавий тадқиқот натижалари батафсил таҳлил қилинган.

Диссертациянинг “Амарант уруғи уни кимёвий таркибини аниқлаш ва улар асосида биологик фаол қўшимча яратиш” деб номланган иккинчи бобида амарант, буғдой ва маккажўхори унларининг оксил миқдори, аминокислоталар таркиби, витамин, углевод, полисахарид, макро- ва микроэлементлар таркиблари аниқланган, амарант унидан металл боғловчи пептидларни ажратиб олиш, пептидларнинг бирламчи тузилишини аниқлаш, биологик ва фармакологик фаоллигини аниқлашга оид олиб борилган тадқиқотлар натижалари келтирилган.

Амарант донлари ўз таркибида гепатопротектор, радиопротектор, яллиғланишга қарши, антигепатотоксик, антидиабетик, антигиперлипидемик, сперматогеник, антипролифератив ҳамда замбуруғларга қарши фаолликларни намоён қилувчи моддаларга бой эканлигини инобатга олиб, Андижон давлат университети ходимлари томонидан Ўзбекистон иқлим шароитига мослаштирилган *Amaranthus cruentus* (Андижон ва Гелиос навлари) ва *Amaranthus hypochondriacus* (Харьков ва Лера навлари) турларига тааллуқли 2 тадан навларининг кимёвий таркибларини ўрганилди. Тадқиқотларда ўсимликларнинг уруғлари ва ушбу уруғлардан совуқ сиқиш усулида ёғ ажратишдан сўнг қолган унлардан фойдаланилди.

Буғдой, маккажўхори, 4 хил навдаги амарант уруғлари ва уруғлардан олинган унларни Сокслет аппаратида экстракцион бензин ёрдамида ёғсизлантирилди. Ёғсизлантирилган унлардаги оксил миқдори Къельдал ва Лоури усулларида аниқланди. Олинган натижалар 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

Амарант, буғдой ва маккажўхори донларининг ёғдорлиги ва оксил миқдори
($M \pm n$, $n=3$)

Донлар	Ёғдорлик		Оксил	
	Бошланғич	Қолдиқ	Къельдал	Лоури
	Микдор, %			
Харьков	7.81±0.17	4.05±0.15	17.33±0.5	4.76±0.2
Лера	7.55±0.23	3.65±0.17	17.5±0.3	4.78±0.5
Андижон	6.39±0.06	3.68±0.08	15.75±0.7	5.1±0.25
Гелиос	7.68±0.16	4.19±0.18	17.06±0.6	5.0±0.1
Буғдой	4.3±0.16	1.25±0.2	10.5±0.5	3.75±0.2
Маккажўхори	9.8±0.16	2.2±0.17	8.8±0.6	2.89±0.1

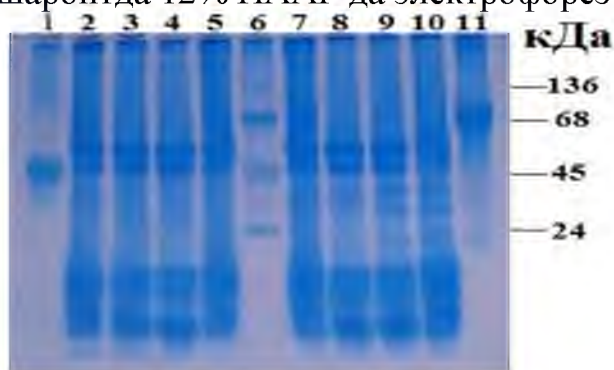
Натижада амарант донларининг ёғдорлиги уларнинг бошланғич массасига нисбатан 6.39-7.81% ни, буғдойда 4.3%, маккажўхорида 9.8% ни ташкил этиши аниқланди. Амарант унларидаги қолдиқ ёғ миқдори 3.6-4.19% эканлиги аниқланиб, Гелиос нави унининг қолдиқ ёғдорлиги (4.19%) буғдой (1.25%) ва маккажўхори (2.2%) унларига нисбатан мос равишда 3.4 ва 1.9 марта юқори эканлиги кўрсатилди (1-жадвал).

Амарант унларида умумий оксил миқдори бошланғич ун оғирлигига нисбатан 15.75-17.5% ни ташкил этиши, Лера нави унидаги умумий оксил миқдори (17.5%) эса буғдойдагига (10.5%) нисбатан 1.7 марта, маккажўхоридагига (8.8%) нисбатан эса 2 марта юқори эканлиги аниқланди.

Лоури усули бўйича аниқланган эрувчан оксилнинг миқдори амарант

унларида 4.76 – 5.1% ораликда бўлиб, Андижон нави унидагига (5.1%) нисбатан буғдой унида (3.75%) 1.4 марта, маккажўхори унида (2.98%) эса 1.7 марта кам эканлиги аниқланди.

Амарант унлари оксилларнинг молекуляр оғирлиги денатурловчи шароитда 12% ПААГ да электрофорез усулида аниқланди (1 -расм).



1-расм. Амарант унларининг 12% ПААГ электрофореограммаси.

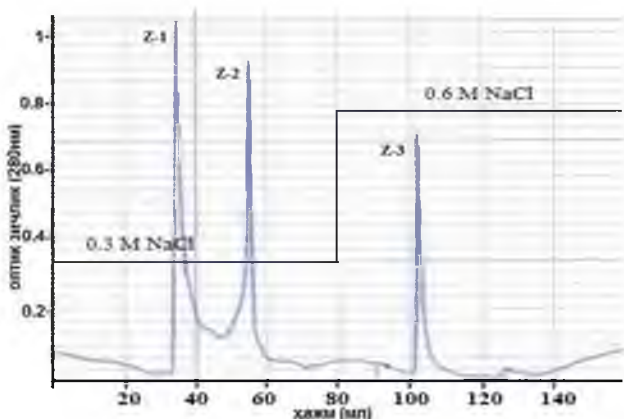
1 – Овальбумин, 2,7 – Андижон, 3,8 – Гелиос, 4,9 – Харьков, 5,10 – Лера
6 – Маркер оксиллар, 11 – Бука альбумини

Электрофорез натижаларига кўра амарант унларида молекуляр массалари 8 кДа дан 66 кДа бўлгана 15 та оксил доғлари аниқланди. Амарант уни таркибидаги оксилларни идентификация қилиш мақсадида уни трипсин ферменти ёрдамида гидролиз қилинди. Гидролизатни 0,1% учфтор сирка кислотата эритиб, СНР-Q-TOF LC/MS/MS масс-спектрометри ёрдамида таҳлил қилинди, фрагментар пептидларнинг MS ва MS/MS спектрлари олинди.

Mass Huntre дастури ёрдамида пептидларнинг молекуляр массалари, Spectrum Mill дастури ёрдамида эса уларнинг аминокислота кетма-кетликлари аниқланди ва дастур базасида мавжуд бўлган оксиллар масс-спектрлари билан солиштириб ўрганилди. Натижада жами 128 та фрагментар пептидларнинг бирламчи тузилишлари аниқланиб, пептидларнинг аниқланган бирламчи тузилишлари BLAST онлайн дастурида таҳлил қилинди. Олинган натижалардан аниқланган фрагментар пептидлар ўсимликларда учрайдиган 34 та оксилларнинг тузилишига тегишли эканлиги аниқланиб, улардан шу кунгача адабиётларда амарант таркибида маълум бўлганлари қуйидагилардан иборат: 11S глобулин, 7S глобулин, α -амилаза ингибитори, трипсин ингибитори, антимиқроб оксиллар, носпецифик липид-ўтказувчи-оксил-1, дисмутаза супероксиди, рух боғловчи оксил, просистемин, амарант альбумин 1, глюкоза-1-фосфат аденилтрансфераза, глюкозилтрансфераза, полиамин оксидаза, гранулага боғланган крахмал синтетазаси 2 ва ацетолатат синтазаси.

Маълумки, оғир металлларнинг бири бўлган рух организмда муҳим вазифаларни бажаришига қарамай, ҳужайраларда унинг микдорини ортиши захарланишга олиб келади. Металллардан захарланишни даволаш усулларида бири хелатли терапия ҳисобланиб, унда организмдан металлларни чиқариш учун унга металл боғловчи бирикмалар киритилади. Металл боғловчи оксил ва пептидларни ажратиш махсус синтез қилинган хелат сорбентларда амалга оширилади. Биз тадқиқотларимизда хелат сорбентлар синтезини амалга оширишни четлаш учун, КМ-TSK 650 сорбентидан фойдаландик. Бунинг учун КМ-TSK 650 сорбенти Zn^{+} -КМ-TSK 650 шаклда фаоллаштирилди ва ундан амарант уни таркибидаги рух боғловчи оксилнинг рух боғловчи фрагментар пептидини ажратиш олишда хелат сорбент сифатида фойдаланилди. Бунинг учун сорбентни 0,05 М Na_2HPO_4 (pH-6.2) буфери билан мувозанатга келтирилиб, шу

буферда эритилган 200 мг амарант оксиллари триптик гидролизати сорбентга сорбция қилинди. Сорбент билан боғланмаган пептидлар бошланғич буфер билан ювилди, сорбент билан боғланган пептидлар шу буфердаги NaCl нинг 0.3 М ва 0.6 М концентрацияли босқичли градиентда элюцияланди (2-расм).



Натижада NaCl нинг 0.3 М ва 0.6 М концентрацияли босқичли градиентда 3 та фракция олинди. Рух боғловчи пептидлар Силохром 80 С18 сорбентли колонкада тузсизлантирилди. Олинган фракциялар роторли буғлатгичда концентрланди ва лиофилл курутгичда курилди. Унуми Z-1 0.8 мг, Z-2 0.85 мг ва Z-3 0.75 мг ни ташкил қилди.

2-расм. Триптик гидролизатнинг металл хелат хроматографияси

Ажратиб олинган рух боғловчи пептидларнинг молекуляр оғирликлари ва бирламчи тузилиши CHIP-Q-TOF LC/MS/MS масс-спектрометри ёрдамида таҳлил қилинди (2-жадвал).

2 – жадвал

Пептидларнинг аминокислота кетма-кетликлари ва молекуляр оғирликлари

№	Аминокислоталар кетма-кетлиги	ММ (Да)	Оқсилнинг номи
Z-1	(K)EITEVAHRVFDAAVAKEYGATR(K)	2433,2	Дисмутаза супероксиди
Z-2	(K)FGIVEGLMTTVHSITATQK(T)	2033,0	LOV доменини тутган оқсил
Z-3	(R)VPELVYACDDSRVGAFSR(E)	1983,9	Рух боғловчи домен тутган оқсил

Бир қатор адабиётларда оқсилларнинг учламчи тузилиши SWISS-MODEL таҳлил дастури асосида аниқланган ва 3D моделлар яратилган. Биз ҳам LOV доменини тутган оқсил ва рух боғловчи домен тутган оқсилларининг NCBI базасидан олинган бирламчи тузилишларини SWISS-MODEL таҳлил дастурига киритиб, 3а, в-расмларда келтирилган учламчи тузилишга (3D) эга бўлдик. 3а ва 3в расмларда келтирилган SWISS-MODEL таҳлил дастури асосида аниқланган рух боғловчи домен тутган оқсилларнинг 3D моделларидан кўриниб турибдики, улар глобуляр тузилишга эга. Ажратиб олинган ва тузилиши аниқланган пептидлар глобуланинг ташқарисида жойлашган бўлиб, фазовий тузилиши жихатидан бармоқ шаклини эслатади (қизил рангдаги фрагмент).

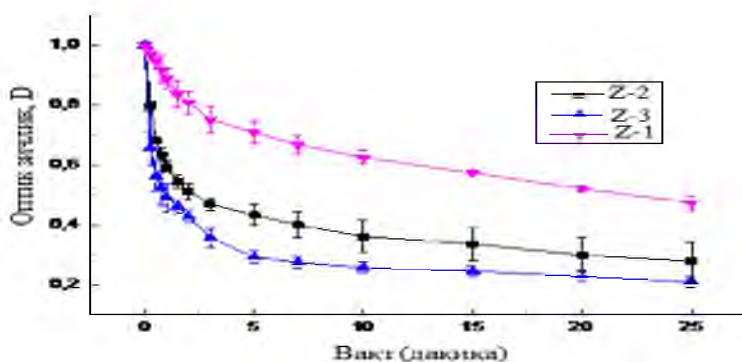
Z-1, Z-2 ва Z-3 пептидларнинг антирадикал фаоллиги (АРФ) 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) молекуласидаги барқарор эркин радикалларнинг тикланиш кинетикасини ўлчашга асосланган усулда аниқланди (4-расм).



3а-расм. LOV доменини тутган оксил (оксил таркибида Z-2-пептидининг фазовий тузилиши кизил рангда кўрсатилган)



3в-расм. Рух боғловчи домен тутган оксил (оксил таркибида Z-3-пептидининг фазовий тузилиши кизил рангда кўрсатилган)



4-расм. Z-1, Z-2 ва Z-3 пептидларнинг антирадикал фаоллиги кинетикаси. ДФПГ концентрацияси 0.1 мМ. Реакция учун олинган пептидлар миқдори 50 мкг. Оптик зичликни ўлчаш ишлари 20°C да, пептидлар кўшилган ондан бошлаб олиб борилган.

АРФни миқдорий баҳолаш учун ДФПГ молекуласидаги барқарор радикаллар миқдорини 50% га камайтириш учун кетган вақтдан (t_{50}) фойдаланилди. Олинган натижалардан реакциянинг t_{50} қиймати Z-1 учун 900 сек, Z-2 учун – 100 сек ва Z-3 учун 10 сек ни ташкил этиши, Z-3 пептидининг фаоллиги Z-1 ва Z-2 дан анча юқори эканлиги аниқланди (4-расм).

Амарант уруғлари унининг эркин ва оксиллар таркибидаги аминокислоталари Кохен усулида бугдой ва маккажўхори унларига солиштирган ҳолда, аминокислоталарнинг фенилтиокарбамоил ҳосилалари кўринишида ЮССХ ёрдамида аниқланди (3- ва 4-жадвал)

3-жадвал

Амарант уруғларининг эркин аминокислоталар таркиби (RSD $\leq 3\%$)

Аминокислоталар	Унлар					
	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Жўхори	Бугдой
	Харьков	Лера	Андижон	Гелиос		
Миқдор, мг/г						
Алмашинадиган аминокислоталар						
1. Аспаргин к-та	0.33	0.49	0.33	0.46	0.25	0.10
2. Глутамин к-та	0.62	0.61	0.20	0.64	0.26	0.12
3. Серин	0.13	0.07	0.05	0.13	0.06	0.01
4. Глицин	0.01	0.08	0.06	0.08	0.15	0.03
5. Аспарагин	0.02	0.08	0.06	0.08	0.15	0.04
6. Глутамин	0.31	0.41	0.10	0.15	0.06	0.06
7. Цистеин	0.03	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04
8. Аланин	0.16	0.10	0.09	0.16	0.27	0.18

9.Пролин	0.04	0.04	0.04	0.14	0.56	0.09
10.Тирозин	0.09	0.10	0.05	0.13	0.08	0.06
Сумма	1.74	2.0	1.8	2.0	1.88	0.73
Алмашинмайдиган аминокислоталар						
11.Треонин	0.05	0.04	0.03	0.06	0.21	0.06
12.Аргенин	0.06	0.07	0.07	0.30	0.09	0.06
13.Валин	0.08	0.09	0.06	0.08	0.05	0.03
14.Метионин	0.04	0.05	0.03	0.06	0.02	0.03
14.Изолейцин	0.09	0.09	0.08	0.12	0.03	0.03
16.Лейцин	0.09	0.09	0.09	0.14	0.07	0.06
17.Гистидин	0.18	0.19	0.17	0.10	0.09	0.05
18.Триптофан	0.07	0.08	0.05	0.12	0.05	0.08
19.Фенилаланин	0.04	0.05	0.04	0.13	0.03	0.06
20.Лизин	0.06	0.09	0.04	0.15	0.16	0.03
Сумма	0.76	0.84	0.66	1.26	0.8	0.49
Жами	2.50	2.84	2.46	3.26	2.68	1.22

Гелиос унида аспарагин ва глутамин кислоталарининг миқдори маккажўхори унига нисбатан мос равишда 1.84 ва 2.46 марта, буғдой унига нисбатан эса 4.6 ва 5.33 марта, глутамин 2.5, серин 2 ва 13 (тегишли равишда), глицин ва аспарагин буғдой унига нисбатан 2 марта юқори, маккажўхори унидагига нисбатан эса 2 марта кам эканлиги аниқланди (3-жадвал).

Алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори бўйича амарант унида буғдой унига нисбатан 5 марта кўп лизин ва аргенин, 4 марта изолейцин, 2 марта фенилаланин, метионин, лейцин, гистидин ва валин ҳамда 1.5 марта кўп триптофан мавжудлиги аниқланди. Амарант ва маккажўхори унларида лизин ва триптофан миқдорлари ўртасида кескин фарқлар кузатилмаган бўлса, треонин миқдори жўхори унида 3.5 марта кўплиги аниқланди. Қолган алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори амарант унида маккажўхори унидагига нисбатан 1.5 дан 4 мартагача юқори эканлиги кўрсатилди (3-жадвал).

4- жадвал

Амарант уруғлари оксилларининг аминокислота таркиби (RSD ≤3%)

	Аминокислоталар	Унлар					
		<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Буғдой	Жўхори
		Харьков	Лера	Андижон	Гелиос		
Микдор, (%)							
Алмашинмайдиган аминокислоталар							
1.	Аспарагин/аспаргин к-та	7,32	7,90	7,34	7,60	3,80	4,07
2.	Глутамин/глутамин к-та	19,41	20,55	16,63	15,79	24,79	17,39
3.	Серин	3,43	3,51	3,25	3,88	3,04	3,38
4.	Глицин	4,02	4,26	4,06	4,21	2,91	12,17
5.	Цистеин	1,89	1,56	2,33	2,61	4,97	2,84
6.	Аланин	3,55	4,00	1,70	3,77	1,84	3,57
7.	Пролин	2,84	3,11	3,16	3,13	7,18	2,71
8.	Тирозин	3,95	3,47	6,22	6,28	2,29	2,66

Сумма		46,41	48,36	44,69	47,27	50.82	48.79
Алмашинмайдиған аминокислоталар							
9.	Треонин	6,37	5,62	3,49	4,61	1,80	1,90
10.	Аргинин	4,87	5,97	4,13	4,87	4,05	9,89
11.	Валин	3,64	3,81	5,60	5,87	4,15	3,27
12.	Метионин	2,22	1,74	1,82	1,40	3,36	3,03
13.	Изолейцин	5,17	5,08	5,79	5,80	4,32	4,61
14.	Лейцин	5,57	5,49	6,39	6,59	6,19	6,83
15.	Гистидин	3,72	4,07	5,53	7,74	2,59	2,11
16.	Фенилаланин	15.71	13,20	15,70	8,61	2,76	1,85
17.	Лизин HCl	5,11	4,90	5,56	6,00	1,24	5,41
18.	Триптофан (Фотометрик усулда)	1.22	1.25	1.27	1.22	1.52	1.71
Сумма		53.59	51.62	55.27	52.72	31.98	40.61
Жами		100,00	99,98	99,96	99,99	82.80	89.4

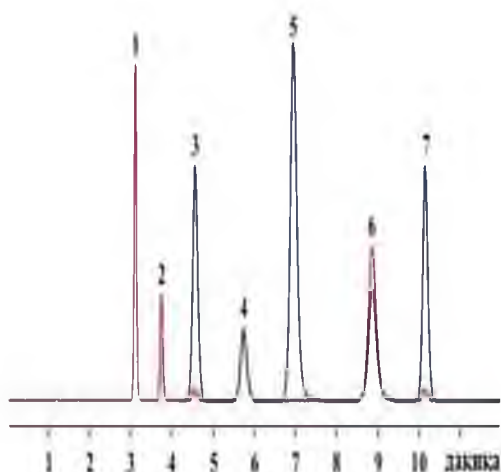
Тадқиқ қилинган амарант унларининг алмашинадиган аминокислоталари орасида глутамин ва глутамин кислотанинг миқдори 15.79-20.55% ташкил этиб, қолган алмашинадиган аминокислоталар миқдорида сезиларли фарқлар кузатилмади (4-жадвал). Алмашинмайдиған аминокислоталардан фенилаланиннинг миқдори энг юқори бўлиб, ўртача 13.3% ни ташкил қилди.

Гелиос нави уни таркибида аспарагин ва аспаргин кислотанинг умумий миқдори маккажўхори ва буғдой унига нисбатан тегишли равишда 1.9 ва 2 марта кўп бўлса, глутамин ва глутамин кислоталарининг миқдори эса 1.1 ва 1.6 марта камлиги аниқланди. Маккажўхори унида цистеин миқдори буғдой ва амарантдагидан 2 марта, глицин эса мос равишда 5 ва 3 марта юқори эканлиги, тирозин эса амарантда буғдой ва маккажўхоридагига қараганда 3 марта юқори эканлиги аниқланди.

Оқсил таркибидаги алмашинмайдиған аминокислоталарнинг умумий миқдори амарант унида (52.72%) буғдой (31.98%) ва маккажўхори (40.61%) унларидагига нисбатан тегишли равишда 1.65 ва 1.3 марта кўп бўлиб, бунда валин, изолейцин, лейцин ва триптофан миқдорларида айтарли фарқлар кузатилмади. Треонин миқдори буғдой ва маккажўхори унларидагига нисбатан мос равишда 2.65 ва 2.4, валин - 1.41 ва 1.74, гистидин - 3 ва 3.67, фенилаланин - 3.12 ва 4.65, лизин - 4.8 ва 1.11 марта кўплиги, метионин эса мос равишда 2.4 ва 2.16 марта камлиги аниқланди. Аргинин миқдори буғдойдагига нисбатан 1.2 марта кўп бўлса, маккажўхоридагига нисбатан 2.02 марта камлиги кўрсатилди.

Амарант, буғдой ва маккажўхори унларидаги В₁, В₂, В₃, В₆, В₉, РР ва С витаминларини миқдорлари ЮССХ ёрдамида аниқланди. Миқдорий таҳлилда фойдаланиш учун “Sigma” фирмасининг стандарт В₁ (кат.№ 59438), В₂ (кат.№ 83885), В₃ (кат.№ 59676), В₆ (кат.№ 58560), В₉ (кат.№ 59303), РР (кат.№ 98920) ва С (кат.№ 50817) витаминларидан фойдаланилди (5-расм). Хроматографик жараённи ва колонкани калибрлаш натижасида С (3.27 дак.), В₁ (3.75 дак.), В₂ (4.56 дак.), В₉ (5.85 дак.), В₃ (7 дак.), В₆ (8.8 дак.) ва РР витамини (10.2 дак.) колонкадан чиқиш вақтлари ҳамда калибрлаш эгриларининг Тренд тенгламалари

мос равишда $Y_C=5177,2*x$, $Y_{B_1}=3971.1*x-44.57$, $Y_{B_2}=4771.1*x$, $Y_{B_9}=3886.3*x$, $Y_{B_3}=2851.1*x-54.75$, $Y_{B_6}=11811x$, $Y_{PP}=3340,3x$ эканлиги аниқланди.



4-расм. Стандарт витаминлар аралашмасининг хроматограммаси.
1. Аскорбин кислотаси -С, 2. Тиамин – В₁, 3. Рибофловин – В₂, 4. Фолий кислота –В₉, 5. Никотинамид – В₃, 6. Пиридоксин – В₆, 7. Витамин РР.

Ҳар бир намунадаги витаминлар стандарт витаминларнинг колонкадан чиқиш вақтларига солиштирилган ҳолда идентификация қилинди, миқдорлари эса хроматограммалардаги витаминлар учун тааллуқли чўққи майдонларини Тренд тенгламаларига қўйган ҳолда ҳисобланди (5-жадвал). Ўрганилган навлар ичида Лера уруғларида витаминлар миқдори нисбатан юқорилигини кўриш мумкин. Катта фарқланиш С витамини миқдорида кузатилди: Лера навида унинг миқдори 1.1 мг/100 г ни ташкил этган бўлса, Харьков навида 0,6 мг/100 г ни, Андижон навида 0.3 мг/100 г ва Гелиос навида 0,2 мг/100 г ни ташкил этди. В гуруҳ витаминлари - В₃, В₂, В₉, В₆, В₁ ва РР витамини миқдорида катта фарқ кузатилмади.

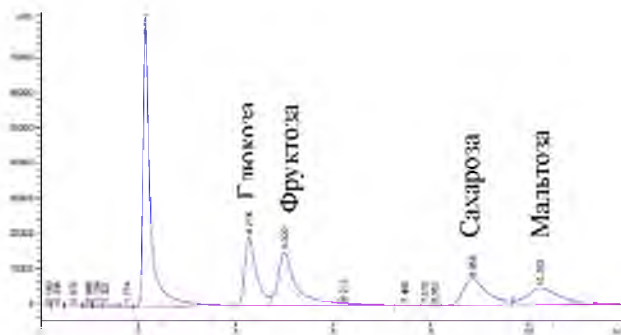
5-жадвал

Амарант уруғларининг сувда эрувчан витаминлари миқдори ($M \pm n$, $n=3$)

Амарант навлари	В ₁	В ₃	В ₂	В ₉	В ₆	С	РР
	Миқдори (мкг/100г)						
Харьков	93± 2	35±4	2± 0,3	8.5± 0.2	190±3	600±1	1140±1
Лера	114±5	38±7	7±0,2	9.1±0,1	210±2	1100±3	1290±5
Андижон	82±3	33± 1.3	6±0,3	6.5±0,1	120±2	300± 1	1110±1
Гелиос	81±3	33±4	6± 0.3	6.8±0,1	140± 3	200± 1	1120± 1
Буғдой	170	-	40	27.1	170	500	3000
Маккажўхори	350	-	130	30	182	800	3000

Шунингдек, амарант унида В₁, В₂, В₉ ва РР витаминларининг миқдори маккажўхори ва буғдой унларига нисбатан камлигини ва аксинча, амарант унларида маккажўхори ва буғдой унларда мавжуд бўлмаган никотинамид (В₃) аниқланган бўлса, В₆ ва С витаминларининг миқдори Харьков ва Лера навларида юқори эканлиги аниқланди.

Тадқиқ қилинаётган амарант, буғдой ва маккажўхори унларининг углевод таркиблари Agilent Technologies компаниясининг рефрактометр детекторли 1200 серияли ЮССХда амалга оширилди (6-расм). Хроматографик жараёнда колонкани стандарт намуналар билан калибрлаш натижасида фруктоза (4.2±0.2 дак.), глюкоза (5.0±0.2 дак.), сахароза (8.8±0.2 дак.) ва мальтозанинг (10.2±0.2 дак.) (6-расм) колонкадан чиқиш вақтлари ҳамда калибрлаш эгрларининг Тренд тенгламалари аниқланди (фруктоза $Y=8*10^6x$, глюкоза $Y=9*10^6x$, сахароза $Y=8*10^6x$, мальтоза $Y=5*10^6x$). Олинган натижалар 6-жадвалда келтирилган.



6-расм. Углеводлар хроматограммаси. Колонка Supelcosil LC-NH₂, 5mkm, 4.6x250 mm. Мобил фаза: ацетонитрил ва сув 80:20 (ҳажм/ҳажм). Оқим тезлиги 1.2 мл/дақиқа. Колонка ҳамда детектордаги ҳарорат 35⁰С. Стандарт углеводлар “Sigma” 1. Глюкоза (кат.№ 50997), 2. Фруктоза (кат.№ 57487), 3. Сахароза (кат.№ 57501), 4. Мальтоза (кат.№6363537)

6-жадвал

Амарант, буғдой ва маккажўхори унларининг углевод таркиби, (M±m, n=5)

Углеводлар	Унлар					
	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Буғдой	Жўхори
	Харьков	Лера	Андижон	Гелиос		
	Миқдор, (%)					
Фруктоза	0.41±0.08	0.39±0.05	0.38±0.04	0.46±0.02	0.01±0.0002	0.31±0.01
Глюкоза	5.24±0.1	5.03±0.16	4.98±0.2	5.22±0.14	0.04±0.0003	0.40±0.02
Сахароза	0.23±0.12	0.21±0.11	0.22±0.14	0.22±0.15	0.12±0.006	1.41±0.11
Мальтоза	0.36±0.02	0.41±0.06	0.32±0.03	0.30±0.01	0.95±0.03	0.79±0.03
Жами	6.24±0.08	6.04±0.10	5.90±0.06	6.20±0.32	1.12±0.0365	2.91±0.17

Барча амарант унларида углеводларнинг умумий миқдори 5.9–6.24% ни ташкил қилди. Гелиос унидаги фруктоза миқдори буғдой унидагига нисбатан 46 марта, маккажўхорида нисбатан эса 1.5 марта кўп бўлса, глюкозанинг миқдори буғдой унидагига нисбатан 130 марта, маккажўхорида нисбатан эса 13 марта кўплиги кўрсатилди. Сахароза миқдори буғдой унида амарантаникидан 1.8 марта кам бўлса, маккажўхори унидаги сахароза миқдори буғдойдагидан 12, амарантдагидан 6.5 марта кўплиги аниқланди. Мальтоза миқдори амарант унида энг кам бўлиб, буғдойдагидан 3.1 марта, маккажўхоридагига нисбатан эса 2.6 мартага фарқланиши кузатилди. Олинган натижалардан амарант уни углеводларга бой бўлиши билан бир қаторда, унинг таркибида буғдой ва маккажўхорида нисбатан сахароза ва мальтозанинг миқдорини камлиги аниқланиб, унинг диабет касалликлари билан оғриган беморлар учун озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрлаш учун ажойиб хом-ашё эканлигини кўрсатилди.

Тадқиқ қилинаётган амарант, буғдой ва маккажўхори унларининг полисахарид таркиблари M.Dubois усулида спектрофотометрик равишда аниқланди. Олинган натижалардан амарант унларида сувда эрийдиган полисахаридлар миқдори уннинг бошланғич оғирлигига нисбатан 22-25%, пектинлар 22-26%, ишқорда эрувчи полисахаридлар 5-11% ни ташкил этиб, маккажўхори унининг полисахарид таркибидан деярли фарқ қилмади. Сувда эрийдиган полисахаридлар ва пектин миқдори амарант унида буғдой унига нисбатан мос равишда 3.18 ва 1.63% кўп бўлса, ишқорда эрувчи полисахаридлар миқдори 10.09% кам бўлиб, бу ўз навбатида полисахаридларнинг умумий миқдорига таъсир кўрсатди (мос равишда 56.72 ва 62.0%).

Тадқиқ қилинаётган намуналарнинг макро- ва микроэлементлари миқдорий жиҳатдан ISP MC NEXION-2000 (Perkin Elmer АҚШ) қурилмаси

ёрдамида, анионларнинг идентификацияси Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- ва PO_4^{3-} ионларига нисбатан сифат реакциялари, микдорлари эса титрлаш орқали аниқланди.

Олинган натижалардан амарант, буғдой ва маккажўхори унларида жами 36 та макро- ва микроэлемент аниқланди. Амарант уруғларидан олинган барча унларда элементларнинг микдорлари деярли фаркланмади ва умумий микдор 14819.8 дан 15671.1 мг/кг ни ташкил қилди. Буғдой унида умумий нутриентлар микдори (33126.7 мг/кг) амарант унларидагига нисбатан 2.11 марта, маккажўхори унидагига (20456.2 мг/кг) нисбатан 1.62 марта юқори эканлиги аниқланди. Бунда асосан макроэлементларнинг (Ca, K, Mg, Na, Si, Al ва Fe) микдорларида катта фарқлар кузатилди.

Бундан ташқари унлардаги макро- ва микроэлементларнинг тузларини аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида, улар асосан хлорид ва сульфат тузларидан иборат эканлиги аниқланди. Нитратлар ва фосфатларнинг микдорлари жуда кам бўлиб, 1 кг унда мг ларни ташкил қилди. Хлор ионларининг микдори амарант унларида 36.2-44 г/кг ташкил қилган бўлса, буғдой унида 48 г/кг, маккажўхори унида эса 53.4 г/кг тенг бўлди. Сульфат ионларининг микдори амарант унида 2.4-4.8 г/кг бўлса, буғдой унида 1.86 г/кг, маккажўхори унида эса 2 г/кг микдорларида аниқланди.

Тадқиқ этилаётган амарант навлари орасида энг ҳосилдори *Amaranthus cruentus* Гелиос-“Марҳамат” нави бўлганлиги учун фармако-токсикологик тадқиқотларни айнан шу навнинг уруғларидан олинган ун билан олиб борилди.

Тадқиқотлар тана вазни 250-300 г бўлган 50 та эркак оқ каламушларида олиб борилди. Ҳайвонлар 10 тадан 5 та гуруҳ – интакт, назорат ва 3 та тажриба гуруҳларига бўлинди. Тажрибалар твин моделида ўтказилиб, гиперлипидемия 2-5 гуруҳ ҳайвонларига 200 мг/кг дозада Tween-80ни бир марта қорин бўшлиғига юбориш орқали ҳосил қилинди. Амарант унининг гиполлипидемик хусусиятлари буғдой ва маккажўхори унларига қиёсланиб ўрганилди. 2-5 гуруҳ ҳайвонларига детергент юборилганидан 5 кун ўтказиб текширилаётган унларнинг сувли суспензиясидан 200 мг/кг дозада оғиз орқали кунига 1 марта юборилди.

7-жадвал

Экспериментал гиперлипидемия ҳолатида каламушлар қонидаги липид профили кўрсаткичлари ($M \pm m$, $n=10$)

Гуруҳлар	Унлар	УХ	ТГ	ЮЗЛП	ЖПЗЛП	ПЗЛП	АК
		Микдор (мг/дл)					
1 интакт		52.0±0.3	60.0±0.6	31.0±0.2	11±0.1	12±0.09	0.793±0.02
2 назорат	Гиперлипидемия + сув	87.5±0.5 +68%#	106±0.8 +77%#	16.0±0.1 -48%#	21.2±1.5 +93%#	31.5±2.3 +162%#	4.47±0.30 ≥ 5.6 марта
3	Амарант	65.0±0.4 -26%*	92.0±0.6 -13%*	20.0±1.15 +25%*	18.4±1.3 -13%*	14.9±1.1 -53%*	2.25±0.10 ≤ 1.9*
4	Буғдой	78.0±0.5 -11%*	91.0±0.6 -14%*	19.5±1.2 +22%*	19.0±1.3 -10%*	17.0±1.4 -46%*	3.0±0.10 ≤ 1.5*
5	Маккажўхори	75.0±0.5 -14%*	102.0±0.9 -3,8*	20.0±1.2 +25%*	20.0±1.4 -7%*	16.2±1.4 -49%*	2.75±0.10 ≤ 1.6*

* – назоратга нисбатан ишончли ($p < 0.001$); # – интакт гуруҳга нисбатан ишончли ($p < 0.001$)

Қондаги липид профилининг умумий холестерин (УХ), триглицеридлар (ТГ), паст зичликдаги липопротеин (ПЗЛП), жуда паст зичликдаги

липопротеинлар (ЖПЗЛП), юкори зичликдаги липопротеинлар (ЮЗЛП), атерогенлик коэффиценти (АК) каби кўрсаткичлари ўрганилди (7-жадвал).

Олинган натижалардан интакт гуруҳи каламушларидагига нисбатан гиперлипидемиянинг твин моделидаги назорат гуруҳи каламушларида бир қатор патологик ўзгаришлар мавжудлиги аниқланди. Хусусан, УХ миқдори 68% га, ТГ 77% га, ЖПЗЛП 93% га, ПЗЛП 162% га, АК 5.6 марта ортган бўлса, ЮЗЛП миқдори 48% га камайганлиги аниқланди.

Амарант уни таъсирида УХ миқдори 26% га пасайди, буғдой ва маккажўхори унлари киритилганда бу кўрсаткич мос равишда 11 ва 14 % ташкил этди.

ТГ миқдорининг пасайиши маккажўхори унида 3.8%, амарант ва буғдой унларида эса мос равишда 13 ва 14% ни ташкил қилди. Амарант, буғдой ва маккажўхори унларининг қўлланилиши назорат гуруҳига нисбатан ЮЗЛП миқдорининг мос равишда 25, 22 ва 25% ортишига олиб келди. Буғдой ва маккажўхори унларининг қўлланилиши ПЗЛП миқдорини назорат гуруҳига нисбатан 46 ва 49% га пасайтирган бўлса, амарант уни ПЗЛП ни 53% га камайтирди. Амарант уни таъсирида назорат гуруҳига нисбатан ЖПЗЛП миқдори 13%, буғдой ва маккажўхори уни таъсирида мос равишда 10 ва 7% камайиши кўрсатилди. АК пасайиши амарант уни қўлланилганида 2.25, буғдой ва маккажўхори унлари киритилганда эса мос равишда 3.0 ва 2.75 ни ташкил этди.

Тадқиқ қилинаётган унларнинг антиоксидант хусусиятларини баҳолашда қон зардобиддаги липидларнинг пероксидланиши (ЛПО) маҳсулотларини аниқлаш орқали баҳоланди (8-жадвал).

8-жадвал

Экспериментал гиперлипидемияда каламушларнинг антиоксидант тизимида амарант унининг таъсири ($M \pm m$, $n=10$)

Гуруҳлар	Унлар	МДА мкМ/мл дақиқа	ДК ОБ/мл.	Кетонлар ОБ/мл дақиқа	Каталаза мКат/дақиқа	Фибриноген мг/дл
1 интакт		2.67±0.15	5.68±0.17	3.34±0.5	0.570±0.3	387±12.0
2	Гиперлипидемия + сув	4.03±0.25 +51%#	7.17±0.18 +26%#	3.81±0.5 +14%	0.346±0.5 -29%	892.3±11.3 2.3# марта
3	Амарант	3.32±0.18 -17%	5.65±0.16 -21%	3.472±0.5 -8.9%	0.418±0.3 +21%*	509.5±10.1 1.75* марта
4	Буғдой	3.62±0.27 -10%*	5.9±0.37* -17.7%	3.61±0.2 -5.0%	0.39±0.02 +11%*	615.8±10.2 1.45* марта
5	Маккажўхори	3.68±0.29 -8.7%*	6.1±0.17* -15%	3.674±0.5 -3.7%	0.38±0.01 +8.6%*	619.8±10.2 1.44* марта

* –назоратга нисбатан ишончли ($p < 0.001$); # – интакт гуруҳга нисбатан ишончли ($p < 0.001$)

Олинган натижалардан назорат гуруҳи каламушлари қон зардобидда малон диальдегидининг (МДА) миқдори 51%, диен конъюгатларининг (ДК) миқдори эса 26% ортди. ЛПО жараёнига параллел равишда каталаза ферментининг фаоллиги 29% камайиб, фибриноген миқдори 2.3 марта ортди.

Амарант уни қўлланилган гуруҳда МДА миқдорини назорат гуруҳига нисбатан 17%, ДК миқдори 21% камайди (8-жадвал). Буғдой ва маккажўхори унлари

қўлланилиши МДА миқдори мос равишда 10 ва 8.7% га, ДК миқдори эса 17.7 ва 15% камайишига олиб келди. Каталаза ферменти фаоллиги амарант уни таъсирида назорат гуруҳига нисбатан 21% ортган бўлса, буғдой ва маккажўхори унлари таъсирида мос равишда 11 ва 8.6% гача қайта тикланди. Фибриноген миқдори амарант уни таъсирида 1.75 марта, буғдой ва маккажўхори унлари киритилганда эса мос равишда 1.45 ва 1.44 марта пасайганлиги кузитилди.

Олиб борилган тадқиқот натижаларига кўра, амарант унининг киритилиши экспериментал гиперлипидемия моделидаги ҳайвонларнинг патологик ҳолатни назорат гуруҳига нисбатан максимал яхшиланишига олиб келди.

Олинган натижалар «SIFAT AGRO SERVIS» МЧЖ билан ҳамкорликда «БИО ДАРМОН» номли капсула шаклидаги биологик фаол қўшимча ишлаб чиқариш учун асос бўлди ва уни ишлаб чиқариш учун ЎзР ССВ нинг рухсатномаси олинди.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор Андижон вилояти иқлим шароитига мослаштирилган *Amaranthus cruentus* Гелиос ва Харьков 1 ҳамда *Amaranthus hypochondriacus* – Лера ва Андижон навли амарант уруғларининг ёғдорлиги, оксил, витамин, аминокислота ва углевод миқдорлари ҳамда фармакологик хусусиятлари буғдой ва маккажўхори унларига нисбатан юқори эканлиги билан изоҳланади.

2. На-ДДС-электрофорези натижасида амарант унлари таркибида жами 15 та оксил доғлари аниқланиб, уларнинг молекуляр массалари 8 кДа дан 66 кДа гача эканлиги кўрсатилган бўлса, хромато-масс-спектрометрия усулида унларнинг таркибида жами 34 та оксил мавжудлиги исботланди.

3. Илк бор амарант оксилларининг триптик гидролизати таркибидан рух ионларини боғловчи иккита пептид ажратиб олинди, уларнинг бирламчи тузилиши аниқланди. Ажратилган пептидлар учун тегишли бўлган оксиллар идентификация қилиниб, SWISS-MODEL таҳлил дастури асосида оксилларнинг фазовий тузилишини 3D модели яратилди. Ажратилган пептидларнинг антирадикал фаолликлари аниқланди.

4. Амарант уни таркибида эркин ҳолда учрайдиган алмашинмайдиган аминокислоталар буғдой унидагига нисбатан: лизин ва аргинин 5, изолейцин 4, фенилаланин, метионин, лейцин, гистидин ва валин 2, триптофан 1,5 марта кўп эканлиги аниқланди. Оксиллар таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталарнинг умумий миқдори амарант унида (52.72%) буғдой (31.98%) ва маккажўхори (40.61%) унларидагига нисбатан мос равишда 1.65 ва 1.3 марта кўп эканлиги билан изоҳланади.

5. Амарант уни яқкол антигиперлипидемик ва антиоксидант фаолликка эга эканлиги аниқланиб, унинг асосида “SIFAT AGRO SERVIS” МЧЖ корхонаси билан ҳамкорликда “БИО ДАРМОН” номи билан капсула шаклидаги биологик фаол қўшимча ишлаб чиқилди ва амалиётда қўллаш учун тавсия этилди.

НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019. К/В. 37.01
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЁНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ
БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ОЛИМЖОНОВ ШУХРАТЖОН СОЛИХЖОН УГЛИ

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН
АККЛИМАТИЗИРОВАННЫХ СОРТОВ РАСТЕНИЯ *AMARANTHUS* И
СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК**

02.00.10 - Биоорганическая химия

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

Ташкент – 2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2019.3. PhD/К244.

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

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

Научный руководитель: **Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович**
доктор химических наук

Официальные оппоненты: **Бобоев Бахром Нуриллаевич**
доктор химических наук, с.н.с.

Рахманбердыева Раъно Каримовна
доктор химических наук, с.н.с.

Ведущая организация: **Ташкентский фармацевтический институт**

Защита диссертации состоится «___» _____ 2021 года в ___ часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12. 2019.К/В.37.01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № ___). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2020 г.
(реестр протокола рассылки № «___» от _____ 2020 г).

Ш.И. Салихов
Председатель Научного совета по присуждению
учёных степеней, д.б.н., академик

Ш.А. Шомуротов
Учёный секретарь Научного совета по
присуждению учёных степеней, д.х.н.

М.Б. Гафуров
Председатель Научного семинара при Научном совете
по присуждению учёных степеней, д.х.н.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире, в последние годы, развитие биоорганической химии и биотехнологии тесно связано с изучением химического состава растений, выделением индивидуальных веществ, изучением их структуры и биологической активности, а также внедрением их в производство. Основная часть используемых в медицинской практике лекарственных средств выделяются из растительного сырья. Биологически активные соединения, выделенные из растений, обладают преимуществом низкой токсичности, легкой усвояемости по сравнению с синтетическими аналогами. Поэтому, выделение биологически активных соединений из растений, установление их структуры и биологической активности, а также создание новых эффективных лекарственных средств для медицины на их основе является актуальной.

В настоящее время, в связи с повышением глобальной температуры и нарушением экологического равновесия, Узбекистан испытывает нехватку воды, что вызывает повышение солёности посевных площадей. Это, в свою очередь, подчёркивает необходимость выращивания растений, устойчивых к стрессовым условиям, требующих меньше воды и востребованных в различных отраслях экономики. Одним из таких нетрадиционных растений является семейство *Amaranthus*. До 1930-х годов растения семейства *Amaranthus* использовались в декоративных, пищевых и технических целях. Позже, после открытия очень важных для человеческого организма сквалена и токоферолов в масле, извлекаемом из его семян, интерес учёных к этому растению значительно вырос. На сегодняшний день в семействе амаранта обнаружены вещества, обладающие противовоспалительным, гепатопротекторным, антидиабетическим, антигиперлипидемическим, пролиферативным, противогрибковым, а также радиопротекторным и сперматогенным свойствами.

В нашей стране достигаются определенные научные и практические результаты, в части адаптации растений *Amaranthus* к климатическим условиям Средней Азии, выращивании новых сортов и их переработки. В частности, изучение химического состава, биологической активности и фармакологических свойств продуктов переработки семян амаранта, адаптированных в климатические условия республики, их внедрение в различных отраслях народного хозяйства является актуальной задачей. В связи с этим 4-м направлением Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан «По дальнейшему развитию фармацевтической отрасли, совершенствованию обеспечения населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными средствами»² определены важные задачи. Таким образом, создание конкурентоспособных на мировом рынке антибактериальных препаратов на основе местного сырья является актуальной.

² Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № ПФ-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан на 2017-2021 годы».

Данная диссертационная работа может послужить решением задач, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-4575 от 28 января 2020 года «О мерах по реализации задач, поставленных в Стратегии развития сельского хозяйства на 2020-2030 годы в 2020 году», в Постановлении Кабинета Министров от 13 мая 2020 г. № 282 «О совершенствовании деятельности Центра испытаний сортов сельскохозяйственных растений, создании Национального банка генов сельскохозяйственных растений», а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Актуальность исследований в приоритетных направлениях развития науки и техники в республике. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий РУз “Медицина и фармакология”.

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день рядом зарубежных учёных проведены углублённые исследования по определению химического состава, биологической активности и фармакологических свойств растений семейства *Amaranthus*. В частности, в работе P.R.Venskutonis и P.Kraujalis (Каунасский технологический университет, Литва) показано, что белки семян амаранта состоят из альбуминов (40%), глобулинов (20%), глютенинов (25-30%) и проламинов (2-3%). A. V. Quiroga (Университет Ла-Платы, Аргентина) показал, что семена амаранта содержат в общей сложности 15 основных белков: 11S-глобулин, 7S-глобулин, ингибитор α -амилазы, ингибитор трипсина, антимикробный белок, неспецифический липид-переносящий белок-1, супероксиддисмутаза, ging-белок цинкового пальца, просистемин, амарантовый альбумин-1, глюкозо-1-фосфатаденилтрансфераза, глюкозилтрансфераза, полиаминоксидаза, крахмал синтаза-1 и ацетолактатсинтаза. Murakami с соавторами (Институт общественного здравоохранения и окружающей среды города Осака, Япония) провели серию исследований по определению количества витаминов группы В в сырых и спелых семенах амаранта. В 100 г семян обнаружено 147 мкг рибофлавина (В2), 340.15 мкг ниацина (В3), 47,24 мкг фолиевой кислоты, 1150 мкг пиридоксина (В6) и пантотеновой кислоты.

Отечественным учёным М.М.Муминовым проведены исследования по интродукции различных сортов амаранта. А.И. Глушенкова и С.Д.Гусакова проводили обширные исследования по изучению липидного состава амарантовых масел. По данным С.С.Бозорова и других, семена видов *A. hypochondriacus* - Харьков и Лера, виды *A. cruentus* Андижан и Гелиос, интродуцированные в климатические условия Узбекистана содержат от 6,39 до 7,81% жира, из которых 72,72-73,28% составляют ненасыщенные жирные кислоты, среди которых 1,17% омега-3-альфа-линоленовая кислота. Также было обнаружено, что семена амаранта содержат около 0,35-0,55% сквалена.

Следует отметить, что на сегодняшний день в нашей Республике не проводились исследования по выделению биологически активных веществ из семян разновидностей амаранта, изучению их химического состава,

биологической активности и фармакологических свойств.

Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР. Диссертационная работа выполнена в рамках инновационного проекта № И-2016-5-6/3 “Внедрение технологии комплексной переработки растения амаранта с получением кормов для животноводства, а также масла, жмыха и муки для нужд фармацевтической и пищевой промышленности“ (2015-2017 гг) выполненного в Институте биоорганической химии совместно с Андижанским Государственным Университетом.

Целью исследования является определение химического состава и фармакологических свойств муки, полученной из семян интродуцированных растений семейства *Amaranthus*, и создание на их основе новых биологически активных добавок, используемых в производстве пищевых продуктов полифункционального действия.

Задачи исследования:

- изучение химического состава амарантовой муки (белки, пептиды, свободные аминокислоты, витамины, углеводы, полисахариды, макро- и микроэлементы);
- разработка метода выделения металлов связывающих пептидов из амарантовой муки, изучение первичной структуры пептидов;
- изучение биологической и фармакологической активности амарантовой муки;
- получение биологически активной добавки с антигиперлипидемической активностью на основе амарантовой муки.

Объектом исследования являются сорта семян амаранта *Amaranthus cruentus* Гелиос и Харьковский-1, и *Amaranthus hypochondriacus* - Лера и Андижан, а также их мука и извлеченные из них белки, углеводы, витамины, макро- и микроэлементы.

Предметом исследования является выделение белков, углеводов, витаминов из семян амаранта, их качественный и количественный анализ, определение макро- и микронутриентов.

Методы исследования используемые при разделении и анализе биологически активных веществ из растительных объектов: колоночная хроматография, аминокислотный анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), хромата-масс-спектрометрия (LC-MS), протеомный анализ белков, электрофорез, определение активности, компьютерное моделирование, фармакологические и токсикологические методы.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

впервые установлен химический состав (масличность, содержание белка, витамины, свободные аминокислоты, углеводы) муки семян амаранта сортов *Amaranthus cruentus* - Гелиос и Харьков 1 а также *Amaranthus hypochondriacus* - Лера и Андижан, выращенных в Андижанской области;

согласно результатам Na-ДДС-электрофореза установлено состав амарантовой муки, который содержал 15 белковых полос с молекулярными массами от 8 до 66 кДа, а согласно методу, LC-MS в составе муки содержится 34 компонента белково-пептидной природы;

из триптического гидролизата белков амаранта выделены два цинк связывающих пептида и определена их первичная структура и были идентифицированы белки, соответствующие выделенным пептидам, определена пространственная структура белка на основе программы SWISS-MODEL и определена их антирадикальная активность;

установлено содержание амарантовой муки по сравнению к пшеничной, которая содержит свободных незаменимых аминокислот - лизина и аргинина в 5 раз, изолейцина в 4, фенилаланина, метионина, лейцина, гистидина и валина в 2, триптофана в 1,5 раза больше чем в пшеничной, также определено содержание витаминов В1, В2, В3, В6, В9, С и РР в муке амаранта;

на основе результатов фармакологических исследований выявлена антигиперлипидемическая и антиоксидантная активности амарантовой муки.

Практические результаты исследования состоят в следующем:

разработан способ получения новой биологически активной добавки (БАД) на основе муки, полученной из семян интродуцированных сортов амаранта;

Совместно с ООО «SIFAT AGRO SERVIS», на основе амарантовой муки, разработана технология производства БАД в форме капсулы, названной «БИО ДАРМОН».

Достоверность результатов исследования подтверждена использованием современных физико-химических методов - ВЭЖХ, хромато-масс-спектрометрии и электрофореза в процессе разделения веществ, определении структуры и функции исследуемых соединений. Подтверждением полученных результатов является экспертная оценка специалистов, их обсуждение на республиканских и международных конференциях, что объясняется публикацией результатов в рецензируемых научных публикациях.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что показана возможность выделения из природного сырья физиологически активных веществ не только в нативном состоянии, но и в виде их фрагментов, обладающих биологической активностью, и определения исходной структуры вещества на основе этих фрагментов. В процессе изучения химического состава (масличность, белок, витамины, свободные аминокислоты, содержание углеводов) семян амаранта *Amaranthus cruentus* и *Amaranthus hypochondriacus* были усовершенствованы аналитические методы и способы получения металл связывающих пептидов.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что результаты определения химического состава и гиперлипидемического действия семян амаранта послужат научной базой для производства БАВ «БИО ДАРМОН».

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов исследования химического состава, биологических и фармакологических свойств муки из амарантовых зернь предложено:

новый метод получения биологически активной добавки на основе муки из семян локализованных растений амаранта был использован в ООО «СИФАТ

АГРО СЕРВИС» для получения биологически активной добавки из семян растения амарант Гелиос (Справка Министерства инновационного развития Республики Узбекистан). В результате появилась возможность производить биологически активную добавку «БИО ДАРМОН»;

в проектах Международного научно-технологического центра Синьцзянского технического института физики и химии Китайской Академии Наук использовался метод выделения биологически активных белков из амарантовой муки в процессе выделения биологически активных белков из семян различных растений (Справка Синьцзянского технического института физики и химии Китайской Академии Наук). В результате данный метод позволил получить биологически активные белки и пептиды из семян *Amaranthus cruentus*.

Апробация результатов исследования. Результаты были обсуждены на 2 международной и 5 республиканских научных конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РУз, в том числе 1 в зарубежном и 2 в Республиканских научных журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Объем диссертации 122 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, научно-практическая значимость полученных результатов, внедрение результатов исследования в практику, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «Распространение амаранта, влияние различных факторов на его рост и урожайность, изучение химического состава семян» (обзор литературы) представлен подробный анализ научных исследований по данной теме и степень ее изученности. Представлены результаты современных исследований, таких как количество белков, жиров, углеводов, витаминов, макро- и микроэлементов, аминокислотный состав, исследование первичных структур и их биологическая активность.

Вторая глава диссертации, названная «Определение химического состава муки семян амаранта и создание на их основе биологически активной добавки», приведены результаты собственных исследований качественного и количественного состава белков, масел, аминокислот, витаминов, углеводов, полисахаридов, макро- и микроэлементов амарантовой муки в сравнении с

пшеничной и кукурузной, выделение металл связывающих пептидов из амарантовой муки, определение первичной структуры пептидов и их биологической активности, а также фармакологические исследования.

В связи с тем, что зерна амаранта богаты веществами, обладающими гепатопротекторным, радиозащитным, противовоспалительным, антигепатотоксическим, противодиабетическим, антигиперлипидемическим, сперматогенным, антипролиферативным и противогрибковым действиями, проведены исследования химического состава 2 разновидностей амаранта *Amaranthus cruentus* (сорта Андижан и Гелиос) и *Amaranthus hypochondriacus* (сорта Харьков и Лера), адаптированных в климатических условиях Узбекистана сотрудниками АндУ. В исследованиях использовались семена растений и мука, полученная после отделения масла из этих семян методом холодного отжима.

Семена и мука 4 различных сортов растения амарант, пшеницы и кукурузы были обезжирены в аппарате Сокслета с использованием экстракционного бензина. Количество белка в обезжиренной муке определяли методами Къельдаля и Лоури. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание жира и белка в зернах и муке амаранта, пшеницы и кукурузы
($M \pm n$, $n=3$)

Зерна	Масличность		Белок	
	Исходная	Остаточная	Къельдал	Лоури
	КОЛИЧЕСТВО, %			
Харьков	7.81±0.17	4.05±0.15	17.33±0.5	4.76±0.2
Лера	7.55±0.23	3.65±0.17	17.5±0.3	4.78±0.5
Андижан	6.39±0.06	3.68±0.08	15.75±0.7	5.1±0.25
Гелиос	7.68±0.16	4.19±0.18	17.06±0.6	5.0±0.1
Пшеница	4.3±0.16	1.25±0.2	10.5±0.5	3.75±0.2
Кукуруза	9.8±0.16	2.2±0.17	8.8±0.6	2.89±0.1

В результате было определено, что жирность зёрен амаранта составила 6,39-7,81% от их исходной массы, пшеницы 4,3% и кукурузы 9,8%. В амарантовой муке различных семейств остаточное содержание жира составило от 3,6 до 4,19%. После холодного прессования показано, что остаточное содержание жира в муке Гелиос (4,19%), что в 3,4 и 1,9 раза больше, чем в пшеничной (1,25%) и кукурузной (2,2%) муке, соответственно (Таблица 1).

Общее содержание белка в амарантовой муке составляло 15,75-17,5% от ее исходной. Общее содержание белка в муке из сорта Лера (17,5%) было в 1,7 раз выше, чем в пшеничной (10,5%), и в 2 раза выше, чем в кукурузной (8,8%). Количество растворимого белка, определённое методом Лоури, в амарантовой муке варьировало в интервале от 4,76 до 5,1%. По сравнению с Андижанским сортом (5,1%), в пшеничной муке (3,75%) в 1,4 раза, а кукурузном (2,98%) в 1,7 раза меньше растворимого белка.

Молекулярную массу белков амарантовой муки определяли методом электрофореза в 12% ПААГ в денатурирующих условиях (рис. 1).

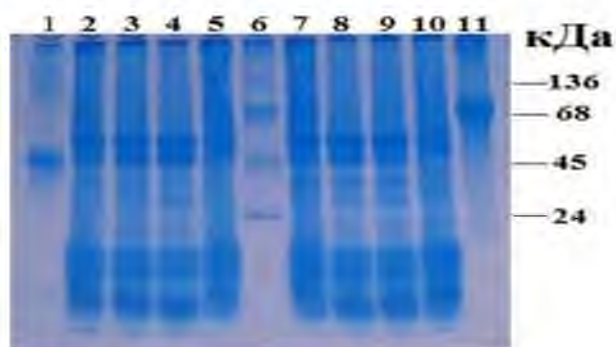


Рис.1. Электрофореограмма амарантовой муки на 12% - ПААГ.

1 – Овальбумин, 2,7 – Андижан, 3,8 – Гелиос, 4,9 – Харьков, 5,10 – Лера
6 – Маркерные белки, 11 – БСА

По результатам электрофореза в муке амаранта обнаружено 15 белковых пятен с молекулярной массой от 8 кДа до 66 кДа.

С целью идентификации белков амарантовой муки их гидролизовали при помощи фермента трипсин. Гидролизат растворяли в 0,1% ТФУК и анализировали с использованием масс-спектрометра SHIP-Q-TOF LC/MS/MS и получали спектры MS и MS/MS фрагментарных пептидов. С помощью программного обеспечения Mass Hunter

были определены точные молекулярные массы пептидов, далее с использованием программы Spectrum Mill были определены их аминокислотные последовательности и сопоставлены с масс-спектрами белков, присутствующих в базе данных программы. В результате были идентифицированы первичные структуры 128 фрагментарных пептидов, которые были проанализированы в онлайн-программе BLAST. На основании полученных результатов было определено, что фрагментарные пептиды соответствуют структуре 34 белков, ранее обнаруженных в растениях, среди которых известные на сегодняшний день в составе амаранта, следующие: 11S глобулин, 7S глобулин, ингибитор α -амилазы, ингибитор трипсина, антимикробные белки, неспецифический липид-переносающий-белок-1, супероксид дисмутаза, цинк связывающий белок, просистемин, альбумин амаранта-1, глюкоза-1-фосфат аденилтрансфераза, глюкозилтрансфераза, полиамин оксидаза, гранула связанный крахмал синтетаза-2 и ацетолактат синтаза.

Известно, что цинк - один из тяжёлых металлов, играющий важную роль в жизнедеятельности организмов, однако следует отметить, что увеличение количества цинка в клетках проявляет токсический эффект. Одним из методов лечения отравления металлами является хелатная терапия, при которой в организм вводятся металл связывающие соединения с целью их выведения из организма. Выделение металл связывающих белков и пептидов осуществляется в специально синтезированных хелатных сорбентах. Для исключения этапа синтеза хелатного сорбента, для выделения цинк связывающих пептидов, нами использовался сорбент KM-TSK 650M. С этой целью сорбент KM-TSK 650M активировали в форме Zn^{+} -KM-TSK 650, который использовали в качестве хелатного сорбента для выделения цинк-связывающих белково-пептидных компонентов из амарантовой муки. Для этого сорбент уравнивали 0,05 M буфером Na_2HPO_4 , pH-6.2. 200 мг триптического гидролизата белков амарантовой муки, растворённых в этом же буфере, сорбировали на носитель. Не связавшиеся с сорбентом пептиды отмывали исходным буфером, а связанные с сорбентом пептиды элюировали ступенчатым градиентом концентрации NaCl 0,3 M и 0,6 M в том же буфере (рис. 2).

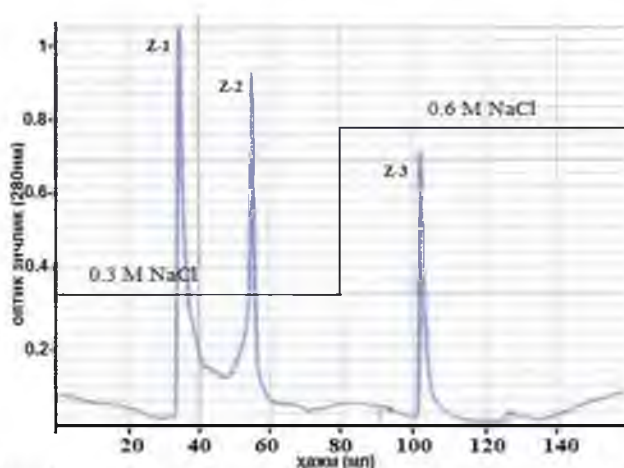


Рис.2. Металл хелатная хроматография триптического гидролизата

Молекулярные массы и первичную структуру выделенных цинк-связывающих пептидов анализировали с использованием масс-спектрометра CHIP-Q-TOF LC/MS/MS Agilent 6420B (таблица 2).

Таблица 2.

Аминокислотная последовательность и молекулярная масса пептидов

№	Аминокислотная последовательность	ММ (Да)	Название белка
Z-1	(K)EITEVAHRVFDAAVAKEYGATR(K)	2433,2	Супероксиддисмутаза
Z-2	(K)FGIVEGLMTTVHSITATQK(T)	2033,0	LOV домен связывающий белок
Z-3	(R)VPELVYACDDSRVGAFSR(E)	1983,9	Цинк связывающий белок

В ряде литературных источников третичная структура белков была определена с использованием программного обеспечения SWISS-MODEL, и были созданы 3D-модели белков. Исходя из этого, первичные структуры, найденные в базе данных NCBI: белка, содержащего LOV домен и цинк связывающего белка, ввели в программу SWISS-MODEL. В результате были получены 3D модели пространственной структуры белков, которые представлены на рис. 3 (а, б). Как видно из рисунков 3D моделей белков, они имеют глобулярную структуру. Выделенные пептиды, с установленными аминокислотными последовательностями, расположены за пределами глобулы и структурно напоминают форму пальца.



Рис.3а. LOV домен содержащий белок (Пространственная структура пептида Z-2 в белке показана красным цветом)



Рис.3в. Цинк-связывающий домен содержащий белок (Пространственная структура пептида Z-3 в белке показана красным цветом)

Антирадикальная активность (АРА) пептидов Z-1, Z-2 и Z-3 определялась методом, основанным на измерении кинетики восстановления свободных радикалов в молекуле 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ) (рис. 4).

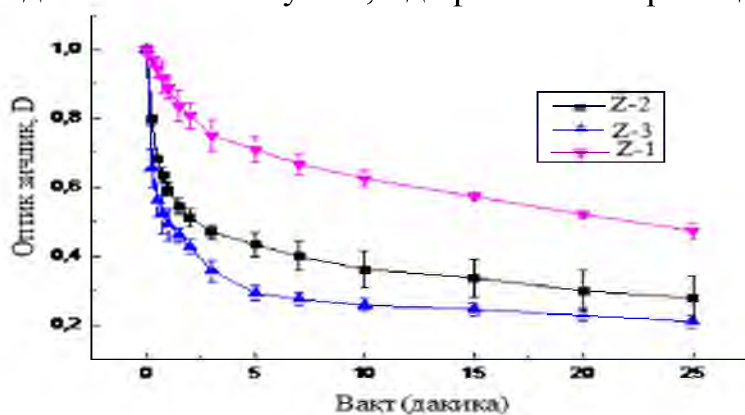


Рис.4. Кинетический анализ антирадикальной активности пептидов Z-1, Z-2 и Z-3. Концентрация ДФПГ составляет 0,1 мМ. Количество пептидов, использованных для реакции, составляет 50 мкг. Измерение оптической плотности проводили при 20°C с момента добавления пептидов.

Для количественной оценки АРА использовали время (t_{50}), необходимое для уменьшения количества стабильных радикалов в молекуле ДФПГ на 50%. Исходя из полученных данных, установлено, что значение t_{50} реакции составило 900 сек для Z-1, 100 сек для Z-2 и 10 сек для Z-3 (фиг.4). При этом активность пептида Z-3 была намного выше, чем активность Z-1 и Z-2.

Свободные аминокислоты и аминокислоты в составе белков муки семян амаранта определяли методом Кохена по сравнению с пшеничной и кукурузной мукой в виде фенилтиокарбамоильных производных аминокислот с использованием ВЭЖХ (таблицы 3 и 4).

Таблица 3

Состав свободных аминокислот семян амаранта ($RSD \leq 3\%$)

Аминокислоты	Мука из семян					
	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Кукуруза	Пшеница
	Харьков	Лера	Андижан	Гелиос		
Количество, мг/г						
Заменимые аминокислоты						
1.Аспарагиновая к-та	0.33	0.49	0.33	0.46	0.25	0.10
2.Глутаминовая к-та	0.62	0.61	0.20	0.64	0.26	0.12
3.Серин	0.13	0.07	0.05	0.13	0.06	0.01
4.Глицин	0.01	0.08	0.06	0.08	0.15	0.03
5.Аспарагин	0.02	0.08	0.06	0.08	0.15	0.04

6.Глутамин	0.31	0.41	0.10	0.15	0.06	0.06
7.Цистеин	0.03	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04
8.Аланин	0.16	0.10	0.09	0.16	0.27	0.18
9.Пролин	0.04	0.04	0.04	0.14	0.56	0.09
10.Тирозин	0.09	0.10	0.05	0.13	0.08	0.06
Сумма	1.74	2.0	1.8	2.0	1.88	0.73
Незаменимые аминокислоты						
11.Треонин	0.05	0.04	0.03	0.06	0.21	0.06
12.Аргенин	0.06	0.07	0.07	0.30	0.09	0.06
13.Валин	0.08	0.09	0.06	0.08	0.05	0.03
14.Метионин	0.04	0.05	0.03	0.06	0.02	0.03
14.Изолейцин	0.09	0.09	0.08	0.12	0.03	0.03
16.Лейцин	0.09	0.09	0.09	0.14	0.07	0.06
17.Гистидин	0.18	0.19	0.17	0.10	0.09	0.05
18.Триптофан	0.07	0.08	0.05	0.12	0.05	0.08
19.Фенилаланин	0.04	0.05	0.04	0.13	0.03	0.06
20.Лизин	0.06	0.09	0.04	0.15	0.16	0.03
Сумма	0.76	0.84	0.66	1.26	0.8	0.49
Итого	2.50	2.84	2.46	3.26	2.68	1.22

Содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот в муке гелиос в 1,84 и 2,46 (соответственно) раза выше, чем в кукурузной муке, в 4,6 и 5,33 раза выше, чем в пшеничной муке, глутамин в 2,5, серин в 2 и в 13 раз, соответственно. Содержание глицина и аспарагина в муке гелиос в 2 раза выше, чем в пшеничной, но в 2 раза меньше, чем в кукурузной муке (таблица 3).

Что касается незаменимых аминокислот, амарантовая мука содержала в 5 раз больше лизина и аргинина, в 4 раза больше изолейцина, в 2 раза больше фенилаланина, метионина, лейцина, гистидина и валина и в 1,5 раза больше триптофана, чем пшеничная мука. Хотя не было значительных различий между количествами лизина и триптофана в амарантовой и кукурузной муке, было обнаружено, что количество треонина в кукурузной муке в 3,5 раза выше. Было показано, что количество оставшихся незаменимых аминокислот в амарантовой муке в 1,5–4 раза выше, чем в кукурузной муке (Таблица 3).

Таблица 4

Аминокислотный состав белков семян амаранта (RSD $\leq 3\%$)

	Аминокислоты	Мука из семян					
		<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Пшеница	Кукуруза
		Харьков	Лера	Андижан	Гелиос		
Количество, (%)							
Заменимые аминокислоты							
1.	Аспарагин/аспарагиновая к-	7,32	7,90	7,34	7,60	3,80	4,07
2.	Глутамин/глутаминовая к-та	19,41	20,55	16,63	15,79	24,79	17,39
3.	Серин	3,43	3,51	3,25	3,88	3,04	3,38
4.	Глицин	4,02	4,26	4,06	4,21	2,91	12,17
5.	Цистеин	1,89	1,56	2,33	2,61	4,97	2,84

6.	Аланин	3,55	4,00	1,70	3,77	1,84	3,57
7.	Пролин	2,84	3,11	3,16	3,13	7,18	2,71
8.	Тирозин	3,95	3,47	6,22	6,28	2,29	2,66
Сумма		46,41	48,36	44,69	47,27	50,82	48,79
Незаменимые аминокислоты							
9.	Треонин	6,37	5,62	3,49	4,61	1,80	1,90
10.	Аргинин	4,87	5,97	4,13	4,87	4,05	9,89
11.	Валин	3,64	3,81	5,60	5,87	4,15	3,27
12.	Метионин	2,22	1,74	1,82	1,40	3,36	3,03
13.	Изолейцин	5,17	5,08	5,79	5,80	4,32	4,61
14.	Лейцин	5,57	5,49	6,39	6,59	6,19	6,83
15.	Гистидин	3,72	4,07	5,53	7,74	2,59	2,11
16.	Фенилаланин	15,71	13,20	15,70	8,61	2,76	1,85
17.	Лизин HCl	5,11	4,90	5,56	6,00	1,24	5,41
18.	Триптофан (Фотометрик усудда)	1,22	1,25	1,27	1,22	1,52	1,71
Сумма		53,59	51,62	55,27	52,72	31,98	40,61
Итого		100,00	99,98	99,96	99,99	82,80	89,4

Сравнительный анализ амарантовой муки изучаемых растений показал, что в амарантовой содержание заменимых аминокислот глутамина и глутаминовой кислоты составляло 15,79–20,55%, и не наблюдалось значительных различий в количестве оставшихся заменимых аминокислот (Таблица 4). Из незаменимых аминокислот фенилаланин имел самое высокое содержание, и его количество составляло в среднем 13,3%.

Показано, что общее количество аспарагина и аспарагиновой кислоты в муке амаранта сорта Гелиос в 1,9 и 2 раза выше, а количество глутамина и глутаминовой кислоты в 1,1 и 1,6 раза меньше, чем в кукурузной и пшеничной муке, соответственно. Также обнаружено, что количество цистеина в кукурузной муке в 2 раза, а глицина в 5 и 3 раза больше, чем в пшеничной и амарантовой муке, соответственно. Содержание тирозина в амарантовой муке в 3 раза выше, чем в пшеничной и амарантовой муке.

Общее количество незаменимых аминокислот в белке было в 1,65 и 1,3 раза выше в амарантовой муке (52,72%), чем в пшеничной (31,98%) и кукурузной муке (40,61%), соответственно, без существенных различий в количествах валина, изолейцина, лейцина и триптофана. По сравнению с пшеничной и кукурузной мукой, содержание треонина было в 2,65 и 2,4 раза, валина в 1,41 и 1,74 раза, гистидина в 3 и 3,67 раза, фенилаланина в 3,12 и 4,65 раза, лизина в 4,8 и 1,11 раза выше, а метионина в 2,4 и 2,16 раза ниже, соответственно. Количество аргинина было в 1,2 раза выше, чем в пшеничной, и в 2,02 раза ниже, чем в кукурузной муке.

Количество витаминов В₁, В₂, В₃, В₆, В₉, РР и С в амарантовой, пшеничной и кукурузной муке определяли с помощью ВЭЖХ. Для количественного анализа использовали стандарт фирмы “Sigma”: В₁ (кат. № 59438), В₂ (кат. № 83885), В₃ (кат. № 59676), В₆ (кат. № 58560), В₉ (кат. № 59303), РР (кат. № 98920) и витамин

С (кат. № 50817) (рис. 4). В результате калибровки колонки и хроматографического процесса определены время удерживания в колонке каждого витамина: С (3,27 мин.), В₁ (3,75 мин.), В₂ (4,56 мин.), В₉ (5,85 мин.), В₃ (7 мин.), В₆ (8,8 мин.) и РР (10,2 мин.), а также линейная аппроксимация данных калибровки методом наименьших квадратов пакетом программ Microsoft Excel позволила построить линию тренда: $Y_C=5177,2*x$, $Y_{B_1}=3971.1*x-44.57$, $Y_{B_2}=4771.1*x$, $Y_{B_9}=3886.3*x$, $Y_{B_3}=2851.1*x-54.75$, $Y_{B_6}=11811x$, $Y_{PP}=3340,3x$.

Витамины в каждом образце были идентифицированы методом ВЭЖХ путём сравнения времени удерживания в колонке со стандартными витаминами, а количество витаминов в образцах рассчитывали сравнением площадей пиков соответствующих витаминов, в соответствующие уравнения линии Тренда (таблица 5).

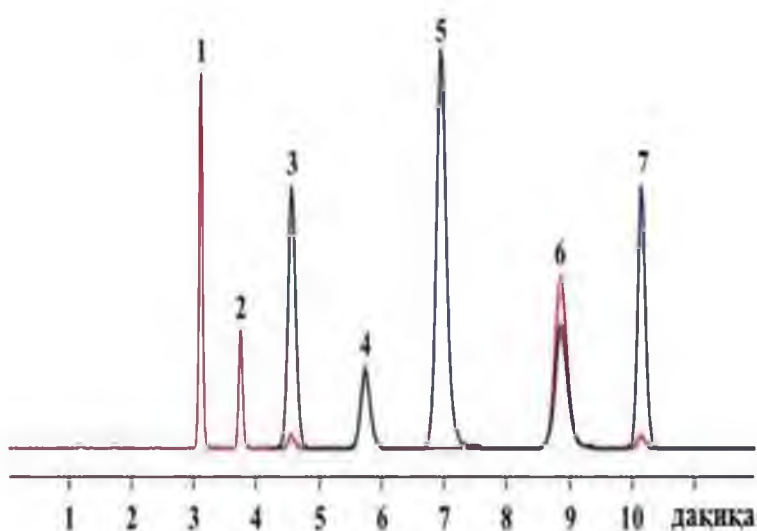


Рис.4. Хроматограмма смеси стандартных витаминов. Колонка Exlipse XDB C18, 5мкм, 4.6×150 мм. Скорость потока 1 мл/мин. Мобильная фаза: А - 0.1% фосфатный буфер, В – ацетонитрил. Градиент % В/мин: 4%/0-5 мин, 10%/6-мин, 20%/9-15 мин, 4%/15-17 мин. Температура колонки -25⁰С. 1.Аскорбиновая кислота -С, 2. Тиамин – В₁, 3. Рибофлавин – В₂, 4. Фолиевая кислота –В₉, 5. Никотинамид – В₃, 6. Пиридоксин – В₆, 7. Витамин РР.

Таблица 5

Количественное содержание водорастворимых витаминов в муке изучаемых растений (M±n, n=3)

Мука из семян	В ₁	В ₃	В ₂	В ₉	В ₆	С	РР
	Количество (мкг/100г)						
Харьков	93± 2	35±4	2± 0,3	8.5± 0.2	190±3	600±1	1140±1
Лера	114±5	38±7	7±0,2	9.1±0,1	210±2	1100±3	1290±5
Андижон	82±3	33± 1.3	6±0,3	6.5±0,1	120±2	300± 1	1110±1
Гелиос	81±3	33±4	6± 0.3	6.8±0,1	140± 3	200± 1	1120± 1
Пшеница	170	-	40	27.1	170	500	3000
Кукуруза	350	-	130	30	182	800	3000

Среди изученных сортов, в семенах амаранта Лера наблюдается относительно высокое содержание витаминов. Наибольшая разница была в количестве витамина С, которое составляло 1,1 мг/100 г у сорта Лера, тогда как это количество у сорта Харьков составляло 0,6 мг/100 г, 0,3 мг/100 г у сорта Андижан и 0,2 мг/100 г у сорта Гелиос. По количеству витаминов группы В - В₁, В₂, В₃, В₆, В₉ и РР достоверных различий не наблюдалось.

Также было показано, что содержание витаминов В₁, В₂, В₉ и РР в амарантовой муке было ниже, чем в кукурузной и пшеничной муке, и наоборот, витамины В₆ и С были выше у сортов Харьков и Лера, кроме этого

необнаруженный никотинамид (В₃) в кукурузной и пшеничной муке был обнаружен в амарантовой (таблица 5).

Содержание углеводов в исследуемых образцах муки амаранта, пшеницы и кукурузы определяли методом ВЭЖХ на хроматографе серии 1200 компании Agilent Technologies с рефрактометрическим детектором (рис. 6). В результате калибровки колонки стандартными образцами в хроматографическом процессе, время удерживания в колонке фруктозы составило $4,2 \pm 0,2$ мин., глюкозы $5,0 \pm 0,2$ мин., сахарозы - $8,8 \pm 0,2$ мин., мальтозы $10,2 \pm 0,2$ мин. (рис. 6). Уравнения Тренда, найденные из калибровочных кривых, равнялись для фруктозы $Y=8 \cdot 10^6x$, глюкозы $Y=9 \cdot 10^6x$, сахарозы $Y=8 \cdot 10^6x$, мальтозы $Y=5 \cdot 10^6x$. Рассчитанные количества углеводов представлены в таблице 6.

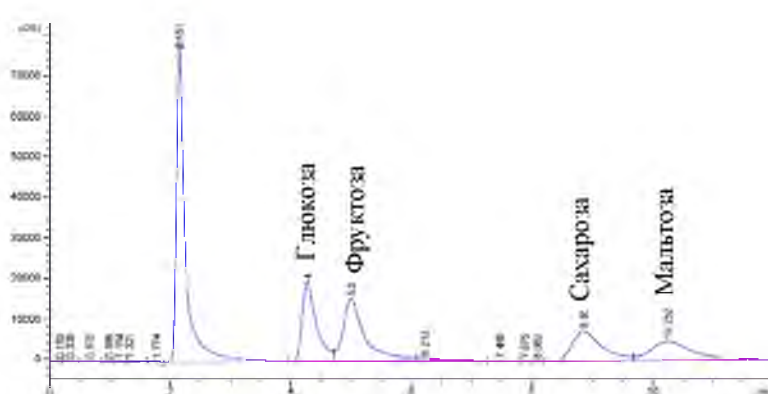


Рис.6. Хроматографический анализ углеводов. Колонка Supelcosil LC-NH₂, 5µm, 4.6x250 mm. Мобильная фаза: ацетонитрил и вода 80:20 (об/об). Скорость потока 1.2 мл/мин. Температура колонки и детектора 35⁰С. Стандартные углеводы “Sigma” 1. Глюкоза (кат.№ 50997), 2. Фруктоза (кат.№ 57487), 3. Сахароз (кат.№ 57501), 4. Мальтоза (кат.№6363537)

Таблица 6

Углеводный состав муки семян амаранта, пшеницы и кукурузы, ($M \pm m$, $n=5$)

Углеводы	Мука из семян					
	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. cruentus</i>		Пшеница	Кукуруза
	Харьков	Лера	Андижан	Гелиос		
Количество, (%)						
Фруктоза	0.41±0.08	0.39±0.05	0.38±0.04	0.46±0.02	0.01±0.0002	0.31±0.01
Глюкоза	5.24±0.1	5.03±0.16	4.98±0.2	5.22±0.14	0.04±0.0003	0.40±0.02
Сахароза	0.23±0.12	0.21±0.11	0.22±0.14	0.22±0.15	0.12±0.006	1.41±0.11
Мальтоза	0.36±0.02	0.41±0.06	0.32±0.03	0.30±0.01	0.95±0.03	0.79±0.03
Всего	6.24±0.08	6.04±0.10	5.90±0.06	6.20±0.32	1.12±0.0365	2.91±0.17

По результатам анализа (таб.6) общее содержание углеводов в муке амарантов составляло 5,9–6,24%. Содержание фруктозы в амарантовой муке было в 46 раз выше, чем в пшеничной, и в 1,5 раза выше, чем в кукурузной. Количество глюкозы в 130 и в 13 раз выше, чем в пшеничной и кукурузной муке. Количество сахарозы в пшеничной муке в 1,8 раза меньше, чем в амарантовой, в то время как количество сахарозы в кукурузной муке в 12 раз выше, чем в пшеничной, и в 6,5 раз выше, чем в амарантовой муке. Количество мальтозы в амарантовой муке было самым низким, отличаясь от пшеничной в 3,1 раза и кукурузной муки в 2,6 раза. Результаты показали, что амарант богат углеводами, с низким содержанием сахарозы и мальтозы по сравнению с пшеницей и кукурузой и является отличным сырьем для рационального питания пациентов с диабетом.

Содержание полисахаридов в исследуемых образцах муки амаранта, пшеницы и кукурузы определяли спектрофотометрически по методу M.Dubois. По полученным результатам, содержание водорастворимых полисахаридов в амарантовой муке составляло 22-25% от исходного веса муки, пектинов 22-26%, щелочерастворимых полисахаридов 5-11%, что не сильно отличалось от содержания полисахаридов в кукурузной муке. В то время как количество водорастворимых полисахаридов и пектина в амарантовой муке было на 3,18% и 1,63% выше, чем в пшеничной муке, количество щелочерастворимых полисахаридов было на 10,09% ниже, что повлияло на общее количество полисахаридов (56,72 и 62,0% соответственно).

Количество макро- и микронутриентов в исследуемых образцах определяли с помощью прибора ISP MS NEXION-2000 (Perkin Elmer USA). Идентификацию анионов проводили качественными реакциями на ионы Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- и PO_4^{3-} , а количественное содержание определяли титрованием.

В результате анализа в амарантовой, пшеничной и кукурузной муке было выявлено в общей сложности 36 макро- и микроэлементов. В муке, полученной из разных сортов семян амаранта, количественное содержание элементов сильно не отличалось, а общее количество колебалось от 14819,8 до 15671,1 мкг/кг. Общее количество нутриентов в пшеничной муке (33126,7 мкг/кг) оказалось в 2,11 раза выше, чем в муке из амаранта, и в 1,62 раза выше, чем в кукурузной муке (20456,2 мкг/кг). В то же время наблюдались большие различия в количестве макроэлементов (Ca, K, Mg, Na, Si, Al и Fe).

Кроме того, исследования по анализу в образцах солей макро- и микронутриентов показали, что они состоят в основном из хлоридов и сульфатов. Количество нитратов и фосфатов было очень низким и колебалось в пределах до мкг/кг. Содержание хлоридов составляло 36,2-44 мг/кг в амарантовой муке, 48 мг/кг в пшеничной муке и 53,4 мг/кг в кукурузной муке. Количество сульфатов определяли в количестве 2,4-4,8 мг/кг в амарантовой муке, 1,86 мг/кг в пшеничной муке и 2 мг/кг в кукурузной муке.

Поскольку среди изучаемых сортов амарант самым урожайным является *Amaranthus cruentus* Гелиос “Мархамат”, дальнейшие фармако-токсикологические исследования проводили с мукой из семян этого растения.

Исследования проведены на 50 белых крысах-самцах массой тела 250–300 г. Животные были разделены на 5 групп по 10 штук - интактную, контрольную и 3 опытные группы. Эксперименты проводились на твиновой модели, в которой гиперлипидемия вызывалась однократным внутрибрюшинным введением Tween-80 в дозе 200 мг/кг животным в 2–5 группах. Гиполипидемические свойства амарантовой муки изучали в сравнении с пшеничной и кукурузной мукой. Через 5 дней после введения детергента, водные суспензии исследуемых образцов вводили животным 2-5 групп перорально, один раз в день в дозе 200 мг/кг. Всего 5 введений. Были изучены такие показатели липидного профиля крови, как общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), липопротеины низкой плотности (ЛНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП),

липопротеины высокой плотности (ЛВП) и коэффициент атерогенности (КА) (Таблица 7).

Таблица 7

Показания липидного профиля крови крыс при экспериментальной гиперлипидемии ($M \pm m$, $n=10$)

Группы	Мука	ОХ	ТГ	ЛВП	ЛОНП	ЛНП	КА
1 интакт		52.0±0.3	60.0±0.6	31.0±0.2	11±0.1	12±0.09	0.793±0.02
2 назорат	Гиперлипидемия+вода	87.5±0.5 +68%#	106±0.8 +77%#	16.0±0.1 -48%#	21.2±1.5 +93%#	31.5±2.3 +162%#	4.47±0.30 ≥ 5.6 раза
3	Амарант	65.0±0.4 -26%*	92.0±0.6 -13%*	20.0±1.15 +25%*	18.4±1.3 -13%*	14.9±1.1 -53%*	2.25±0.10 ≤ 1.9*
4	Пшеничная	78.0±0.5 -11%*	91.0±0.6 -14%*	19.5±1.2 +22%*	19.0±1.3 -10%*	17.0±1.4 -46%*	3.0±0.10 ≤ 1.5*
5	Кукурузная	75.0±0.5 -14%*	102.0±0.9 -3,8*	20.0±1.2 +25%*	20.0±1.4 -7%*	16.2±1.4 -49%*	2.75±0.10 ≤ 1.6*

* - достоверно относительно контроля ($p < 0,001$); # - достоверно относительно интактной группы ($p < 0,001$)

Результаты показали, что при твиновой модели гиперлипидемии у крыс контрольной группы наблюдался ряд патологических изменений по сравнению с крысами интактной группы. В частности, количество ОХ увеличилось на 68%, ТГ - на 77%, ЛОНП - на 93%, ЛНП - на 162%, КА - в 5,6 раза, а количество ЛВП уменьшилось на 48%.

Под влиянием амарантовой муки количество ОХ уменьшилось на 26%, а при введении пшеничной и кукурузной муки уменьшение составило 11 и 14%, соответственно. Введение кукурузной муки привело к снижению ТГ на 3,8%, а амарантовой и пшеничной муки на 13 и 14%, соответственно. Использование амарантовой, пшеничной и кукурузной муки привело к увеличению количества ЛВП на 25, 22 и 25% по сравнению с контрольной группой, соответственно. Применение пшеничной и кукурузной муки снизило количество ЛНП на 46 и 49% по сравнению с контрольной группой, в то время как амарантовая мука снизила количество ЛНП на 53%.

Таблица 8

Влияние амарантовой муки на антиоксидантную систему крыс при экспериментальной гиперлипидемии ($M \pm m$, $n=10$)

Группы	Мука	МДА	ДК	Кетоны	Каталаза	Фибриноген
		мкМ/мл мин	ОБ/мл.	ОБ/мл мин	мКат/мин	мг/дл
1 интакт		2.67±0.15	5.68±0.17	3.34±0.5	0.570±0.3	387±12.0
2 контроль	Гиперлипидемия+вода	4.03±0.25 +51%#	7.17±0.18 +26%#	3.81±0.5 +14%	0.346±0.5 -29%	892.3±11.3 2.3# раза
3	Амарантовая	3.32±0.18 -17%	5.65±0.16 -21%	3.472±0.5 -8.9%	0.418±0.3 +21%*	509.5±10.1 1.75* раза
4	Пшеничная	3.62±0.27 -10%*	5.9±0.37* -17.7%	3.61±0.2 -5.0%	0.39±0.02 +11%*	615.8±10.2 1.45* раза
5	Кукурузная	3.68±0.29 -8.7%*	6.1±0.17* -15%	3.674±0.5 -3.7%	0.38±0.01 +8.6%*	619.8±10.2 1.44* раза

* - достоверно относительно контроля ($p < 0,001$); # - достоверно относительно интактной группы ($p < 0,001$)

Под воздействием амарантовой муки количество ЛОНР уменьшилось на 13% по сравнению с контрольной группой и на 10 и 7%, соответственно, под влиянием пшеничной и кукурузной муки. Снижение КА составило 2,25 при использовании амарантовой муки и 3,0 и 2,75 при внесении пшеничной и кукурузной муки, соответственно.

Антиоксидантные свойства исследуемых образцов оценивали путем выявления продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) сыворотки крови подопытных крыс (таблица 8).

По полученным результатам, содержание малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крыс контрольной группы увеличилось на 51%, а количество диеновых конъюгатов (ДК) на 26%. Параллельно с процессом ПОЛ активность фермента каталазы снизилась на 29%, а количество фибриногена увеличилось в 2,3 раза.

В группе, где использовалась амарантовая мука, количество МДА было снижено на 17% по сравнению с контрольной группой, а количество ДК было уменьшено на 21% (Таблица 8). Использование пшеничной и кукурузной муки привело к снижению содержания МДА на 10 и 8,7% и содержания ДК на 17,7 и 15% соответственно. Активность фермента каталазы увеличилась на 21% под действием амарантовой муки по сравнению с контрольной группой, а под влиянием пшеничной и кукурузной муки восстановилась до 11 и 8,6%, соответственно. Количество фибриногена уменьшилось в 1,75 раза под действием амарантовой муки и в 1,45 и 1,44 раза под влиянием пшеничной и кукурузной муки, соответственно.

Результаты проведённых исследований показали, что наилучшим эффектом на модели экспериментальной гиперлепедимии обладает амарантовая мука.

Полученные результаты послужили основой для создания, в сотрудничестве с ООО «SIFAT AGRO SERVIS», биологически активной добавки в форме капсул «БИО ДАРМОН», на производство которой получено разрешение МЗ РУз.

ВЫВОДЫ

1. Впервые изучены высокие масличность, содержание белков, витаминов, аминокислот и углеводов, а также фармакологические свойства семян амаранта *Amaranthus cruentus* сортов Гелиос и Харьков-1 и *Amaranthus hypochondriacus* - Лера и Андижана, адаптированных к климатическим условиям Андижанской области, в сравнении с пшеничной и кукурузной мукой.

2. В результате Na-ДДС-электрофореза в амарантовой муке обнаружено 15 белковых пятен, с молекулярными массами от 8 кДа до 66 кДа, а методом хромата-масс-спектрометрии доказано, что в составе амарантовой муки содержится 34 белка.

3. Впервые из триптического гидролизата белков амаранта выделены два пептида, связывающие ионы цинка, и определена их первичная структура. Были идентифицированы белки, соответствующие выделенным пептидам, и создана трёхмерная модель пространственной структуры белков на основе программного

обеспечения SWISS-MODEL. Определена антирадикальная активность выделенных пептидов.

4. Показано, что амарантовая мука содержит свободных незаменимых аминокислот - лизина и аргинина в 5 раз, изолейцина в 4, фенилаланина, метионина, лейцина, гистидина и валина в 2, триптофана в 1,5 раза больше, чем пшеничная мука. Общее количество незаменимых аминокислот в белках амарантовой муки (52,72%) в 1,65 и 1,3 раза выше, чем в пшеничной (31,98%) и кукурузной (40,61%) муке, соответственно.

5. Показано, что амарантовая мука обладает выраженной антигиперлипидемической и антиоксидантной активностью, на основе чего в сотрудничестве с ООО «SIFAT AGRO SERVIS» разработана биологически активная добавка в форме капсул под названием «БИО ДАРМОН» и предложено для практического применения.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.02/30.12.2019.K/B.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

OLIMJONOV SHUKHRATJON SOLIXJON O'G'LI

**STUDYING THE CHEMICAL COMPOSITION OF PROCESSING
PRODUCTS OF LOCAL *AMARANTHUS* SEEDS AND CREATING
BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES ON THEIR BASIS**

02.00.10 – Bioorganic chemistry

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

Tashkent - 2021

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2019.3. PhD/K244.

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic chemistry.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.biochem.uz) and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor:	Ziyavitdinov Jamolitdin Fazlitdinovich doctor of chemical sciences, senior scientific researcher
Official opponents:	Babayev Baxrom Nurillayevich doctor of chemical sciences, senior scientific researcher
	Raxmanberdiyeva Ra'no Karimovna doctor of chemical sciences, senior scientific researcher
Leading organization:	Tashkent Pharmaceutical Institute

Defense will take place on _____ 2021 year _____ at the meeting of the scientific council DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 of the Institute of Bioorganic Chemistry. Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek Street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (Address 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek Street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63). e-mail:shsha2@mail.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on « _____ » _____ 2020.
(Protocol at the register No _____ dated _____ 2020).

Sh.I.Salikhov
Chairman of scientific council on award of
Scientific degrees, D.B.Sc., academician

Sh.A.Shomurotov
Acting scientific secretary of scientific council on award of
Scientific degrees, D.Ch.Sc.

M.B.Gafurov
Chairman of scientific seminar under scientific council
On award of scientific degrees, D.Ch.Sc.

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of research work: studying the chemical composition and pharmacological properties of flours obtained from the seeds of acclimatized *Amaranthus* and on their basis creating new biologically active additives used as functional food products.

The objects are seeds and the flours, extracted proteins, carbohydrates, vitamins, macro- and microelements of two varieties of *Amaranthus cruentus* – Helios and Kharkiv 1 and two varieties of *Amaranthus hypochondriacus* – Lera and Andijan.

The scientific novelty of the work is as follows:

The chemical composition (fat content, protein content, vitamins, free amino acids, carbohydrates) and pharmacological properties of varieties of *Amaranthus cruentus* – Helios and Kharkiv 1 and *Amaranthus hypochondriacus* – Lera and Andijan amaranth seeds, grown in Andijan region, first studied;

It has been established by Na-DDS-electrophoresis that amaranth flours contained 15 proteins with molecular weights ranging from 8 to 66 kDa, and LC-MS revealed a total of 34 proteins;

Two peptides binding zinc ions were isolated from the tryptic hydrolyzate of amaranth proteins and their primary structure was determined, the proteins corresponding to the isolated peptides were identified and the spatial tertiary structure of the protein was modelled using SWISS-MODEL analysis online, the antiradical activity of isolated peptides was determined;

The quantity of free essential amino acids in amaranth flour was established several-fold higher compared to wheat flour: Lys and Arg - 5 times; Ile - 4 times; Phe, Met, Leu, His, Val - 2 times and Trp - 1.5 times more, the content of vitamins B₁, B₂, B₃, B₆, B₉, C, PP in the flour of acclimatized amaranth varieties has been established;

As a result of pharmacological studies, the antihyperlipidemic and antioxidant activities of amaranth flour were determined.

Implementation of the research results. Based on the results of the study of the chemical composition, and biologic and pharmacologic activities:

a new method of obtaining new biologically active additives based on flour from the seeds of acclimatized amaranth plants was used at LLC “SIFAT AGRO SERVICE” to obtain a dietary supplement from the seeds of the amaranth Helios plant (Reference from the Ministry of Innovative Development of the Republic of Uzbekistan). As a result, it became possible to produce a biologically active additive “BIO DARMON”;

Methods to isolate biologically active proteins were used in “The International Science and Technology Center Projects” by Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry of the CAS to isolate biologically active substances from different plant materials (The reference by Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry). Usage of these methods made it possible to obtain biologically active proteins and peptides from the seeds of *Amaranthus cruentus*.

The structure and volume of the thesis. The dissertation is consisted of introduction, three chapters, conclusions, list of references and an appendix. The volume of the dissertation 122 pages.

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

I бўлим (I часть; I part)

1. Shuhratjon S. Olimjonov, Jamolitdin F. Ziyavitdinov, Soyibjon S. Bozorov, Uchqun J. Ishimov, Nodir Sh. Berdiev, Nadjiya N. Abrekova, Muydinjon M. Muminov, Akmal M. Asrorov. Comparative chemical composition of seeds of amaranth varieties introduced in Uzbekistan. Nova Biotechnol Chim (2020) 19(1): 61-69. (№41, SCImago IF 0.173).
2. Ш.С.Олимжонов, С.С.Бозоров, Н.Ш.Бердиев, У.Ж.Ишимов, Ж.Ф.Зиявитдинов, Н.Л.Выпова, У.К.Инагамов., Ш.С.Салихов. Исследование антисклеротического действия амарантового масла, выделенного из семян амаранта сорта Гелиос на твиновой модели гиперлипидемии. Фармацевтический журнал №3 2018г.С. 106-113. (02.00.00. № 2).
3. Олимжонов Ш.С., Бозоров С.С., Бердиев Н.Ш., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Мирзаахмедов Ш.Я., Количественное определение общего белка и свободных аминокислот семян растения амарант. ЎзМУ хабарлари 2017. –С. 399-402. (02.00.00. № 12).

II бўлим (II часть; Part II)

1. Олимжонов Ш.С., Бердиев Н.Ш., Бозоров С.С., Ишимов У.Ж., Матчанов А.Д. Зиявитдинов Ж.Ф. Макро– и микроэлементный состав семян растения амарант. Современное состояние и перспективы науки о функциональных полимерах материалы научно-практической конференции профессорско преподавательского и молодых учёных состава. Ташкент- 2020. -С. 214.
2. Олимжонов Ш.С., Ж.Ф. Зиявитдинов, С.С. Бозоров, Н.Ш. Бердиев, У.Ж. Ишимов, Ш.Ж. Фазлиддинов, Ш.И. Салихов. Витаминный и углеводный состав амарантовой муки, полученной из семян интродуцированных сортов растения рода *Amaranthus*. Материалы конференции молодых ученых «актуальные проблемы химии природных соединений» посвященной 110-летию акад. С.Ю. Юнусова. Ташкент-2019. -С.16.
3. Олимжонов Ш.С., Исмоилова К.М., Бердиев Н.Ш., Бозоров С.С., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф. Содержание общего белка и свободных аминокислот в экстракте семян растения амарант. Международная конференция молодых ученых «Наука и Инновации». Ташкент, 1 ноября 2019. -С.286-287.
4. Олимжонов Ш.С., Бердиев Н.Ш., Ишимов У.Ж., Бозоров С.С., Зиявитдинов Ж.Ф. Амарантовая мука как источник для фармацевтической и пищевой промышленности. АН РУз Биоорганической химии «Лекарственные препараты на основе природных соединений» сборник тезисов Международная научная конференция. Ташкент, 18-20 сентября 2018. -С. 106-107.
5. Олимжонов Ш.С., Бердиев Н.Ш., Бозоров С.С., Ишимов У.Ж., Матчанов А.Д., Зиявитдинов Ж.Ф. Макро-и микроэлементный состав семян растения

амарант. Профессор Д.Н.Долимовнинг 70 йиллиги бағишланади. Гулистон-2018. -С.34-37.

6. Олимжонов Ш.С., Бердиев Н.Ш., Бозоров С.С., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Выпова Н.Л., Нутриенты и токсикологические исследования шрота и масла из семян растения амарант выращенных в условиях Узбекистана. Материалы республиканской научно практической конференции “Фармация: наука, образование, инновации и производство” (с международным участием) 2017. -С. 44-45.

7. Олимжонов Ш.С., Ишимов У.Ж., Бердиев Н.Ш., Бозоров С.С., Зиявитдинов Ж.Ф. Определение количество общего белка и свободных аминокислот семян растения амаранта. Республиканская конференция молодых ученых «Биоорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства», Ташкент, 15-16 ноябрь 2016. -С. 12-13.