

**ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ  
ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.01.2020.К/Т.104.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ**

**ЭШБЕКОВ АЗАМАТ ЭРКИНОВИЧ**

***PHASEOLUS VULGARIS* ПЎСТЛОҒИ ПЕКТИН МОДДАЛАРИНИНГ  
КИМЁВИЙ ХОССАЛАРИ ВА ТУЗИЛИШИ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент – 2021**

**Кимё фанлари бўйича фалсафа (PhD) доктори диссертацияси  
автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по  
химическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on chemical  
sciences**

**Эшбеков Азамат Эркинович**

*Phaseolus vulgaris* пўстлоғи пектин моддаларининг кимёвий хоссалари ва  
тузилиши ..... 3

**Эшбеков Азамат Эркинович**

Химические свойства и структура пектиновых веществ створок *Phaseolus  
vulgaris* ..... 21

**Eshbekov Azamat Erkinovich**

Chemical properties and structure of pectin substances in the valves of *Phaseolus  
vulgaris* ..... 39

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ  
List of published works ..... 43

**ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ  
ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.01.2020.К/Т.104.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ**

**ЭШБЕКОВ АЗАМАТ ЭРКИНОВИЧ**

***PHASEOLUS VULGARIS* ПЎСТЛОҒИ ПЕКТИН МОДДАЛАРИНИНГ  
КИМЁВИЙ ХОССАЛАРИ ВА ТУЗИЛИШИ**

**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 В2020.4.PhD/К135 рақам билан рўйхатга олинган**

Диссертация Ўзбекистон Миллий университети ва Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Ўсимлик моддалари кимёси институтида бажарилган.

Диссертация автореферати учта тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме). Илмий кенгаш веб-саҳифада ([www.uzicps.uz](http://www.uzicps.uz)) ва «ZiyoNET» Ахборот-таълим порталида ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)) жойлаштирилган.

**Илмий раҳбар:**

**Раҳманбердиева Рано Каримовна**  
кимё фанлари доктори, етакчи и.х

**Расмий  
оппонентлар:**

**Арипова Салима Фазиловна**  
кимё фанлари доктори, профессор

**Шомуродов Шавкат Абдуганиевич**  
кимё фанлари доктори, катта илмий ходим

**Етакчи ташкилот:**

**Тошкент фармацевтика институти**

Диссертация ҳимояси Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги Dsc. 02.30.01.2020.К/Т.104.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ соат \_\_\_\_\_ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100170, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 77. Тел. 262 59 13, факс (998971) 2627348, e-mail: ixrv@mail.ru).

Диссертация ҳимояси Ўсимлик моддалари кимёси институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин ( \_\_\_ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100170, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 77. Тел. 262 59 13, факс (998971) 2627348)

Диссертация автореферати 2021 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ куни тарқатилди.  
(2021 йил \_\_\_\_\_ даги \_\_\_ рақамли реестр баённомаси)

**Ш.Ш.Сагдуллаев**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
раиси, т.ф.д., профессор

**Н.К. Хидирова**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби, к.ф.н.

**С.Ф. Арипова**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги  
илмий семинар раиси, к.ф.д., профессор

## КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда сўнги йилларда полисахарид мавзуси фундаментал ва амалий жиҳатдан кўпчилик олимларнинг эътиборини тортиб келмоқда. Пектин таркибий ва функционал жиҳатдан мураккаб полисахарид ҳисобланади. У деярли барча юқори қуруқлик ва сув ўсимликларида, шунингдек кўплаб мева, сабзавот, полиз ва дуккакли экинларда учрайди ҳамда кенг биологик фаолликка эга. Пектин моддалари ўсимлик тўқималаридаги моддалар алмашинуви жараёнида алоҳида ўрин тутиб, ўсимликнинг турли органларида сувни ушлаб туриб уни қуриб қолишидан сақлайди.

Ҳозирги вақтда агросаноат ишлаб чиқаришида қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини қайта ишлаш жараёнида турли хил иккиламчи ресурслар қолади, улар кўпинча чорвачиликда озуқа сифатида ишлатилади, лекин барча чиқиндиларни қайта ишлаш имкони йўқлиги сабаб ташлаб юборилиши табиий муҳитга сезиларли таъсир кўрсатади. Ушбу иккиламчи ресурслар қаторига ҳар хил турдаги ловия пўстлоғи ҳам киради.

*Phaseolus vulgaris* (оддий, қизил ловия) *Fabaceae* оиласига мансуб муҳим дуккакли дон экини ҳисобланади. Ловия кўплаб фойдали ва доривор хусусиятга эга. Унинг таркибида 50-60% углеводлар (моно-, олигосахаридлар, крахмал), 20-30% оксиллар, ёғлар, макро- ва микроэлементлар, органик кислоталар ва витаминлар мавжуд. Ловиянинг кўплаб турлари бир қатор мамлакатларда сабзавот ва дуккакли дон экинлари сифатида етиштирилади. Унинг пўстлоғи одатда ем хашак сифатида ишлатилинади ёки кўпинча ташлаб юборилади. Халқ табobatiда ловия пўстлоғи анъанавий равишда қандли диабетнинг энгил шакллари, ошқозон ости безининг айрим касалликлари, қонни тозалаш (экзема, тошма, фрункулез), буйрак ва сийдик пуфагидаги тошларни майдалаш учун ишлатилади. Кимёвий томондан ловия пўстлоғи таркибида флавоноидлар, тритерпенлар, гликозидлар ва аминокислоталар борлиги аниқланган, аммо унинг полисахаридлари, шу жумладан, пектин моддаларининг кимёвий тузилишлари ўрганилмаган.

Сўнги йилларда бутун дунёда табиий манбалардан олинадиган доривор препаратларга эҳтиёж тоборо ортиб бормоқда. Шу нуқтаи назардан, пектин ва унинг модифицирланган шаклларида турли хил касалликларни даволаш учун дори ташувчи сифатида фойдаланиш истиқболли ҳисобланади. Пектин моддалари баъзи дори моддаларини таъсирини узайтиришда (пролонгация) матрица сифатида ишлатилиши билан бирга, уларни захарлилигини ва ножўя таъсирини камайтиради. Пектин моддаларига бўлган қизиқишни ҳисобга олган ҳолда, уларнинг тузилиш хусусиятларининг кам ўрганилганлиги ва кенг биологик фаолликка эга эканлигини инобатга олиб, республикада етиштириладиган *Ph.vulgaris* пўстлоғи пектинларини ўрганиш долзарб ҳисобланади.

Ушбу диссертация тадқиқотлари Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сонли “2017-2021 йилларда Ўзбекистонни ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича

ҳаракатлар стратегияси” Фармонида, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги “Фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида”ги ПҚ-3552-сонли Қарорида, шунингдек мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда маълум даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги.** Мазкур тадқиқот Республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI “Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишларига мувофиқ амалга оширилди.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Дунё миқёсида пектин моддаларининг тузилишини ўрганиш ва уларнинг биологик фаоллигини аниқлашда чет эллик олимлар David Ropartz, Marie-Christine Ralet (INRAE, Biopolymères Interactions Assemblages Nantes, Франция) пектин моддаларининг тузилишини ва уларнинг микробларга қарши фаоллигини аниқлаганлар. Debra Mohnen (Complex Carbohydrate Research Center, Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Georgia, Greece) ўсимликлар таркибидаги пектиннинг тузилиши ва биосинтезини ўрганган.

Россия олимларидан Ю.С. Оводов, С.В. Попов ва бошқалар (Ўсимликлар физиологияси институти, Сыктывкар, Россия) илмий тадқиқотлар олиб борганлар. Улар Россиянинг Европа шимолидаги ўсимликлардан пектин моддаларини ажратиб олиб, уларнинг физик кимёвий хусусиятлари, моносахарид таркиблари ва структура тузилишларини ўрганганлар. Натижада зостерин, лемнан, танацетин ва силенан пектин моддалари олинган. Уларнинг структураси кимёвий ва спектрал усуллар билан аниқланган. С.Т. Минзанова, В.Ф. Миронов (Россия Фанлар Академиясининг Қозон илмий марказининг А.Е. Арбузов номидаги органик ва физик кимё институти) пектин моддаларининг модификацияси билан илмий изланишлар олиб бориб, пектиннинг металл комплексларини синтез қилганлар ва уларнинг микробларга қарши фаоллигини аниқлаганлар.

Мамлакатимизда ушбу йўналишда ЎЗР ФАнинг академиги С.Ш. Рашидова раҳбарлигида кимё фанлари номзодлари И.Л. Новосельская, Н.Л. Воропаева, Л.Н. Семенова (ЎЗР ФА Полимерлар физикаси ва кимёси институти) маҳаллий лимон навларидан пектин моддаларини ажратиш ва уларнинг физик-кимёвий хоссаларини ўрганганлар. Пахта уруғларини химоя қилиш ва сақлаш учун уларни пектин моддаларининг эритмалари билан капсуллаш усули таклиф қилинган. Ўсимлик моддалари кимёси институтида кимё фанлари доктори, проф. Д.А. Раҳимов раҳбарлигида (к.ф.д. Р.К. Раҳманбердиева, к.ф.н. М.Х. Маликова., кичик илмий ходимлар Н.С. Полякова, Н.П. Юлдашева) бир қатор ёввойи ва доривор ўсимликлардаги, ҳамда мева чиқиндиларидаги пектин моддаларини таркибий таҳлил қилганлар. Профессор Д.А. Раҳимов ва к.ф.н. Н.П. Юлдашева *Eremurus regelii* илдизидан пектин моддалари ажратиб олиб, уларнинг ошқозон меъда ичак ярасига қарши фаоллигини аниқланганлар. Академик Х.Н. Арипов бошчилигида (т.ф.н М.Т. Тураходжаев) озиқ-овқат саноати учун олма чиқиндисидан пектин

концентратлари олинган. Олма пектини асосида антигельминт “Алпек” препаратининг суспензияли шакли яратилган (т.ф.д. Т. Содиков, к.ф.н. М.А. Ходжаева). Ҳозирги кунда доривор ўсимликларнинг иккиламчи ресурсларидан ажратиб олинган қатор пектин моддаларига асосланган антигельминт дориларининг эрувчан гел шакллари олиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмоқда (к.ф.н. А. Абдураззаков, т.ф.н. Р.К. Каримов, т.ф.н. Г. Зухурова, к.ф.н. А.М. Хван)

**Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги.** Диссертация иши Ўзбекистон Миллий университетида, ПЗ-2017102419 рақамли «Пектиннинг калий, магний ва темир тузларини олиш усулларини ишлаб чиқиш» (2018-2019 й.й.) илмий лойиҳаси доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** *Phaseolus vulgaris* ўсимлиги пўстлоғи пектин моддаларининг структуравий-кимёвий тузилишини ўрганиш, пектин макромолекуласининг асосий ва ён занжири тузилишини тасдиқлаш, пектиннинг металл комплексларини олиш ва уларнинг биологик фаоллигини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

- *Ph.vulgaris* пўстлоғидан пектин моддаларини ажратиб олиш, уларнинг физик- кимёвий хоссаларини ва моносахарид таркибини тадқиқ қилиш;
- полисахаридлар таркибига мавсумий динамиканинг таъсирини аниқлаш;
- кимёвий ва спектрал усуллар билан пектин макромолекуласининг асосий ва ён занжирини аниқлаш;
- металл комплексларини олиш ва уларнинг биологик фаоллигини аниқлаш;
- *Ph.vulgaris* пўстлоғи сувли экстрактининг антимиқроб ва антидиабетик фаоллигини тадқиқ қилиш.

**Тадқиқотнинг объекти** *Phaseolus vulgaris* пўстлоғи, сувда эрувчан полисахаридлар, пектин моддалари, гемицеллюлозалар, пектиннинг Na-, K-, Mg тузлари ва КМg-комплекси.

**Тадқиқотнинг предмети** *Ph.vulgaris* пектин моддалари ва уларнинг металл комплекслари.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Диссертация ишини бажаришда биоорганик кимё усуллари (экстракция қилиш, тозалаш, кислотали ва ферментатив гидролиз, метиллаш, оксидлаш, деполимеризациялаш, модифицирлаш-металлкомплексларини олиш), физик-кимёвий усуллар (ИК-спектроскопия, ГХ-газ хроматографияси, элемент анализи, рентген фазовий таҳлил, электрон микроскопия, <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопия ва фармакологик тадқиқот усуллари қўлланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:**

- илк бор *Ph.vulgaris* ўсимлиги пўстлоғидаги углеводлар, оксиллар ва липидлар таркибига мавсумий динамиканинг таъсири аниқланган. *Phaseolus vulgaris* пўстлоғи пектин моддаларининг манбаи сифатида тавсия этилган;
- ловия пўстлоғидан пектин моддаси ажратиб олиниб, унинг физик-кимёвий хоссалари ва моносахарид таркиблари аниқланган;

- илк бор пектин моддалари кислотали ва ферментатив гидролизга учратилиб, пектин фрагментлари олинган, уларнинг асосий ва ён занжирининг тузилиши кимёвий ҳамда спектрал усуллар билан тасдиқланган;

- пектин макромолекуласининг асосий занжири поли-D-галактуронандан ташкил топган бўлиб, унинг тармоқланган ён занжирлари L-рамногалактуронан-1 ва арабиногалактандан иборат эканлиги исботланган;

- пектиннинг калий, магний тузлари ва калий-магний комплекслари олинган ва уларнинг юрак-қон томир тизимига таъсири тадқиқ қилинган;

- *Ph.vulgaris* пўстлоғининг сувли экстракти – Глифасанни микробларга қарши ва антидиабетик фаоллиги аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари.** *Phaseolus vulgaris* пўстлоғининг сувли экстракти - Глифасан қондаги қанд миқдорини 23,4% га камайтиради ва экспериментал натижаларга кўра Адебит препаратидан 1,6 баравар юқори таъсирга эга. Олинган натижаларга асосланиб, “Глифасан антидиабетик фаол кўшимча” лаборатория регламенти ишлаб чиқилган.

Глифасаннинг 1% ли сувли эритмаси *Staphylococcus aureus* позитив штаммини ўсишини 22 мм га қисқартиради.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** кимёвий ва замонавий спектрал усуллар ( $^1\text{H}$  ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия, юқори самарали эксклюзион хроматография) ёрдамида тасдиқланган.

Олинган натижалар республика ва халқаро конференциялардаги музокараларда, рецензияланган илмий журналлар нашрларида акс эттирилган.

**Тадқиқотнинг илмий ва амалий аҳамияти қуйидагилардан иборат:**

Тадқиқотнинг илмий аҳамияти шундан иборатки, пектин моддалари ва уларнинг металл комплексларининг тузилиш хусусиятлари тўғрисида янги маълумотлар олинган. Олинган маълумотлар янги маҳаллий дори препаратлар яратиш учун фундаментал асос бўлиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти антидиабетик ва антимиқроб таъсирга эга препаратлар яратишда пектин ва биологик фаол моддаларнинг манбаси сифатида *Ph.vulgaris* пўстлоғини самарали қўллашдан иборат.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** *Phaseolus vulgaris* пўстлоғи пектин моддаларининг тузилиши ва кимёвий хоссалари асосида олинган илмий натижалар:

- пектин моддаларини ўрганиш натижаларидан ФА-Ф6-007 рақамли «Доривор ўсимликларнинг биологик фаол полисахаридлари ва уларнинг модификацияланган шакллари ўрганиш» мавзусидаги лойиҳа (2017-2020 й.й.)ни бажаришда фойдаланилган (ЎзР ФАнинг 2020 йил №4/1255-1948- сон маълумотномаси). Натижада пектин моддаларини халқ хўжалигининг турли соҳаларида қўллаш имконияти кўрсатиб берилган;

- шунингдек, Қозоғистон Республикаси Таълим ва фан вазирлигининг АР05131003-сонли “Юқори зарядланган полиамфолитлар изоэлектрик нуқтасининг фундаментал муаммолари” илмий лойиҳаси (2018-2020 й.й.)ни амалга оширишда фойдаланилган (ҚозР Полимер материаллар ва технология институтининг 2020 йил №1 сон маълумотномаси). Натижада пектин асосида кенг доирада (пролонгация) таъсирга эга янада самаралироқ доривор



полимерлар олинган ва юқоридаги лойиҳани амалга ошириш ни такомиллаштириш имконини берган;

- ловия пўстлоғининг сувли экстрактидан “Глифасан антидиабетик биологик фаол кўшимча”си олиш усулининг лаборатория регламенти ишлаб чиқилган (21 май 2021йил ЎМКИ директори томонидан тасдиқланган).

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Диссертация мавзуси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижалари маърузалар шаклида тақдим этилган ва 3 та халқаро ва 5 та республика илмий-техник конференцияларида муҳокама қилинган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича 12 та илмий иш чоп этилган. Шулардан 4 та илмий мақола, жумладан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан тавсия этилган 2 та халқаро ва 2 та республика илмий журналларида нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация кириш, учта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 92 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати асослаб берилган, мақсад ва вазифалар, шунингдек тадқиқотнинг объекти ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикаси фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишларига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Олий ўсимликларнинг пектин моддалари» деб номланган биринчи бобида ўсимликларнинг пектин моддалари, уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари, тузилиши ва биологик фаоллиги бўйича олиб борилган илмий тадқиқотлар, шунингдек умумий маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг иккинчи боби *Phaseolus vulgaris* ўсимлигининг пўстлоғидаги пектин моддаларини ўрганиш натижаларини муҳокама қилишга бағишланган.

Диссертациянинг учинчи бобида тажрибалар қисми бўлиб, пектин моддаларининг ажратиш олиш усуллари, тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлаш тавсифланган.

### ***Phaseolus vulgaris* пўстлоғи углеводлари, липидлари ва оксиллари таркибига мавсумий динамиканинг таъсири**

*Phaseolus vulgaris* (оддий, қизил ловия) - *Fabaceae* оиласига кирувчи дуккакли экинлардан бири бўлиб, у фойдали бир йиллик ўт ҳисобланади.

*Ph.vulgaris* пўстлоғининг кимёвий таркиби тўғрисида тўлиқ маълумот олиш учун унинг вегетация ва дуккакларни тўлиқ пишиб етилиши даврларида бирламчи метаболитлар таркибига ўсимликнинг ўсиш динамикасининг таъсири ўрганиб чиқилди. Полисахаридлар, липидлар ва оксилларнинг турли гуруҳлари ажратиш олиниб, уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари, моносахарид, липид,

ёғ кислота ва аминокислота таркиблари аниқланди.

Спиртда эрийдиган қандлар-СЭҚ-1 (вегетация даврида) фруктоза, сахароза, глюкоза, галактоза ва арабинозадан, меваларнинг тўлиқ пишиш даврида эса СЭҚ-2 - фақат глюкоза ва галактозадан иборат эканлиги аниқланди. Моносахарид таркибидаги бу фарқ, эхтимол ўсимликнинг ўсиши ва ривожланиши давомида унинг озикланиши ва биополимерларнинг синтези учун сарфланадиган углеводларга боғлиқ.

Углеводларнинг миқдори ва уларнинг моносахарид таркиблари 1-жадвалда келтирилган бўлиб, унда сувда эрувчи полисахаридлар (СЭПС) йиғиндисининг энг юқори миқдори 2.5% ни ташкил этади. Ўсимликнинг ўсиши ва ривожланишида мева пишиб етилиш даврига келиб СЭПС йиғиндиси 1.4% гача камайди. Пектин моддаларининг (ПМ) унуми эса 5% дан 10% гача ортди. Гемицеллюлоза (ГМЦ) унумининг кўплиги дуккакларни пишиб етилиш даври билан боғлиқ, бу даврда ловия пўстлоғида ксиланлар жадал синтезланади, бу эса ГМЦ А, Б, гидролизатидаги ксилозанинг кўплиги билан изоҳланади.

1-жадвал

*Ph.vulgaris* пўстлоғидаги углеводлар миқдори ва уларнинг моносахарид таркиблари

ПС тури	Унуми, %	Моносахаридлар нисбати						UA,%
		Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
Вегетация даври								
СЭПС-1	2.5	1.3	11.6	1.0	сл.	42.0	7.3	12.4
ПМ-1	5.0	9.9	3.9	2.2	1.0	1.1	7.7	62.5
ГМЦ-А-1	2.0	2.5	2.9	7.9	1.0	5.8	10.4	41.3
ГМЦ-Б-1	0.7	1.0	1.0	20.1	2.4	2.9	9.3	38.7
Дуккаклар пишиб етилиши даври								
СЭПС-2	1.4	1.0	20.4	1.2	1.0	31.9	4.3	25.3
ПМ-2	10.0	9.1	5.9	2.0	1.0	1.0	16.5	73.5
ГМЦ-А-2	1.3	1.2	1.0	25.5	1.7	8.2	18.4	22.1
ГМЦ-Б-2	2.0	1.0	1.5	10.6	3.5	12.6	13.9	35.7

*Изоҳ: Вегетация даврида йиғилган ловия пўстлоғидан ажратилган намуналар - 1, дуккакларни тўлиқ пишиб етилиш даврида олинган намуналар - 2 деб белгиланган.*

СЭПС-1 ва СЭПС-2 оч-крем рангдаги аморф кукунлар бўлиб, сувда осон эрийди. Уларнинг сувдаги эритмалари крахмалга салбий реакция беради. Демак, СЭПС крахмалга ўхшаш глюканларга тегишли эмас. Ўсимликлар ривожланишининг турли даврларида ажратиб олинган СЭПСларнинг моносахарид таркиблари сифат ва миқдор жиҳатдан фарқланади. Тадқиқот натижалари асосида куйидагича хулоса қилиш мумкин, СЭПС-1 гидролизати таркибида глюкоза, арабиноза ва галактозанинг устунлиги ўсимликнинг вегетация даврида глюкан, арабиногалактан каби полисахаридлар синтезланишини ифодалайди. Таъкидлаш жоизки, дуккакларни пишиб етилиш даврида СЭПС-2 гидролизатида арабиноза, урон кислотаси миқдорининг кўпайиши ва глюкоза, галактозанинг камайиши кузатилган. Эхтимол, галактоза ва глюкоза миқдорининг пасайиши пектин моддаларининг асоси бўлган галактурон ва глюкоурон кислоталарининг биосинтези билан боғлиқ. Рамноза,

галактоза ва урон кислоталарининг мавжудлиги ПМ-нинг асосий занжирига кирувчи рамноуронанларни синтез қилиш имкониятини кўрсатади.

Пектин моддалари аморф оқ кукун бўлиб, сувда осон эриб, юқори нисбий қовушқоқликка эга куюқ эритмалар ҳосил қилади (2-жадвал).

2-жадвал

*Ph.Vulgaris* пўстлоғидаги пектин моддаларининг физик-кимёвий хоссалари

Пектинлар	$n_{\text{нисб.}}^D (c.1; H_2O)$	Мм, кДа	Титриметрик кўрсаткичлар, %		
			Кс	Кэ	ЭД
ПМ-1	13.8	250	2.25	7.75	75.0
ПМ-2	12.5	316	1,5	7,9	84,4

*Изоҳ:* Кс-эркин карбоксил гуруҳлари, Кэ-этерификацияланган карбоксил гуруҳлари, ЭД-этерификацияланиш даражаси

ПМ учун муҳим кўрсаткич - бу этерификацияланиш даражаси бўлиб, ўрганилаётган биополимерларни қуйи ёки юқори этерификацияланган пектинлар қаторига киритиш имконини беради. 2-жадвалдан кўришиб турибдики, ПМ-1 ва ПМ-2 мос равишда Мм 250, 316 кДа ва ЭД 75.0, 84.4% юқори кўрсаткичларига эга. Демак, улар юқори даражада этерификацияланган пектинларга тегишли. ПМ гидролизатларида доминант моносахаридлар галактоза, рамноза ва урон кислоталари бўлиб, ўсимлик ривожланиб бориши билан ушбу мономерларнинг миқдорий таркиби ошади.

Гемицеллюлозалар - аморф жигарранг кукунлар бўлиб, суюлтирилган ишқорий эритмаларда яхши эрийди, уларнинг умумий унуми 2.7% (ГМЦ-А, Б-1) ва 3.3% (ГМЦ-А, Б-2) ташкил этади. Уларнинг моносахарид таркиблари турли хил нисбатларда нейтрал ва кислотали моносахаридлардан иборат. Гидролизат таркибида ксилозанинг кўплиги ГМЦни ксилан типидagi полисахаридларга хослигини кўрсатади.

СЭПС, ПМ ва ГМЦ нинг ИҚ-спектрларида полисахаридларга хос бўлган ютилиш чизиқлари кузатилди, улар бир бирдан ютилиш чизиқларининг интенсивлиги, юқори ёки паст частотали соҳаларда озгина силжиши билан фарқ қилади.

Полисахаридлардан ташқари, ловия пўстлоғидаги липид ва оқсиллар таркиби ўрганилди. Икки даврда ловия пўстлоғи таркибидаги ёғ кислоталарининг асосий таркиби палмитин ва олеин кислоталаридан ташкил топганлиги аниқланди. Вегетация даврида оқсил миқдори 7.7% ни ташкил этганлиги ва меваларнинг пишиши даврида 1.68% гача кескин пасайганлиги аниқланди, бу ўсимлик мевасида оқсилларнинг тўпланиши билан боғлиқ. Ўрганилаётган оқсиллардаги аминокислота таркиби, алмашинмайдиган аминокислоталар - треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, гистидин, фенилаланин, лизин билан ифодаланади. Иккала даврда ҳам алмашинмайдиган аминокислоталар орасида аспарагин ва глутамин кислоталар, алмашинмайдиганларда эса изолейцин ва лейцин устунлик қилади.

Шундай қилиб, *Ph.vulgaris* пўстлоғида пектин моддалари доминант полисахаридлар ҳисобланиб, унинг ўсимликда энг кўп тўпланиши дуккакларни пишиб етилиш даврига тўғри келди, ушбу даврда оқсиллар ва липидлар миқдорини эса камайиши кузатилди.

### ***Ph. Vulgaris* пўстоғидаги пектин моддалари**

Пектин моддалари оқ рангли сочилувчан кукун бўлиб, сувда эриб қовушқоқ эритма ҳосил қилади, унинг нисбий қовушқоқлиги 12.54 (с 1,0; H<sub>2</sub>O),  $[\alpha]_D^{20} +175^\circ$  (с 1.0%; H<sub>2</sub>O) ва Мм 316 кДа –га тенг. Тўлиқ кислотали гидролиз, сўнг қоғоз (ҚХ) ва газ хроматографияси (ГХ) усулларида фойдаланган ҳолда моносахарид таркиби аниқланди. Тадқиқот натижалари шуни кўрсатдики, ПМлар 9.1: 5.9: 2.0: 1.0:1.0:16.5 нисбатда рамноза, арабиноза, ксилоза, манноза, глюкоза, галактозадан иборат. Урон кислоталарининг миқдори карбазол усули билан аниқланиб, 73.5%-ни ташкил этди. Моносахаридлар орасида рамноза, галактоза ва урон кислоталари доминант нейтрал қандлар ҳисобланади. ПМ-нинг ИҚ-спектрида асосан 760, 831, 870, 890, 956, 1016, 1104, 1148, 1236, 1328, 1367, 1415, 1443, 1617, 1749, 2933, 3446 см<sup>-1</sup> ютилиш чизиқлари кузатилди.

ПМнинг солиштирма айланишининг юқори мусбат қийматга эга бўлиши ва ИҚ-спектрида 831, 870, 890 см<sup>-1</sup> триплетнинг мавжудлиги ПМ таркибидаги галактурон кислотасининг қолдиқлари пираноза шаклида бир-бири билан α-1,4-гликозид боғлари билан боғланган деб тахмин қилиш мумкин. 1700-1800 см<sup>-1</sup> соҳадаги ютилиш чизиқлари мураккаб эфирлар ва карбоксил гуруҳлари учун характерлидир, 1500-1600 ва 1400-1520 см<sup>-1</sup> соҳалардаги ютилиш чизиқлари эса карбоксилат иони мавжудлигидан далолат беради. Бундан ташқари, ПМнинг ИҚ спектрида метил гуруҳига хос бўлган 1367 см<sup>-1</sup> соҳадаги ютилиш чизиғи мавжуд. Титриметрик таҳлил усулида эркин карбоксил (Кс) -1.46% ва метоксилланган карбоксил гуруҳлари (Кэ) -7.92% аниқланди, ПМнинг этерификацияланиш даражаси (ЭД) 84.4% га тенг бўлди. Демак, *Ph. vulgaris* ПМ юқори этерификацияланган пектинларга тегишли.

Шундай қилиб, ловия пўстлоғининг пектин моддалари нейтрал ва кислотали моносахаридлардан ташкил топган юқори этерификацияланган макромолекуладир.

### ***Ph.vulgaris* пектин моддасининг галактуронани**

Пектин моддасини кислотали гидролизи (1н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100°C, 2 соат) натижасида гидролизат таркиби фақат галактурон кислотасидан иборат бўлган полисахарид, яъни галактуронан олинди. Галактуронаннинг аниқланиши полисахарид макромолекуласининг асосий занжирини ташкил этишини ва уни пектин моддаси деб таснифлашга имкон беради.

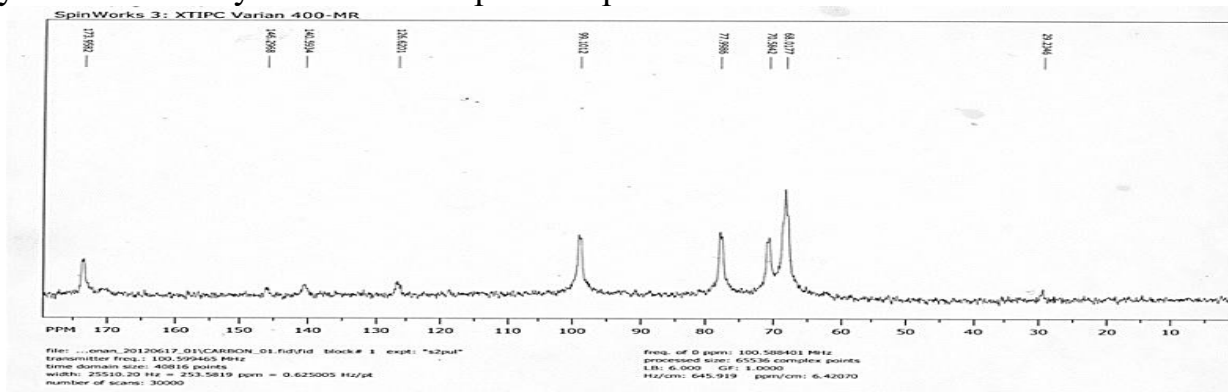
Галактуронан - оқ аморф кукун, сувда қисман эрийди, кучсиз ишқорий аммиак муҳитида тиниқ эритма  $[\alpha]_D^{20} +200^\circ$  (с 1.0; NH<sub>4</sub>OH) ҳосил қилади. Галактуронан таркибида нейтрал қандларнинг бўлмаслиги дастлабки пектин моддаларига нисбатан унинг нисбий айланиш қийматиининг юқори бўлишига олиб келади, ПМ ва галактуронан эритмаларида ушбу кўрсаткич қийматининг юқори бўлиши галактурон кислота қолдиқларининг пираноза шаклида α – гликозид боғлари билан боғланганлиги хақида гувоҳлик беради, буни ИҚ спектр таҳлили тасдиқлайди. Галактуронаннинг ИҚ-спектрида юқорида кўрсатилган интенсивлиги бўйича дастлабки ПМ дан фарқ қилувчи ютилиш чизиқлари мавжуд. О-СН<sub>3</sub>- гуруҳларнинг мавжудлигини кўрсатадиган ютилиш чизиқлари йўқ, чунки улар гидролиз пайтида тўлиқ парчаланиб кетади.

Галактурон кислотасининг қолдиқлари орасидаги боғланиш турини аниқлаш учун галактуронан йод-азот оксидланишига учратилди ва гидролизатида оксалат ва вино кислоталари аниқланди, вино кислотаси асосий маҳсулот ҳисобланади. Вино кислотасининг ҳосил бўлиши галактурон кислотаси қолдиқларининг иккинчи ва учинчи углерод атомларидаги  $\alpha$ -диол гуруҳлари оксидланиш жараёнидан ўтганлигини кўрсатади. Бу фақат *D-GalAp* қолдиқлари ўртасида 1  $\rightarrow$  4 гликозид боғланиш мавжуд бўлганда кузатилади.

Галактуронанни аввал галактанга ўтказиб сўнг метилланиб перметилат олинди, унинг гидролизатида ЮҚХ (юпка қатлам хроматографияси) ёрдамида асосий маҳсулот сифатида 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-галактоза ва 2,3,6-три-О-Ме-D-галактоза аниқланди. 2,3,6-три-О-Ме-D-галактозани ҳосил бўлиши галактуронан таркибидаги гексоза қолдиқлари орасида 1,4-гликозид боғланиш мавжудлигини кўрсатди, бу ИҚ-спектр маълумотлари ва йод-азотли оксидланиш натижаларида тасдиғини топди.

Сўнгра галактуронаннинг структураси  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия усули билан ўрганилди.

Галактуронан  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектридаги 99,1 м.у. (C1) аномер углерод атомининг сигнали, углевод занжирида  $\rightarrow 4\text{-}\alpha\text{-D-GalAp-1}\rightarrow$  фрагменти борлигини кўрсатди. *D-GalAp* қолдиқларининг қолган углерод атомларининг кимёвий силжишларига 68 (C2), 70.5 (C3), 77.9 (C4), 71.3 (C5), 173.9 м.у. (C6) мос келиши кўрсатиб берилди (1-расм). Пектин галактурон кислота қолдиқларидаги C6 атомининг углерод сигналида метоксил гуруҳларининг йўклигини кўрсатади. Маълумки, метоксилланган галактурон кислота 172.4 м.у. сигнали билан бир қаторда қўшимча 54.1 м.у. сигналини бериши керак.



1-расм. *Ph. vulgaris* пўстлоғи пектин моддаси галактуронанининг  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектри

Шундай қилиб, пектин моддасининг асосий занжири чизикли 1,4- $\alpha$ -D-полигалактуронандан иборат.

### Пектин моддалари углевод занжирининг тузилиши

Биополимернинг асосий углевод занжирини тузилишини ўрганиш учун ПМ трифторсирка кислота (0.5 М ТФСК) билан қисман кислотали гидролизга учратилди ва кислотада эримайдиган қисм чўкма ДПМ-1 (44%), кислотада эрувчан қисмини спиртда чўктириб ДПМ-2 (34%) фракцияси ажратиб олинди. Сувли-спирт қисмини қуюқ холга келгунча буғлатилиб, моносахарид таркиби нейтрал қандлардан ташкил топган ДПМ-3 фракцияси олинди, бу моносахаридлар орасида глюкоза ва арабиноза доминант қандлар ҳисобланиб, ушбу

моносахаридлар пектиннинг ён занжирдаги тармоқланган қисмини ифодалаш мумкинлиги эҳтимол қилинди (3-жадвал). ПМ ТФСК билан қисман гидролизи кислотали ва нейтрал моносахаридларни чиқиб кетиши билан бирга содир бўлади, бу моносахаридларнинг миқдорий, сифат таркиби ва уларнинг нисбати каби параметрларга таъсир қилади. Олинган титриметрик таҳлил натижалари ДПМ-1 юқори этерификацияланган, ДПМ-2 эса камроқ этерификацияланган пектинлар эканлигини кўрсатди. Ўрганилаётган полисахаридларнинг ИҚ-спектрлари карбоксиполисахаридларга хос бўлган ютилиш чизиқларини ўз ичига олади, улар нейтрал полисахаридлардан ютилиш чизиқларининг интенсивлиги билан, биринчи навбатда карбоксианион боғланишидаги C=O тебранишига хос 1749-1747 см<sup>-1</sup> соҳасидаги ютилиш чизиқлари билан фарқ қилади. 1627-1624 см<sup>-1</sup> ва 1445-1415 см<sup>-1</sup> соҳаларидаги ютилиш чизиқлари металлларга боғланган карбоксил ионларига тегишли. 1367-1370 см<sup>-1</sup> соҳасидаги ютилиш чизиқлари эса метоксил гуруҳлари мавжудлигини кўрсатади, ДПМ-1да ушбу ютилиш чизиқларининг интенсивлиги кам бўлиб, ДПМ-2 эса дастлабки ПМ билан таққослаганда деярли кўринмайди. ДПМ-1 спектридаги 890 ва 951 см<sup>-1</sup> ютилиш чизиқлари α-гликозид боғининг ва рамногалактуронан I (RG-I) молекуласининг мавжудлигидан далолат беради. ДПМ-2 спектридаги 1077-1046 см<sup>-1</sup> ютилиш чизиқлари β-арабиногалактан борлигини кўрсатади.

3- жадвал

*Ph. vulgaris* пўстлоғидаги деполимеризацияланган пектин моддаларининг унуми ва моносахарид таркиби

ПС тури	Унум, %	Мм, кДа	Моносахаридлар нисбати						UA, %
			Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
ДПМ-1	44	30.5	3.4	4.9	2.9	1.0	3.7	15.5	87.5
ДПМ-2	34	29.0	2.9	5.4	3.5	1.0	3.9	24.7	54.0
ДПМ-3	-	-	1.8	3.3	1.0	1.3	4.6	1.5	-

ДПМ-1 ва ДПМ-2 гидролизатларида галактоза, арабиноза 4.9: 15.5 ва 5.4: 24.7 нисбатларда, галактурон кислотаси 87.5 ва 54% устунлик қилиши пектин ён занжирида арабиногалактан ва/ёки галактан фрагментлари бўлиш эҳтимолини кўрсатади. Рамноза қолдиқларининг мавжудлиги ДПМ-1 ва ДПМ-2 нинг тармоқланган занжирлари рамногалактуронан I (RG-I) мавжудлигини изоҳлайди. ДПМ-1да нейтрал моносахаридларнинг парчаланиши ҳисобига галактурон кислотасининг миқдори ошади. Молекуляр масса ва нисбий қовушқоқлик кийматининг камайиши полимер асосий занжиридаги гликозид боғларининг узилиши билан боғлиқ. Гидролиз пайтида метоксил гуруҳларнинг деэтерификацияси юз беради, бу эса этерификация даражасининг пасайишига олиб келади (3,4-жадвал).

4- жадвал

*Ph. Vulgaris* пўстлоғидаги пектин моддаларининг физик-кимёвий характеристикалари

№	Пектинлар	$\eta_{\text{нисб.}}$	ММ, kDa	Кс, %	Кэ, %	ЭД, %
1	ПМ	12.5 (с 1;H <sub>2</sub> O) 6,17(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	45.1	1.5	7.9	84.4
2	ДПМ-1	20.8(с 1;H <sub>2</sub> O) 6,68(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	30.5	1.7	10.2	83.5
3	ДПМ-2	11.3(с 1;H <sub>2</sub> O) 3,94(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	29.0	1.8	3.6	66.9

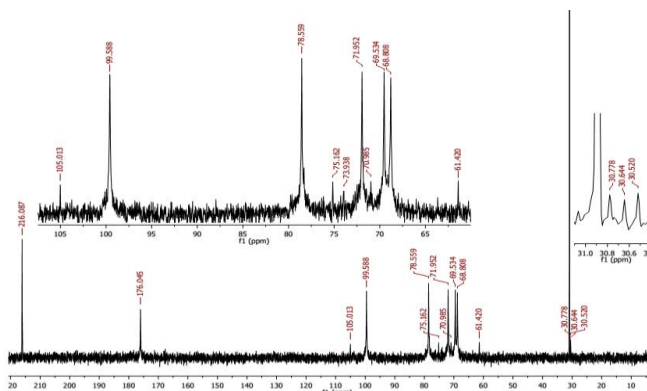
Шундай қилиб, қисман кислота гидролизининг натижалари шуни кўрсатдики, ДПМ-1 нинг тармоқланган занжири рамногалактурондан ён занжири, арабиногалактан ва ёки галактан фрагментларидан билан ифодаланганлиги эҳтимол қилинди.

### Пектин моддасининг тармоқланган занжирининг тузилиши

*Ph.vulgaris* нинг пектин моддалари 37°C, 3 соат давомида пектиназа ( $\alpha$ -глюкопиранозилуруназа) ферменти билан гидролизга учратилди. Маълумки, бундай ҳолда  $\alpha$ -1,4-D-галактопиранозилурунан боғларининг узилиши кузатилиб, бу эса гидролизатдаги  $\alpha$ -1,4-галактурон кислотасининг чизикли қисмида мавжуд бўлган эркин галактурон кислотасининг ҳосил бўлишига олиб келади ва тармоқланган занжирда нордон фрагментларни олишга имкон беради. Шундай қилиб, ПМ пектиназа билан сезиларли деградацияга учраб натижада ферментлар таъсирига чидамли бўлган гидролизатлар йиғиндиси олинди. Гидролизатни спиртда чўктириш орқали 66.6% унум билан PhV-фрагментлар аралашмаси олинди. Сув спиртли қисмида эркин глюкоза борлиги аниқланди. Бу ерда PhV нинг асосий моносакхаридлари бўлиб рамноза, арабиноза ва галактозалар 9.1:5.9:16.5 нисбатларда ва ксилоза, глюкоза жуда кам миқдорда намоён бўлди. Карбазол усули билан аниқланган галактурон кислотасининг миқдори 73.5% ни ташкил этди.

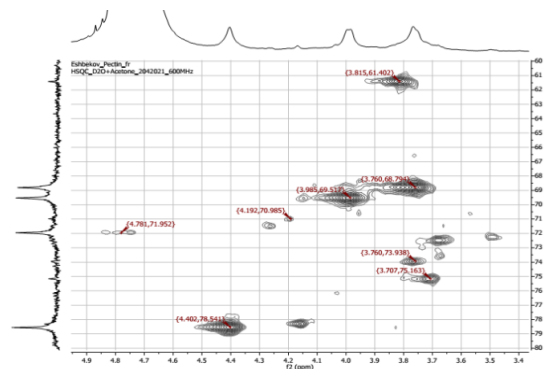
Сўнг PhV ДЭАЭ целлюлоза колонкасида (ОН-форма) фракцияларга ажратилди. Колонкани аввал сув билан ювилди, углеводларнинг чиқишини фенол-сулфат усулида назорат қилиб борилди. Сувли элюат қуюқлаштирилди ва спиртда чўктириб, унуми 32% бўлган ва моносакхарид таркиби асосан галактурон кислота (71.2%), рамноза (15.2%) ва оз миқдорда глюкоза ва ксилозадан иборат бўлган PhV -1 фрагменти олинди.

PhV -1<sup>13</sup>C ЯМР спектрида ( $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-GalAp $\rightarrow$ ) фрагмент борлигини кўрсатувчи 99.5 (C1), 68.8 (C2), 69.5 (C3), 78.4 (C4), 71.9 (C5), 176.1 м.у. (C6) кимёвий силжишлар кузатилди (расм 2).



Расм 2. PhV-1 фрагментининг <sup>13</sup>C

ЯМР спектри



Расм 3. PhV- 1 фрагментининг HSQC

спектри

<sup>1</sup>H ЯМР спектридаги кучсиз 1.34 м.у. сигнали  $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap қолдиқларининг мавжудлигини кўрсатади. Демак, ПМ нинг тармоқланган қисмида  $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-GalpA-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -L-Rhap фрагменти бор (расм 3, 5-жадв.).

PhV -1 фрагментининг  $^1\text{H}$  ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР кимёвий силжишлари

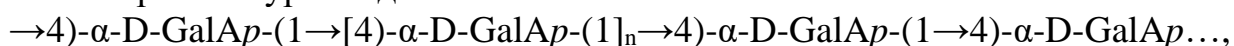
Қолдик	Кимёвий силжишлар, $\delta$ м.у. ( $\text{D}_2\text{O}$ +ацетон)					
	C1/ H1	C2/ H2	C3/ H3	C4/ H4	C5/ H5	C6C6'/ H6
$\rightarrow 4$ )- $\alpha$ -GalpA-(1 $\rightarrow$	99.5 5.05	68.8 3.77	69.5 3.98	78.5 4.4	71.9 4.78	176.0 -
$\beta$ -Galp-(1 $\rightarrow$	105.0 4.62	71.9 4.3	74.1 3.70	70.1 4.2	72.2 3.4	64.8 3.8
$\rightarrow 6$ - $\beta$ -Galp-(1 $\rightarrow$	100.0 4.7	н.о 3.81	н.о 3.67	72.9 н.о	70.9 3.93	н.о. 4.19
$\rightarrow 2$ - $\alpha$ -Rhap-(1 $\rightarrow$	н.о н.о	77.9 4.12	70.9 3.85	73.9 3.67	н.о 4.03	н.о 1.24
$\rightarrow 2,4$ - $\alpha$ -Rhap-(1 $\rightarrow$	104.9 5.1	71.9 4.16	78.6 3.67	70.9 3.49	75.9 4.16	70.9' 1.44

Изоҳ: \*н.о.-аниқланмаган

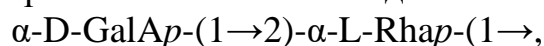
Сўнг колонка NaCl нинг 0,2н эритмаси билан ювилди ва натижада унуми 48% бўлган PhV-2 фрагменти олинди. Ушбу фрагментнинг моносахарид таркиби 4.5:1 нисбатда асосан галактоза ва арабиноза, ҳамда галактурон кислотасидан (23.7%) иборат. Демак, фрагмент PhV-2 пектиназа таъсирига чидамли арабиногалактан бўлиб, уни ПМ макромолекуласининг ён занжирида жойлашганлигини ИҚ-спектроскопия ва қисман кислотали гидролиз (ДПМ-2) натижалари тасдиғини топди.

PhV-2 даги моносахарид қолдиқлари орасидаги гликозид боғларини аниқлаш учун уни Хакомори усулида метилланди. Перметилат гидролизати ЮҚХ да метчиклар ёрдамида ўрганилганда: 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-Galp, 2,3,4-три-О-Ме-D-Galp, 2,4-ди-О-Ме-D-Galp, 2,3,5-три-О-Ме-L-Araf, 2,3-ди-О-Ме-L-Araf идентификация қилинди. 2,3,4-три-О-Ме-D-Galp аниқланиши фрагмент макромолекуласидаги галактопираноза қолдиқлари 1,6-гликозид боғи билан боғланганлигини кўрсатди. 2,3,5-три-О-Ме-L-Araf, 2,3-ди-О-Ме-L-Araf идентификация қилиниши PhV-2 нинг бир қисм ён занжири терминал ва 1,5 боғи билан боғланган арабинофураноза қолдиқларидан иборат эканлигини кўрсатди. Арабиногалактаннинг пектин ён занжирида жойлашган деган эҳтимол қилинди.

*Ph.vulgaris* пўстлоғидаги пектин моддаси макромолекуласининг структурасини ўрганиш натижалари унинг асосий занжири чизиқли  $\alpha$ -1,4-D-галактопиранозилуронандан

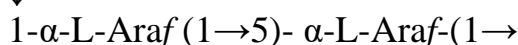


тармоқланган ён занжирлари эса рамногалактуронан-I (RG-I) ва арабиногалактандан иборат эканлиги исботланди:



3

↓

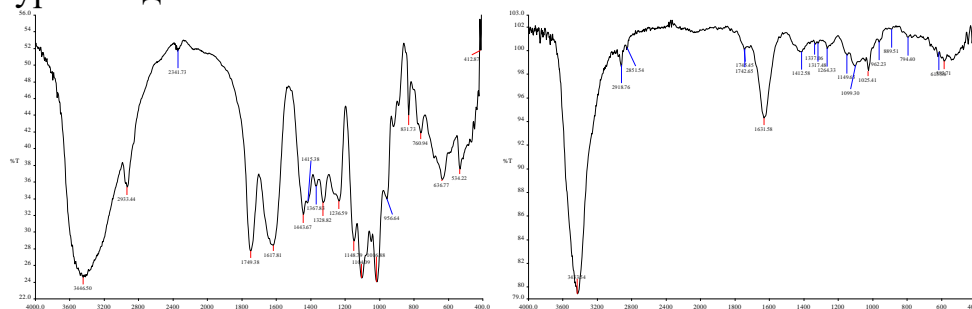




## ***Ph.vulgaris* пўстлоғидаги пектин моддаларининг калий-магний бирикмалари ва уларнинг биологик фаоллиги**

Пектин молекуласини таркибига биоген металл ионларини киритиш пектиннинг биологик фаоллигини сезиларли даражада оширади.

Пектиннинг биоген металллар- калий ва магний билан тузлари синтез қилинди, олинган бирикмаларнинг физик-кимёвий хоссалари ҳамда биологик фаоллиги ўрганилди.



4-расм. *Ph.vulgaris* дастлабки ПМ ИҚ спектри

5-расм. *Ph.vulgaris* ПМ калийли тузининг ИҚ спектри

Биринчи босқичда ПМ ишқор билан ишланиб 100% натрий пектат олинган, ишқорий муҳит (рН 9-10) сирка кислотасини қўшиб кучсиз кислотали муҳитга (рН 4-5) ўтказилган, кейин КІ қўшиб пектиннинг калийли тузи - ПМ-К олинган. ПМ-Mg тузи ва ПМ-KMg бирикмалари ҳам шу йўсинда синтез қилинган. ПВ-К таркибида калий 0.37%, ПМ-Mg-да магний 1.67%, ПМ-KMg-да калий 1.44%, магний 1.27% ташкил этади. Синтез қилинган моддалар сувда эрийдиган оч крем рангидаги кукунлардир. Металл бирикмаларнинг намуналари ИҚ-спектроскопия ёрдамида ўрганилди. Спектрда карбоксил гуруҳининг валент тебранишларининг  $\nu$  (C = O) ютилиш чизиқлари 1749  $\text{cm}^{-1}$  да йўқолганлиги ва 1631-1638  $\text{cm}^{-1}$  да валент тебранишларнинг  $\nu$  (C = O) ионли шаклга хос бўлган ютилиш чизиқлари пайдо бўлганлиги кузатилди (4-5 расмлар). Олинган калий пектат металл бирикмаларини синтези учун дастлабки лиганд бўлиб, мақсадли бирикма ПМ- KMg олишда,  $\text{K}^+$  ионининг  $\text{Mg}^{+2}$  катионига лиганд алмашинувининг реакцияси билан синтез қилинди.

ПМ ва металл ҳосилалари (ПМ-К; ПМ-Mg; ПМ-К-Mg) рентген фазовий таҳлили ва электрон микроскопия усуллари билан ўрганилди. Таҳлиллар натижалари шуни кўрсатдики, пектинлар ва унинг металл бирикмалари аморф полимерларга хос бўлган глобуляр структуралар ҳосил қилади.

### **Пектин моддалари ва унинг калий тузлари ва сувли экстракти-глифасаннинг биологик фаоллиги**

Фармакотоксикологик илмий изланишлар ЎзР ФА ЎМКИ фармакология ва токсикология бўлими илмий ходимлари (т.ф.д., проф. В.Н.Сыров, к.и.х. Д.М. Саидходжаева) билан ҳамкорликда олиб борилди.

Синтез қилинган ПМ-К тузининг юрак-қон томир тизимига таъсири 150-180 г оғирликдаги эркак каламушларда ўрганилди. Пектин ва ПМ-К ҳайвонларга 30 кун давомида 100 мг/кг дозада сувли эритма шаклида оғиз орқали юборилди. Олинган маълумотлар ПМ-К тузи юрак мушакларидаги умумий калий миқдорининг (18.1% га) бир мунча ортишини ва мушак

таркибидаги натрий миқдори эса сезиларли даражада ўзгармаганлигини кўрсатди. Шу билан бирга ҳайвонлар организмига ўхшаш концентрациядаги калийнинг киритилиши ва пектиннинг ўзини киритилиши юрак мушакларидаги калий таркибига таъсир кўрсатмади. Бундан ташқари ҳайвонлар организмига бир хил концентрацияда калий эритмасини ва пектинни ўзини киритилиши юрак мушакларидаги калий таркибига таъсир кўрсатмади.

6 -жадвал

**Пектин ва ПМ-К нинг миокарддаги калий ва натрий таркибига ҳамда қон зардобдаги холестеринга таъсири ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Эксперимент шароитлари	К умумий	$K_i$	$K_e$	$K_i / K_e$	К умумий/ Na умумий	Холестерин
Интакт ҳайвонлар (назорат)	251.0±15.3	245.6±15.2	5.4±0.23	45.6±2,8	1.83±0.08	72.2±2.4
ПМ	250.3±19.4	245.0±19.3	5.3±0.19	46.1±3.4	1.85±0.21	59.8±2.9*
ПМ- К	296.5±19.4*	290.9±5.1*	5.5±0.22	53.1±1.8*	2.19±0.05*	60.5±2.7*
Калий	252,0±10,4	246.5±10.5	5.5±0,23	45.2±3,0	1.84±0,09	73.3±3,9
Эксперимент шароитлари	Na умумий	$Na_i$	$Na_e$	$Na_i / Na_e$		
Интакт ҳайвонлар (назорат)	136.7±4.2	17.8±3.2	118.8±2.8	0.15±0.03		
ПМ	139.5±8.5	20.0±8.4	119.5±3.3	0.16±0.07		
ПМ- К	141.2±2.7	17.2±3.3	124.0±2.9	0.14±0.03		
Калий	139.5±2.2	16.3±2.3	123.0±1.6	0.13±0.02		

*Изоҳ.* К ва Na қийматлари 1 кг қуруқ тўқималарга мг% берилган ( $i$  - ҳужайра ичидаги,  $e$  - ҳужайрадан ташқари), холестерин -; \* - назоратга нисбатан ишончлилиқ ( $p < 0,05$ ).

Шуни таъкидлаш керакки, ПМ-К таъсири остида ҳужайра ичидаги калий миқдори сезиларли даражада ошди. ПМ-К таъсирида ҳужайра ичидаги калийнинг тўпланиши унинг ҳужайра градиентининг 16.4% га ошиши билан содир бўлган. Бу ҳолда натрий миқдори деярли ўзгаришсиз қолди. Умумий калий таркибининг натрий таркибига нисбати ПМ-К таъсирида 19.6% га ошди. Ўрганилаётган пектинларнинг гипохолестеринемик таъсирига келсак, у ушбу синфнинг кўпгина бирикмаларига хос бўлиб, бизнинг тажрибамиз шароитида ҳам ўзини намоён қилди. ПМ - К ва ПМ нинг ўзи қон зардобдаги холестерин миқдорини бир хил даражада камайтирди (6-жадвал).

Шундай қилиб, калий эритмасидан фарқли ўлароқ худди шу концентрацияда ПМ-К дан фойдаланиш маълум даражада кардиомиоцитлардаги калийни кўпайишини таъминлайди, пектинларнинг ҳужайра мембраналари ўтказувчанлиги липидларнинг пероксидланиш жараёнлари билан боғлиқ бўлиши мумкин. Ушбу ҳолат ҳужайра ичига кириб борадиган калий миқдорининг кўпайишига ёрдам бериши мумкин.

**Глифасаннинг антидиабетик фаоллиги**

Глифасан- *Ph.vulgaris* пўстлоғининг қуруқ сувли экстракти бўлиб, у оқ рангли аморф қуқун, сувда яхши эрийди. Кимёвий таркиби, асосан сувда

эрувчи полисахаридлар, флавоноидлар, оксиллар ва дубил моддалардан ташкил топган. Глифасанни оқ сичқонларга (18-20 г) 3000 мг/кг дозада рег ос юборилганда захарланиш ҳолати ва 14 кун давомида динамикада кузатилганда ҳайвонларнинг ўлими кузатилмаган. Эксперимент натижалари глифасан кам захарли бирикма эканлигини кўрсатди (7-жадвал).

7-жадвал

Глифасанни бир марта юборилганда каламушлар қонидаги қанд миқдори таъсири (M ± m, n = 6)

Эксперимент шароитлари	Гликемия даражаси, ммол/л			Дастлабки ҳолатига нисбатан самарадорлиги, %
	Дастлабки Ст=3,82 ммол/л	Ўртача	Эксперимент тугаганда Ст=3,82 ммол/л	
Назорат	3.06	3.78	11,6	11,78
	331		8,8	
	4,99		9,42	
Глифасан	4,71	5,29	5,7	7,27
	4,60		5,7	
	6,58		10,6	
	3,35		4,7	

Глифасаннинг аллоксан гипергликемия ва аллоксан диабетига тегишли таъсири ўрганилди. Тажрибалар шуни кўрсатдики, оқ эркак каламушларга (120-180 г) глифасан 150 мг / кг дозада юборилганда, 3 соатдан сўнг қондаги қанд миқдори 16,2% (p<0,05) га пасайган.

8-жадвал

Глифасанни узоқ давомида юборилганда каламушлар қонидаги қанд миқдори таъсири (M±m, n=6)

Эксперимент шароитлари	Гликемия даражаси, ммол/л			Дастлабки ҳолатига нисбатан самарадорлиги, %
	Дастлабки Ст=3,82 ммол/л	Ўртача	Эксперимент тугаганда Ст=3,82 ммол/л	
Назорат	4.01	4.01	13.34	12.1
	50.6		11.02	
	2.96		12.19	
Глифасан	3.74	3.45	3.87	4.00
	3.25		4.19	
	3.35		3.98	

Глифасаннинг гипогликемик таъсири аллоксан диабетига (150 мг/кг аллоксан тери остига юборилиши) фонида яққол кўринди. Глифасаннинг бир марталик қабул қилинишида қондаги қанд миқдорини 23,4% га камайтирди. Экспериментал натижалар шуни кўрсатдики, глифасан Адебит препаратидан 1,6 баравар юқори таъсирга эга ва у диабет касалликлари профилактикаси учун биологик фаол қўшимча (БФҚ) яратиш учун манба бўлиши мумкин (8-жадвал).

#### **Глифасан - *Ph. Vulgaris* пўстлоғи сувли экстрактивнинг микробларга қарши фаоллиги**

ЎЗР ФА Ўсимлик моддалар кимёси институти молекуляр генетика лабораторияси ходимлари (PhD Ф. Эшбоев, к.ф.н. С. Сасмаков) билан ҳамкорликда *Ph. vulgaris* пўстлоғи сувли экстракти – глифасан ва унинг

цефтраксон антибиотик билан композициясининг микробларга ва замбуруғларга қарши фаоллиги *in vitro* усулида скрининг қилинди. Тадқиқотларда ижобий намуна сифатида антибиотиклардан ампициллин (грамусбат бактериялар учун), цефтриаксон (граманфий бактериялар учун) (HiMedia Laboratories Pvt. Limited) ва флуконазол (замбуруғлар учун) лардан ва салбий намуна сифатида ddH<sub>2</sub>O дан фойдаланилди. Микробларга қарши фаолликни ўрганиш натижаларига биноан Глифасаннинг 1% ли сувли эритмаси *Staphylococcus aureus* позитив штаммини ўсишини 22 мм га қисқартириши, Глифасаннинг антибиотик билан композицияси эса *Bacillus subtilis* штаммини ўсишини 30 мм га ва *Escherichia coli* штаммини ўсишини 14 мм га қисқартиришини ҳамда Глифасаннинг замбуруғларга таъсири йўқлигини кўрсатди.

## ХУЛОСА

1. Илк бор *Ph. vulgaris* пўстлоғининг бирламчи метаболитлари (углевод, оксил, липид) таркибига мавсумий динамиканинг таъсири ўрганилган. Меванинг пишиш даврида юқори молекуляр массага ва юқори этерификация даражасига эга пектин моддалари миқдорининг юқори бўлиши, оксил ва нейтрал липидлар миқдорининг камайиши кузатилган.

2. Қисман кислотали ва ферментатив гидролиз ва ионалмашинув хроматографияси ёрдамида Мм 204 ва 100 кДа бўлган моносахарид таркибида арабиноза, галактоза ва галактурон кислоталари доминант бўлган PhV-1 ва PhV-2 пектин фрагментлари олинган.

3. Илк бор кимёвий ва спектрал усуллар ёрдамида *Ph. vulgaris* пўстлоғи пектин моддалари макромолекуласи чизиқли полигалактуронан ( $\alpha$ -1→4-GalAp) эканлиги ва тармоқланган соҳа рамногалактуронан (RG-1), ён тармоғи эса арабино-3,6-галактандан иборат бўлиши исботланган.

4. Пектин асосида унинг калийли тузи ва калийли-магнийли бирикмаларини олишнинг оптимал шароитлари ишлаб чиқилган. Сканирловчи электрон микроскоп (СЭМ) усуллари ёрдамида металлокомплексларнинг элемент анализлари ўтказилган. Пектин ва унинг тузларини рентгенографик ва электронно-микроскопик таҳлиллари уларнинг аморф полимерларга хос бўлган глобуляр тузилишга эга эканлиги кўрсатиб берилган.

5. Пектин ва унинг калийли тузлари бир хил даражада қон зардобидаги холестерин миқдорини камайтириши ва уларнинг кардиомиоцитларда калий миқдорининг ортишига ёрдам бериши аниқланган.

6. Фармакологик тадқиқотларга кўра *Ph. vulgaris* пўстлоғининг сувли экстракт йиғиндиси – глифасан кам захарли бирикма бўлиб, антимикроб ва антидиабетик фаолликка эга.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc. 02/30.01.2020.К/Т.104.01  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ  
ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

---

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА**

**ЭШБЕКОВ АЗАМАТ ЭРКИНОВИЧ**

**ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СТРУКТУРА ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ  
СТВОРОК *PHASEOLUS VULGARIS***

**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 В2020.4.PhD/К135**

Диссертация выполнена в Национальном университете Узбекистана и Институте химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан.

Автореферат диссертации на трех языках (русском, узбекском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([www.uzicps.uz](http://www.uzicps.uz)) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)).

**Научный руководитель:**

**Рахманбердиева Рано Каримовна**  
доктор химических наук, вед. науч. сотр.

**Официальные оппоненты:**

**Арипова Салима Фазиловна**  
доктор химических наук, профессор  
**Шомуродов Шавкат Абдуганиевич**  
доктор химических наук, с.н.с.

**Ведущая организация:**

**Ташкентский фармацевтический институт**

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Научного совета DSc 02/30.01.2020.К/Т.104.01 при Институте химии растительных веществ АН РУз (Адрес: 100170, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77. Тел.: (+99871) 262-59-13, факс: (+99871) 262-73-48) e-mail: [plant\\_inst@icps.org.uz](mailto:plant_inst@icps.org.uz), [ixrv@mail.ru](mailto:ixrv@mail.ru)).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института химии растительных веществ АН РУз (регистрационный номер № \_\_\_\_\_) (Адрес: 100170, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77. Тел.: (+99871) 262-59-13; факс: (+99871) 262-73-48); e-mail: [plant\\_inst@icps.org.uz](mailto:plant_inst@icps.org.uz), [ixrv@mail.ru](mailto:ixrv@mail.ru)).

Автореферат диссертации разослан: «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года.  
(реестр протокола рассылки \_\_\_\_\_ от «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года).

**Ш.Ш.Сагдуллаев**

Председатель Научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.т.н., профессор

**Н.К. Хидирова**

Ученый секретарь Научного совета по присуждению  
ученых степеней, к.х.н.

**С.Ф. Арипова**

Председатель Научного семинара при Научном совете  
по присуждению ученых степеней, д.х.н., профессор

## ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире полисахаридная тематика, как в фундаментальном направлении, так и в прикладном аспекте привлекает внимание многих исследователей. Среди полисахаридов пектин является структурно и функционально наиболее сложным полисахаридом. Он содержится практически во всех высших наземных, водных растениях, а также во многих фруктах, овоще-бахчевых и бобовых культурах и обладает широким спектром физиологической активности. Пектиновые вещества выполняют определенную роль в процессе обмена веществ в растительной ткани, способствуют удержанию воды в различных органах растения, предохраняя их от высыхания.

В настоящее время в агропромышленном производстве при переработке урожая остаются различные виды вторичных ресурсов сельскохозяйственных продуктов и часто их применяют, как корм для крупного рогатого скота, но не все отходы могут подвергаться утилизации, что оказывает значительное воздействие на природную среду. К такому числу вторичных ресурсов относятся створки различных видов фасоли.

*Phaseolus vulgaris* (фасоль обыкновенная, красная) - одна из важнейших зернобобовых культур сем. *Fabaceae*. Фасоль обладает многими полезными качествами и лечебными свойствами. В плодах фасоли содержатся 50-60% углеводов (моно- и олигосахариды, крахмал), 20-30% белков, жирные масла, макро- и микроэлементы, органические кислоты и витамины. Многие виды фасоли широко возделываются в ряде стран как овощная и кормовая бобовая культура. Створки фасоли обычно являются отходом, их выбрасывают или используют как кормовую культуру. В народной медицине створки фасоли традиционно используются при легких формах сахарного диабета, некоторых заболеваниях поджелудочной железы, с целью очистки крови (экзема, сыпь, фурункулез) и для дробления камней в почках и мочевом пузыре. В створках плодов фасоли найдены флавоноиды, тритерпеновые гликозиды, аминокислоты, но следует отметить, что в химическом отношении полисахариды, а именно, пектиновые вещества створок фасоли глубоко не изучены.

В последние годы во всем мире растёт потребность в лекарственных препаратах, полученных на основе природных источников. В этом отношении перспективно использование пектина и его модифицированных форм в качестве носителей лекарственных препаратов для лечения различных заболеваний. Пектиновые вещества используются как матрица для пролонгации действия некоторых лекарств, но также для уменьшения их токсичности и побочных эффектов. Учитывая интерес, проявляемый к пектиновым веществам, малую изученность их структурной особенности и широкий спектр биологической активности, исследование пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris*, выращиваемой в республике, является актуальным.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики

Узбекистан № УП -4947 от 7 февраля 2017 года “Стратегия действия по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017-2021 годах”, в Постановлении Президента Республики Узбекистан №ПП-3552 от 14 февраля 2018 года “О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли”, а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в республике.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологии республики -VI «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** В мировом масштабе по изучению строения пектиновых веществ и выявлению их биологической активности проведены исследования зарубежными учеными David Ropartz, Marie-Christine Ralet (INRAE, Biopolymères Interactions Assemblages Nantes, France), установлено строение пектиновых веществ и выявлена их антимикробная активность. Debra Mohnen (Complex Carbohydrate Research Center, Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Georgia, Greece) изучала структуру и биосинтез пектина в растениях.

Российскими учеными Ю.С. Оводовым, С.В. Поповым и др. (Институт физиологии растений, Сыктывкар, Россия) выделены и изучены пектиновые вещества растений Европейского севера России. Получены пектиновые вещества - зостерин, лемнан, танацетан, силенан, комаруман. Химическими и спектральными методами установлено их строение. С.Т. Минзановой, В.Ф. Мироновым (Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН) проведена модификация пектиновых веществ, синтезированы металлокомплексы и выявлена их антимикробная активность.

В нашей стране в этом направлении под руководством академика АН РУз С.Ш. Рашидовой работали кандидаты химических наук И.Л. Новосельская, Н.Л. Воропаева и Л.Н. Семенова (Институт физики и химии полимеров АН РУз), ими были получены пектиновые вещества из местных сортов лимона и изучены их физико-химические параметры. Предложена методика капсулирования семян хлопчатника растворами пектиновых веществ, что способствует их защите и сохранению. В Институте химии растительных веществ под руководством д.х.н., проф. Д.А. Рахимова (д.х.н. Р.К. Рахманбердыева, к.х.н. М.Х. Маликова, младшие научные сотрудники Н.С. Полякова и Н.П. Юлдашева) проведены структурные анализы пектиновых веществ ряда дикорастущих и лекарственных растений, а также фруктовых выжимок. Профессором Д.А. Рахимовым, к.х.н. Н.П. Юлдашевой из корней *Eremurus regelii* были выделены пектиновые вещества и выявлена их противоязвенная активность. Под руководством академика Х.Н. Арипова были получены пектиновые концентраты из яблочных выжимок для пищевой промышленности. На основе яблочного пектина была разработана суспензионная форма антигельминтного препарата «Альпек» (д.т.н. Т.



Садыков, к.х.н. М.А. Ходжаева). В настоящее время проводятся исследования по получению растворимых гелевых форм антигельминтных препаратов на основе альбендазола и ряда пектиновых веществ, выделенных из вторичных ресурсов лекарственных растений (к.х.н. А. Абдураззаков, к.т.н. Р.К. Каримов, к.т.н. Г. Зухурова, к.х.н. А. Хван)

**Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высших учебных и научно-исследовательских заведений.** Диссертационная работа выполнена в рамках научно-исследовательского проекта ПЗ-2017102419 «Разработка методов получения калиевых, магниевых и железных солей пектина» (2018 - 2019 г.г.) Национального Университета Узбекистана.

**Целью исследования** являются структурно-химическое изучение пектиновых веществ створок *Phaseolus vulgaris*, установление строения основной и боковой цепи макромолекулы пектина, получение металлокомплексов пектина и выявление их биологической активности.

**Задачи исследования:**

-выделение пектиновых веществ, определение их физико-химических свойств, установление моносахаридного состава;

-изучение влияния сезонной динамики на содержание различных групп полисахаридов;

-установление строения основной и боковой цепи макромолекулы пектина химическими и спектральными методами;

-получение металлокомплексов и выявление их биологической активности;

-определение антимицробной и антидиабетической активности водных экстрактов створок *Ph.vulgaris*.

**Объектами исследования** являются створки фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*), водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы, Na-, K- соли пектина, KMg-комплексы пектина.

**Предметом исследования** являются пектиновые вещества *Ph.vulgaris* и их металлокомплексы.

**Методы исследования.** При выполнении диссертационной работы были использованы методы биоорганической химии (выделение, очистка, кислотный и ферментативный гидролиз, метилирование, окисление, деполимеризация, модификация-получение металлокомплексов), а также физико-химические методы (ИК-спектроскопия, ГХ- газовая хроматография, элементный и рентгенофазный анализы, электронная микроскопия, <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопия) и методы фармакологических исследований.

**Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:**

-впервые было определено влияние сезонной динамики на содержание углеводов, белков и липидов из створок *Ph.vulgaris*. Установлено, что створки фасоли являются источником пектиновых веществ;

- выделены пектиновые вещества и определены их физико-химические параметры и моносахаридный состав;

- впервые ферментативным и кислотным гидролизом макромолекулы пектина были получены пектиновые фрагменты, строение которых установлено химическими и спектральными методами;

- установлено, что основная цепь макромолекулы пектина состоит из поли-D-галактуронана, боковая цепь представлена L-рамногалактуроном-1 и арабиногалактаном.

- получены калиевые соли, калиево-магниевые комплексы пектина, изучено влияние калиевых солей на сердечно-сосудистую систему. Показано, что пектины и их соли обладают гипохолестеринемической активностью;

- показана антимицробная и антидиабетическая активности водного экстракта створок *Ph. Vulgaris* – глифасана.

**Практические результаты исследования.** Водный экстракт створок *Phaseolus vulgaris* - Глифасан снижает уровень сахара в крови на 23.4% и по результатам экспериментов в 1.6 раза эффективнее препарата Адебит. На основании полученных результатов разработан лабораторный регламент «Противодиабетическая активная добавка-глифасан».

Показано, что 1 %-ный водный раствор глифасана задерживает рост грамм позитивного штамма *Staphylococcus aureus* на 22 мм.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается использованием химических и современных спектральных методов (<sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопия, высокоэффективная эксклюзионная хроматография).

Полученные результаты отражены в обсуждениях на республиканских и международных конференциях, публикациях в рецензируемых научных журналах.

#### **Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость исследования заключается в том, что получены новые сведения о структурной характеристике пектиновых веществ и их металлокомплексов. Полученные данные могут быть фундаментальной основой для получения новых местных лекарственных препаратов.

Результаты исследования подтверждают практическую значимость перспективности использования створок *Ph. vulgaris* как источник получения пектинов и биологически активных веществ, которые являются основой для создания препаратов антидиабетического и антимицробного действия.

**Внедрение результатов исследования.** Полученные научные результаты по структуре и химическим свойствам пектиновых веществ створок *Phaseolus vulgaris* были использованы:

- при выполнении проекта ФА-Ф6-007 «Исследование биологически активных полисахаридов лекарственных растений и их модифицированных форм (2017-2020 г.г.)» (справка АН РУз от 21 мая 2020 г. рег. № 4/2155-1948). Полученные результаты показали возможность использования пектиновых веществ лекарственных растений в различных направлениях народного хозяйства.

-при выполнении научного проекта № АР05131003 Министерства образования и науки Республики Казахстан «Фундаментальные проблемы

сильнозаряженных полиамфолитов в их изоэлектрической точке (2018-2020 г.г.)» (справка Института полимерных материалов и технологий, 2020, №1). На основе пектина получены более эффективные лекарственные полимеры пролонгированного действия, что позволило усовершенствовать методику проведения вышеуказанного проекта.

Разработан лабораторный регламент «Антидиабетическая биологически активная добавка Глифасан» из водного экстракта створок фасоли (утвержден 21 мая 2021 г. директором ИХРВ).

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследований по теме диссертации изложены в виде докладов и прошли апробацию на 3 международных и 5 республиканских научно -технических конференциях.

**Опубликованность результатов.** Опубликовано 12 научных работ. Из них 4 научные статьи, в том числе 2 в международных и 2 республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, трех глав, выводов, списка использованной литературы, приложений. Объем диссертации составляет 92 страницы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность темы диссертации, сформулированы цели и задачи, а также объект и предмет исследования, соответствие исследования направлениям развития науки и технологии Республики Узбекистан, изложена научная новизна и практические результаты исследования, раскрыты научная и практическая значимость, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «Пектиновые вещества высших растений» приведен литературный обзор научных исследований по теме диссертации, включающий общие сведения о пектиновых веществах высших растений и их модификации, выделении, установлении строения с применением химических и спектральных методов.

Вторая глава диссертации посвящена обсуждению результатов по исследованию пектиновых веществ створок *Phaseolus vulgaris*.

В третьей главе описывается экспериментальная часть работы, где приводятся методы выделения и установления строения пектиновых веществ и определения их биологической активности.

### **Влияние сезонной динамики на содержание углеводов, липидов и белков створок *Phaseolus vulgaris***

*Phaseolus vulgaris* (фасоль обыкновенная, красная) - одна из важнейших зернобобовых культур семейства *Fabaceae* является полезным однолетним травянистым растением. Для получения полной информации о химическом составе створок *Ph. vulgaris* местного региона было изучено влияние динамики на содержание первичных метаболитов в периодах молочной спелости и созревания плодов. Выделены различные группы полисахаридов, липидов и

белков, определены их физико-химические характеристики и установлены моносахаридные, липидные, жирнокислотные и аминокислотные составы.

Спирторастворимые сахара (СРС-1, период молочной спелости) представлены фруктозой, сахарозой, глюкозой, галактозой и арабинозой, а в период полного созревания плодов (СРС-2) - только глюкозой и галактозой. Разница в моносахаридном составе, вероятно, связана с ростом и развитием растения, когда происходит расход углеводов для питания растения и синтеза биополимеров.

Содержание углеводов и их моносахаридный состав представлены в табл.1, из которой видно, что наибольшее содержание суммы водорастворимых полисахаридов (ВРПС) наблюдалось в период молочной спелости - 2.5%. По мере роста и развития растения, т.е. в период созревания плодов, сумма ВРПС уменьшается до 1.4 %. Количественное содержание пектиновых веществ (ПВ) с ростом растения увеличивается с 5% до 10%. Увеличение суммарного содержания гемицеллюлоз (ГМЦ) связано с периодом созревания плодов: в створках активно синтезируются ксиланы, с чем связано повышенное содержание ксилозы в гидролизатах ГМЦ-А, Б.

Таблица 1.

Содержание и моносахаридный состав углеводов створок *Ph. vulgaris*

Тип ПС	Выход, %	Соотношение моносахаридов						UA,%
		Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
Период молочной спелости								
ВРПС-1	2.5	1.3	11.6	1.0	сл.	42.0	7.3	12.4
ПВ-1	5.0	9.9	3.9	2.2	1.0	1.1	7.7	62.5
ГМЦ-А-1	2.0	2.5	2.9	7.9	1.0	5.8	10.4	41.3
ГМЦ-Б-1	0.7	1.0	1.0	20.1	2.4	2.9	9.3	38.7
Период созревания								
ВРПС-2	1.4	1.0	20.4	1.2	1.0	31.9	4.3	25.3
ПВ-2	10.0	9.1	5.9	2.0	1.0	1.0	16.5	73.5
ГМЦ-А-2	1.3	1.2	1.0	25.5	1.7	8.2	18.4	22.1
ГМЦ-Б-2	2.0	1.0	1.5	10.6	3.5	12.6	13.9	35.7

*Примечание: образцы, выделенные из створок фасоли, собранных в период молочной спелости, обозначили - 1, в период созревания плодов - 2.*

ВРПС-1 и ВРПС-2 представляют собой аморфные порошки светлокремного цвета, хорошо растворимые в воде. Водные растворы ВРПС дают отрицательную реакцию на крахмал. Следовательно, ВРПС не относятся к крахмалоподобным глюканам. ВРПС, выделенные в разные периоды развития растения, различаются по качественному и количественному моносахаридному составу. Результаты исследований позволяют сделать вывод, что в период молочной спелости в растении синтезируются полисахариды типа глюкана, арабиногалактана, о чем свидетельствует преобладание глюкозы, арабинозы и галактозы в гидролизате ВРПС-1. Следует отметить, что в период созревания плодов в гидролизате ВРПС-2 наблюдалось повышенное содержание арабинозы, урсонной кислоты и уменьшение глюкозы, галактозы. Вероятно, уменьшение галактозы и глюкозы связано с биосинтезом галактуронозой и глюкуронозой кислот, которые являются основой пектиновых веществ.

Наличие рамнозы, галактозы и уроновых кислот говорит о возможности синтеза рамноуронанов, входящих в основную цепь ПВ.

Пектиновые вещества представляют собой аморфные порошки белого цвета, хорошо растворимые в воде с образованием густых растворов с высоким показателем относительной вязкости (табл. 2).

Таблица 2.

Физико-химические характеристики пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris*

Пектины	$\eta_{\text{отн.}}$ (с.1; H <sub>2</sub> O)	Мм, кДа	Титриметрические показатели, %		
			Кс	Кэ	СЭ
ПВ-1	13.8	250	2.25	7.75	75.0
ПВ-2	12.5	316	1.5	7.9	84.4

Примечание: Кс-свободные карбоксильные группы, Кэ-этерифицированные карбоксильные группы, СЭ-степень этерификации

Важным показателем для ПВ является степень этерификации, которая позволяет отнести исследуемые биополимеры к низко- или высокоэтерифицированным пектинам. Из табл. 2 видно, что ПВ-1 и ПВ-2 имеют высокие показатели Мм 250, 316 кДа и СЭ 75.0, 84.4% соответственно. Следовательно, они относятся к высокоэтерифицированным пектинам. Доминирующими моносахаридами в гидролизатах ПВ являются галактоза, рамноза и уроновые кислоты, по мере развития растения количественное содержание этих мономеров увеличивается.

Гемицеллюлозы-аморфные порошки коричневого цвета, хорошо растворяются в разбавленных растворах щелочей, их выход в сумме составляет 2.7% (ГМЦ-А, Б-1) и 3.3% (ГМЦ-А, Б-2). Моносахаридный состав представлен нейтральными и кислыми моносахаридами в различных соотношениях. Повышенное содержание ксилозы характерно для полисахаридов ксиланового типа.

В ИК-спектрах ВРПС, ПВ и ГМЦ были идентифицированы полосы поглощения, характерные для полисахаридов, которые отличались интенсивностью полос поглощения и незначительным сдвигом в высоко- или низкочастотную область.

Кроме полисахаридов створки фасоли изучали на содержание липидов и белков. Показано, что в створках фасоли двух периодов присутствуют жирные кислоты с основными компонентами: пальмитиновая и олеиновая кислоты. Установили, что в период молочной спелости содержание белков составляет 7.7%, а в период созревания плодов происходит резкое уменьшение до 1,68%, это связано с накоплением белков в плодах. Аминокислотный состав в исследуемых белках представлен незаменимыми аминокислотами-треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, гистидин, фенилаланин, лизин. В обоих периодах доминируют из заменимых аминокислот аспарагиновая и глутаминовая кислоты, а среди незаменимых - изолейцин и лейцин.

Таким образом, установлено, что ПВ являются доминирующими полисахаридами в створках *Ph.vulgaris* в период созревания плодов, а в этот период содержание белков и липидов уменьшается.

## Пектиновые вещества створок *Ph. vulgaris*

Пектиновые вещества представляют собой белый сыпучий порошок с кремоватым оттенком, полностью растворяются в воде с образованием вязких растворов и имеют значение относительной вязкости 12.54 (с 1.0; H<sub>2</sub>O),  $[\alpha]_D^{20} +175^\circ$  (с 1.0%; H<sub>2</sub>O) и Мм 316 кДа. Моносахаридный состав установили методом полного кислотного гидролиза с последующим использованием хроматографических методов БХ и ГХ. Результаты исследования показали, что ПВ состоят из рамнозы, арабинозы, ксилозы, маннозы, глюкозы, галактозы в соотношении 9.1:5.9:2.0:1.0:1.0:16.5. Количество уроновых кислот определяли карбазольным методом, где оно составляло 73,5%. Доминирующими нейтральными сахарами являются рамноза, галактоза, а также уроновые кислоты. В ИК-спектре ПВ, в основном, присутствовали полосы поглощения в области 760, 831, 870, 890, 956, 1016, 1104, 1148, 1236, 1328, 1367, 1415, 1443, 1617, 1749, 2933, 3446 см<sup>-1</sup>. Наличие в ИК-спектре триплета 831, 870, 890.см<sup>-1</sup> и высокая положительная величина удельного вращения позволяют предположить, что в ПВ остатки галактуроновой кислоты в пиранозной форме связаны между собой 1,4-гликозидными связями в  $\alpha$ -конфигурации. Полосы поглощения в области 1700-1800 см<sup>-1</sup> характерны для сложноэфирных и карбоксильных групп, а полосы поглощения в области 1500-1600 и 1400-1520 см<sup>-1</sup> свидетельствуют о наличии карбоксилат иона. Кроме того, в ИК-спектре ПВ присутствует полоса поглощения в области 1367 см<sup>-1</sup>, характерная для метильной группы. Методом титриметрического анализа установлено содержание свободных (Кс)-1.46% и этерифицированных карбоксильных групп (Кэ)-7.92%, при этом степень этерификации (СЭ) равна 84.4%. Следовательно, ПВ *Ph. vulgaris* относится к высокоэтерифицированным пектинам.

Таким образом, пектиновые вещества створок фасоли являются высокоэтерифицированными макромолекулами, состоящими из нейтральных и кислых моносахаридов.

## Галактуронан пектиновых веществ *Ph. vulgaris*

Кислотным гидролизом ПВ (1н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100°C, 2 час) получили полисахарид, в гидролизате которого присутствовала только галактуронозная кислота, т.е. галактуронан. Это свидетельствует о том, что галактуронан составляет главную цепь макромолекулы полисахарида, что позволяет отнести его к классу пектиновых веществ.

Галактуронан-белый аморфный порошок, частично растворяется в воде, в слабо щелочной среде аммиака образует прозрачный раствор с  $[\alpha]_D^{20} +200^\circ$  (с 1.0; NH<sub>4</sub>OH). Удельное вращение раствора галактуронана выше, чем у исходного пектина, это связано с тем, что нейтральные сахара понижают удельное вращение пектиновых веществ, а высокое значение этого показателя растворов ПВ и галактуронана свидетельствует о том, что остатки галактуронозной кислоты находятся в пиранозной форме и соединены  $\alpha$ -гликозидной связью, что подтвердил анализ ИК-спектров указанных соединений. В ИК-спектре галактуронана присутствовали полосы поглощения,

указанные выше, которые отличались от таковых в исходном ПВ интенсивностью. Полоса поглощения, показывающая наличие О-СН<sub>3</sub>-групп отсутствовала, так как при гидролизе происходит их полное отщепление.

Для определения типа связи между остатками галактуроновой кислоты галактуронан подвергали йодно-азотному окислению. Были выявлены щавелевая и винная кислоты, последняя является основным продуктом. Получение винной кислоты указывает на то, что окислению подвергаются α-диольные группировки у второго и третьего углеродного атома остатков галактуроновой кислоты. Это возможно только при наличии 1→4 гликозидной связи между остатками *D-GalAp*.

Метилированием галактуронана, предварительно восстановленного до галактана, получили перметилат, в гидролизате которого ТСХ идентифицировали 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-галактозу и 2,3,6-три-О-Ме-D-галактозу, как основной продукт. Обнаружение 2,3,6-три-О-Ме-D-галактозы свидетельствует о наличии в галактуронане 1,4-гликозидной связи между гексозными остатками, что подтверждают данные ИК-спектроскопии и йодно-азотного окисления.

Далее строение галактуронана пектиновых веществ было изучено методом <sup>13</sup>С ЯМР спектроскопии.

Спектр <sup>13</sup>С ЯМР галактуронана указывает на присутствие в углеводной цепи фрагмента →4-α-*D-GalAp*-1→, который даёт сигнал аномерного углеродного атома при 99,1 м.д. (С1). Положение сигналов остальных углеродных атомов остатков *D-GalAp* соответствует химическим сдвигам: 68 (С2), 70.5 (С3), 77.9 (С4), 71.3 (С5) 173.9 м.д. (С6) (рис.1). Сигнал С6 – 173.9 м.д. в спектре указывает на отсутствие метоксильных групп в галактуронане. Известно, что метоксилированная галактурононовая кислота даёт сигнал при 172.4 м.д. в дополнение к сигналу углерода метоксильной группы при 54.1 м.д.

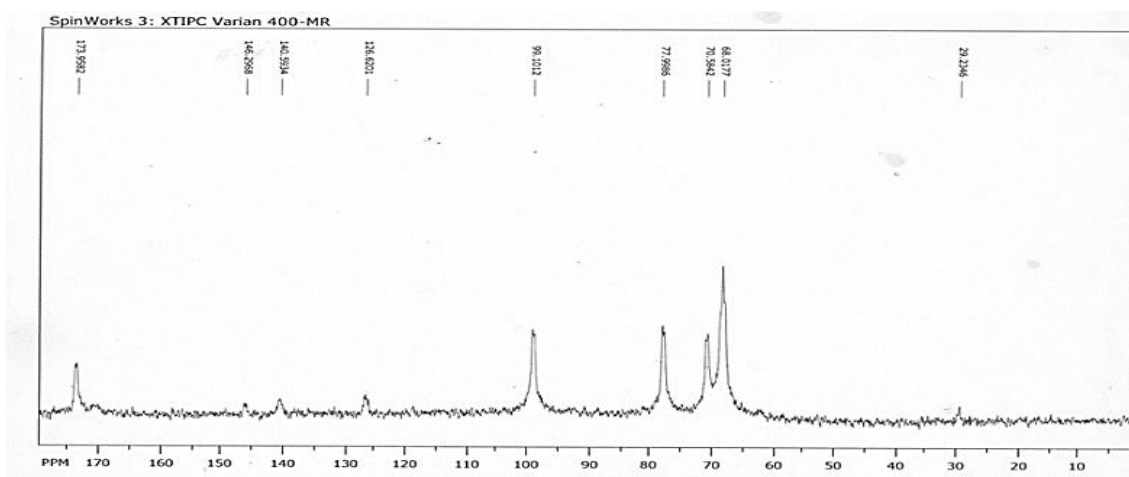


Рис.1. <sup>13</sup>С ЯМР спектр галактуронана пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris*

Таким образом, основная цепь пектина представлена линейным 1,4-α-D-полигалактуронаном.

### Строение углеводной цепи пектиновых веществ

Для изучения строения углеводной цепи биополимера применяли частичный кислотный гидролиз трифторуксусной кислотой (0.5М ТФУ, 60-70°C, 4 час). При этом получили деполимеризованные фракции пектина: кислотонерастворимую ДПВ-1 с выходом - 44%, кислоторастворимую ДПВ-2 с выходом 34% и фракцию ДПВ-3, моносакхаридный состав последней представлен нейтральными сахарами и доминирующими являются глюкоза и арабиноза, вероятно, эти моносакхариды представляют боковую разветвленную часть пектина (табл.3). Гидролиз ПВ ТФУ сопровождается отщеплением кислых и нейтральных моносакхаридов, что влияет на такие параметры, как количественный выход, качественный состав моносакхаридов и их соотношение. Полученные результаты титриметрического анализа позволяют считать, что ДПВ-1 является - высокоэтерифицированным, а ДПВ-2 - менее этерифицированным деполимеризованными пектинами. В ИК- спектрах изучаемых полисахаридов присутствуют полосы поглощения, характерные для карбоксиполисахаридов, которые отличаются от нейтральных интенсивностью полос поглощения, прежде всего, в области 1749-1747см<sup>-1</sup>, характерной для колебания С=О связи карбоксианиона. Ионизированный карбоксил, связанный с металлами, отражается полосами поглощения в области 1627-1624 см<sup>-1</sup> и 1445-1415 см<sup>-1</sup>. Полоса поглощения в области, 1367-1370 см<sup>-1</sup>, определяющая наличие метоксильных групп, проявляется менее интенсивно в ДПВ-1, а в ДПВ-2 по сравнению с таковой в исходном ПВ почти не заметна. В спектре ДПВ-1 полосы поглощения при 890 и 951 см<sup>-1</sup> характеризуют α-гликозидную связь и наличие молекулы рамногалактуронана I (RG-I). В спектре ДПВ-2 полосы поглощения в области 1077-1046 см<sup>-1</sup> свидетельствуют о присутствии β-арабиногалактана.

Таблица 3.

Выход и моносакхаридный состав деполимеризованных пектинов *Ph. vulgaris*

Тип ПС	Выход, %	Мм, кДа	Соотношение моносакхаридов						UA, %
			Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
ДПВ-1	44	204	3.4	4.9	2.9	1.0	3.7	15.5	87.5
ДПВ-2	34	100	2.9	5.4	3.5	1.0	3.9	24.7	54.0
ДПВ-3	-	-	1.8	3.3	1.0	1.3	4.6	1.5	-

В гидролизатах ДПВ-1 и ДПВ-2 в преобладающих количествах находятся галактоза, арабиноза в соотношениях 4.9:15.5 и 5.4:24.7 и галактуроновая кислота 87.5 и 54% соответственно. Высокое содержание остатков арабинозы и галактозы показывает о присутствии арабиногалактановых и/или галактановых фрагментов в боковой цепи пектина. Присутствие остатков рамнозы говорит о том, что разветвленные цепи ДПВ-1 и ДПВ-2 представлены рамногалактуронанами I (RG-I). В ДПВ-1 содержание галактуроновой кислоты увеличивается за счет отщепления нейтральных моносакхаридов. Уменьшение молекулярной массы и показателя относительной вязкости связано с разрывом гликозидных связей в основной цепи полимера. По мере гидролиза происходит



деэтерификация метоксильных групп, что приводит к низкому значению степени этерификации (табл.4).

Таблица 4.

Физико-химические характеристики пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris*

№	Пектины	$\eta_{отн}$	ММ, kDa	Кс, %	Кэ, %	СЭ, %
1	Исх. ПВ	12.5 (с 1;H <sub>2</sub> O) 6,17(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	316	1.5	7.9	84.4
2	ДПВ-1	20.8(с 1;H <sub>2</sub> O) 6,68(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	204	1.7	10.2	83.5
3	ДПВ-2	11.3(с 1;H <sub>2</sub> O) 3,94(с 0,5;H <sub>2</sub> O)	100	1.8	3.6	66.9

Таким образом, результаты частичного кислотного гидролиза позволили предположить, что разветвленная область ДПВ-1 представлена рамногалактуронаном, боковые цепи пектина, скорее всего, представлены арабиногалактанами и/или галактанами.

**Структура разветвленной цепи пектиновых веществ**

Пектиновые вещества *Ph.vulgaris* подвергали ферментативному гидролизу с пектиназой ( $\alpha$ -глюкопиранозилураназой) при температуре 37°C в течение 3 часов. Как известно, в этом случае происходит расщепление связей в  $\alpha$ -1,4-D-галактопиранозилуранане, которое при наличии линейных участков  $\alpha$ -1,4-галактуроновой кислоты приводит к образованию свободной галактуроновой кислоты в гидролизате и получению кислых фрагментов, находящихся в разветвленных участках пектина. Таким образом, обработка ПВ пектиназой приводит к заметной его деградации, в результате была получена сумма гидролизатов устойчивых к действию фермента. Гидролизат осаждали спиртом, получили сумму фрагментов - PhV с выходом 66.6%. В маточном спиртовом растворе была обнаружена свободная глюкоза. Основными моносахаридами – PhV были рамноза, арабиноза, галактоза в соотношении 9.1:5.9:16.5 ксилоза и глюкоза были в наименьшем количестве. Содержание галактуроновой кислоты, определенное карбазольным методом, составило 73.5%.

Далее PhV фракционировали через колонку с ДЭАЭ целлюлозой (ОН-форма). Колонку промывали водой, выход полисахарида контролировали фенол-сернокислотным методом. Водный элюат упаривали и осаждали спиртом, получили фракцию PhV -1 с выходом 32% и моносахаридный состав, в основном, представлен галактуроновой кислотой (71.2%), рамнозой (15.2%) и незначительными количествами глюкозы, ксилозы. В спектре <sup>13</sup>C ЯМР PhV -1 химические сдвиги 99.5 (C1),68.8 (C2), 69.5 (C3), 78.4 (C4), 71.9 (C5),176.1 м.д.(C6) свидетельствуют о присутствии фрагмента ( $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-GalAp ( $\rightarrow$ ) (рис.2).

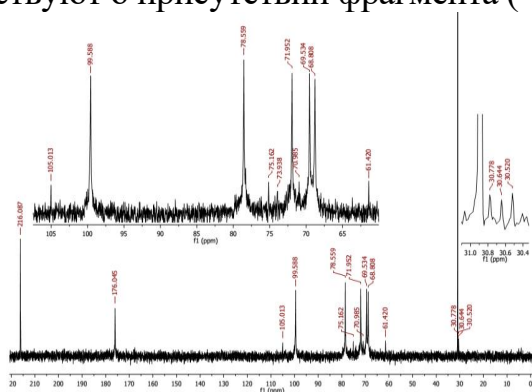


Рис.2 <sup>13</sup>C ЯМР спектр фрагмента PhV-1

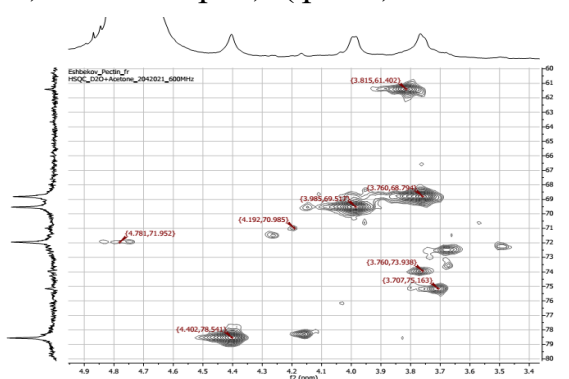


Рис.3 HSQC спектр фрагмента PhV-1

Слабый сигнал в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР 1.34 м.д. указывает на присутствие остатков  $\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}$ . Следовательно, в разветвленной цепи ПВ имеются фрагменты рамногалактуронана  $\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}$  (рис.3, табл.5).

Таблица 5.

Химические сдвиги сигналов  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  в спектрах ЯМР фрагмента PhV -1

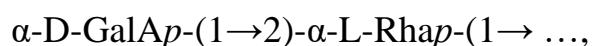
Остаток	Химические сдвиги $\delta$ м.д. ( $\text{D}_2\text{O}$ +ацетон)					
	C1/ H1	C2/ H2	C3/ H3	C4/ H4	C5/ H5	C6C6'/ H6
$\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-GalpA-(1}\rightarrow$	99.5 5.05	68.8 3.77	69.5 3.98	78.5 4.4	71.9 4.78	176.0 -
$\beta\text{-Galp-(1}\rightarrow$	105.0 4.62	71.9 4.3	74.1 3.70	70.1 4.2	72.2 3.4	64.8 3.8
$\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-Galp-(1}\rightarrow$	100.0 4.7	н.о 3.81	н.о 3.67	72.9 н.о	70.9 3.93	н.о 4.19
$\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-Rhap-(1}\rightarrow$	н.о н.о	77.9 4.12	70.9 3.85	73.9 3.67	н.о 4.03	н.о 1.24
$\rightarrow 2,4)\text{-}\alpha\text{-Rhap-(1}\rightarrow$	104.9 5.1	71.9 4.16	78.6 3.67	70.9 3.49	75.9 4.16	70.9' 1.44

Примечание: \*н.о.-не определено

Затем колонку промывали 0.2 н раствором NaCl и получили фрагмент PhV-2 с выходом 48%. Основными составляющими компонентами фрагмента PhV -2 являются галактоза, арабиноза в соотношении 4.5:1 и галактуроновая кислота (23.7%). Следовательно, фракция PhV-2, которая устойчива к действию пектиназы, является арабиногалактаном, что подтверждают данные ИК-спектроскопии и частичного кислотного гидролиза (ДПВ-2) о присутствии арабиногалактана в боковой цепи макромолекулы ПВ. Для установления типа связи между моносахаридными остатками PhV-2 метилировали по методу Хакомори. В продуктах гидролизата перметилата ТСХ с использованием метчиков идентифицировали: 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-Galp, 2,3,4-три-О-Ме-D-Galp, 2,4-ди-О-Ме-D-Galp, 2,3,5-три-О-Ме-L-Araf, 2,3-ди-О-Ме-L-Araf. Присутствие 2,3,4-три-О-Ме-D-Galp говорит о возможности 1,6-связанных галактопиранозных остатков. Обнаружение 2,3,5-три-О-Ме-L-Araf, 2,3-ди-О-Ме-L-Araf свидетельствует о том, что в PhV-2 часть боковых цепей состоит из остатков терминальной и 1,5 связанной арабинофуранозы. Вероятно, что в боковой цепи пектина присутствует арабиногалактан.

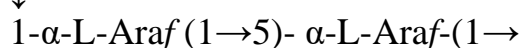
Результаты структурных исследований фрагментов пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris* свидетельствуют о том, что главной углеводной цепью является линейный высокоэтерифицированный  $\alpha\text{-1,4-D-галактопиранозилуронан}$ :  $\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}\rightarrow \dots$ ,

боковые цепи представлены рамногалактуронаном-I (RG-I) и арабиногалактаном:



3

↓



## Калиево-магниевые соединения пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris* и их биологическая активность

Модификация молекулы пектина введением в нее ионов биогенных металлов существенно повышает биологическую активность пектина.

Нами были синтезированы соли пектина с биогенными металлами - калий, натрий и магний, исследованы их физико-химические свойства и биологическая активность.

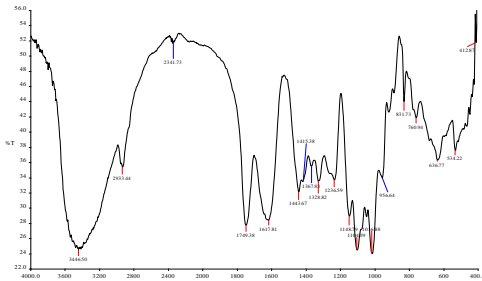


Рис. 4 ИК-спектр исходного ПВ *Ph.vulgaris*

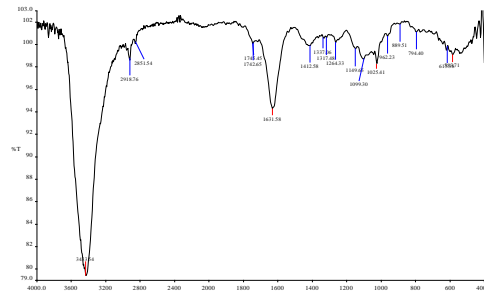


Рис. 5 ИК-спектр калиевой соли ПВ *Ph.vulgaris*

На первой стадии ПВ обрабатывали щелочью, получили пектат натрия со 100% содержанием натрия, щелочную среду (pH 9-10) добавлением уксусной кислоты переводили в слабокислую область (pH 4-5), затем добавлением KI получили калиевую соль пектина – ПВ-К. Аналогичным способом были получены соединения ПВ-Mg и ПВ-KMg. В ПВ-К содержание калия составляет - 0,37%, ПВ-Mg содержание магния - 1,67%, ПВ-KMg содержание калия-1,44%, магния-1,27%. Синтезированные вещества представляют собой порошки светло-кремового цвета, растворимые в воде. В спектрах наблюдалось исчезновение полосы поглощения валентных колебаний  $\nu(\text{C}=\text{O})$  карбоксильной группы при  $1749 \text{ см}^{-1}$  и появление полос поглощения валентных колебаний  $\nu(\text{C}=\text{O})$  при  $1631\text{-}1638 \text{ см}^{-1}$ , характерных для ионной формы (рис.4, 5). Полученный пектат калия был исходным лигандом для синтеза металлокомплексов, затем по реакции лигандного обмена иона  $\text{K}^+$  на катион  $\text{Mg}^{+2}$  синтезировали целевое соединение – ПВ-KMg.

ПВ и металлопроизводные (ПВ-К; ПВ-Mg; ПВ-KMg) изучали методами рентгенофазного анализа и электронной микроскопией. Результаты анализов показали, что пектин и его металлокомплексы образуют глобулярные структуры типичные для аморфных полимеров.

### Биологическая активность пектиновых веществ, их калиевых солей и суммарного водного экстракта-глифасана

Фармакотоксикологические испытания проводились совместно с сотрудниками отдела фармакологии и токсикологии ИХРВ АН РУз. (д.м.н., проф. Сыров В.Н., м.н.с. Саидходжаева Д. М.).

Влияние синтезированного ПВ-К на сердечно-сосудистую систему было изучено на крысах-самцах массой 150-180 г. Пектин и ПВ-К вводили животным орально в виде водного раствора в дозе 100 мг/кг течение 30 дней. Определили небольшое увеличение общего содержания калия в сердечной мышце (на

18,1%), общее содержание натрия в мышце при этом существенно не менялось. Отмечено, что ни введение в аналогичной концентрации калия в организм животных, ни введение самого пектина на содержании калия в сердечной мышце не сказывалось.

**Таблица 6.**

**Влияния пектина и ПВ-К на содержание калия и натрия в миокарде и холестерина в сыворотке крови ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Условия Эксперимента	К общий	$K_i$	$K_e$	$K_i/K_e$	К общий/ Na общий	Холестерин
Интактные животные (контроль)	251.0±15.3	245.6±15.2	5.4±0.23	45.6±2.8	1.83±0.08	72.2±2.4
ПВ	250.3±19.4	245.0±19.3	5.3±0.19	46.1±3.4	1.85±0.21	59.8±2.9*
ПВ-К	296.5±19.4 *	2909±5.1*	5.5±0.22	53.1±1.8*	2.19±0.05 *	60.5±2.7*
Калий	252.0±10.4	246.5±10.5	5.5±0.23	45.2±3.0	1.84±0.09	73.3±3.9
Условия эксперимента	Na общий	$Na_i$	$Na_e$	$Na_i/Na_e$	-	-
Интактные животные (контроль)	136.7±4.2	17.8±3.2	118.8±2.8	0.15±0.03	-	-
ПВ	139.5±8.5	20.0±8.4	119.5±3.3	0.16±0.07	-	-
ПВ-К	141.2±2.7	17.2±3.3	124.0±2.9	0.14±0.03	-	-
Калий	139.5±2.2	16.3±2.3	123.0±1.6	0.13±0.02	-	-

*Примечание.* Величины К и Na даны в мэк/в на 1кг сухой ткани мг% ( $i$ -внутриклеточной,  $e$ -внеклеточный), холестерина –; \*-достоверность по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

Необходимо отметить, что под действием ПВ-К количество калия внутри клетки достоверно возросло. Накопление внутриклеточного калия под действием ПВ-К происходило при повышении его клеточного градиента на 16,4%. Содержание натрия в этом случае также практически не менялось. Отношение общего содержания калия к общему содержанию натрия возросло под действием ПВ-К на 19.6%. Результаты показали, что ПВ-К и сам ПВ практически в одинаковой степени снижали содержание холестерина в сыворотке крови (табл.6).

Таким образом, использование ПВ-К в отличие от собственно раствора калия в той же концентрации в определенной степени способствует повышению его содержания в кардиомиоцитах, что, может быть обусловлено влиянием пектинов на проницаемость клеточных мембран, процессами перекисного окисления липидов, играющих определенную роль в изменении их проницаемости. Это обстоятельство как раз может способствовать увеличению количеству калия, проникающего внутрь клетки.

**Антидиабетическая активность глифасана**

Глифасан- сухой водный экстракт створок *Ph.vulgaris* представляет собой

белый аморфный порошок растворимый в воде. Химический состав, в основном, представлен водорастворимыми полисахаридами, а также флавоноидами, белками и дубильными веществами. При пероральном введении глифасана белым мышам (18-20 г) в дозе 3000 мг/кг токсического состояния не наблюдалось. Это прослеживалось в динамике в течение 14 дней, гибели этих животных не наблюдали. Результаты эксперимента показали, что глифасан является малотоксичным соединением.

Таблица 7.

Влияния Глифасана на уровень гликемии у крыс при однократном введении (M±m, n=6)

Условия эксперимента	Уровень гликемии, ммоль/л			Эффект в % по отн. к исходному уровню
	Исходный Ст=3,82 ммоль/л	средний	По окончании эксперимента Ст=3,82 ммоль/л	
Контроль	3.06	3.78	11.6	11.78
	3.31		8.8	
	4.99		9.42	
Глифасан	4.71	5.29	5.7	7.27
	4.60		5.7	
	6.58		10.6	
	3.35		4.7	

Изучали соответствующее действие глифасана на течение аллоксановой гипергликемии и аллоксанового диабета. Введение глифасана в дозе 150 мг/кг белым крысам-самцам (120-180 г) через 3 часа снижало уровень сахара в крови на 16,2% (p<0,05) (табл.7, 8).

Таблица 8

Влияния Глифасана на уровень гликемии у крыс при длительном введении (M±m, n=6)

Название	До	Средний	После глюк.нагрз.	Средний
	Ст=3,82 ммоль/л		Ст=3,82 ммоль/л	
Контроль	4.01	4.01	13.34	12.1
	5.06		11.02	
	2.96		12.19	
Глифасан	3.74	3.45	3.87	4.00
	3.25		4.19	
	3.35		3.98	

Наиболее выраженный гипогликемический эффект глифасана выявлен на фоне аллоксанового диабета (подкожное введение 150 мг / кг аллоксана). Однократный прием глифасана снизил уровень сахара в крови на 23,4%. Экспериментальные данные показали, что глифасан превосходит сравнительный препарат Адебит в 1,6 раз и может быть потенциальным источником получения БАД для профилактики диабета.

## Антимикробная активность суммарного водного экстракта створок *Ph. vulgaris* – глифасан

Совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной генетики ИХРВ АНРУз (PhD Ф. Эшбоев, к.х.н. С. Сасмаков) был проведен скрининг *in vitro* на антимикробную активность суммарного водного экстракта-глифасан. Для контрольного исследования были использованы антибиотики ампициллин (для грамположительных бактерий), цефтриаксон (для грамотрицательных бактерий) и флуконазол (для грибов) (Himedia Laboratories Pvt. Limited), а ddH<sub>2</sub>O - в качестве отрицательного контроля. В результате анализа антибактериальной активности показано, что 1 %-ный водный раствор глифасана задерживает рост грампозитивного штамма *Staphylococcus aureus* на 22 мм, композиция глифасана с антибиотиком сильно задерживала рост также *Bacillus subtilis* на 30 мм и заметно - *Escherichia coli* на 14 мм, глифасан не проявлял противогрибковое действие.

### ВЫВОДЫ

1. Впервые изучено влияние сезонной динамики на содержание первичных метаболитов (углеводы, белки и липиды) створок *Ph. vulgaris*. Показано, что ПВ являются доминирующими полисахаридами в период созревания плодов и представляют собой высокоэтерифицированный и высокомолекулярный биополимер, а содержание белков и нейтральных липидов в этот период уменьшается.

2. Частичным кислотным и ферментативным гидролизом с последующей ионнообменной хроматографией получены пектиновые фрагменты PhV-1, PhV-2 с Мм 204 и 100 кДа, с доминирующими моносахаридами: арабиноза, галактоза и галактуроновая кислота.

3. Впервые химическими и спектральными методами установлено, что макромолекула пектиновых веществ створок *Ph.vulgaris* представляет собой линейный полигалактуронан ( $\alpha$ -1→4-GalpA→), разветвленная область представлена рамногалактуронаном (RG-1), а боковые ответвления - арабино-3,6-галактаном.

4. Разработано оптимальное условие получения калиево-магниевых соединений на основе калиевых солей пектиновых лигандов. Элементный анализ металлокомплексов проведен сканирующим электронным микроскопом (СЭМ). Рентгенографический и электронно-микроскопический анализы пектина и его солей показали, что они образуют глобулярные структуры типичные для аморфных полимеров.

5. Показано, что калиевые соли пектина и сам пектин практически в одинаковой степени снижали содержание холестерина в сыворотке крови, а также они способствовали повышению содержания калия в кардиомиоцитах.

6. Фармакологические исследования показали, что сумма водных экстрактов - глифасан является малотоксичным соединением и проявляет антимикробную и антидиабетическую активность.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES DSc.  
02/30.01. 2020.K/T.104.01 AT THE INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT  
SUBSTANCES**

---

**NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

**ESHBEKOV AZAMAT ERKINOVICH**

**CHEMICAL PROPERTIES AND STRUCTURE OF PECTIN SUBSTANCES  
IN THE VALVES OF *PHASEOLUS VULGARIS***

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

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

**Tashkent – 2021**

**The theme of dissertation doctor of philosophy (PhD) was registered at the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number of B2020.4.PhD/K135**

The dissertation has been prepared at the Institute of Chemistry of Plant Substances.

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

**Scientific supervisor:**

**Rakhmanberdyeva Rano Karimovna**

doctor of sciences in chemistry, leading scientific researcher

**Official opponents:**

**Aripova Salima Fazilovna**

doctor of sciences in chemistry, professor

**Shomurodov Shavkat Abduganievich**

doctor of sciences in chemistry, senior scientific researcher

**Leading organization:**

**Tashkent Pharmaceutical Institute**

Defense will take place on \_\_ \_\_ 2021 year \_\_ \_\_ at the meeting of the Scientific council DSc.02.30.01.2020.K/T.104.01 of the Institute of Chemistry of Plant Substances at the following address: 100170, Tashkent, 77 M.Ulugbek street. Phone: 262-59-13, Fax: (99871) 262-73-48, e-mail: [nhidirova@yandex.ru](mailto:nhidirova@yandex.ru)

Dissertation is registered at the Information Resource Centre at the Institute of Chemistry of Plant Substances (registration number \_\_\_\_\_). (Address: 100170, Tashkent, 77 M.Ulugbek street. Phone: 262-59-13, Fax: (99871) 262-73-48)

Abstract of dissertation is distributed on \_\_\_\_\_ 2021.

(Protocol at the register No \_\_ dated \_\_\_\_\_ 2021).

**Sh.Sh. Sagdullaev**

Chairman of the scientific council for the award academic degrees, doctor of technical sciences, professor

**N.K. Khidirova**

Scientific secretary of scientific council on award of scientific degrees, PhD in Chemistry

**S.F. Aripova**

Chairman of scientific seminar under scientific council on award of scientific degrees, D.Ch.Sc., professor



## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of research work** is the structural-chemical study of the pectin substances of the valves of *Phaseolus vulgaris*, the establishment of the structure of the main and side chains of the pectin macromolecule, the production of pectin metal complexes and the identification of their biological activity.

**The objects of study** are the shells of common beans (*Phaseolus vulgaris*), water-soluble polysaccharides, pectin substances, hemicelluloses, Na-, K- pectin salts, Na-, K- Mg-pectin complexes.

**The scientific novelty of the dissertation research** is as following:

-for the first time, the influence of seasonal dynamics on the content of carbohydrates, proteins and lipids from the valves of *Ph.vulgaris* was determined. It has been established that bean shells are a source of pectin substances;

-isolated pectin substances and determined their physicochemical parameters and monosaccharide composition;

-for the first time, pectin fragments were obtained by enzymatic and acid hydrolysis of pectin macromolecules, the structure of which was established by chemical and spectral methods;

- the main chain of the pectin macromolecule consisting of poly-D-galacturonan, it was found that the side chain is represented by L-rhamnogalacturon-1 and arabinogalactan.

-extracted potassium salts, potassium-magnesium complexes of pectin have been studied on the effect of them on the cardiovascular system. It has been shown that pectins and their salts have hypocholesterolemic activity;

- an aqueous extract - glyfasan of *Ph. vulgaris* has shown an antimicrobial and antidiabetic activity.

**Implementation of the results.** The obtained scientific results on the structure and chemical properties of pectin substances in the valves of *Phaseolus vulgaris*:

-were used in the implementation of the FA-F6-007 project «Research of biologically active polysaccharides of medicinal plants and their modified forms (2017-2020)» (certificate dated May 21, 2020, registration No. 4 / 2155-1948). The data obtained are used to substantiate the possibility of using medicinal plant pectins in various sectors of the national economy.

The results obtained showed the possibility of using the pectin substances of medicinal plants in various areas of the national economy.

-and also during the implementation of the scientific project No. AR05131003 of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan «Fundamental problems of highly charged polyampholytes at their isoelectric point (2018-2020)» (conclusion of the Institute of Polymeric Materials and Technologies, 2020, No. 1). On the basis of pectin, more effective medicinal polymers of prolonged action have been obtained, which made it possible to improve the methodology for carrying out the above project.

A laboratory regulation «Antidiabetic dietary supplement Glyfasan» from an aqueous extract of bean leaflets has been developed (approved by the director of the Institute of Chemical Chemistry, May 21, 2021)

**The structure and volume of the thesis.** The structure of the thesis consists of an introduction, three chapters, conclusions, bibliography, appendices. The volume of the thesis is 92 pages.

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

**I бўлим (I часть; part I)**

1. Эшбеков А.Э., Атхамова С.Қ. Пектиннинг калийли тузларини синтез қилиш // ЎзМУ хабарлари.- 2017. -№3/1.-С. 466-468 (02.00.00, №12).
2. Eshbekov A.E., Rakhmanberdyeva R.K., Malikova M.Kh. Pectinic substances from *Phaseolus vulgaris* SHELLS //Chem. Nat. Compd., 2019,V. 55, p. 239-241 (№40, RG, IF -0,570). Scopus.
3. Эшбеков. А.Э. Маликова М,Х., Саидходжаева Д.М., Рахманбердыева Р.К., Сыров В.Н., Маулянов С.А. Калиево-магниевые комплексы пектиновых веществ створок *Phaseolus vulgaris* и их биологическая активность // Фармацевтика журналы., 2020, № 2, с. 25-31 (02.00.00. № 2).
4. Eshbekov A.E., Malikova M.Kh., Rakhmanberdyeva R.K., Mejlumyan L.G., Xidoyatova Sh K., Gusakova S.D. Influence of seasonal dynamics on carbohydrate, lipid, and protein contents in *Phaseolus vulgaris* pods // Chem. Nat. Compd, 2021 V. 57. P 1-5 (№40, RG, IF -0,653). Scopus.

**II бўлим (II часть; part II)**

5. Эшбеков А.Э., Атхамова С.Қ., Долимов Д.Н. Пектин табиий биологик фаол қўшимча // Республиканская научно-техническая конференция «Композицион материаллар» фан-тараққиёти, Ташкент. 2015 г. -с. 297-298.
6. Эшбеков А.Э., Пектиннинг озиқ-овқат ва тиббиётда ишлатилиши // Республика илмий-амалий конференцияси «Назарий ва амалий кимё ёшлар нигоҳида». ЎзМУ. Тошкент. 2015 й. -С. 78.
7. Эшбеков А.Э., Атхамова С.Қ. Пектин хавфсиз табиий биологик қўшимча // Республика илмий-амалий конференцияси «Кимё фанининг долзарб муаммолари», Тошкент 2013 й, -С. 129.
8. Эшбеков А.Э., Рахманбердыева Р.К. Пектиновые вещества створок *Phaseolus vulgaris* //Межд. науч. конф. «Лекарственные препараты на основе природных соединений», ИБОХ, Ташкент. 18-19 сентября 2018 год. -с.48.
9. Эшбеков А.Э., Рахманбердыева Р.К., Маликова М.Х. Углеводы зелёных створок *Phaseolus vulgaris*., Межд. Симп. «Актуальные проблемы химии природных соединений», ИХРВ.Ташкент. 18-19 май 2019 год, -с. 49.
10. Эшбеков А.Э., Саидходжаева Д.М, Рахманбердыева Р.К., Сыров В.Н. Металлокомплексы пектиновых веществ створок *Phaseolus vulgaris* // «XI Всероссийская научная конференция с международным участием» Россия. Сыктывкар. 2019 г. -с. 267.
11. Eshbekov A.E., Rakhmanberdyeva R.K., Malikova M.Kh. Seosenal dynamic of polysaccharides accumulation in the wases of *Phaseolus vulgaris* //»XIII

Inter. Symp. on the Chem. of Natural Compounds Shanghai» 16-19 oktober, 2019. p.92.

12. Эшбеков А.Э., Маликова М.Х., Рахманбердиева Р.К. Углеводы створок *Phaseolus vulgaris* // V.Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых, Химическая наука» 2020, Башкирия.

Автореферат «ЎзМУ хабарлари» журнали таҳририятида таҳрирдан ўтказилиб,  
ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

Бичими: 84x60 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. «Times New Roman» гарнитураси.  
Рақамли босма усулда босилди.  
Шартли босма табоғи: 3. Адади 100. Буюртма № 35/21.

Гувоҳнома № 10-3719  
«Тошкент кимё технология институти» босмаҳонасида чоп этилган.  
Босмаҳона манзили: 100011, Тошкент ш., Навоий кўчаси, 32-уй.