

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ



БИООРГАНИК КИМЁ
ФАНИДАН
ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИ

Тошкент-2019

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ**

**“БИООРГАНИК КИМЁ” ФАНИДАН
ЛАБОРАТОРИЯ МАСҲУЛОТЛАРИ
(бакалаврлар учун услубий қўлланма)**

Тошкент 2019

Ушбу услубий қўлланма университетлар кимё факультетларида «Биоорганик кимё» фани бўйича тузилган ўқув дастурида кўрсатилган мавзуларни ўз ичига олади. Унда биоорганик кимёнинг асосий бўлимларидан ҳисобланган биополимерлар - оксиллар кимёси, уларнинг таркибий қисмлари - α -аминокислоталар ва пептидлар, тузилишлари, физикавий ва кимёвий хоссалари, стереокимёси, ферментлар ва уларнинг вазифалари, нуклеин кислоталар (РНК, ДНК) ва уларнинг таркибини ташкил этувчи нуклеин асослари, нуклеозидлар ва мононуклеотидларнинг тузилишлари, углеводлар - моносахаридлар, дисахаридлар, полисахаридлар, тузилишлари, хоссалари, кичик молекулали биорегуляторлар - алкалоидлар, витаминлар, стероид гормонлар, антибиотиклар, пестицидлар, токсинлар, уларнинг олиниши, тузилишлари ва юқорида келтирилган бирламчи ва иккиламчи метаболитларнинг табиий манбалардан ажратиш усуллари баён этилган.

Қўлланма асосан университетларнинг кимёгар бакалавр талабалари учун мўлжалланган бўлиб, ундан биоорганик кимё соҳасида билим олаётган магистрантлар, докторантлар (PhD) ва шу соҳа бўйича иш олиб бораётган илмий ходимлар ҳам фойдаланишлари мумкин.

Тузувчилар: Маулянов С.А.
Бобоев Б.Н.
Ҳайтбоев А.Х.
Ҳамидова Г.Р.

Тақризчилар: Абдушукуров А.К.
Тилябаев З.

Услубий қўлланма Табиий бирикмалар кимёси кафедрасининг 2019 йил 23 октябрдаги 5-сонли мажлисида кўриб чиқилган ва нашрга тавсия қилинган.

Услубий қўлланма Кимё факультети Услубий кенгашининг 2019 йил 29 октябрдаги 3-сонли мажлисида кўриб чиқилган ва нашрга тавсия этилган.

Услубий қўлланма Ўзбекистон Миллий университети Услубий Кенгашининг 2019 йил 9 ноябрдаги 2-сонли йиғилиши баённомаси билан нашрга тавсия этилган.

КИРИШ

Биоорганик кимё фани тирик мавжудотлар организмда учрайдиган ва ҳаёт учун муҳим бўлган биополимерлар (оксиллар, пептидлар, ферментлар, нуклеин кислоталар, углеводлар, липидлар, биологик мембраналар) ва кичик молекулали биорегуляторлар (алкалоидлар, витаминлар, флавоноидлар, гормонлар, антибиотиклар, простагландинлар, ўсимликларнинг ўсишини тартибга солувчи моддалар, феромонлар, пестицидлар ва бошқалар) нинг кимёвий тузилишлари ва биологик фаолликлари ўртасидаги боғланишни ўрганадиган фандир.

Биоорганик кимё курсидан бакалаврлар учун мўлжалланган услубий қўлланма ЎзМУ Кенгаши томонидан тасдиқланган ишчи дастур асосида ишлаб чиқилди (2018 й. 26 июнь, баённома №7).

Биоорганик кимё курсидан олиб бориладиган лаборатория машғулотларининг асосий мақсади – талабаларнинг мазкур курсни илмий-назарий томондан ўзлаштириши, тадқиқотлар ўтказиш ёрдамида олинган тажриба натижаларини таҳлил қилиш, лаборатория асбоб-ускуналар билан ишлаш кўникмаларини ҳосил қилиш, назорат асбоб-ускуналари билан ишлаш ва экспериментал изланишларда тажрибаларини ошириши ҳисобланади.

Лаборатория машғулотларини бажаришда талабалар кимёвий реагент, асбоб-ускуналар ва кимёвий идишлардан фойдаланишнинг хавфсиз усулларини қўллашни ўрганиш, табиий юқори молекуллар (оксиллар, пептидлар, ферментлар, нуклеин кислоталар, углеводлар, липидлар, биологик мембраналар, ҳамда уларни ташкил қилувчи асосий таркибий қисмлар) бирикмалар хоссаларини ўрганишда улар билан ишлаш, асосий кўникмалар ҳосил қилиш, илмий ишларни бажаришда махсус адабиётлардан фойдаланиш усулларини ўрганиш керак бўлади. Лаборатория ишларини бажаришда техника хавфсизлиги қоидалари, бажариладиган ишларнинг шароити ва турли биополимерлар учун назарий қисм, ўтказиладиган сифат реакциялар, ҳар бир машғулот учун керакли реактив ва жиҳозлар келтирилган.

“БИООРГАНИК КИМЁ” ЛАБОРАТОРИЯСИДА ТЕХНИКА ҲАВФСИЗЛИГИ ҚОИДАЛАРИ

1. Ҳар бир талаба, лаборатория машғулоти бажаришдан аввал ёнгиндан сақланиш ва тиббиёт воситалари қаерда жойлашганлиги билан танишишлари керак.

2. Талаба ҳар бир лаборатория машғулотларини ўтказишдан аввал бажариладиган амалий тажриба иши билан яхшилаб танишиб чиқиши шарт. Бунда у тажриба ўтказиш учун ишлатиладиган моддаларнинг ёнувчанлиги, захарлилиги, портловчанлиги ва бошқа физик-кимёвий хоссалари хақида тўлиқ маълумотга эга бўлиши шарт.

3. Талаба лабораторияда ишлаш жараёнида тозалikka риоя қилиши, сергак бўлиши, ишлатилаётган моддаларнинг устки кийимга ёки терига туширишдан сақланиши, қўлини юзи ва кўзига теккизмаслиги, ишини яқунлаганидан сўнг эса қўлини совунаб ювиши шарт.

4. Лабораторияда овқат ейиш, кимёвий идишлардан фойдаланиб сув ичиш, моддаларнинг таъминини татиб кўриш катъиян ман қилинади. Моддаларнинг ҳидини билишда эса эҳтиётлик чораларига эътибор бериш шарт.

5. Лабораторияда бир кишининг ишлаши катъиян ман қилинади.

6. Ювилмаган кир идишларда тажриба ўтказиш мумкин эмас.

7. Газсимон ва бугсимон органик моддалар портлаш хусусиятига эга, шунинг учун бундай аралашмалар ҳосил бўлишини олдини олиш шарт.

8. Натрий металлининг турли хил суюқ моддалар (жумладан, кислота эритмалари билан) таъсирлашиш реакцияларини фақат химоя кўзойнаклари ёрдамида ўтказиш шарт.

9. Жуда кўпчилик органик моддалар билан олиб бориладиган тажрибалар мўрилли шкаф ёки яхши шамоллатилган хоналарда ўтказилиши мақсадга мувофиқ.

10. Тажрибалардан қолган реагентларни фаолсизлантирилиб махсус идишларга тўкиш керак.

11. Органик бирикмалар билан натрий металлининг таъсирлашиши олиб борилганда ён атрофда сув бўлишидан сақланиш керак. Натрий металлинини фақат курук филтёр қоғози устида аввалдан химоя кўзойнақларини таққан ҳолда амалга ошириш керак. Тажрибадан кейин ортиб қолган барча натрий метали йиғиб олиниб керосинли идишга солинади. Жуда майда натрий бўлаклари эса спирт эритмасига солиниб йўқотилади.

12. Талаба бром билан ишлашда унинг жуда захарлилигини доимо эсда тутиши керак (бром, шиллик пардага таъсир этиш билан биргаликда терида кийин битадиган яралар ҳосил қилади). Бром билан олиб бориладиган барча ишлар мўрилли шкафда олиб борилади. Бром билан қуйиш ҳолатларида, қуйган жой узок вақт давомида спирт билан ишлов берилиб шундан сўнг у тиббиёт бўлимига юборилади.

13. Терига кислота эритмаси текканда, теккан жой тоза сув билан яхшилаб ювилиб сўнгра шу жойга 2-3% ли сода эритмаси билан ишлов берилади. Терига ишқор эритмаси текканда эса, энг аввал тежжан жой тоза сув билан яхшилаб ювилиб сўнгра шу жойга 2-3% ли сирка кислота эритмаси билан ишлов берилади. Кислота ёки ишқор эритмаси беҳосдан кўзга тушганда эса ўша заҳотиёқ кўз тоза сув билан яхшилаб ювилиб сўнгра сода ёки бор кислотаси билан хўлланган пахта билан ишланади, сўнгра яна яхшилаб тоза сув билан ювилади.

14. Концентрланган кислота ва ишқор эритмалари, захарли моддалар, ҳамда, қучли хидли моддаларни мўрилли шкафда сақлаш шарт.

15. Тез ёнувчан ва портловчан хусусиятга эга бўлган моддалар темир шкафларда сақланиши керак.

16. Ёнаётган кийимни тезда ўчириш мақсадида олов устига халат, одеял, костюм ёпиш керак бўлади. Ёнгин чиққанда тезда вентиляция ва электр жиҳозларини ўчириб шундан кейин оловни ўчириш керак бўлади. Ёнаётган эфир, бензин, бензолни ўчириш учун сувдан умуман фойдаланиб бўлмайди. Бундай ҳолатларда ёнгинни қум ёки асбест одеяллари ёрдамида ўчирилади.

17. Кимёвий ва шишасимон идишларни ишлатишда ҳавфсизлик қоидаларига амал қилиш керак.

18. Амалиётда берилган тажрибани ўтказиш учун керак бўладиган моддалардан бошқа моддаларни қўшиб ташлаш ман этилади.

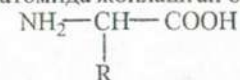
19. Барча талабалар тажрибалар бажарилгандан кейин ортиб қолган моддаларни ва ишлатилган асбоб-ускуналарни лаборантга қайтариб бериши шарт. Шунингдек ҳар бир талаба ўз ишлаган жойини тозалаб лаборант (навбатчи) ёки ўқитувчига топшириши шарт.

ҚИСҚАРТМАЛАР

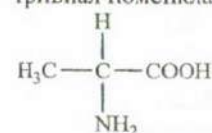
АДФ	- аденозиндифосфат
АМФ	- аденозинмонофосфат
АТФ	- аденозинтрифосфат
АХАТ	- ацилхолестеролацилтрансфераза
ГАМК	- \square -аминомой кислота
ГМГ-	- 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А
ГМФ	- гуанозинмонофосфат
ГТФ	- гуанозинтрифосфат
ДНК	- дезоксирибонуклеин кислота
ДОФА	- диоксифенилаланин
КоА	- кофермент (коэнзим) А
ЛПВП	- юкори зичликдаги липопротеинлар
ЛПНП	- кичик зичликдаги липопротеинлар
ЛПОНП	- жуда кичик зичликдаги липопротеинлар
ЛППП	- оралик зичликдаги липопротеинлар
ЛХАТ	- лецитинхолестеролацилтрансфераза
мРНК	- матрицали РНК
мяРНП	- кичик ядроли рибонуклеопротеинлар
РНК	- рибонуклеин кислота
рРНК	- рибосомал РНК
тРНК	- транспортли РНК
тдф	- тиаминдифосфат
УДФ	- уридиндифосфат
УТФ	- уридинтрифосфат
ФИФ2	- фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат
цАМФ	- циклик аденозинмонофосфат
ЩУК	- шовилсирка кислотаси (оксалоацетат)
FAD	- оксидланган флавинадениндинуклеотид
FADH2	- кайтарилган флавинадениндинуклеотид
FMN	- оксидланган флавиномононуклеотид
FMNH2	- кайтарилган флавиномононуклеотид
Hb	- гемоглобин
HbA	- катта одамнинг нормал гемоглобини
HbF	- фетал гемоглобин
Hb(O ₂) ₄	- оксигемоглобин

АМИНОКИСЛОТАЛАР

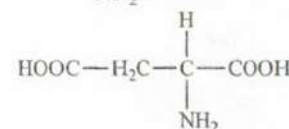
Табиатда учрайдиган аминокислоталарнинг умумий сони hozirgi кунда 300 дан ортikki ташкил қилади. Тирик организм таркибида учрайдиган аминокислоталарни иккига яъни, *протеиноген* (организмда генетик кодланадиган) ва *нопротеиноген* (генетик кодланмайдиган) ларга бўлиш мумкин. Протеиноген аминокислоталар 20 та бўлиб, шулардан 19 таси α -аминокислота ҳисобланади. α -Аминокислоталарни карбон кислота таркибидаги битта водород атоми NH₂ гуруҳига алмашган ҳосилалари деб аташ мумкин. α -Аминокислота таркибидаги аминокислота гуруҳ карбоксил гуруҳига уланган углерод атомида жойлашган бўлади.



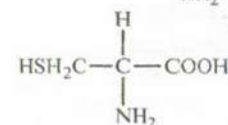
Аминокислоталарнинг номи халқаро номенклатура асосида (*амино+углеводород қолдиги+кислота*) бўлиши билан бир қаторда кўпинча тривиал номенклатура ёрдамида ҳам номланиши мумкин.



2-аминопропан (α -аминопропион) кислота, α -аланин



2-аминобутади- (аминокахрабо) кислота, аспарагин кислота



2-амино-3-меркаптопропан кислота, Цистеин

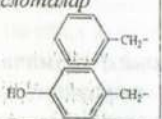
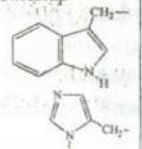
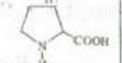
Аминокислоталарнинг тривиал номлари кўпинча мазкур моддаларнинг биринчи бор қайси табиий манбаадан ажратилиб олинганлигига боғлиқ. Масалан, серин ипак фибриони (лотинчадан *sericus* - ипаксимон), тирозин биринчи марта пишлок таркибидан (грекчадан *tyros* - пишлок), цистин эса буйрак тошлари (грекчадан *kystys* - пуфак) таркибидан ва х.к. ажратиб олинган.

Табиатда β ёки γ - ҳолатида аминокислота гуруҳ тутган (масалан, β -аминопропион ёки γ -аминомой кислотаси) аминокислоталар нисбатан кам учрайди.

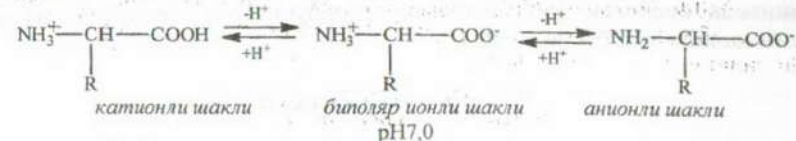
Аминокислоталарни, таркиби ва айрим физик-кимёвий хоссаларига кўра қуйидаги синфларга бўлиш мумкин:

I. Углеводород радикалига кўра:

1. Ациклик (алифатик)
2. Циклик - гомоциклик, гетероциклик (2-жадвал).

№	Радикал - R	Номи	АК қолдвигининг қисқартрилган номи
1	Алифатик		
2	H-CH ₃	Глицин	Gly
3	(CH ₃) ₂ CH-	Аланин	Ala
4	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -	Валин	Val
5	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -	Лейцин	Leu
6	CH ₃ CH ₂ CH(CH ₃)-	Изолейцин	Ile
6	Таркибида OH-гурух тутган аминокислоталар		
7	HO-CH ₂ - CH ₃ -CH(OH)-	Серин Треонин	Ser Thr
8	Таркибида COOH-гурух тутган аминокислоталар		
9	HOOC-CH ₂ - HOOC-CH ₂ -CH ₂ -	Аспарагин кислота Глутамин кислота	Asp Glu
10	Таркибида NH ₂ CO-гурух тутган аминокислоталар		
11	NH ₂ CO-CH ₂ - NH ₂ CO-CH ₂ -CH ₂ -	Аспарагин Глутамин	Asn Gln
12	Таркибида NH ₂ -гурух тутган аминокислоталар		
13	NH ₂ CO-(CH ₂) ₃ -CH ₂ - NH ₂ -C(=NH)-(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	Лизин Аргинин	Lys Arg
14	Таркибида S-атоми тутган аминокислоталар		
15	HS-CH ₂ - CH ₃ -S-CH ₂ -CH ₂ -	Цистеин Метионин	Cys Met
16	Таркибида ароматик ҳалқа тутган аминокислоталар		
17		Фенилаланин Тирозин	Phe Tyr
18	Таркибида гетероциклик ҳалқа тутган аминокислоталар		
19		Триптофан Гистидин	Trp His
20		Пролин	Pro

Аминокислоталар сувда эритилганда биполяр (двиптер) ион кўринишида бўлади:

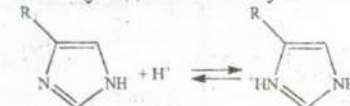


pH1,0 кучли кислотали мухит \longleftrightarrow кучли ишкорий мухит pH11,0

Аминокислоталарнинг қайси шаклда мавжуд бўлиши эритманинг мухити (pH) га узвий боғлиқ бўлади. Барча аминокислоталар учун кучли кислотали мухитда катионли шаклда, кучли ишкорий шароитда эса анионли шаклда бўлиши умумий ҳисобланади.

Аминокислоталар таркибида бўладиган бошқа функционал гуруҳларнинг диссоциланиши куйидаги схема бўйича боради:

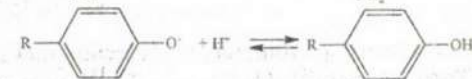
Имидазол



Гуанидин



Тирозиннинг OH гуруҳси



Сулфгидрил



Эритманинг pH қийматини ўзгартириш ёрдамида аминокислота молекуласининг зарядини ўзгартириш мумкин бўлади. Барча аминокислоталар фақат ўзларига хос бўлган эритманинг pH қийматида молекулаларининг заряди нейтрал қийматга эга бўлиб қолади. Бундай pH қиймати *изоэлектрик нуқта (pI)* деб аталади.

Аминокислоталар ўзларининг изоэлектрик нуқтасига мос келувчи мухитда электр майдонда умуман ҳаракатланмайди. pH < pI бўлган ҳолатда аминокислотанинг катиони катод томонга ҳаракатланади. pH > pI бўлганда эса аминокислотанинг аниони анод томонга ҳаракатланади. Аминокислоталарнинг бир-бирдан *электр майдонида (электрофорез)* бўлиниши уларнинг шундай хоссасига асосланган бўлади. Кислотали аминокислоталарнинг pI қиймати кучсиз кислотали мухитда, асосдиларники кучсиз ишкорий мухитда, нейтрал аминокислоталар эса нейтрал мухитда намоен бўлади.

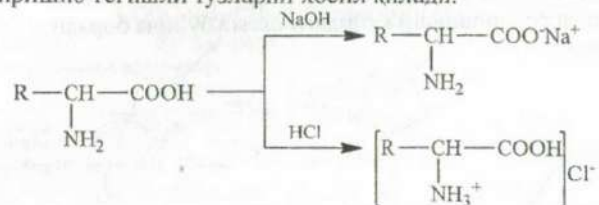
Аминокислоталарнинг биполяр ион шаклида бўла олиш хусусияти улар учун куйидаги хоссаларни келтириб чиқаради: уларнинг сувда яхши эрувчанлиги билан бир вақтда органик эритувчиларда ёмон эриши, юкори

диэлектрик ўтувчанлик, молекулаларнинг катта дипол моментига ҳамда, барча моддаларнинг юкори суюкланиш хароратига эга бўлиши (200°C дан юкори). Аминокислоталарнинг сувда яхши эрувчанлиги, уларнинг организмда биологик фаолликларини (сўрилувчанлик, транспорт ва х.к.) намоён қилишига сабабчи бўлади.

II. Кимёвий хоссалари

1. Амфотерлик

Аминокислоталарнинг амфотерлик хоссалари улар молекуласи таркибида бир вақтнинг ўзида икки хил функционал гуруҳ (-NH₂ ва -COOH) бўлиши билан тушунтирилади. Шунинг ҳисобига аминокислоталар ишкорлар билан ўзларининг карбоксил гуруҳлари ҳисобига туз ҳосил қилса, кислоталар билан эса молекулалари таркибидаги амина гуруҳлари ҳисобига реакцияга киришиб тегишли тузларни ҳосил қилади.



Аминокислоталар амфотерлик хоссасини намоён қилганлиги сабабли кўпчилик жараёнларда *буфер тизимлар* ҳисобланади, бунда улар ёки кучсиз кислоталар бўлиб таъсир қилади:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{R-COO}^-]}{[\text{R-COOH}]}$$

бу ерда, K_a – кислотанинг диссоциланиш константаси; ёхуд кучсиз асос бўлиб таъсир қилади:

$$K_b = \frac{[\text{R-NH}_3^+][\text{OH}^-]}{[\text{R-NH}_2]}$$

бу ерда, K_b – асоснинг диссоциланиш константаси.

Бундан чиқадики, аминокислотали буфер тизимлар, икки хил рН соҳасида юкори буфер сифимга эга бўлади.

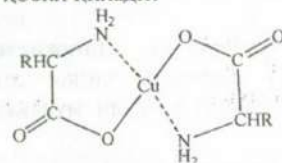
2. Сифат реакциялари

• **Нингидрин билан реакцияси.** Аминокислоталарни нингидрин билан кўшиб киздирилганда кўкиш-бинафша тусли маҳсулот ҳосил бўлади:

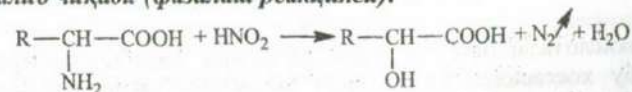


Мазкур реакция ёрдамида ишлаб чиқариш корхоналари ва лабораторияларда аминокислоталарни сифат ва миқдор жиҳатидан аниқлашда кенг фойдаланилади. Бу реакция аминокислоталар учун хос бўлиб, оксилларда эса реакция натижасида газсимон CO₂ ажралиб чиқмайди.

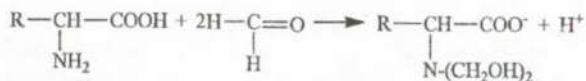
• **Биурет реакцияси.** Аминокислоталар оғир металл (айниқса мис тузлари) билан ички молекуляр комплекс бирикмаларни ҳосил қилиш хусусиятига эга. Масалан, аминокислоталар юмшоқ шароитда янги тайёрланган мис (II)-гидроксида билан осон кристалланидиган кўк тусли миснинг хелат тузларини ҳосил қилади:



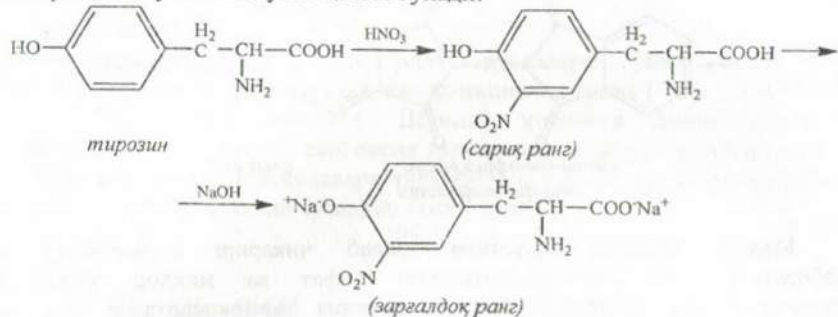
• **Аминокислоталар нитрит кислота билан таъсирлашганда азот газини ажралиб чиқади (фазалаш реакцияси):**



• **Формальдегид билан титрлаш.** Аминокислоталар формальдегид билан миқдорий жиҳатдан таъсирлашади. Реакция натижасида ҳосил бўладиган кислота протонлари ўз навбатида ишкор эритмаси билан титрланади:



• **Ксантопротеин реакцияси.** Ароматик ва гетероциклик табнатли аминокислоталар концентрланган нитрат кислота эритмаси билан кўшиб киздирилганда аввал сарик тусли, унга ишқор эритмаси таъсир эттирилганда эса зарғалдоқ тусли маҳсулот ҳосил бўлади:

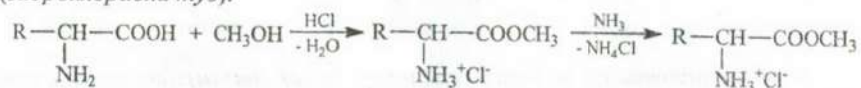


• **Айрим аминокислоталар учун сифат реакциялари:**

- **триптофан,** концентрланган сульфат кислота иштирокида *n*-диметиламинобензальдегид билан таъсирлашиб пробиркада кўринадиган кизгиш-бинафша тусли айлана ҳосил қилади (*Эрлих реакцияси*).

- **цистеин,** кўрғошин ацетат билан кўшиб киздирилганда қора рангли чўкма ҳосил қилади.

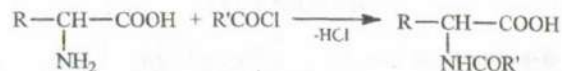
1) **Эфирлар ҳосил бўлиши.** Аминокислоталар хлорид кислота (катализатор) иштирокида спиртлар билан этерификация реакциясига киришиши натижасида яхши унум билан мураккаб эфирлар ҳосил бўлади (*гидрохлоридли туз*):



α-аминокислотанинг метил эфири

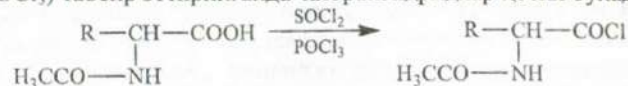
Аминокислоталарнинг мураккаб эфирлари юқори учувчанликка эга, уларнинг бу хоссасидан индивидуал аминокислотани тоза ҳолда турли аминокислоталар аралашмасидан ажратиш олиш имкониятини яратади (*Э. Фишернинг эфир олиш усули*).

2. ***N*-ацил ҳосилаларнинг олиниши (аминогурухни ҳимоялаш).** Аминокислоталарнинг тегишли кислоталар галогенангидридлари ёки ангидридлари билан ўзаро таъсирланиши натижасида аминогурух таркибидаги водород атоми кислота қолдигига алмашиши кузатилади:

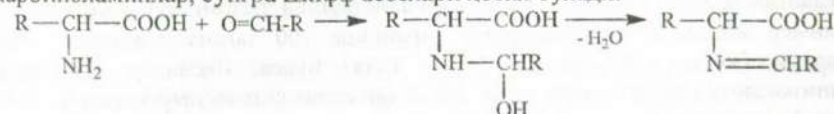


Аминокислоталарнинг *N*-ацил ҳосилалари осон гидролизга учраб яна олинган аминокислотага қайтади, шунинг учун улардан аминогурухни ҳимоя қилишда фойдаланилади.

3. **Галогенангидридларнинг ҳосил бўлиши.** Аминокислоталарга (аминогурухни ҳимоя қилинган) тионилхлорид (SOCl_2) ёки фосфор трихлорид оксиди (POCl_3) таъсир эттирилганда хлорангидридлар ҳосил бўлади:

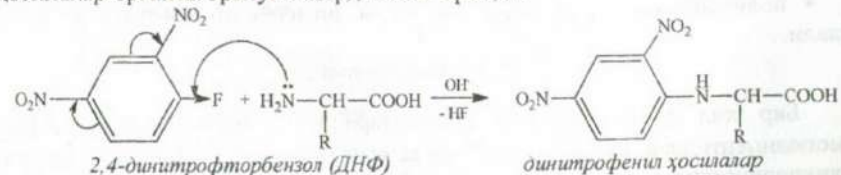


4. **Шифф асосларининг ҳосил бўлиши.** Таркибида альдегид гурухи бўлган моддалар билан ўзаро таъсирлашганда аввал оралик маҳсулот сифатида карбиноламинлар, сўнгра Шифф асослари ҳосил бўлади:



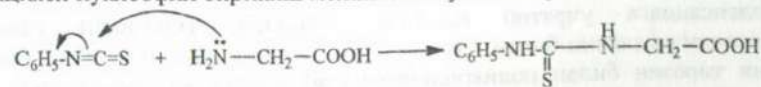
α-аминокислота альдегид карбиноламин Шифф асоси

5. **ДНФ-ҳосилаларининг олиниши (Сенжер реакцияси).** Аминокислоталарнинг 2,4-динитрофторбензол (ДНФ) билан ўзаро таъсирлаши натижасида сарик рангли динитрофенил ҳосилалари олинади. Бу ҳосилалар органик эритувчиларда яхши эрийди.



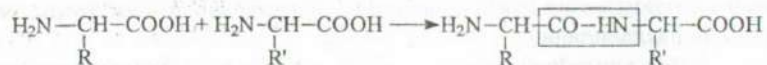
Реакция бензол ҳалқасида нуклеофил алмашиши механизми бўйича боради.

6. **ФТГ-ҳосилаларининг олиниши (Эдман реакцияси).** Аминокислоталарнинг фенилизотиоцианат (ФТГ) билан ўзаро таъсирлашиши реакцияси нуклеофил бирикши механизми бўйича боради:



ПЕПТИДЛАР

Битта α -аминокислотанинг аминогрухи билан иккинчи α -аминокислотанинг карбоксил гурухи ўзаро таъсирлашувидан *пептид боғи* (*амид боғи*) ҳосил бўлади, ҳосил бўлган маҳсулот *дипептид* дейилади.



Таъсирлашаётган аминокислоталарнинг сонига қараб трипептид, тетрапептид ва ҳоказолар ҳосил бўлиши мумкин. Табиатда учрайдиган ва сунъий равишда олинадиган пептидлар таркиби бўйича гомоген, гетероген ва депсипептидларга бўлинади. Улар тузилиши бўйича чизикли ва ҳалқали ҳолатда бўладилар. Булардан ташқари табиатда антибиотик пептидлар ҳам учрайди.

Пептид ва оксиллар (ёки полипептидлар) кетма кет пептид боғи орқали боғланган α -аминокислота қолдиқларидан ташкил топган мураккаб табиий полимер моддалардир. Пептидлар таркибида 100 тагача α -аминокислота қолдиғи (молекуляр массаси 10000 гача) бўлса, оксиллар таркибида аминокислота молекулалари сони 100 та дан ортиқ (молекуляр массаси 10000 да то бир неча миллионгача) бўлади..

Пептидлар қўйидагича синфланади:

- дипептидлар, трипептидлар – таркибида 2 ёки 3 та аминокислота қолдиғи тугган моддалар;
- олигопептидлар (кичик молекулали) таркибида 10 тагача аминокислота қолдиғи тугган моддалар;
- полипептидлар таркибида 10 тадан ортиқ аминокислота қолдиғи бўлади.

Гомополипептидлар

Бир хил α -аминокислота қолдиқларидан тузилган полипептидлар гомополипептидлар деб аталади. Улар асосан маълум α -аминокислоталарни поликонденсацияга учратиб синтез қилиб олинади.

Гетерополипептидлар

Икки ва ундан ортиқ ҳар хил α -аминокислота қолдиқларидан тузилган полипептидлар гетерополипептидлар деб аталади. Гетерополипептидлар, асосан, α -аминокислоталарнинг N-карбоксиангидридларини поликонденсацияга учратиб олинади. Масалан, тирозинни глицин, фенилаланин ва аланин билан, глутамин кислотасини цистин ва серин билан, лизинни тирозин билан поликонденсациялаб молекуляр оғирликлари бир неча юздан бошлаб то 100000 гача бўлган гетерополипептидлар олинган.

Депсипептидлар

Таркибига α -аминокислоталар билан бир қаторда α -оксикислоталар ҳам кирган пептидлар депсипептидлар деб номланадилар. Буларга спорин алкалоидларидан (эргоалкалоидлар) эрготамин ва эргокристинлар мисол бўла оладилар.

№1. Лаборатория машғулот АМИНОКИСЛОТА ВА ПЕПТИДЛАРНИНГ ФИЗИК-КИМЁВИЙ ХОССАЛАРИНИ ЎРГАНИШ

Ишнинг мақсади:

1. Аминокислоталарнинг айрим физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш;
2. Кимёвий идишлар билан ишлаш кўникмасини олиш;
3. Глицин ва аланин мисолида ўрганилган физик-кимёвий хоссалари хақидаги билимларни мустаҳкамлаш;
4. Сифат реакцияларини ўтказишда кузатиладиган қўшимча жараёнлар билан танишиш;
5. Махсус адабиётлар билан ишлаш малакаларини, кўникмаларни ривожлантириш ва хулоса қилиш

Реактивлар

1. Спирт лампаси учун спирт
2. Хлорид кислотаси (1:1)
3. Нитрат кислотаси (конц.)
4. Сульфат кислотаси (конц.)
5. Сирка кислотаси
6. Мис сульфат (эритма)
7. Нингидрин (0,1% эритма)
8. Дистилланган сув
9. Натрий гидроксид (эритма)
10. Натрий гидрокарбонат (эритма)
11. Кумуш нитратнинг сувли эритмаси
12. Кўрғошин ацетат (томизгич)
13. Текшириладиган модда (глицин, аланин) (аминокислоталар)

Идиш ва ускуналар

1. Пробиркалар
2. Спирт лампаси
3. Пипетка
4. Томизгич
5. Ушлагич
6. Фильтр қоғози
7. Сув хамоми
8. Индикатор қоғоз
9. Штатив

I-тажриба

Аминокислоталарнинг физик-кимёвий хоссалари

а) Аминокислотанинг ташқи кўриниши ва агрегат ҳолатини белгиланг.

б) Сувда ва органик эритувчиларда эрувчанлигини аниқланг.

Пробиркага 0,05 г аминокислота солиб унинг устига 1-3 мл сув (органик эритувчилардан – этил спирти, ацетон, петролей эфири) қуйиб аралашмани шиша тайёкча ёрдамида аралаштиринг. Сувли эритманинг муҳитини (рН) индикатор қоғози ёрдамида аниқланг.

в) Кислота ва ишқор эритмаларига таъсири.

Иккита пробиркага 0,05 г дан аминокислотадан солиб биринчисига суюлтирилган хлорид кислота, иккинчисига эса сирка кислота эритмаларидан солиб аралаштиринг. Кузатилган ҳолатни аниқланг.

Яна бир пробиркага 0,05 г аминокислота солиб унинг устига 1-3 мл натрий гидроксиднинг суюлтирилган эритмасидан солиб аралаштиринг. Кузатилган ҳолатни аниқланг.

г) Қиздиришга таъсири.

Куруқ пробиркага 0,05 г аминокислота солиб аста-секинлик билан спирт лампаси ёрдамида қиздириш. Кузатилган ҳолатни аниқланг.

Олинган натижаларни 3- жадвал кўринишида расмийлаштиринг.

2-тажриба

Аминокислоталарнинг кимёвий хоссалари

а) 1 мл (2%-ли) аминокислотанинг сувдаги эритмасига 3-4 томчи кўргошин ацетат эритмасидан кўшинг. Кузатилган ҳолат?

б) 1 мл (2%-ли) аминокислотанинг сувдаги эритмасига 3-4 томчи кумуш нитрат эритмасидан кўшинг. Кузатилган ҳолат?

в) 1 мл (2%-ли) аминокислотанинг сувдаги эритмасига 3-4 томчи мис сульфат эритмасидан аввал оз миқдорда сўнгра мўл миқдорда кўшинг. Кузатилган ҳолат?

3-тажриба

Сифат реакциялари

Биурет реакцияси. 1 мл аминокислота эритмасига шунча миқдорда ишқор эритмасидан кўшинг, ҳосил бўлган аралашма устига томчилатиб мис сульфат эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: эритма биёрафша ранга бўялади.

Нингидрин реакцияси. 3 мл аминокислота эритмасига нингидрин эритмасининг 0,1%-ли эритмасидан 1 мл кўшинг. Аралашмани қайнагунча қиздириш.

Аналитик эффекти: эритма кўк ранга бўялади.

Ксантопротеин реакцияси. Аминокислота эритмасидан 3 мл олиб унинг устига нитрат кислота (конц.) эритмасидан 1 мл кўшинг. Ҳосил бўлган аралашмани қайнагунча қиздириш. Шундан сўнг эритмани совитиб совиган эритма устига томчилатиб ишқор эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: зарғалдоқ-қизғиш ранг ҳосил бўлади.

3-жадвал

Кислотанинг ҳолати				
Кислотанинг сирка кислотаси билан ҳолати				
Кислотанинг NaOH билан ҳолати				
Кислотанинг қиздиришга ҳолати				
Сувли эритманинг рН				
Ташқи кўриниши				
Аналитик реакция				
№	1	2	3	4

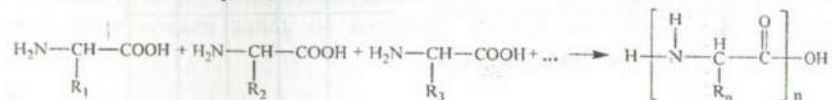
ОҚСИЛЛАР

Оқсиллар — гидролизланганда α -аминокислоталар аралашмасини ҳосил қиладиган юқори молекуляр табиий бирикмалар. Айрим ҳолларда уларни *протеинлар* (грекчадан *protos* — биринчи, энг керакли) деб ҳам аталади. Барча тирик организмлар учун оқсиллар энг керакли маҳсулот ҳисобланади. Оқсиллар ҳайвон организмнинг 40-50% ни ташкил этса, ўсимликлар учун бу қиймат 20-35% га тенг.

Оқсиллар барча тирик организмларнинг энг асосий манбаи бўлганлиги туфайли доим табиий фанларнинг диққат марказида турган. 200 йилдан ортик вақт давомида оқсиллар устида олиб борилган илмий ишлар экспериментал усулларнинг ривожланишига ва турли туман илмий фикрларнинг яратилишига олиб келди. Оқсилларни ўрганишда Э.Фишер, Т.Куршус, М.Бергман, Ф.Сенжер, П.Эдман, А.Я.Данилевский, Н.Д.Зелинский, Д.Л.Талмуд ва О.С.Содиқовларнинг олиб борган ишлари жуда катта аҳамиятга эгадир.

Ҳозирги кунда оқсил молекулаларининг тузилишини, организмдаги функцияси, метаболик жараёнларда иштирок этиш механизми ва шунга ўхшаш жуда кўп оламшумул ишлар олиб борилмоқда.

Оқсиллар молекуласи, аминокислота молекулалари ўзаро бир-бирлари билан пептид (ёки амид) боғлари ҳисобига боғланишидан ҳосил бўлган юқори молекуляр табиий бирикмалардир. *Пептид* (ёки *амид*) боғ α -аминокислота молекулаларининг ўзаро поликонденсацияланиши натижасида ҳосил бўлади:



Оқсиллар таркибидаги элементларнинг фоиз таркиби: С=50-52%, Н=6,8-7,7%; О=19-24%; N=15-18%; S=0,5-2% кўринишда бўлади.

Полипептид занжирида аминокислоталарнинг пептид боғлари ҳисобига текислик бўйича боғланиб ҳосил қилган кетма кетлиги *оқсилларнинг бирламчи тузилиши* дейилади. Бирламчи тузилиш полипептид занжирнинг таркиби, занжирдаги аминокислота қолдикларининг миқдори ва бу қолдикларнинг ўзаро бир-бири билан бирикишида иштирок этган пептид боғларининг сонини таърифлайди.

Полипептид занжирининг ён томонида жойлашган аминокислоталарнинг тури ва конформациясини ҳисобга олмаган ҳолатда полипептид занжирининг алоҳида-алоҳида қисмларининг тартибли фазовий кўринишдаги тузилишига *оқсилларнинг иккиламчи тузилиши* дейилади. Оқсилларнинг иккиламчи тузилиши улар таркибида юзага келадиган икки хил (ички ва ташқи ёки молекулалараро) водород боғлар ҳисобига стабиллашади. Бир аминокислота қолдиғидаги карбонил

гуруҳнинг кислород атоми бошқа аминокислота қолдиғидаги аминогруҳнинг водород атоми билан Н-боғ ҳосил қилади. Бунда Н-боғ кандай кўринишда юзага келишига боғлиқ равишда 3 хил α -*стирал*, β -*тузилиши* ёки β -*бужилиши* ҳолатлари юзага келиши мумкин. Полипептид занжирининг айрим қисмлари тартибсиз кўринишда жойлашган бўлиб занжирнинг бу қисмини *аморф* ёки *нотузилишли* қисм дейилади.

Оқсилларнинг учламчи тузилиши полипептид занжирининг тартибли ва аморф қисмларининг фазода жойлашганлигини таърифлайди. Оқсилларнинг бундай тузилиши занжирнинг ён томонида жойлашган радикалларнинг ўзаро таъсирланишлари, тури ва конформациясига узвий боғлиқ бўлади.

Оқсилларнинг тўртламчи тузилиши ноковалент боғланишлар ҳисобига, ҳосил бўлган таркибида икки ёки ундан ортик полипептид занжирлари бўлган оқсил молекуласи фазовий ҳолати ҳисобланади. Тўртламчи тузилишга эга бўлган оқсилларни *олигомер оқсиллар* деб ҳам юритилади. Бундай тузилишли оқсил таркибидаги ҳар бир полипептид занжирлар *протомер* ёки *суббирлик* деб аталади.

Оқсилларнинг синфланиши

I. Тузилишига кўра:

1. Оддий (*протеинлар*) — фақат аминокислота қолдикларидан ташкил топган.

2. Мураккаб (*протеидлар*) — гидролизланганда аминокислоталар билан бир вақтда тирик организмлар таркибида учрайдиган бошқа қолдикларни ҳам ҳосил қилиши мумкин. Протеидлар таркиби ва қаерда учрашига боғлиқ равишда қуйидаги синфларга бўлинади:

а) *нуклеопротеидлар*: оқсил + нуклеин кислота, ишқор эритмаларида эриши билан бир каторда кислота эритмаларида умуман эрмайди;

б) *фосфопротеидлар*: оқсил + фосфат кислота қолдиғи. Кислота эритмалари таъсирида денатурацияга учрайди (масалан: сут казеини);

в) *гликопротеидлар*: оқсил + углевод. Сувда эрмайди, ишқор эритмасида эрийди, эритма нейтрал муҳитга эга (масалан: сўлак);

г) *хромопротеидлар*: оқсил + бўёқ моддалар (масалан: гемоглобин).

II. Эрувчанлигига кўра:

а) *Склеропротеинлар* — сувда эрмайди.

в) *Альбуминлар* — сувда эрийди.

с) *Глобулинлар* — туз эритмаларида эрийди.

д) *Глутеминлар* — кислота ва ишқор эритмаларида эрийди.

е) *Глиадинлар* - 70%-ли этанол эритмасида эрийди.

ж) *Гистон* ва *протаминлар* — ишқор эритмасида эрийди.

III. Шаклига кўра:

1. *Глобулар* — мураккаб тузилишли конформацияга эга бўлиб бунда полипептид занжирлари йиғилган глобула шаклида бўлади.

Фибриллар – чўзилган, ипсимон кўринишдаги бир неча полипептид занжирларидан ташкил топган бўлади.

Оқсилларнинг функциялари

1. Тузилиш оқсиллари (коллаген, фиброин, кератин ва х.к.).

Хужайра мембраналари таркибига киради, юкори гидрофоб хусусияти билан ажралиб туради. Турли хил тери ва органларнинг асосий таркиби бўлиб, уларнинг механик хоссаларига жавобгар. Масалан: суяк ва бўғинларда, коллаген бирлаштирувчи тўқима; α -кератин тери, соч, тирнок, мугуз (шоҳ) ва куш патларига; склеротин – ҳашаротларнинг ташики скелетида; фиброин ипакда. Бу гуруҳга шунингдек бактерияларнинг хужайра деворлари, вирусларнинг қобиғи, мембрана ва рибосомал оқсилларни ҳам мисол қилиш мумкин.

2. Ҳаракат оқсиллари (қисқарувчан - актин, миозин).

Мушак аппаратини қисқартирувчи оқсиллардан - актин и миозин жуда яхши ўрганилган. Функцияси юзасидан уларга шунингдек, микротрубкалар таркибидаги хужайра хивчинларини ҳаракатлантирадиган тубулинни ҳам мисол қилиш мумкин.

3. Каталитик оқсиллар (ферментатив - энзимлар).

Ҳар бир секундда хужайраларда жуда кўплаб ферментатив реакциялар кечади. Ҳозирги кунда 2000 дан ортик хужайра ферментлари ажратиб олинган. Шулар ичида энг асосийлари бўлиб РНК- ва ДНК-полимеразалар, липазалар ва х.к. лар ҳисобланади. Ферментлар битта ёки бир нечта полипептид суббирликлардан ташкил топган бўлиб, ҳаттоки комплекслар ҳосил қилиш хусусиятига эга. Ферментлар организмда борадиган реакцияларни миллион ва миллиард марта тезлаштириши мумкин. Масалан, уреаз ферменти $pH=8,0$ ва $20^{\circ}C$ да мочевианинг гидролизланиш тезлигини 10^{14} марта тезлаштиради.

4. Транспорт (ташувчи) оқсиллари (гемоглобин, миоглобин, цитохром ва б.).

Кўпчилик оқсиллар бутун организмда бир хужайрадан хужайрага керакли моддаларни олиб бориб бериш вазифасини бажаради. Масалан, гемоглобин ўпкадан тўқималарга кислород олиб борса, тўқималардан карбонат ангидридни ўпкага олиб боради. Қон таркибида махсус транспорт вазифасини бажарувчи оқсиллар – альбуминлар бўлади, улар ўз навбатида турли хил экзоген ва эндоген моддаларни ташиш вазифасини бажаради. Шунингдек, махсус оқсиллар – пермеазалар мавжуд бўлиб улар ўз навбатида биологик мембраналар орқали турли моддаларни ташиш вазифасини бажаради.

5. Регулятор оқсиллар (гормонлар, гистонлар, репрессорлар).

Организмда махсус регуляторлик функциясини бажарувчи оқсиллар синфи ҳам бор. Уларга биринчи навбатда оқсил-пептидли табиатта эга бўлган гормонлар мисол бўлади. Бундай оқсиллар хужайра ва физиологик

фаолликни бошқаришда энг асосий вазифани бажаради. Масалан, инсулин гормони хужайралар томонидан глюкоза қабул қилишини бошқарса, кальцитонин гормони эса – қон ва суяк таркибидаги кальцийни микдорини бошқаришда асосий рол ўйнайди ва х.к.

6. Ҳимоя оқсиллари (антителалар ва иммуноглобулинлар).

Ҳимоя оқсиллари, организмнинг турли хил патологик ҳолатлардан ҳимоя қилувчи ва турли хил касаллик келтириб чиқарадиган микроорганизмларга қарши курашишда асосий роль ўйнайдиган моддалардир. Антитела ва иммуноглобулинлар суяк кўмикларида синтезланиб организмни ёт бактериялардан ҳимоя қилишда иштирок этади. Ушбу оқсиллар уникал хусусиятга эга бўлиб организмдаги ёт бактерия, вирус ва оқсилларни таниб олиш, улар билан боғланиш, сўнг нейтраллаш хусусиятига эга. Бу оқсиллар қаторига- интерферон, ўсимта некроз факторлари, шунингдек организмни қон йўқотишдан (қонни зардоблаштиришга ёрдам беради) асрайдиган фибриноген, тромбин ва фибринлар ҳам мисол бўлади.

7. Рецептор оқсиллар (родопсин, холинорецептор ва х.к.).

Бундай оқсиллар хужайра ёки унинг айрим компартментларига, нерв ёки гормонал сигналларни узатишда муҳим рол ўйнайди. Рецепторлар мембраналарда локалланган бўлиб, уларнинг маълумот узатиш механизми асосан оқсил молекуласи коншакциясининг ўзгариши, энергиянинг ютилиши ёки чиқарилиши ва х.к. лар билан узвий боғлиқ бўлади.

8. Заҳира ва озукавий оқсиллар (сут казеини, тухум альбумини ва х.к.).

Хужайралар учун, бир қатор оқсиллар резерв озук ва материали бўлиб хизмат қилади. Буларга проламин ва глютелинлар мисол бўлиб – улар дорисимон ўсимликларда учрайди, оваъбумин эса – куш тухумлари таркибидаги озук ва оқсил хисобланади.

9. Оқсил - заҳарлар (ботулизм ва дифтерия токсинлари).

Илон, чаён ва ари заҳарлари мисол бўлади. Улар, асосан моляр массалари кичик бўлиши билан характерланади. Шунингдек, ўсимлик ва микроорганизмлар токсинлари – дифтерия ва холера токсинлари, рицин, абрин ва х.к.

10. Антибиотик оқсиллар (актинооксантин, неокарциностафин ва х.к.)

Кўпчилик оқсил табиатли антибиотикларга грамицидин S, тироцидинлар, полимиксинлар, бацитрацинлар, актиномицинлар ва эхиномицинларни келтириш мумкин. Грамицидин S граммусбат ва қисман грамманфий бактерияларни ўлдиради, тиббиётда ангина вақтида томокни чайишда ишлатилади.

Оқсилларнинг хоссалари

Одам организмдаги биологик суяқликлардаги оқсилнинг барқарор бўлишини икки хил фактор белгилаб беради, гидрофил табиатли оқсиллар

учун - булар заряд ва сувли кобиғи ҳисобланса, гидрофоб табиатли оксиллар учун эса – фақат заряд ҳисобланади.

Барча оксиллар учун камида битта уч ўлчамли тузилиши мавжуд бўлиб, улар ўзларининг бундай тузилишида барқарор кўринишга эга бўлиб физиологик шароит (рН, температура) да ўзларининг биологик фаолликларини намоён қилади. Бундай тузилиш *оксилларнинг натив коншакцияси* дейилади.

Барча оксиллар учун - эритмаларининг юқори қовушқоқликка эга бўлиш, кам диффузияланиш, бўкиш, оптик фаоллик, электр майдонида ҳаракатланиш, кичик ва юқори осмотик босимга эга бўлиши, УБ соҳада 280 нм (10^{-9} м) да нур ютишга эга бўлиш каби физик-кимёвий хоссалар характерли бўлади. Қон таркибида *осмотик босимнинг* вужудга келиши унинг таркибида оксиллар бўлишига узвий боғлиқ бўлиб унинг киймати 0,02-0,04 атм, яъни 30 мм симоб уст. ни ташкил қилади. Осмотик босим қон билан тўқималар орасидаги сув ва минерал моддаларнинг тақсимланишини бошқаради.

Оксиллар таркибида эркин амин ва карбоксил гурухлари бўлганлиги туфайли (аминокислоталар сингари) амфотер хусусиятга эга. Оксиллар таркибида турлича функционал гурухларнинг бўлиши уларнинг турли хил зарядга эга бўлишига олиб келади, бу эса уларнинг эритмада катод ёки анод томонга ҳаракат қилишига сабабчи бўлади. Уларнинг бундай хусусияти *электрофорез* усули асосида ётади ва бу усул ёрдамида оксилларни индивидуал ҳолатда ажратиб олинади. Оксил молекулалари сунъий ярим ўтказгич мембраналар (пергамент, коллодий, целлофан), ҳамда биомембраналардан ўтиш хусусиятига эга эмас.

Оксиллар табиий юқори молекуляр бирикмалар синфига мансуб бўлиб уларнинг моляр массаси 6000 дан то 1000000 ва ундан юқори ҳам бўлиши мумкин.

Оксиллар ташқи шароитлар ўзгарганда ўзларининг натив тузилишини йўқотиш хусусиятига эга.

Денатурация – бу оксилларнинг ўзига хос тузилишининг бузилиши бўлиб бунда уларнинг характерли хусусиятлари (яъни, эрувчанлик, электрофоретик ҳаракатчанлик, биологик фаоллиги каби ва х.к.) йўқолади.

Денатурация ходисасининг энг оддий кўриниши оксил молекуласи таркибидаги водород ва дисулфид боғларининг узилиши (бунда пептид боғлар сақланиб қолади) ва натижада биологик фаолликларини йўқотилиши ҳисобланади. Айрим ҳолларда бу жараён қайтар бўлиб (*оксиллар ренатурацияси*) оксил молекулалари яна қайтадан ўзларининг бошланғич тузилиши ва натив ҳолатларини тиклаш хусусиятига эга.

Оксил молекулалари маълум бир рН оралиғида электронейтрал бўлиб бу соҳага *изоэлектрик нукта* деб аталади. Кўпчилик оксиллар учун изоэлектрик нукта киймати 5,5-7,0 ораллиқда бўлади. Оксиллар ўзларининг

изоэлектрик нукталарида беқарор бўлиб кам эрувчанликка эга бўлганлиги туфайли осон чўкмага тушиш хусусиятига эга.

Оксил молекулаларининг барқарор бўлиши, полипептид занжирида мавжуд бўладиган зарядларга ва гидрат қобикнинг ҳосил бўлишига узвий боғлиқ бўлади. Заряд ва гидрат қобикнинг мавжуд бўлмаслиги оксил молекулаларининг бир-бирига яқинлашиб ёпишиб қолиши, молекула ўлчамларининг катталаниши, бунинг натижасида оғирлик кучи таъсирида чўкмага тушиш ҳолати кузатилади. Бундай жараён *коагуляция* деб аталади. Коагуляция жараёни икки хил бўлиб, оксил молекуласига таъсир қилаётган реагент йўқотилганда у ўзининг бошланғич ҳолатини тўлиқ тикласа *қайтар*, акс ҳолда эса *қайтмас жараён* ҳисобланади.

Қайтар коагуляцияга мисол қилиб, *тузланиш*, яъни, оксилларга нейтрал туз эритмалари (натрий хлорид, аммоний сульфат ва б.) ни кўшиб чўктиришни олиш мумкин. Бундай туз эритмалари оксилнинг электр зарядини нейтраллаб гидрат қобикларини бузади, бунинг натижасида эса оксил молекуласи чўкмага тушади. Бундай оксилга сув кўшилганда эса у яна қайтадан ўзининг бошланғич ҳолатини тиклайди. Коагуляция жараёнига тесқари бўлган жараёни *пептизация* деб аталади.

Қайтмас коагуляция (денатурация) жараёнини харорат, оғир металллар, концентранган ноорганик кислоталар таъсири остида келиб чиқади.

Оксил молекулалари сувда эритилганда *коллоид эритмалар* ҳосил бўлади, улар эса ўз навбатида паст осмотик босимга эга бўлиб, тиник бўлмаган, тушаётган ёруғлик нурини тарқатиш (*Тиндал эффекти*), ранг ҳосил қилиш (тушаётган нурда - пушти, қайтган нурда - кўк) хусусияларга эга бўлади.

Барча оксиллар учун қатор биурет, ксантопротеин, Сакагучи ва х.к. каби рангли реакциялар мавжуд.

№2 Лаборатория машғулот

Оксилларнинг сувда ва органик эритувчиларида эрувчанлиги. Оксилларни кимёвий реагент ва киздириш йўли билан чўктириш Ишининг мақсади:

1. Талабаларни пептидлар учун хос бўлган сифат реакциялари билан таништириш;
2. Оксил молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
3. Талабаларда кимёвий идишлар ва реактивлар билан ишлаш кўникмаларини шакллантириш;
4. Талабаларни, ишлатилиб бўлинган реактивларни йўқ қилиш усуллари билан таништириш;
5. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш

1-Тажриба

Эритувчи	Дистилланган сув	Этил спирти	Ацетон	Этилацетат	Петролей Эфири
Эрувчяйлиги					

Оксилларнинг сув ва органик эритувчиларда эрувчанлиги. Пробиркага 0,2 мл тухум оксиддан солиб унинг устига 1,3 мл сув (шунингдек, органик эритувчилар - этил спирти, ацетон, петролей эфири) куйинг. Аралашмани шиша таёкча билан аралаштиринг. Сувли эритманинг мухитини универсал индикатор коғози ёрдамида аниқланг. Олинган натижаларни куйидаги 4-жадвалга тўлдилинг.

4-жадвал

2-Тажриба

Оксилларни киздириш ёрдамида чўктириш. 5 та пробиркага 1 см³ дан оксил эритмасидан куйинг:

а) 1-пробиркани киздилинг;

Аналитик эффементи: эритманинг лойқаланиши (опалесценция).

б) 2-пробиркага 1-2 томчи 1% ли CH_3COOH эритмасидан кўшиб киздилинг;

Аналитик эффементи: аввал эритма лойқаланиб сўнгра оқ чўкма тушади. (Оксил ўзининг зарядини йўқотиб изоэлектрик ҳолатига ўтади).

в) 3-пробиркага 1-2 томчи 10% ли CH_3COOH эритмасидан кўшиб пробиркани киздилинг;

Аналитик эффементи: чўкма ҳосил бўлмайди. (Бунда оксилнинг заряди мусбат кийматга ўтади).

г) 4-пробиркага 1-2 томчи 10% ли CH_3COOH эритмаси кўшиб унинг устига бир томчи NaCl нинг тўйинган эритмасидан кўшинг ва пробиркани киздилинг;

Аналитик эффементи: эритма лойқаланиб оқ чўкма ҳосил бўлади. (Оксил ўзининг зарядини йўқотиб изоэлектрик ҳолатига ўтади).

д) 5-пробиркага 1-2 томчи 10% ли NaOH эритмасидан кўшиб пробиркани киздилинг.

Аналитик эффементи: чўкма ҳосил бўлмайди. (Оксил таркибидаги мусбат заряд кучаяди). Кузатилган ҳодисаларни куйидаги 5-жадвал кўринишида тасвирланг.

5-жадвал

Пробирка №	Мухит	Кузатилган ўзгариш	Хулосалар
1	Нейтрал		
2	Кучсиз кислотали (1% CH_3COOH эритмаси)		
3	Кислотали (10% CH_3COOH эритмаси)		
4	Кислотали (10% $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaCl}$ эритмалари)		
5	Ишқорий (10% ли NaOH эритмаси)		

3-Тажриба

Оксилларни кимёвий реагентлар ёрдамида чўктириш.

3.1. Оксиллар эритмасига камрок миқдорда оғир металллар кўшилганда тегишли комплекслар ҳосил бўлиши ҳисобига оксилларнинг чўкмага тушиш ҳолати кузатилади. Тузлар миқдори кўпроқ бўлганда, оксил молекуласида заряд ҳосил бўлиши ҳисобига чўкма эриб кетиши мумкин. Бундай жараёнга *адсорбцион пептизация* деб аталади.

а) Оксил эритмасига 2-3 томчи кумуш нитрат эритмасидан кўшинг;

Аналитик эффементи: чўкма ҳосил бўлиши.

б) 1 см³ оксил эритмасига 3 томчи мис сульфат эритмасидан кўшиб бир оз вақтдан сўнг яна 8 томчи мис сульфат эритмасидан кўшинг;

Аналитик эффементи: кўп миқдорда кўшиладиган чўктирувчи эритмаси таъсирида эриб кетадиган чўкманинг ҳосил бўлиши.

3.2. Минерал кислоталар оксил молекулаларини дегидратлаб тегишли комплекс бирикмалар ҳосил қилади. Ҳосил бўлган чўкмага мўл миқдорда кислота (бундан нитрат кислота мустасно) эритмаси таъсир эттирилганда эриб кетади. Бу ҳолат нитрат кислота эритмасидан клиник текширишларда оксилнинг миқдорини аниқлашда кенг фойдаланилади.

а) пробирканинг девори бўйлаб эхтиёткорлик билан 10 томчи нитрат кислота ва 5 томчи оксил эритмасидан куйинг (қимирлатилмасин, эҳтиёт бўлинг кислота!)

Аналитик эффекти: икки эритма чегарасида оқ рангли чўкма доира кўринишида намоён бўлади. Бу доира чайқатилганда ҳам, кўшимча микдорда нитрат кислотаси эритмаси кўшилганда ҳам эримади.

б) пробирканинг девори бўйлаб эҳтиёткорлик билан 10 томчи сульфат кислота ва 5 томчи оксил эритмасидан куйинг (кимирлатилмасин, эҳтиёт бўлинг кислота!)

Аналитик эффекти: икки эритма чегарасида оқ рангли чўкма доира кўринишида намоён бўлади. Бу доира чайқатилганда ва кўшимча микдорда сульфат кислота эритмаси кўшилганда эриб кетади.

3.3. Ноорганик ва органик (сулфосалицил, трихлорсирка ва б.) кислоталар оксилларни дегидратлаб тегишли комплекс бирикмалар ҳосил қилади.

Сулфосалицил кислотаси биологик суюқликлар таркибидаги кам микдордаги оксилларни аниқлашда фойдаланилади. У барча оксил ва пептидларни чўктириш хусусиятига эга.

Трихлорсирка кислота (ТХСК) факат оксилларни чўктириш хусусиятига эга бўлиб, ундан кўпинча оксилларни кичик молекулали азот сакловчи моддалар (аминокислота, пептид ва б.) дан ажратишда кенг фойдаланилади.

а) пробиркага 6 томчи оксил эритмаси ва 2 томчи сулфосалицил кислота эритмасидан солинг;

Аналитик эффекти: чўкма тушади.

б) пробиркага 6 томчи оксил эритмаси ва 2 томчи трихлорсирка кислота эритмасидан солинг.

Аналитик эффекти: чўкма тушади.

3.4. Фенол ва мочевина оксил билан таъсирлашиб чўкмага тушадиган тегишли комплекс бирикмаларни ҳосил қилади.

а) 1 см³ оксил эритмасига 3 томчи фенолнинг сувли эритмасидан таъсир эттиринг;

Аналитик эффекти: чўкма тушади.

б) 1 см³ оксил эритмасига бир неча мочевина кристалларидан кўшинг;

Аналитик эффекти: чўкма тушади.

3.5. Кислотали муҳитда мусбат зарядга эга бўладиган, таркибида пиррол, индол ва имидазол гетерохалқалари тутган оксилларга танин, пикрин кислотаси, симоб дииниди, калий йодиди, вольфрам фосфат ва молибден фосфат кислота эритмалари таъсир этганда тегишли чўкмалар ҳосил бўлади. Бунда эритмаларни кислотали муҳитга келтириш керак бўлади. Протамин ва гистонлар эса нейтрал муҳитда чўкмага тушади.

а) пробиркага 5 томчи оксил эритмаси солиб унинг устига 1-2 томчи танин эритмаси ва 1-2 томчи 1% ли сирка кислота эритмасидан кўшинг;

Аналитик эффекти: кул ранг чўкма ҳосил бўлади.

Тухум оксидан альбумин ва глобулинларни ажратиб олиш

Ишинг мақсади:

1. Оксил молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
2. Талабаларда кимёвий идишлар ва реактивлар билан ишлаш кўникмаларини шакллантириш;
3. Талабаларни ишлатилиб бўлинган реактивларни йўқ қилиш усуллари билан таништириш;
4. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш

1-Тажриба

Тухум оксиди таркибидаги альбумин ва глобулинларни тузлашиш усули билан чўктириш (3% тухум оксиди, 1% NaCl эритмасида).

1.1. 1 мл тухум оксидига 9 мл дистилланган сув куйиб чайқатинг.

Аналитик эффекти: эритманинг лойқаланиши (глобулинлар чўкмага тушади).

1.2. а) 1 мл тухум оксидига тўйингунча ош тузидан кўшинг (туз эримади қолгунча).

Аналитик эффекти: оқ аморф табиатли глобулинлар чўкмага тушади.

б) 10 минутдан сўнг (чўкма тўлик тушиб бўладиган вақт) ҳосил бўлган чўкмани филтрлаб олинг. Филтратли пробиркани қайнатинг.

Аналитик эффекти: тухум альбумини чўкмага тушади.

1.3. а) 1 мл тухум оксидига шунча микдорда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: глобулинлар чўкмага тушади.

б) Чўкмани филтрлаб олиб филтратга аммоний сульфат кристалларидан эритма тўйингунча кўшинг.

Аналитик эффекти: кўтикнинг ҳосил бўлиши (тухум альбумини).

Кузатилган ходисаларни куйидаги 6-жадвал кўринишида тасвирланг.

6-жадвал

Оксиднинг номи	Эрувчанлик		
	Сув	NaCl эритмаси	(NH ₄) ₂ SO ₄ тўйинган эритмаси
Глобулин			
Альбумин			

Аминокислота ва оксилларга сифат реакциялари

Ишнинг мақсади:

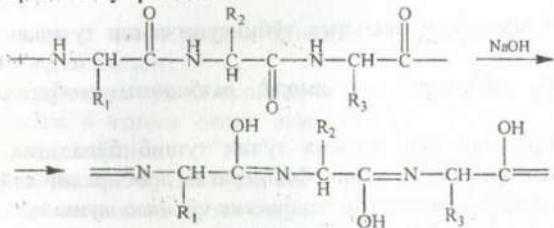
1. Аминокислоталарнинг айрим физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш;
2. Глицин ва аланин мисолида ўрганилган физик-кимёвий хоссалари хақидаги билимларни мустахкамлаш;
3. Сифат реакцияларини ўтказишда кузатиладиган қўшимча жараёнлар билан танишиш;
4. Махсус адабиётлар билан ишлаш малакаларини, кўникмаларни ривожлантириш ва ҳулоса қилиш

1-Тажриба

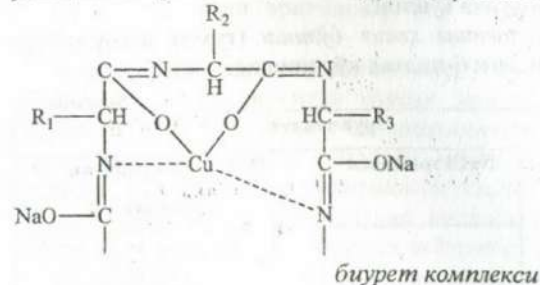
Биурет реакцияси. 1 мл оксил эритмасига 1 мл натрий гидроксид эритмасидан солиб унинг устига томчилатиб мис сульфат эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти – эритма бинафша рангга бўялади.

Бунда, ишкорий муҳитда, полипептид занжиридаги пептид боғлари енолланиш жараёнига учрайди:



Полипептиднинг енол шакли ўз навбатида мис гидроксид билан ўзаро таъсирлашиб кўкиш-бинафша рангли комплекс ҳосил қилади. Биурет реакцияси барча пептид боғи тутган бирикмалар учун характерли бўлади:

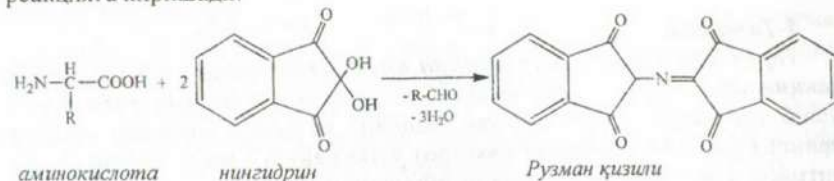


2-Тажриба

Нингидрин реакцияси. 3 мл оксил эритмасига 1 мл 0,1% ли янги тайёрланган нингидрин эритмасидан кўшиб эритмани қайнагунча киздириг.

Аналитик эффекти: эритманинг ранги ўзгаради.

Бу реакция оксиллар таркибида бўладиган аминокислоталарнинг аминогурuhlари учун хос бўлган реакция ҳисобланади. Бунда аминокислоталар ўзларининг аминогурuhlари ҳисобига қуйидаги реакцияга киришади:

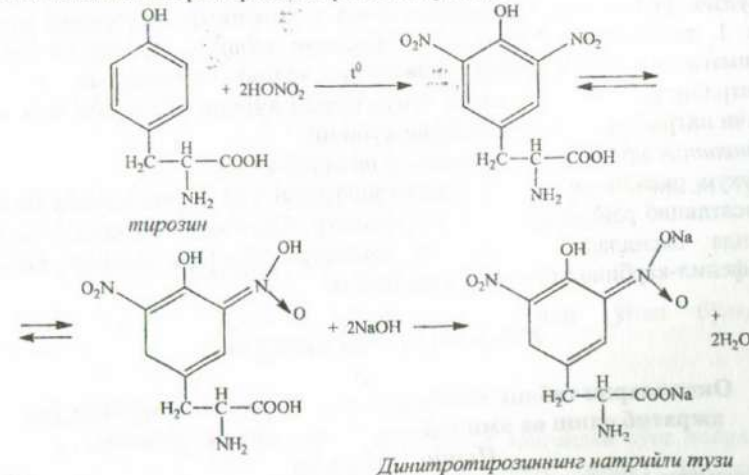


3-Тажриба

Ксантопротеин реакцияси. 3 мл оксил эритмасига эхтиётлик билан 1 мл конц. нитрат кислота эритмаси кўшиб аралашма қайнагунча киздириг. Эритма совуганидан сўнг унга концентрланган ишкор эритмасидан томчилатиб кўшинг.

Аналитик эффекти: заргалдоқ-қизил ранг ҳосил бўлади.

Ароматик табиатли аминокислоталар (тирозин, триптофан, фенилаланин) га конц. нитрат кислота эритмаси таъсир эттирилганда сарик рангли тегишли нитробирикмалар ҳосил бўлади.



4-Тажриба.

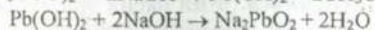
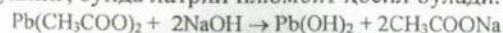
5-оксиметилфурфурол билан реакцияси. 1мл оксил эритмасига аввал 5 томчи сахароза эритмаси, унинг устига эса эхтиётлик билан 5 томчи концентрланган сульфат кислота эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: *икки эритма чегарасида қизғиш-олча ранг ҳосил бўлади.*

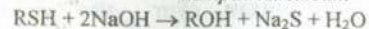
Бу ранг, сахароза эритмасига конц. сульфат кислота эритмаси кўшиб оксилга таъсир эттириш натижасида ҳосил бўладиган триптофан билан оксиметилфурфуролнинг ўзаро таъсирлашиши натижасида ҳосил бўлади.

5-Тажриба.

Таркибида олтингурут тутган аминокислоталар учун хос бўлган реакциялар. 3 мл оксил эритмасига 6 мл натрий гидроксиди эритмасидан кўшиб кайнатиш (бунда аммиак газининг ажралиб чиқишига эътибор беринг). Сўнгра ҳосил бўлган маҳсулот устига аввал 1 мл кўрғошин ацетат эритмаси, сўнгра ҳосил бўладиган чўкмени тўлик эриб кетгунича ишқор эритмасидан кўшинг, бунда натрий плюмбит ҳосил бўлади:

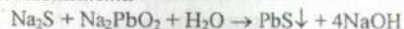


натрий плюмбит



S-сақловчи

аминокислота



6-Тажриба

Вуазен реакцияси. Пробиркага 2 мл тухум оксидидан солиб унинг устига 1 томчи формальдегид эритмасидан кўшинг. Ҳосил қилинган аралашмага (муз ёрдамида совутган ҳолда) томчилатиб 6 мл концентрланган сульфат кислота эритмасидан кўшинг. 10 минутдан сўнг 10 томчи натрий нитрит эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: *кўк-бинафша тусли эритма.*

Тухум оксиди таркибида бўладиган триптофан формальдегид билан конденсатланиб рангли бис-2-трипто-фенилметанни ҳосил қилади, у эса ўз навбатида оксидланиб кислотали мухитда бинафша рангли бис-2-триптофенил-карбинол тузини ҳосил қилади.

№5 Лаборатория машгулоти

Оксилларни табиий манбалар (сут, тухум, қон зардоби) дан ажратиш олиш ва аминокислота таркибини ўрганиш.

Ишнинг мақсади:

1. Оксиллар молекуласидаги аминокислота таркибини ўрганиш;
2. Оксил молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;

3. Талабаларда кимёвий идишлар ва реактивлар билан ишлаш кўникмаларини шакллантириш;
4. Талабаларни, ишлатилиб бўлинган реактивларни йўқ қилиш усуллари билан таништириш;
5. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш

6.

1-Тажриба

Тухум оксидидан босқичма-босқич туз билан чўктириш оркали (олдидан 50% ли тўйинтирилишдан тушган чўкмени олиб ташлаб), ҳамда диализ йўли билан альбумин қисми ажратилади.

Жихозлар ва реактивлар: 100 мл ўлчагич цилиндр, стакан, центрифуга, вакуум, филтрлагич қурилмаси, СФ-26, аммоний сульфат, бир дона товук тухуми, диализ мембранаси, диализ учун камера (2л)

Ишнинг бориши: тухум оксиди сариғидан ажратилади ва ўлчагич цилиндрига солинади, сўнгра унинг ҳажми сув билан 50 мл гача етказилади ва 15,65 гр аммоний сульфат кўшилади (аста секин аралаштириб). Ҳамма туз бўлаклари эригандан сўнг ярим тўйинган туз эритмасидан тушган глобулинлар чўкмаси центрифуга қилиниб (3-5 минг айл/мин.), ёки калин филтр қоғоз оркали филтрлаб ажратилади. Филтрат (устидаги суюқлик) ўлчагич цилиндрга йиғилади, ҳажми ўлчаниб, туз эриши қулай бўлиши учун стаканга ўтказилади ва эритмада аммоний сульфат тузини тўйиниш даражаси 70% гача етказилади. Тузнинг микдори қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади:

$$X = \frac{0,515 * V (C_2 - C_1)}{1 - (0,272 - C_2)}$$

Бу ерда: X-берилган тўйиниш даражаси учун олинган тузнинг микдори, гр. да

V-оксил эритмасининг ҳажми мл да,

C₁-тузнинг дастлабки тўйиниш даражаси (ўнли бўлақларда 100%=1,00).

C₂-берилган тўйиниш даражаси.

Керакли микдордаги аммоний сульфат эригандан сўнг лойқаланган аралашма чўкма ҳосил қилиш учун 30-40 минут қолдирилади (тиндирилади), овальбумин чўкмаси глобулинлар каби йиғиб олинади. Чўкма, (агар филтрлаш ишлатилган бўлса филтр қоғоз чўкма билан бирга ҳолда), оз ҳажмдаги сувда аралаштирилиб, диализ қопчасига

солинади ва тузни чикариб юбориш учун диализ қилинади. Бунинг учун диализ қопчаси илиқ сув билан хўлланиб бир учи боғланади ва воронка ёрламида оксил эритмаси билан тўлдирилади. Диализ 4 марта 20 моль рН-7,4 бўлган натрий фосфат буфер эритмасида ҳар гал алмашиниш 1 соатдан кам бўлмаган ҳолда олиб борилади.

Диализни дастлабки 2 соатини сув билан олиб бориш мумкин. Диализатдаги овальбуминнинг концентрацияси 260-280 нм ютилиши бўйича аникланиб нонограммага асосан битта тухумдаги оксил миқдори хисобланади.

2-Тажриба

Қон зардобидан альбуминни ажратиш олиш

Қон зардобидан 50% даражада туз билан тўйинтириш йўли билан глобулинлар (α , β , γ) чўктирилади, сўнгра чўкма устидаги суюқликдан туз билан тўйинтириш даражасини 70% га етказиб туриб, зардоб альбумини чўктирилади ва диализ йўли билан тузсизлантиради.

Жихозлар ва реактивлар: 50 мл ўлчагич цилиндр, 50 мл ли стакан, центрифуга, филтрлагич қурилмаси, СФ-26, аммоний сульфат, 10 мл зардоб, диализ мембранаси, диализ учун камера (стакан) (1л).

Ишининг бориши: қон зардобини туз билан чўктирганда, тузнинг концентрацияси секин оширилишига қараб, қуйидаги фракциялар (қисмлар) чўкиш мумкин:

Тўйинтириш даражаси, %	Чўкмага тушаётган фракция	Чўкмадаги оксил миқдори (умумий оксилга нисбатан)%	Эслатма
34	γ - глобулинлар	20	кристалл ҳолда
40	α , β , γ - глобулинлар	15	
50	α , β -глобулинлар,	14	
62	мукопротеинлар	32	
68	зардоб альбумин	14	
	альбумин, гликопротеинлар ва бошқ.		

Қон зардобини альбумини глобулинлар йиғиндисини аммоний сульфат тузи тўйинтирилиб, олдиндан олдиндан чўктирилгандан сўнг ажратилади. Бунинг учун 10 мл қон зардобига 3,13 г туз қўшилади ва глобулинлар чўкмаси филтрланиб ёки центрифугаланиб, олиб ташланади, филтрат йиғиб олинади. Глобулинлар чўкмаси қайта чўктирилиб, фракциялаш учун фойдаланилади. Зардоб филтрати глобулинлар ажратиш олиб ташлангандан сўнг ўлчагич цилиндрга солиниб, ҳажми ўлчанади ва 60%

гача тўйинтириш учун қурук туз қўшилади. Маълум концентрациягача керак бўлган тузнинг миқдори қуйидаги формула билан аниқланади:

$$X = \frac{0,515 * V (C_2 - C_1)}{1 - (0,272 - C_2)}$$

Бу ерда: X- тузнинг миқдори, гр. да

V- эритма ҳажми мл да,

C₁-бошланғич тўйинтириш даражаси (ўнли бўлақларда 100%=1,00).

C₂-берилган тўйинтириш даражаси.

Керакли миқдордаги туз эригандан сўнг, суспензия 30-45 минутгача чўкма ҳосил қилиш учун қолдирилади. Альбумин чўкмаси глобулинга ўхшаб йиғилади. Чўкма, (агар филтрланган бўлса филтр қоғоз чўкма билан), оз миқдордаги сувда эритилади ва сувда диализланади (3 марта, сувнинг ҳажми 1 л, ҳар бир навбати 1-2 соатдан). Диализатдаги альбумин концентрацияси аниқланади, унути ютилиш бўйича (280 нм) номограммага асосан топилади.

№6 Лаборатория машғулот

Сут таркибидан казеинни ажратиш олиш, тозалаш, физик-қимёвий хоссаларини ўрганиш.

Ишининг мақсади:

1. Оксиллар молекуласидаги аминокислота таркибини ўрганиш;
2. Оксил молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
3. Талабаларда қимёвий идишлар ва реактивлар билан ишлаш кўникмаларини шакллантириш;
4. Талабаларни, ишлатилиб бўлинган реактивларни йўқ қилиш усуллари билан таништириш;
5. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш

1-Тажриба.

Сут таркибидан казеинни ажратиш олиш. Сут таркибида фосфорли махсус оксил учрайди. Сут таркибида учрайдиган казеиннинг миқдори барча учрайдиган оксилларнинг 80% ини ташкил қилади. Казеин кислотали хоссага эга бўлиб, у сут таркибида сувда эрийдиган кальцийли туз кўринишида мавжуд бўлади. Оксиллар оксидланганда оқ аморфсимон кўринишида чўкмага тушади, уларни эса осонгина филтрлаб ажратиш олиш мумкин.

Ишнинг бориши

1. Ҳажми 50 мл бўлган идишга (стакан) 3 мл сут солиб унинг устига 7 мл дистилланган сув, яхшилаб аралаштириб турган ҳолда устига томчилатиб 1% хлорид кислота (тахминан, 10-15 томчи) эритмасидан аморфсимон чўкма ҳосил бўлгунча кўшинг. Ҳосил қилинган аралашмани 5 мин давомида тиндириб, шундан сўнг унинг устига яна 10 мл дистилланган сув қуйиб яна 5 мин давомида тиндириб. Чўкма устидаги суюқликни эҳтиётлик билан тўкиб ташлаб унинг устига яна 10 мл дистилланган сув қуйиб тиндириб. 5 мин дан сўнг аралашмани коғоз филтри ёрдамида филтрланг.

2. Ажратиб олинган чўкмадан озрок микдорда олиб колбага солиб, унинг устига 6 мл 10% натрий гидроксид эритмасидан кўшиб қумли ҳаммом ёрдамида 1 соат давомида қайнатиб қиздириб. Шундан сўнг, колбани совутиб унинг устига аста-секинлик билан томчилатиб нитрат кислота (тахминан, 20-30 томчи) эритмасидан кўшинг. Бунда, оксилнинг тўлик гидролизга учрамаслиги натижасида ҳосил бўладиган турли юкори молекуляр бирикмалар аралашмаси ҳосил бўлади. Аралашмани филтрланг.

3. Филтратни 4 қисмга бўлиб унинг устига: 1-идишга – натрий гидроксид ва 2-3 томчи мис сульфат эритмаси кўшинг (биурет реакцияси); 2-идишга - 3-4 томчи натрий плюмбит эритмаси, 3-идишга - 5 томчи нингидрин эритмаси; 4-идишга - 10 томчи молибденли эритмадан солиб спирт лампаси ёрдамида қайнатинг (бунда казеин таркибидаги фосфор аникланади). Олинган натижаларни қуйидаги жадвал кўринишида тасвирланг.

7-жадвал

Реагент	Биурет реакцияси	Натрий плюмбит	Нингидрин эритмаси	Молибденли эритма
Аналитик эфекти				

Хулосалар: казеинни оксил таркибидан ажратиб олиш шароитлари ва гидролиз жараёни маҳсулотларининг сифат реакциялари тўғрисидаги олинган натижаларни ёзинг.

ФЕРМЕНТЛАР

Ферментлар – оксил табиатига эга бўлган биологик катализаторлардир. Фермент термини (лотинчадан *fermentum* - ачитки) XVII аснинг бошида голландиялик олим Ван Гелмонт томонидан таклиф қилинган.

Ноорганик табиатга эга бўлган катализаторлар билан ферментлар катализи жараёнининг қуйидаги умумий қонуниятларига бўйсунди:

- факат энергетик жиҳатдан мос келадиган жараёнларда иштирок этади;
- реакция йўналишларини ўзгартирмайди;
- реакция бориш жараёнида умуман сарф бўлмайди;
- реакция маҳсулотлари ҳосил бўлишида иштирок этмайди.

Ноорганик катализаторлардан ферментларнинг энг асосий фарқи: Ферментлар организмнинг юмшоқ шаронтида (р, t°, рН) таъсир қилади.

1. Оксил-ферментлар денатурловчи агентлар таъсирига сезилувчан бўлади:

2. Ферментлар таъсири юкори самарадорликка эга.

4. Ферментлар фаоллиги бошқарилади (генетик ва турли биорегуляторлар таъсирида).

5. Организмда полифермент (яъни, поликаталитик) тизимлар ишлайди, таъсир қилади, бунинг натижасида моддаларнинг кўп босқичлик организмга энергия даражаси пасайиши мос келувчи, йўналтирилган ўзгариши юзага келади.

6. Ферментлар маҳсус таъсир қилиш хусусиятига эга:

а) *абсолют* – ферментлар аниқ бир модданинг ўзгаришида иштирок этади (масалан, *уреаза* ферменти мочевиани CO₂, N₂ ва H₂O га парчалайди);

б) *нисбий* – ферментлар тузилиши жиҳатидан бир-бирига жуда яқин бўлган бирикмалар таркибидаги аниқ бир боғларни ўзгартаришда иштирок этади (масалан, *липаза*, радикалнинг типига боғлиқ бўлмаган ҳолатда ҳам мураккаб эфир боғларини узишда иштирок этади);

в) *гуруҳга нисбатан* – бу ҳам, лекин бунда атом гуруҳлари ҳисобга олинади.

7. Жонли материяни қайта ишлаб чиқишига йўналтирилган, ҳужайра ва ҳужайралараро муҳитни кам ўзгарадиган ҳолатда ушлаб туришга қаратилган, ташқи муҳитни ўзгаришларига ўрганувчан метаболик жараёнларни вақт кетма-кетлигида ферментлар тизими бошқаруви олиб борилади.

8. Ферментатив реакциялар боришида асосан 100% унум кузатилиб бунда бошқа қўшимчаларнинг ҳосил бўлиши умуман кузатибмайди.

Ферментатив бошқарув орқали метаболик жараёнлар вақт кетма-кетлигида бир-бирига боғланади.

Ферментларнинг тузилиши. Ферментлар тузилишига кўра икки хил яъни, *оддий* ва *мураккаб* бўлади. Мураккаб ферментлар учун куйидагича белгилашдан фойдаланилади; *апофермент* – фермент молекуласининг пептид қисми; *холофермент* – апофермент ва нооксил қисмининг мустақкам табиий комплекси; *кофактор* – мураккаб оксил-ферментнинг оксил бўлмаган қисми; *простатик гуруҳ* – апофермент билан мустақкам боғланган кофактор (металлар, гем ва б.); *кофермент* – апоферментдан осон ажраладиган қисм, масалан, диализ ёрдамида ажратиладиган кофактор (витами́нлар, нуклеотидлар ва б.). Апоферментлар доимий равишда организмда синтезланиши билан бир қаторда кофактор (витами́н, металлар ва б.) лар эса овқат билан олинади.

Ферментатив катализ фақат фермент сиртида боради. Ўзгарадиган моддалар *субстрат* деб юритилади. Субстратнинг ўзгариш жараёни *фаол марказ* деб юритилувчи соҳада кечиб, бу соҳа кўпчилик ферментларнинг учамчи тузилиши билан боғлиқ бўлади. Оддий оксил-ферментларда фаол марказ, фазода бир-бирига яқинлашган аминокислота радикаллари билан бирламчи тузилиши ҳисобига юзага келади. Мураккаб ферментларда бу соҳада кофакторлар жойлашган бўлади. Ҳар қандай фаол марказда икки қисм асосий ҳисобланади, булар: *лангар* (аминокислота радикаллари субстратнинг бир жойга жойлашишини таъминлайди) ва каталитик (аминокислота радикаллари ва (ёки) кофакторлар катализаторлик вазифасини бажаради). Регулятор вазифасини бажарувчи бир қатор ферментларда яна бир – *аллостерик* фаол марказ мавжуд. Кичик молекулали бирикмалар (эффektorлар) нинг шу фаол марказга бирикиши ферментларнинг учамчи тузилишини ўзгаришини индукциялайди. Бу эса ферментларнинг каталитик фаоллигини ўзгаришига олиб келади.

Тўртламчи тузилишга эга бўлган оксил-ферментлар катализатор сифатида бир хил реакцияни катализ қилиши мумкин, лекин бунда уларнинг суббирликлари тузилиши бир биридан фарк қилади. Агар бу ҳолат генетик жиҳатдан мустақкамланган бўлса у ҳолда – *изоферментлар* тўғрисида гап бораётган бўлади. Масалан, лактатдегидрогеназа ферменти 4 та субъбирликдан ташкил топган бўлиб Н ва М типларига эга бўлиб 5 изофермент вариантларида мавжудлиги аниқ.

Оддий ва мураккаб ферментлар таркибида субстрат, аллостерик ва каталитик марказлар (субстрат ва каталитик марказ бирга ҳам бўлиши мумкин) мавжуд бўлади.

Оддий ферментларнинг *каталитик маркази* полипептид занжирининг турли қисмларида жойлашган бир нечта аминокислота қолдикларининг умумийлашидан ташкил топган бўлади. Фаол марказнинг ҳосил бўлиши оксил-ферментларнинг учамчи тузилиши ҳосил бўлиши билан бир вақтда содир бўлади. Оддий ферментнинг фаол маркази таркибига кўпинча серин,

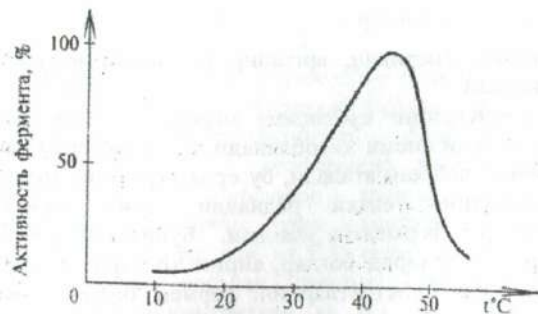
цистеин, тирозин, гистидин, аргинин, аспарагин ва глутамин кислота қолдиклари киради.

Оддий ферментнинг *субстрат маркази* – оксил молекуласидаги субстратни боғловчи қисми ҳисобланади. Субстрат марказини шунингдек "*лангар майдони*" деб ҳам аталади, бу ерда турли хил таъсирлар ҳисобига (аминокислоталарнинг ёнаки радикали, субстратнинг) функционал гуруҳлари субстрат ферментга уланади. Бунда субстрат фермент билан ионли таъсирлар, водород боғлар, айрим ҳолларда эса ковалент боғлар ҳисобига боғланади. Субстратларнинг фермент билан боғланиб қолишида шунингдек, гидрофоб таъсирларнинг ҳам ўз ўрни мавжуд. Оддий ферментларда субстрат марказ каталитик билан мос келиб қолиши мумкин, бундай ҳолатда ферментнинг *фаол маркази* ҳақида сўз юритилади.

Ферментлар оксилларга мос келадиган барча хоссаларга эга, лекин оксилларнинг организмда бажарадиган функцияларидан фаркли ўларок улар фақат ўзларига хос бўлган специфик функцияларни бажаради.

Ферментлар фаоллигининг ҳароратга боғлиқлиги. Ферментлар фаоллигига ҳарорат турлича таъсир қилади. Ҳарорат кўтарилганда ферментнинг оксил қисми денатурацияга учраши натижасида ферментнинг фаоллигига салбий таъсир қилади. Маълум бир ҳарорат (оптимал) да фермент-субстрат комплексининг ҳосил бўлиш тезлиги ортиши мумкин, бу эса ферментнинг фаоллигини оширади. Ферментнинг каталитик фаоллиги энг максимал кийматга эга бўладиган ҳарорат *ферментнинг ҳарорат оптимуми* деб аталади. Турли хужайра ферментлари учун ҳар хил ҳарорат оптимумлари мос келади, уларнинг бундай киймати фақат амалий жиҳатдан аниқланади. Ҳайвон организмлари ферментлари учун ҳарорат оптимум интервали кўпинча 40-50°C оралиғида бўлади (1-расм).

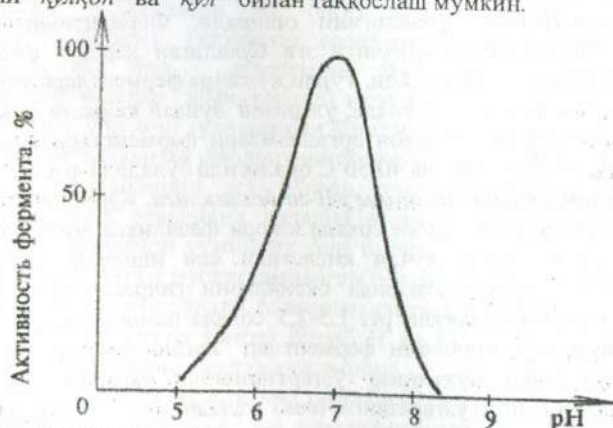
Ферментлар фаоллигининг рН-га боғлиқлиги. Кўпчилик ферментлар нейтрал муҳитга яқин бўлган соҳада юқори фаолликка эга бўлади. Фақат айрим ферментларгина кучли кислотали ёки ишқорий шароитдагина "*ишлайди*". Масалан, ошқозонда оксилларни гидролизлайдиган пепсин ферменти юқори фаолликни рН 1,5-2,5 соҳада намоён қилади. Ишқорий муҳитда, ичакда локалланган ферментлар "*ишлайди*". Ҳар бир фермент учун мос келувчи муҳитнинг ўзгартирилиши оксил молекуласининг учамчи тузилишини ўзгаришига олиб келади, бу эса ферментларнинг фаоллигини пасайтириб юборади. Бошқа томондан, муҳитнинг ўзгариши субстратнинг ўзгаришига таъсир қилади бу эса фермент-субстрат комплексининг ҳосил бўлишида кийинчиликлар келтириб чиқаради (2-расм).



1-расм. Фермент фаоллигига ҳароратнинг таъсири

Ферментларнинг энг асосий хоссаси бўлиб уларнинг **махсус таъсир** қилиши ҳисобланади. **Махсуслик** – бу ферментнинг субстратга танлаб таъсир қилишидир. Ферментларни субстратларга нисбат махсус таъсири “калит билан қулфни” ишлатилишига ўхшатиш мумкин.

Д.Кошланд гипотезасига кўра фермент котиб қолган молекула эмас, балки конформацион лабил, шунинг учун унга субстратлар ёки бошқа лигандлар боғланганда унинг фаол маркази ва молекуласининг конформацияси бир мунча ўзгаришга учрайди. Ферментнинг фаол марказига субстрат боғланганда шаклини ўзгартиришга “мажбур қилади”. Бу ҳолатни “қўлқон” ва “қўл” билан таққослаш мумкин.



2-расм. Фермент фаоллигига эритма муҳитининг таъсири

“Мажбурий мослик” деб аталувчи гипотеза экспериментал жиҳатдан тасдиқланган. Бу гипотеза ёрдамида шунингдек, бир-бирига яқин бўлган субстрат аналогларининг ўзгаришини ҳам тушунтириш мумкин.

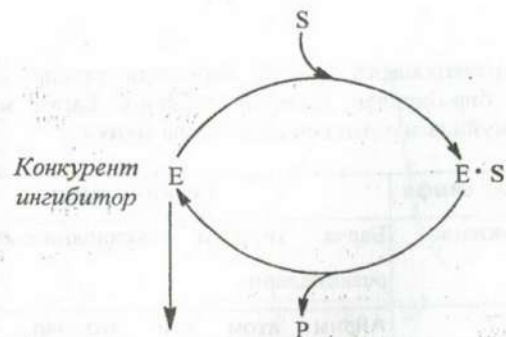
Кимёвий реакцияларга қандай каталитик таъсир қилишига кўра ферментларни бир-биридан фарқлаш мумкин. Барча маълум бўлган ферментларни қуйидаги олтита синфга бўлиш мумкин.

8-жадвал

Ферментлар синфи	Реакция типи
Оксидоредуктаза	Барча типдаги оксидланиш-қайтарилиш реакциялари
Трансфераза	Айрим атом ёки атомлар гуруҳсини донордан акцепторга ташиш вазифаси
Гидролаза	Кимёвий боғларни гидролитик узиш
Лиаза	Кўшбоғларни ногидролитик узиш, ёки бундай боғларни ҳосил қилиш
Изомераза	Турли хил иономерларнинг ўзгариши
Лигаза	АТФ энергияси ёрдамида икки ёки ундан ортиқ бирикмаларнинг ўзаро таъсирлашиши натижасида боғ ҳосил бўлиши

Ферментларнинг ингибирланиши. Айрим моддалар таъсирида ферментларнинг фаоллиги пасайиши ёки умуман йўқолиши мумкин, бундай моддаларга **ферментлар ингибитори** дейилади. Айрим фермент ингибиторлари ҳайвон ва инсон организми учун доривор моддалар бўлиб ҳисоблана, бошқалари эса организм учун захар бўлиб ҳисобланади.

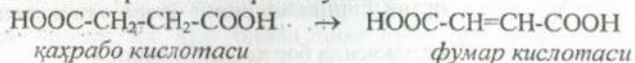
Қайтар ингибиторлар. Ферментларга учта типдаги қайтар ингибиторлар таъсир қилиши мумкин; конкурент, ноконкурент ва ноконкурентсиз. **Конкурент ингибиторлар** деб, ферментнинг фаол маркази билан қайтатдан таъсирлашадиган моддаларга айтилади. Кўпинча, конкурент ингибиторлар тузилиши жиҳатидан субстратга жуда ўхшаш бўлади, уларни фермент-ингибитор комплекс таркибидан субстратнинг концентрацияси ортиқча таъсирида сиқиб чиқариши мумкин. Ферментларнинг конкурент ингибиторлар билан таъсирланиши натижасида, денатурация ёки инфоляция ҳолатлари кузатилмади, шунинг учун ингибиторни субстрат билан алмаштирилганда ферментатив реакция тезлиги бир мунча вақтга камаяди (пасаёди), сўнг қайта тикланади(3-расм).



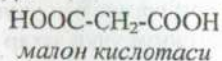
3-расм Конкурент ингибиторнинг таъсир қилиш схемаси

Ферментларнинг конкурент ингибиторлар билан таъсирланиши натижасида ферментатив реакциялар учун мос келадиган K_m киймати ўзгаради.

Субстрат ва конкурент ингибиторларнинг тузилишидаги ўхшашлик фақат фермент-ингибитор комплекснинг ҳосил бўлишида муҳим аҳамиятга эга, лекин бу ферментатив реакцияларнинг боришига таъсир қилишига камлик қилади. Мисол сифатида сукцинатдегидрогеназа таъсири остида қахрабо кислотасидан фумар кислотаси ҳосил бўлиш реакциясига малон кислотасининг таъсирини келтириш мумкин.



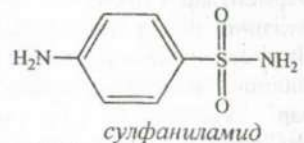
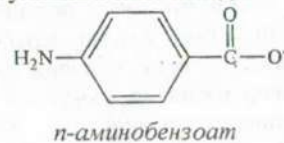
Реакцион аралашмага озрок миқдорда малон кислотасининг қўшилиши ферментатив реакция тезлигини пасайтиради ёки умуман тўхтатади, чунки малон кислотаси сукцинатдегидрогеназа учун конкурент ингибитор бўлиб ҳисобланади.



Малон кислотасининг тузилиши қахрабо кислотасиникига ўхшаш бўлиши унинг фермент билан комплекс ҳосил қила олишига олиб келади, лекин бундай комплекснинг парчаланиши кузатилмайди. Қахрабо кислотасининг концентрацияси оширилганда комплекс таркибидан малон кислотасининг сиқиб чиқарилиши кузатилади, бунинг натижасида сукцинатдегидрогеназа ферментининг фаоллиги яна қайтадан тикланади.

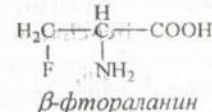
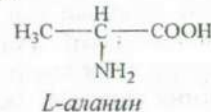
Кўпчилик доривор препаратлар инсон ва ҳайвон организмидаги ферментларни конкурент типини бўйича ингибирлайди. Мисол қилиб *p*-аминобензой кислота (ПАБК) га тузилиши жиҳатидан ўхшаш бўлган сульфамид препаратларини келтириш мумкин. Бундай бирикмалар микроорганизмлар ҳужайрасидаги нуклеин кислота алмашинувининг муҳим компоненти бўлган фолий кислотаси учун интермедиант бўлиб

ҳисобланади. Организмга сульфамид препаратлар киргазилганда метаболик ферментларнинг ингибирланиши кузатилади, бу эса нуклеин кислоталар синтезининг секинлашишига, натижада микроорганизмларнинг ҳалок бўлишига олиб келади.



Бундай ҳолатда сулфаниламид фолий кислотасини синтез қилувчи ферментга конкурент ингибитор ҳисобланади.

Бактерия ҳужайраларининг қобигига кирувчи пептогликан таркибига D-аланин уланган. Бактериялар ҳужайра деворларини синтез қилишда аланин-рацемеза ферменти ёрдамида ҳайвон L-аланини D-шаклга айлантиради. Аланин-рацемеза ферменти фақат бактериялар, унун хос бўлиб сут эмизувчиларда мавжуд эмас. Демак, ушбу фермент доривор препаратлар учун яхши нишон бўлиб ҳисобланади. Метил гуруҳидаги битта водород атомини фторга алмаштирилганда фтораланин ҳосил бўлади, у билан эса аланин-рацемеза боғланиб қолиши натижасида ингибирланади.



Шуларга асосланган ҳолда, маълум ферментларга конкурент типиди таъсир қиладиган доривор воситаларни синтез қилиш мумкин бўлади. Ингибитор юқори самарадорликка эга бўлиши учун ферментларга юқори мойилликка эга бўлиши керак. Акс ҳолда ферментнинг фаол маркази учун эндоген субстрат билан рақобат қилиш учун доривор препаратларни кўп миқдорда истеъмол қилиш керак бўлади.

Ноконкурент типидидаги ингибиторлар, ферментлар билан фаол марказда таъсирлашмасдан балки ундан қандайдир бир масофада таъсирлашади, уларни ортикча миқдордаги субстратлар таъсирида комплекс таркибидан чиқариб юбориб бўлмайди. Ингибиторнинг фермент билан ўзаро таъсирланиши натижасида унинг конформациясининг ўзгариши кузатилади. Ферментларнинг ноконкурент типидидаги ингибиторлар билан ўзаро таъсирланиши натижасида ферментатив реакцияларнинг V_{max} киймати ўзгаради.

Ноконкурент типидидаги ингибирланишга фақат ингибиторларнинг фермент-субстрат комплекс таркибидидаги фермент билан таъсирлашишини келтириш мумкин, бу эса комплексни парчаланишига йўл қўймайди.

Қайтмас ингибирланишга мисол қилиб, ферментларга қайтмас ингибирловчи таъсир қиладиган фосфорорганик бирикмаларни келтириш мумкин, уларнинг бундай хоссаларидан турли хил инсектицидлар яратишда фойдаланилади.

Ферментлар – оксил табиатига эга бўлган биологик катализаторлар. Ферментларни оксил табиатига эга эканлигини уларни қатор физик-кимёвий хусусиятлари орқали исботланади, буларга: коллоид эритмалар хосил қилиши, амфотер хусусиятлари, оғир металллар, кучли кислоталар, ишқорлар таъсири остида денатурацияга учраши ва каталитик хусусиятларини йўқотиши мисол бўлади.

Ферментларга хос бўлган хусусиятлар: маълум ҳарорат (36-40°C) да энг юқори фаолликни намоён қилиши, мухит рН-да ва ўта махсус таъсирлик. Ферментнинг фаоллигига субстратнинг концентрацияси ҳам таъсир қилади; паст концентрацияда ферментни фаоллиги юқори бўлмайди, субстратни концентрацияси маълум даражагача (оптималь концентрация) кўпайганда фермент юқори фаолликни намоён қилади, субстратни концентрацияси ортиқча ошиб кетса фермент фаоллиги пасайиб кетади, яъни фермент ингибириланади.

Субстратни оптималь концентрацияси шароитида ферментатив реакциянинг тезлиги ферментнинг эритмадаги концентрациясига тўғри пропорционалдир.

Ферментларнинг фаоллигига кимёвий моддалар ҳам таъсир этади. Ферментларнинг фаоллигини оширувчи моддалар *фаоллаштирувчи*, фаолликни пасайтирувчилари эса *ингибиторлар* деб аталади.

Ферментатив реакцияларнинг тезлигини аниқлаш, ҳамда тезликка турли хил факторларнинг таъсирини ўрганиш *ферментатив кинетика* вазибаларига киради. Субстрат, ингибиторларни ферментларга мойиллиги ва уларни таъсир механизмини ўрганиш, кинетик изланишлар орқали олиб борилади. Ферментатив реакциялар тезлигига асосий таъсир қилувчи факторлар қуйидагилардир: фермент ва субстратнинг концентрацияси, ингибитор ва активаторлар борлиги, мухит рН ва ҳарорат.

Субстратнинг концентрацияси, ферментатив реакция тезлигига таъсир қилувчи энг асосий факторлардан бири бўлиб ҳисобланади. Ферментатив реакция тезлигининг субстрат концентрациясига боғлиқлиги Михэлис тенгламаси ёрдамида аниқланади:

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

V-ферментатив реакция тезлиги; V_{max} -энг юқори оптималь тезлик; [S]-субстрат концентрацияси; K_m -Михэлис доимийлиги.

№7 Лаборатория машғулоти

Ферментлар хоссаларини текшириш.

Озиқ-овқат маҳсулотларида каталазани аниқлаш

Ишнинг мақсади:

1. Талабаларга *каталаза*, *оксидоредуктаза*, *тирозиназа* ва б. мисолида ферментатив реакцияларни тушунтириш;
2. Фермент молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
3. Талабаларда, амалий ишлар бажаришда муҳим ҳисобланган кўникмаларни ривожлантириш;
4. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

1-Тажриба.

Озиқ-овқат маҳсулотлари таркибидаги каталазани аниқлаш. Икки пробиркага 5 томчидан водород пероксид эритмасидан кўшинг. Биринчисига 5 томчи қайнатилмаган сут, иккинчисига эса 5 томчи қайнатилган сут кўшинг. Биринчи пробиркада газ ажралиб чиқишини кузатинг. Бу пробиркага чўғ ҳолатдаги чўп тутилганда нимани кузатдингиз? Нима учун? Бу тажриба учун хом ва пишган гўшт бўлаги, хом ва пишган картошқадан ҳам фойдаланиш мумкин.

№8 Лаборатория машғулоти

Ишнинг мақсади:

1. Талабаларга *каталаза*, *оксидоредуктаза*, *тирозиназа* ва бошқалар мисолида ферментатив реакцияларни тушунтириш;
2. Фермент молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
3. Талабаларда, амалий ишлар бажаришда муҳим ҳисобланган кўникмаларни ривожлантириш;
4. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

1-Тажриба.

Сут таркибидаги оксидоредуктазани аниқлаш. Биринчи пробиркага 5 томчи қайнатилмаган, иккинчи пробиркага эса худди шунча қайнатилган сут солинг. Шундан сўнг ҳар иккала пробиркага 3 томчидан формальдегид ва 3 томчидан 0,1%-ли метилен кўк индикаторининг спиртли эритмасидан кўшинг. Ҳар иккала пробиркани 70°C да сув ҳаммомида қиздиринг. Бунда битта пробиркадаги ранг ўзгаришини кузатасиз. Сабабини тушунтиринг.

2-Тажриба.

Картошкадаги тирозиназани аниқлаш. Пишмаган картошкани кобиғидан тозалаб, устки қисмидан 2,0–4,0 г кесиб, сўнг тортиб олиб чинни ҳавончада, устига 10 мл дистилланган сув қуйиб яхшилаб майдалаб аралаштиринг, шундан сўнг икки қаватли дока ёрдамида филтратланг. Иккита пробиркага 1 мл дан филтратдан солиб, биринчи пробиркани 1–2 мин. давомида кайнатинг ва водопровод суви ёрдамида совутинг. Ҳар иккала пробиркага 1 мл 0,1%-ли тирозин эритмасидан қўшиб 37–40°C да сув ҳаммомида иситинг. Вакт-вакти билан ҳар иккала пробиркани чайкатиб туринг. Бир оз вақтдан сўнг битта пробиркадаги эритманинг ранги ўзгаришини кузатинг. Кузатилган ҳодисани тушунтириб беринг.

№9 Лаборатория машғулоти

Ишнинг мақсади:

1. Ферментатив гидролиз тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
2. Талабаларда, амалий ишлар бажаришда муҳим ҳисобланган кўникмаларни ривожлантириш;
3. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

1-Тажриба.

Крахмалнинг ферментатив гидролизи. Иккита пробиркага 10 томчидан 1%-ли крахмал эритмасидан солинг. Пробирканинг бирига 4 томчи сув (назорат), иккинчисига эса 4 томчи сўлак (5 марта суюлтирилган) эритмасидан солинг. Ҳар иккала пробиркани яхшилаб аралаштириб 15 мин давомида 37°C ҳароратда ушлаб туринг (сув ҳаммоми ёки термостат ёрдамида). Шундан сўнг биринчи пробиркадан 4 томчи эритма олиб унинг устига 1 томчи 1%-ли I₂ нинг KI даги эритмасидан томизинг. Худди шундай ишларни иккинчи пробиркадаги эритма учун ҳам бажаринг. Кузатилган ҳодисаларни тушунтиринг.

2-Тажриба.

Оқсилларнинг ферментатив гидролизи. Биринчи назорат пробиркага 1 мл 10%-ли оқсил эритмаси ва 1 мл дистилланган сув қуйинг. Иккинчи пробиркага 1 мл оқсил эритмаси унинг устига эса 1 мл фермент эритмасидан қуйинг. Ҳар иккала пробиркани 20–30 минутга 30–37°C ли илик сувга солиб қуйинг. Шундан кейин ҳар иккала пробиркага 2 мл дан аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан қуйинг. Бунда бир пробиркада кўп миқдорда чўкма тушиши бошқа пробиркада эса чўкма ҳосил бўлмаслигини ёки кам бўлишини кузатинг. Кузатилган ҳодисаларни тушунтиринг.

№10 Лаборатория машғулоти

Ишнинг мақсади:

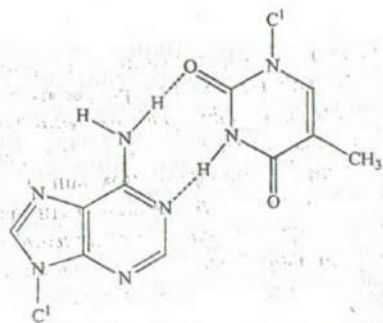
1. Ферментатив реакцияларнинг боришига муҳитнинг (pH), фермент ва субстрат концентрацияси, ҳароратнинг таъсирини текшириш;
2. Фермент молекулалари тузилиши тўғрисидаги билимларни чуқурлаштириш;
3. Талабаларда, амалий ишлар бажаришда муҳим ҳисобланган кўникмаларни ривожлантириш;
4. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

1-Тажриба.

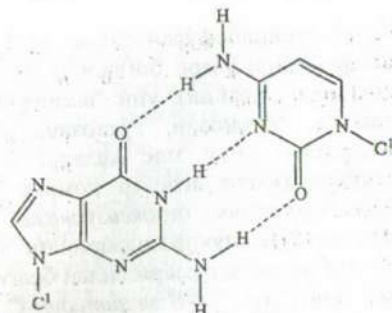
Ферментлар фаоллигига ҳароратнинг таъсири. Иккита пробирка олиб ҳар иккаласига 1% ли крахмал эритмасидан 10 томчидан солинг. Биринчи пробиркага 5 томчи (5 марта сув билан суюлтирилган) сўлак эритмасидан, иккинчисига эса шунча миқдорда аввалдан 10 мин давомида киздирилган сўлак эритмаси (фаолсизлантирилган амилаза) солинг. Пробиркалар яхшилаб аралаштирилиб 15 мин давомида 37°C ҳароратда ушлаб туринг (сув ҳаммоми ёки термостат ёрдамида). Шундан сўнг ҳар иккала эритма устига 1 томчи 1%-ли I₂ нинг KI даги эритмасидан томизинг (Троммер реакцияси).

2-Тажриба.

Фермент фаоллигига муҳитнинг pH таъсири. Сақизта пробирка танлаб олиб ҳар бирига 1 мл дан дистилланган сувдан солинг, биринчи пробиркага 1 мл 0,2%-ли HCl эритмасидан солинг ва яхшилаб аралаштиринг, шундан сўнг биринчи пробиркадаги эритмадан 1 мл олиб иккинчи пробиркага, ундан 1 мл олиб 3-пробиркага ва х.к. солиб охириги 8-пробиркадан 1 мл эритмани олиб тўкиб ташланг (бунда ҳар хил концентрацияли эритма тайёрланади). Сўнг барча пробиркаларга 2 мл 1%-ли крахмал эритмаси ва 1 мл (10 марта суюлтирилган) сўлак эритмасидан қўшиб чикинг. Барча пробиркаларни яхшилаб аралаштирилиб 15 мин давомида 37°C ҳароратда ушлаб туринг (сув ҳаммоми ёки термостат ёрдамида). Шундан сўнг, барча пробиркаларга 1 томчидан 1%-ли I₂ нинг KI даги эритмасидан томизинг (Троммер реакцияси). Бунда қайси пробиркада эритманинг ранги ўзгаришини аниқланг. Бу пробиркалардаги эритмаларнинг pH қийматлари қандай?



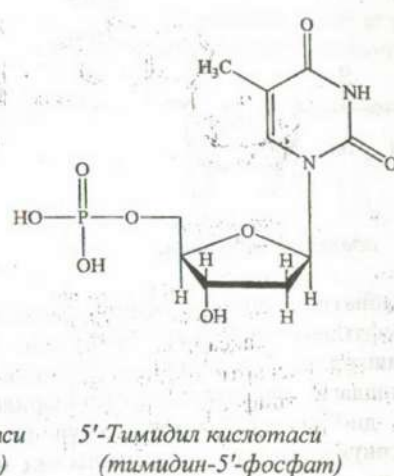
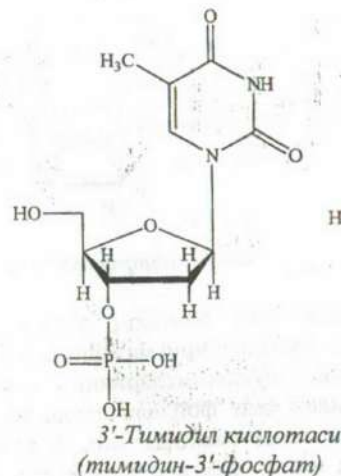
A – T орасидаги водород
боғланиши



G – C орасидаги водород
боғланиши

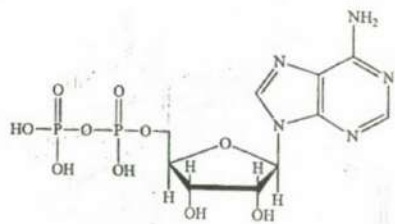
ДНК молекуласи таркибида водород боғланишнинг мавжуд бўлиши кислота-асосли титрлаш натижалари ва рентгеноструктур текширишлар натижасида тасдиқланган. Ўзаро бир-бири билан водород боғ ҳосил қиладиган азотли асосларни умумий ҳолда *комплементар* азотли асослар деб юритилади. Нуклеин асосларининг ўзаро комплементарлиги ўзаро тузилиши корреляциялари ва нуклеин кислота бажарадиган функцияларига боғлиқ бўлади.

Нуклеотидлар. Нуклеотидлар, нуклеин кислоталарининг мономерлари ҳисобланади. Нуклеотидларнинг кимёвий ёки ферментатив гидролизланиши натижасида нуклеозид ва ортофосфат кислота молекулалари ҳосил бўлади, бундан чиқадики, нуклеотидлар нуклеозид ва фосфат кислота қолдиғидан ташкил топган эфир ҳисобланади. Фосфат кислота қолдиғи қанд қолдиғининг гидроксил гуруҳи билан эфир боғи ҳисобига тикилган бўлади, бунда моноадмашган фосфат кислоталар ўзларининг кислотали хоссаларини сақлаб қолади, шунинг учун нуклеотидлар кучли кислотали хоссаларини намоён қилади. Шунинг учун уларни *аденил, гуанил, тимидил, уридил ва цитидил кислоталар* дейилади:

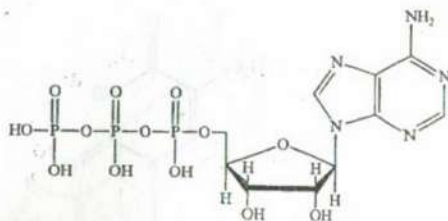


Одатда нуклеотидларни номлашда, «нуклеозид-№-фосфат» схемасидан фойдаланилади, бу ерда «№» фосфат кислота қолдиғини тутган пентозадаги С атомининг рақами (аденозин-3'-фосфат, дезоксиаденозин-3'-фосфат ва б.). Қанд қолдиғидаги фақат С^{3'} ва С^{5'} атомларига фосфат кислота билан боғ ҳосил қилишда иштирок этади, чунки С^{1'} ва С^{4'} атомлари фураноза циклининг ҳосил бўлишида иштирок этади. ДНК гидролизи натижасида ҳар иккала типдаги фосфатлар ажратиб олинган. Табиатда учрайдиган кўпчилик нуклеотидлар моноэфир ҳисобланганлиги сабабли уларни *мононуклеотидлар* деб ҳам аталади. Нуклеин кислоталар ишқорий муҳитда гидролиз қилинганда изомерланиш ҳодисаси кузатирилганлиги сабабли фосфат кислота қолдиғининг силжиши рўй беради, шунинг учун бундай шароитда гидролизланиши натижасида барча типдаги изомер мононуклеотидлар ҳосил бўлади; ДНК ва РНК ларни ферментатив гидролизи эса фақат 3'- ва 5'-фосфатлар ҳосил бўлишига олиб келади.

Барча тирик организмлар таркибида эркин ҳолда аденил кислотаси *аденозин-5'-фосфат, аденозин-5'-дифосфат* (пирофосфат кислотаси эфири) ва *аденозин-5'-трифосфат* (триполифосфат кислота эфири) учрайди:



аденозиндифосфат

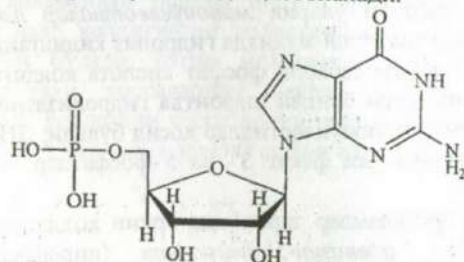


аденозинтрифосфат

Табиатда бошқа нуклеозидларнинг ҳам 5'-моно-, 5'-ди- ва 5'-трифосфатлари кенг тарқалган бўлади. Бундай бирикмаларни номлашни осонлаштириш мақсадида, тегишли нуклеозидларнинг қуйидаги кўринишдаги қисқартирилган номларидан кенг фойдаланилади масалан, моно-, ди- ва трифосфатлар учун тегишли равишда MP, DP ва TP. Дезоксинуклеотидлар учун нуклеотид номи олдига d харфи қўшилади, масалан:

- аденозинмонофосфат (аденил кислотаси) AMP.
- аденозиндифосфат ADP.
- аденозинтрифосфат ATP.
- дезоксиаденозинмонофосфат dAMP ва х.к.

Энг биринчи ажратиб олинган мононуклеотид бўлиб (1847 йилда) инозин кислотаси (9-β-5'-фосфо-D-рибозилгипоксантин) ҳисобланади. Инозин кислотаси AMP и GMP ларнинг биосинтези натижасида ҳосил бўладиган биринчи пурин нуклеотида ҳисобланади.

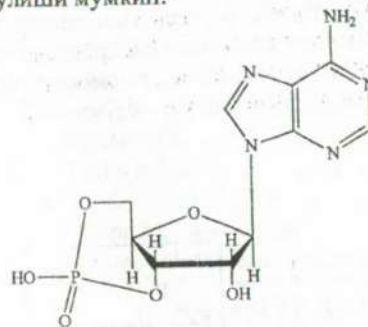


Инозин кислотаси (IMP)

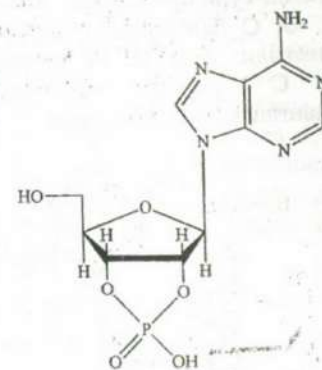
Моно- ва дифосфатлар кислотали хоссани намойён қилганлиги сабабли уларни ажратиш ва бўлишда ион алмашувчи хроматография усулидан фойдаланилади. Анион алмашувчи смолаларда фосфатлар аралашмасининг адсорбцияси барча нуклеотидларни ажратиш ва бўлишда стандарт усул ҳисобланади. Бундай мақсадда юқори селективликка эга бўлган модификацияланган целлюлоза ва декстранлар ишлатилади.

Нуклеотидлар таркибида гетероциклик қолдиқ бўлганлиги сабабли уларни ультрабинафша спектроскопия усули ёрдамида осонгина топилиши ва миқдорий жиҳатдан аниқлаш мумкин бўлади.

Нуклеозидларнинг тегишли диэфирлари қуйидагича тузилишга ҳам эга бўлиши мумкин:



3',5'-cAMP

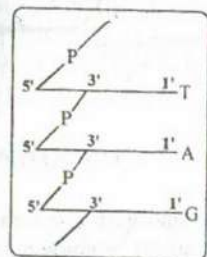
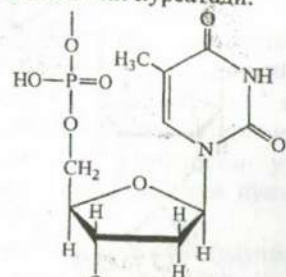


2',3'-cAMP

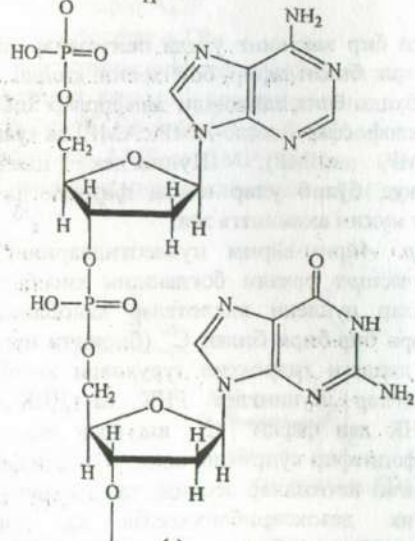
Ортофосфат кислотаси бир вақтнинг ўзида пентозалар таркибидаги иккита спирт гидроксиллари билан эфир боғ ҳосил қилиш жараёнида иштирок этиши мумкин, бунда ёпиқ занжирли диэфирлар ҳосил бўлади, масалан: аденозин-3',5'-циклофосфат (цикло-AMP cAMP) ва гуанозин-3',5'-циклофосфат (цикло-GMP, cGMP). Шунингдек циклик 2',3'-монофосфатлар ҳам мавжуд бўлиб улар ичида физиологик жиҳатдан аденозин-2',3'-монофосфат муҳим аҳамиятга эга.

Нуклеин кислоталар. Айрим-айрим нуклеотидларнинг бир-бири билан *фосфодиэфир кўприклари* орқали боғланиши ҳисобига вужудга келадиган полинуклеотидлар нуклеин кислоталар ҳисобланади, бунда нуклеотид қолдиклари ўзаро бир-бири билан $C^{3'}$ (биринчи нуклеотид) ва $C^{5'}$ (иккинчи нуклеотид) лардаги гидроксил гуруҳлари ҳисобига юзага келади. Фосфодиэфир боғлар шунингдек РНК ва ДНК учун хос ҳисобланади, РНК ни ДНК дан фарқи $C^{2'}$ иштирок этади. Нуклеин кислоталар таркибида фосфодиэфир кўприklarининг бўлиши ферментатив гидролиз натижасида олинган натижалар асосида тасдиқланган. Нуклеин кислоталарини панкреатик дезоксирибонуклеаза ва илон захри фосфодиэстеразаси иштирокидаги босқичма-босқич гидролизланиши натижасида нуклеозид-5'-фосфатлар ҳосил бўлишига олиб келади. Қора жигар (талок) ни панкреатик дезоксирибонуклеаза ва фосфодиэстераза комбинацияси ёрдамида гидролизланиши натижасида нуклеозид-3'-фосфат ҳосил бўлади. Нуклеин кислоталарнинг тузилиш формуласи нисбатан мураккаб кўринишга эга бўлганлиги туфайли нуклеин кислоталар кетма-кетлигини тасвирлашда қисқартирилган усулдан фойдаланилади. Биринчи

вариантда, молекула ҳосил бўлишида иштирок этган пентоза қолдигини углерод (1', 3' ва 5') атомларининг ҳолати горизонтал чизиклар билан тасвирланади. Чизикнинг охиридаги C^{1'} атоми ёнида нуклеин асос белгиси (келтирилган схемада тимин, аденин ва гуанин), C^{3'} ва C^{5'} атомларини эса P атоми ёрдамида бирлаштирилади. Иккинчи вариантда эса – ҳарфлар системаси кўринишида тасвирланади, бунда нуклеин кислоталар учун А, G, T, U, C белгилари, фосфат кислота қолдиги эса "p" ҳарфи билан белгиланади. Агар бу белги нуклеин асосдан ўнг томонда жойлашган бўлса C^{3'}, аксинча чап томонда жойлашган бўлса C^{5'} атоми эфирланганлигини кўрсатади.



(b)

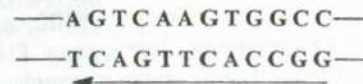


(c)

(a)

Нуклеин кислоталар таркибидаги нуклеотидлар кетма-кет жойлашиши нуклеин кислотасининг *бирламчи тузилиши* дейлади. Чизиксимон, узун полинуклеотид занжирининг фазода жойлашишини *иккиламчи тузилиши* деб тушунтирилади. ДНК ва РНК ларнинг иккиламчи

тузилишлари бир-бирдан фарк қилади. Уотсон ва Крик моделларига кўра, ДНК нинг полинуклеотид занжири ўнг томонга спиралланган ҳолатда бўлиб 3,4 нм масофада қайтариллади, бунда асос текисликлари орасидаги масофа 0,34 нм га тенг. Иккита занжир бир ўк атрофида ўралган ҳолда бўлиб *кўш спирал* деб аталади. Спиралнинг ҳар бир бурамида ўнта азотли асослар жуфти бўлиб, спиралнинг диаметри 2,0 нм га тенг. Ҳар иккала полинуклеотид занжир А-Т (аденин ва тимин) ҳамда G-C (гуанин ва цитозин) асослари орасида водород боғлари ҳисобига мустаҳкам бўлади. Жуфт асосларнинг қанд фосфатлар билан гликозидлар ҳисобига ҳосил қиладиган боғлар орасидаги масофа доим бир хил қийматга эга бўлиб у 1,085 нм ни ташкил қилади. Нуклеин асосларнинг бир-бирига нисбатан комплементар бўлиши бутун занжирнинг комплементарлик хоссасини келтириб чиқаради, яъни бир занжирдаги азотли асосларга бошқа занжирдаги комплементар азотли асослар мос келади, масалан:



Кўш спиралдаги занжирлар йўналиши нуклеотид боғлар (фосфодиэфир кўприк) га нисбатан тескари жойлашган бўлади, яъни занжирлар бир-бирига нисбатан антипараллел бўлади. Юқорида келтирилган ДНК тузилиши унинг *β-шаклига* мос келиб, унинг кристалланиш даражаси нам ҳолатда аниқланганда 90% га тенг бўлган. ДНК нинг бундай тузилиши эритма ва *in vivo* ҳолатларига мос келади. ДНК препаратнинг намлиги 70% гача туширилганда унинг *β-шакли* аста-секинлик билан юқори кристалликка эга бўлган *α-шаклга* айланади, бундай ҳолатда асосларнинг жуфтликлари текисликка нисбатан 20° га буралган ҳолатда бўлади; спиралнинг бир марта бурилиш (ўхшашдик даври 2,8 нм) масофасига 11 та нуклеотид мос келади; кўш ўнг томонли спиралнинг қалинлиги 2,2 нм ни ташкил қилади. ДНК молекуласининг *β-шаклидан α-шаклига* ўтишида занжирнинг тахминан 25% га қисқаришига олиб келади. ДНК молекуласининг яна бир иккиламчи тузилиши мавжуд бўлиб уни *С-шакл* деб аталади; бу ҳолатда спиралнинг қадами 3,3 нм ни ташкил қилиб, спиралнинг ҳар бир бурамида 9 жуфт азотли асос жойлашган бўлади.

РНК молекуласининг иккиламчи тузилиши, ДНК га нисбатан камроқ ўрганилган. Кўпчилик ҳужайралар таркибида уч хил типдаги РНК учрайди. Улар бир-бирдан нуклеотид звеноларининг кетма-кетлиги, занжир узунлиги ва фазовий тузилиши турлича бўлиши билан фарқланади. Ҳужайралар таркибида учрайдиган РНК ларнинг асосини *рибосомал РНК* (рРНК) ташкил қилиб, у чизиксимон тузилишдаги ўзаро ковалент боғланган молекулалар кетма-кетлигидан ташкил топган бўлади. Турли

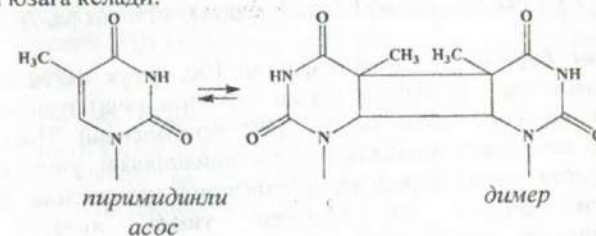
хужайралар таркибида учрайдиган рибосомал РНК молекулалари бир-биридан занжирларининг узунлиги ва молекулаларининг кетма-кетлиги жихатидан фарк қилиши билан бир қаторда уларнинг молекуласи бир хил тамойил асосида тузилган бўлади. Иккинчи типдаги РНК - *транспорт РНК* (тРНК) бўлиб; улар барча РНК молекулаларининг 10-15% ни ташкил қилиб хужайра цитоплазмасида жойлашган бўлади. Сут эмизувчилар хужайрасида 100 млн. га яқин элликта типдаги тРНК учрайди, уларнинг узунлиги 73 дан то 85 тагача нуклеотид звеноларидан ташкил топган бўлади. Учинчи типдаги РНК — *информацион РНК* (ёки *матрицали РНК*, мРНК) деб аталиб, улар оксиллар синтез бўладиган жойга маълумот ташиш вазифасини бажаради. мРНК барча РНК молекулаларининг атиги 3-5% ни ташкил қилади, улар таркибида тахминан 1000 га яқин нуклеотид бўлади, ўлчамига кўра гетероген ҳисобланиб организмда жуда тез парчаланиш хусусиятига эга (бактерияларда ярим емирилиш даври 1 мин, инсондаги рак чакирувчи хужайраларники эса 0,5 кунни ташкил қилади). Юқорида қайд қилинган учта типдаги РНК дан ташқари хайвон хужайраларида бошқа кичик-кичик молекулали РНК лар ҳам учрайди, лекин уларнинг организмдаги функционал вазифалари ҳали охиригача ўрганилмаган.

Барча типдаги РНК макромолекулалари тугун шаклида ўралган ҳолатда бўлиб, уларнинг фақат айрим қисмларигина комплементар азотли асослар ҳисобига қўш спирал шаклида, спирал ҳолатда бўлади. РНК макромолекулалари, қанчалик ионланиш хусусияти катта бўлган эритмаларда бўлса шунчалик спиралланган қисмлар сони кўп бўлади. Бундай спиралланган қолдиқларнинг ҳосил бўлишида РНК молекуласидаги 40 дан 70% гача нуклеотидлари иштирок этади. Спиралланишнинг энг катта даражаси тРНК да учрайди. РНК эритмалари қиздирилганда "*спирал - тугун*" ўтиши кузатилади (буни молекуляр суюкланиш деб ҳам юритилади). РНК молекулаларининг ўзига хос хусусияти бўлиб улар таркибида "*гайриоддий нуклеотидлар*" - псевдоуриндин ва дигидроуриндин, метилланган аденил, гуанил ва цитидил кислота ва б. лар учраши ҳисобланади.

ДНК ва РНК ларнинг иккиламчи тузилиши комплементар азотли асослар ҳисобига юзага келадиган водород боғлар билан белгиланади, шунинг учун водород боғнинг узилишига таъсир қиладиган турли факторлар нуклеин кислоталарнинг фазовий тузилишига ўзгариш киритиши мумкин. Нуклеин кислоталарнинг полинуклеотид занжирини буралиб қолишига сабабчи бўладиган водород боғларнинг тўлиқ ёки қисман узилиш жараёни *денатурация* деб аталади. G-C жуфтлиги орасидаги боғлар A-T орасидаги боғга караганда нисбатан мустахкам бўлганлиги сабабли, таркибида кўпроқ миқдорда G-C бўлган нуклеин кислоталар денатурация жараёнига нисбатан барқарор ҳисобланиб, бу жараён улар учун қиздириш иштирокида рН нинг ўзгариши (2-3 гача ёки

12 гача), мухитнинг диэлектрик ўтказувчанлиги камайиши, спиртлар иштирокида, мочевино, амид ва х.к. ларнинг юқори концентрацияси таъсирида рўй беради. Азотли асосларнинг мусбат зарядланган молекулалар билан таъсирлашиши натижасида қўш спирал ёки суперспиралнинг буралиши (*интеркаляция*) кузатилади. Бундан ташқари, амид (формамид, мочевино) лар азотли асос ароматик ядроларининг сув молекулалари билан солватланишини кучайтириши билан бир вақтда асослар орасидаги водород боғларини узишда фаол иштирок этади. Нуклеин кислоталарининг денатурация ҳодисаси қайтар жараён бўлиб, қанчалик денатурланиш даражаси кичик бўлса шунчалик ренатурация тезлиги катта бўлади. Масалан, қиздириш натижасида борадиган ДНК нинг денатурацияси тўлиқ бўлиб бунда иккита комплементар занжирлар реассоциланиш жараёни жуда секин кечади. Тез совиш жараёнида ренатурация даражаси кичик қийматга эга бўлади.

ДНК молекуласидаги иккиламчи тузилишнинг бузилиши ультрабинафша нурлар таъсирида ҳам бориши мумкин, бунда битта занжирда жойлашган иккита пиримидин асослари орасида ковалент боғланиш юзага келади:



Бундай кўринишдаги димерларнинг ҳосил бўлиши ДНК хососсаларини йўқотади. Тирик хужайралардаги ДНК функциялари фақат махсус репарацион ферментлар ёрдамида тикланади.

Нуклеопротеидларнинг кимёвий таркибини сифат жихатидан анализ қилишда ачитки гидролизатлари қўл келади. Нуклеопротедларнинг қисман гидролизланиши натижасида оксил (протамин ёки гистонлар) ва нуклеин кислоталар ҳосил бўлади. Нуклеопротеинларнинг тўлиқ гидролизланиши натижасида полипептидлар (*биурет реакцияси*), пуринли асослар (*маҳсус кумуш тузли чўкма*), фосфат кислота (аммоний молибдат билан аниқланади), рибоза ёки дезоксирибоза (Фелинг реагенти ёрдамида "*кумуш кўзгу*" реакцияси) ҳосил бўлади.

№12 Лаборатория машғулоты
Нуклеин кислоталарни (ДНК)ни табиий манба - пахта чигитидан ажратиб олиш

Ишнинг мақсади:

1. Нуклеин кислоталар тузилиши ҳақидаги маълумотларни мустаҳкамлаш;
2. Гидролизланиш маҳсулотларининг таркибини ўрганишда сифат реакциялари;
3. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

Ишнинг умумий изохи. Олинган ёғсизлантирилган пахта чигити кукунидан дезоксирибонуклеопротеидни 1% гача Na-додецилсульфат (Na-ДДС) ёрдамида эритиб олинади. 1М NaCl ёрдамида Na-ДДС-оксил комплексини ДНК дан депро테인ланиш жараёни олиб борилади.

Жихозлар ва реактивлар. 500мл.ли ўлчов цилиндр, ховонча, центрифуга, СФ-26, 2 дона 100 мл.ли стаканлар, трис-ЕДТА буфер "ТЕ" (0,02М трис HCl рН 8,0, 0,2 мМ ЕДТА билан), 10% ли Na-ДДС, 96% ли спирт.

Ишнинг бориши. Ёғсизлантирилган 10г. курук пахта чигитининг кукунини ховончада ТЕ буфери билан (40-50мл гача) гомоген ҳолатга келтирилади ва унга 10% ли Na-ДДС эритмасидан 1%гача ДНП-комплекслар ва бошқа моддаларни диссоциациялаш учун қўшилади. Детергентни аста қўшиб бориш ва аралаштириш натижасида эритманинг ковшоқлиги ошади ва гомоген тиниқ ҳолатга келади. Диссоциацияланиш жараёнидан кейин гомогенат 15 мин. давомида центрифуга ёрдамида (5-70 минг айл/мин) тиндирилади. Тиндирилган гомогенатга NaCl нинг натижавий концентрацияси 1М бўлгунча (5М эритмадан) қўшилади ва лойқа суспензияни совук хонада (холодильник) 30 мин. давомида сақланади, сўнгра 1М туз концентрациясида эрмаган Na-ДДС-оксил комплексининг чўкмасини центрифуга ёрдамида ажратиб олинади ва ташлаб юборилади. Супернатант устидаги суюкликни 0,3-0,3 микдорда 3 ҳажмдаги 95% ли совитилган спиртга қуйилади. Юкори молекулали ДНК бунда сувли спиртнинг юзасига қалкиб чиқади. ДНК ипларини шиша таёкчага ўраб, кейин 20-30мл ТЕ эритилади ва унга 1М гача бўлган NaCOOCH₃ қўшилади ва спирт билан чўктиришни қайтарилади.

Ажратиб олинган ДНК намунаси оз бўлса ҳам РНК дан ва 1-2% оксил қолдигидан ташкил топган. ДНК ипларини иккинчи мартаба чўктирилгандан кейин уни спиртдан тозалаш учун фильтр қоғоз орасига олиб қисилади. Кейин ТЕ да эритилади ва ДНК микдори аниқланади. ДНК эритмасининг 1 оптик бирлигига 47 мкг/мл даги концентрация тўғри

келади ($A_{260} = 1$ см, A_{260} (47 мкг/мл) = 1,00). A_{280} ва A_{230} ни аниқланади, A_{260}/A_{280} нисбатан колдикли оксилнинг микдорини белгилайди ($\geq 2,00$), A_{260}/A_{230} нисбатан эса полисахаридларнинг микдорини белгилайди.

№13 Лаборатория машғулоты

Нуклеин кислоталарни (РНК)ни табиий манбалар (ундирилган мош, ловия, нўхат)дан ажратиб олиш. РНК ва ДНК ларни тозалаш, ишкорий ва кислотали гидролизлари

Ишнинг мақсади:

1. Нуклеин кислоталар тузилиши ҳақидаги маълумотларни мустаҳкамлаш;
2. Гидролизланиш маҳсулотларининг таркибини ўрганишда сифат реакциялари;
3. Талабаларда махсус адабиётлар билан ишлаш ва ўтказилган амалий машғулот натижа ҳисоботларини расмийлаштириш кўникмаларини ривожлантириш.

1-Тажриба. Ундирилган ловиядан умумий РНК ажратиб олиш.

Ишнинг умумий изохи. Фенол-детергент ёрдамида ловия куртагидан умумий РНК ажратиб олинб, унинг тозалик даражаси ва унумини аниқлаш.

Жихозлар ва реактивлар. 5 г унган ловия нишлари, изоамил спирти, стандарт тузли эритма-0,14 М Na(K)-цитрат, этил спирти (200 мл), рН=6,0 10 % ли Na-ДДС, хлороформ, фенол, центрифуга, аралаштиргич, ўлчов цилиндр (50 мл), шприц (10-20 мл), пипетка (10 мл), ховонча.

Ишнинг бориши. Ловиянинг униб, чиққан қисмини (нишини) водопровод суви билан ва кейин дистилланган сув билан яхшилаб ювилади. Ундан 5 г олиб, чинни ховончада 50 мл стандарт тузи эритмада гомоген ҳолатга келтирилади ва гомогенатни 3-4 қаватли докадан ўтказилади. Бу гомогенатга 1 %-гача Na-додецилсульфат қўшилади ва аралаштирилади ва унинг кўпириб кетмаслигига эътибор бериб, сувга тўйинтирилган рН=6,0-ли фенол қўшилади. Аралашмани 60°C-гача қиздирилади ва 30 минут давомида яхшилаб чайқатилади, 0°C - +5°C атрофида совутилади ва 15-20 минут давомида центрифугаланади. Бунда 3 та қават ҳосил бўлади: сувли, фенолли ва чўкма. Сувли қатлам депро테인лашга учраган РНК-дан тарқиб топган, уни шприц ёрдамида ажратиб олинади ва тенг ҳажмдаги хлороформ ва изоамил спирти аралашмаси (24:1) билан фенол билан ишланганидек яхшилаб чайқатилиб депро테인ланади. Аралашма центрифуга қилинади ва юкоридаги сувли қават ажратиб олинади. РНК сувли қаватдан 2,5 ҳажмдаги спирт билан чўктирилади (-10°C). Центрифуга ёрдамида чўкмани ажратиб олинади ва

10-20 мл стандарт тузи эритмада эритилади ёки бошқа буфер эритма ишлатиш мумкин ва 260, 280 ва 230 нм-да ютилиш қийматлари аниқланади. A_{260}/A_{230} ва A_{260}/A_{280} аниқланади. Биринчи нисбат РНК-нинг полисахаридлардан, иккинчиси оксиллардан тозаланиш даражасини белгилайди ($\geq 2,00$). 260 нм-даги ютилиш ёрдамида РНК концентрацияси ва ҳосил бўлган миқдори аниқланади (260 нм-даги 1 оптик бирлик қийматга 42 мкг РНК тўғри келади).

2-Тажриба. РНК-нинг ишқорий гидролизи ва юпқа қатламли хроматография ёрдамида нуклеотид таркибини аниқлаш.

Ишнинг умумий изоҳи. РНК 1 н КОН ёрдамида рибомононуклеотидларгача гидролизланади, гидролизат HClO_4 билан нейтралланади, силикагелли пластинкаларда юпқа қатламли хроматография қилинади, нуклеотидлар алоҳида экстракцияланади ва РНК нинг нуклеотид таркиби аниқланади.

Жихозлар ва реактивлар. 10 мг РНК препарати, 1 н КОН, 50 % ли HClO_4 , шлифли пробирка, 37°С-ли термостат, центрифуга, хроматография камераси, универсал индикатор қоғози, СФ-26.

Ишнинг бориши. 10 мг РНК олиб, уни ультратермостатда 37-38°С ҳароратда 12-18 соат давомида 0,1-0,2 мл 1 н КОН ёрдамида гидролиз қилинади. Гидролиз вақтини 3,5-4 соатгача қисқартириш мумкин, лекин бу шароитда (4 соат, 60° С) цитидил кислотасининг бир қисми дезаминланади ва уридил кислотага айланади. Гидролиз вақти тугагач, гидролизат совутилади ва 50 % ли HClO_4 билан нейтралланади. Ёмон эрийдиган KClO_4 чўкмага тушиши учун аралашма музли сув ҳаммомида колдирилади.

Гидролизатдаги рибомононуклеотидлар аралашмаси ЮКХ ёрдамида этанол: н-бутанол (4:1) системасида аниқланади. Сўнгра пластинкани куришиб, шу йўналишда сув билан тўйинган ва концентранган аммиак ёрдамида $\text{pH}=3,5-4,0$ га келтирилган изомой кислотасида хроматография қилинади. Нуклеотидлар стартдан бошлаб қуйидаги тартибда жойлашади: гуанил кислота, уридил, цитидил ва аденил кислота. Ультрабинафша нурида ҳосил бўлган доғлар аниқланади, оддий қалам билан чизилади ва $\text{pH}=7,0$ бўлган 5 мл 0,3-0,5 М К (ёки натрий) фосфат буфери эритмаси ёрдамида 37-45° С да бир неча соат давомида элюация қилинади. Элюатлар спектрометрда қуйидаги тўлқин узунликларида текширилади: гуанил кислота (ГК) 255 нм ва 290 нм, аденил кислота (АК) 260 ва 290 нм, цитидил кислота (ЦК) 270 ва 290 нм, уридил кислота (УК) 260 ва 290 нм. Нуклеотидлар мкмолларда қуйидаги формулалар бўйича аниқланади: $\text{ГК}=0,47*(E_{255}-E_{290})$; $\text{АК}=0,363*(E_{260}-E_{290})$; $\text{ЦК}=0,73*(E_{270}-E_{290})$; $\text{УК}=0,515*(E_{260}-E_{290})$: РНК ни характерлаш учун нуклеотидлар моляр процентларда ифодаланади. Бунга нисбатан тез ва самарали равишда ажратишга ДЕАЕ- целлюлозали пластинкаларда ЮКХ олиб бориш билан

эришиш мумкин. Бунда ДЕАЕ- целлюлоза гипс ёрдамида пластинкага маҳкамланади (пластинкаларга 8.5 г ДЕАЕ-целлюлоза ва 62 мл сувдаги 1 г гипсдан иборат суспензия қуйилади, 50° С да 2 соат давомида куригилади). 0,005 н HCl ёрдамида хроматография қилинади, элюация қилиш ва нуклеотидлар миқдорини аниқлаш юқорида баён этилгани каби амалга оширилади. Нуклеотидларнинг жойлашиши қуйидаги тартибда бўлади: А-2 фосфат (0,32), А-3 фосфат (0,24), Г-2 фосфат (0,18), Г-3 фосфат (0,50), У-2 фосфат (0,48), У-3 фосфат (0,42).

РНК ва ДНКларга сифат реакциялар

3-Тажриба.

Биурет реакцияси. 0,5 мл гидролизатга 10% ли натрий гидроксид эритмасидан 10 томчи қўшинг, унинг устига 2 томчи мис сульфат эритмасидан қўшинг.

Аналитик эффекти: аралашма бинафша ранга бўлади.

4-Тажриба.

Пурин асослари учун “кумуш кўзгу” реакцияси. 1 мл гидролизат устига 1 томчи аммиак ва 5 томчи кумуш нитрат эритмасидан қўшинг.

Аналитик эффекти: 3-5 минутдан сўнг кул ранг тусли аморфсимон пурин асосларининг кумушли тузлари ҳосил бўлади (аденин ва гуанин).

5-Тажриба.

Рибоза ва дезоксирибозага Троммер реакцияси. 0,5 мл гидролизатга 10 томчи натрий гидроксид (30%) эритмаси ва 2-3 томчи мис сульфат (7%) эритмаси томизинг. Аралашмани аралаштириб киздириг.

Аналитик эффекти: 3-5 минутдан сўнг сариқ ёки олов рангли мис (I) биркмалари ҳосил бўлади.

6-Тажриба.

Фосфат кислота қолдигига хос реакция. 20 мл молибден сууюклиги устига 3-4 томчи гидролизат қўшиб аралашмани киздириг.

Аналитик эффекти: 3-5 минутдан сўнг аралашма сарғиш ранга бўлади. Олинган барча натижалар қуйидаги кўринишдаги 9-жадвалга тўлдирилади.

9-жадвал

Реагент	Биурет реакцияси	Кумушли реакция	Троммер реакцияси	Молибден сууюклиги
Аналитик эффекти				

Хулосалар: барча олиб борилган реакциялар тушунтирилади.

УГЛЕВОДЛАР

Оқсил ва нуклеин кислоталар каби углеводлар ҳам табиий юкори молекуляр бирикмаларга мисол бўлади.

Углеводлар (қанд моддалар) – умумий формуласи $C_m(H_2O)_n$ (яъни углерод + сув) кўринишида бўлиб табиатда кенг тарқалган.

Углеводлар термини 150 йилдан кўп вақт оддин юзага келган бўлиб умумий формуласи $(CH_2O)_n$ бўлган табиий бирикмаларни углерод гидрати деб юритилган. Углеводлар кимёсига биринчи бўлиб немис олими Э.Фишер асос солган, у XIX аснинг иккинчи ярмида бир нечта қанд моддалари синтез қилган. Шунингдек, углеводлар кимёсининг ривожланишида рус олимларидан А.М.Бутлеров, А.А.Колли, Н.Н.Кочетков ва б. лар ҳам ўзларининг ҳиссаларини кўшишган.

Углеводлар синфига, таркибида бир нечта углерод атоми тугган кичик молекулали бирикмалардан то молекуляр массаси бир неча миллионгача бўлган бирикмалар киради.

Углеводлар функцияси.

Углеводлар биосферада энг кўп тарқалган моддалар ҳисобланади. Ўсимлик дунёсининг 80-90% углеводлар ташкил қилса, ҳайвон организмнинг 15-20% ни ташкил қилади. Углеводлар барча тирик организмлар учун бекиёс аҳамиятга эга. Углеводлар турли-туман функцияларни бажаради.

Энергетик функцияси. Нафас олиш жараёнида углеводлар оксидланиши натижасида организм учун керак бўладиган энергиянинг кўп қисмини етказиб беради. 1 г углеводнинг оксидланиши натижасида тахминан 16,9 кЖ энергия ажралиб чиқади.

Ҳимоя функцияси. Углеводлар – кўпчилик ўсимликларнинг қобикларининг энг асосий компоненти бўлиб, шунингдек, ҳашоротлар, қисқичбақасимонлар ташқи скелетини ҳосил бўлишида биомембраналарни тузилишида ва б. фаол иштирок этади.

Таяниш функцияси. Целлюлоза ва бошқа полисахаридлар, ўсимлик ҳужайралари қобикларини ташкил қилишда иштирок этади. Уларнинг оқсиллар билан ҳосил қилган комплекслари, таяниш функциясини бажарадиган тоғай тўқималари таркибига киради.

Регуляторлик функцияси. Клетчатка, ичак деворларига механик таъсир қилиши натижасида овқат ҳазм қилиш жараёнини фаоллаштиради. Моносахаридлар шунингдек, осмотик жараёнларни тартибга солишда ҳам иштирок этади.

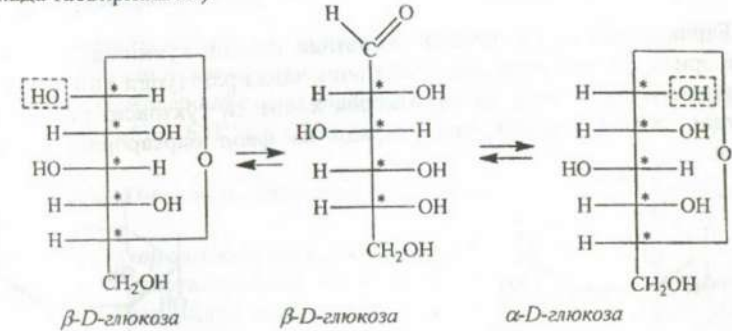
Моносахаридлар

Моносахаридлар (моноза, оддий қандлар) таркибида фақат битта тузилишли бирлик бўлганлиги сабабли улар гидролизга учрамайди.

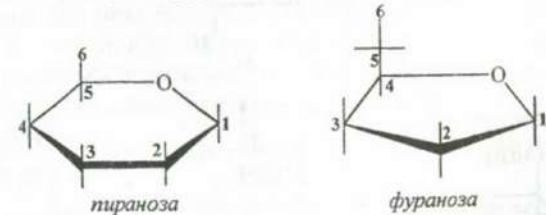
Моносахаридлар таркибида учрайдиган функционал гуруҳларга боғлиқ равишда альдегидо- ёки кетоспиртлар синфига бўлиш мумкин.

Уларнинг барчаси қаттиқ кўринишда бўлиб сувда яхши эриб, этил спирти ва петролей эфирида жуда ёмон эрийди. Кўпчилик монозаларнинг сувли эритмалари нейтрал муҳитга эга бўлиб, ширин таъмга эга. Табиатда соф ҳолда глюкоза кўп учраса, фруктоза нисбатан кам учрайди. Глюкоза кўпчилик углеводларнинг тузилиш бирлиги ҳисобланади.

Монозалар очик занжирли ёки циклик кўринишда бўлиши мумкин. Монозаларнинг циклланиши тўртинчи ёки бешинчи углерод атомлари ҳисобига юзага келади, бунда гидроксил гуруҳининг водород атоми карбоксил гуруҳининг кислород атоми билан бирикиб янги функционал - *гликозид* (полуацетал) гидроксил гуруҳни ҳосил қилади (формулада рамкада тасвирланган):



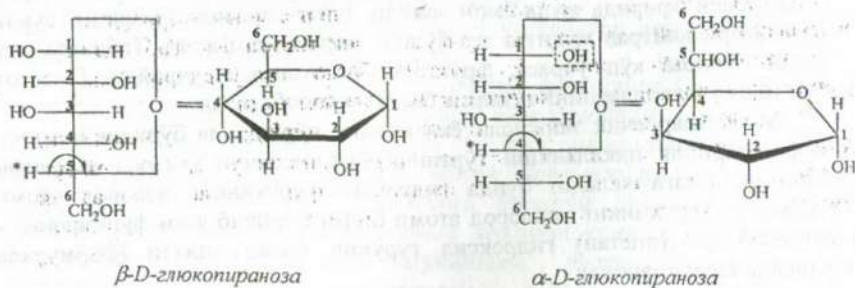
Қолган кислород атоми альдегид гуруҳининг углерод атоми билан бирикиб ёпиқ занжирли халқа ҳосил қилади. Халқа аъзолигига кўра: *пираноза* (олти аъзоли) ёки *фураноза* (беш аъзоли) бўлиши мумкин.



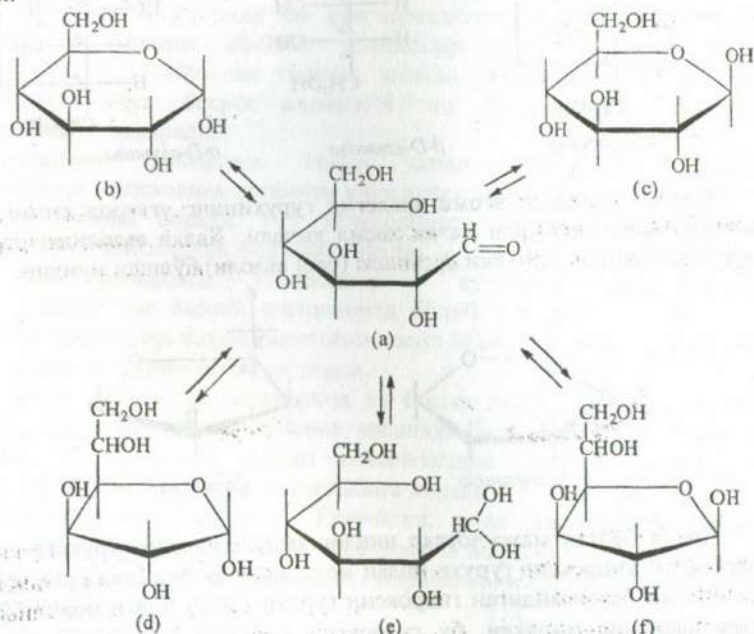
Ҳосил бўлган маҳсулотлар циклик полуацеталлар гуруҳига киради. Полуацетал гидроксил гуруҳи билан модданинг D- ёки L-қаторга тегишли эканлигини белгилайдиган гидроксил гуруҳи билан бир томонда бўлиши углеводларнинг α -шакли, бу гидроксил гуруҳлар бир-бирига нисбатан транс ҳолатда жойлашгани эса β -шакл дейилади.

Монозалар формуласини ёзишда кўпинча *Хеуорс формуласидан* фойдаланилади. Кислород атоми доим юкорида ўнг томонда жойлашган бўлади. Занжирдаги барча углерод атомлари юкорида кўрсатилгандек рақамланади. Молекула орқали вертикал чизик ўтказилганда чап томонда

жойлашган функционал гурухлар ёпик ҳалқанинг тепа қисмига ёзилса, ўнг томонларидаги ҳалқанинг пастки қисмига ёзилади:



Барча монозалар кристалл ҳолатида циклик кўринишга эга бўлса, сувли эритмада эритувчи таъсирида очик занжирли турли хил кўринишда бўлиши мумкин. Эритмада таутомерия ходисаси тўхтовсиз равишда бир ҳолатдан бошқа ҳолатга ўтиб туради ва фаол барқарорлик сакланиб туради.



Монозаларнинг эритмадаги таутомерияси: (a)-очик занжирли (альдегид) шакли; (b)- α -D-пираноза; (c)- β -D-пираноза; (d)- α -D-фураноза; (e)-гидрат шакли; (f)- β -D-фураноза.

Монозаларнинг кимёвий хоссалари

1. Оксидланиш реакцияси.

Альдозалар эхтиётлик билан оксидланганда (бромли эритма таъсирида) *альдон кислотаси* ҳосил бўлади:



Глюкоза оксидланганда глюкоза кислотаси ҳосил бўлади.

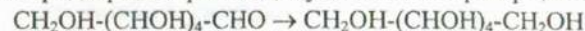
Кучли оксидловчилар таъсирида (концентранган нитрат кислота) икки асосли оксикислоталар (*қанд кислота*) ҳосил бўлади:



Бунда глюкозадан *глюкоза кислотаси* ҳосил бўлади.

2. Қайтариш реакциялари.

Моносахаридлар қайтарилганда кўп атомли спиртлар ҳосил бўлади:



Масалан, D-глюкоза қайтарилганда D-сорбит (олти атомли спирт) ҳосил бўлади.

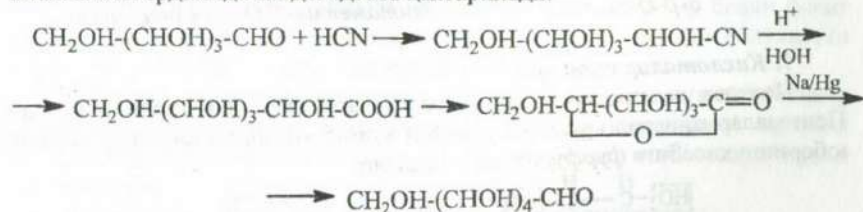
3. Альдозалар занжирини қисқартириши.

Альдон кислоталарининг кальцийли тузлари (Fe^{3+} иштирокида), водород пероксид билан оксидланганда альдоза занжири битта углерод атомига қисқаради:



4. Занжирни узайтириши.

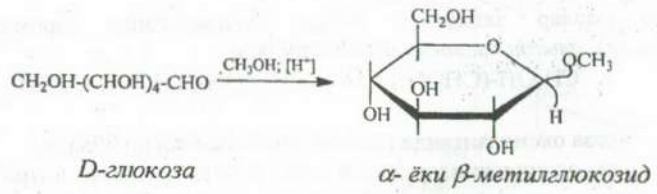
Бу реакция бир неча босқичда олиб борилади. Бунда альдозалар энг аввало синил кислотаси билан таъсирлаштирилади, ҳосил бўлган оксинитрил карбон кислотагача гидролизланади, сўнгра уни натрий амалгамаси ёрдамида альдегидгача қайтарилади:



5. Ҳосилаларини синтез қилиши. Гликозидлар ҳосил бўлиши.

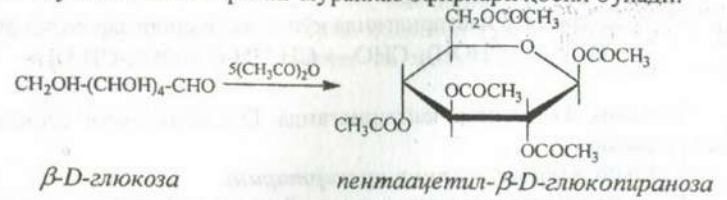
Гликозид гидроксил гурухи бўйича турли ҳосилалар олиш катта аҳамиятга эга.

Масалан, глюкозанинг метанол билан ўзаро таъсирлашиши натижасида α - ёки β -D-глюкопиранозидлар ҳосил бўлади:

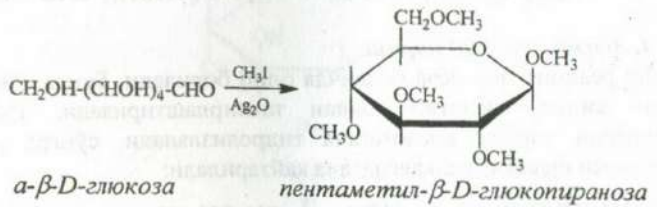


6. Ацилловчи агентлар таъсири.

Моноза ёки сахаратларга ацилловчи агентлар (тегишли карбон кислота ангидрид ёки хлорангидридлари) таъсир эттирилганда циклик шаклга эга бўлган монозаларнинг мураккаб эфирлари ҳосил бўлади:

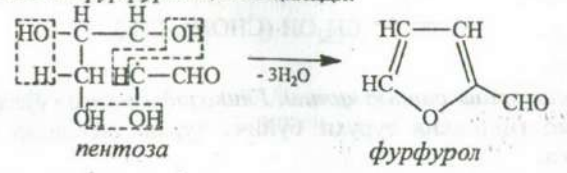


Алкилловчи агентлар (спиртлар водород хлорид ёки кумуш оксиди иштирокида) таъсирида оддий эфирлар типидagi бирикмалар ҳосил бўлади:



7. Кислоталар таъсири.

Пентоза ва гексозаларнинг кислоталарга таъсири турлича бўлади. Пентозалар минерал кислоталар билан қўшиб қиздирилганда сув чиқариб юбориши ҳисобига *фурфурол* ҳосил қилади:



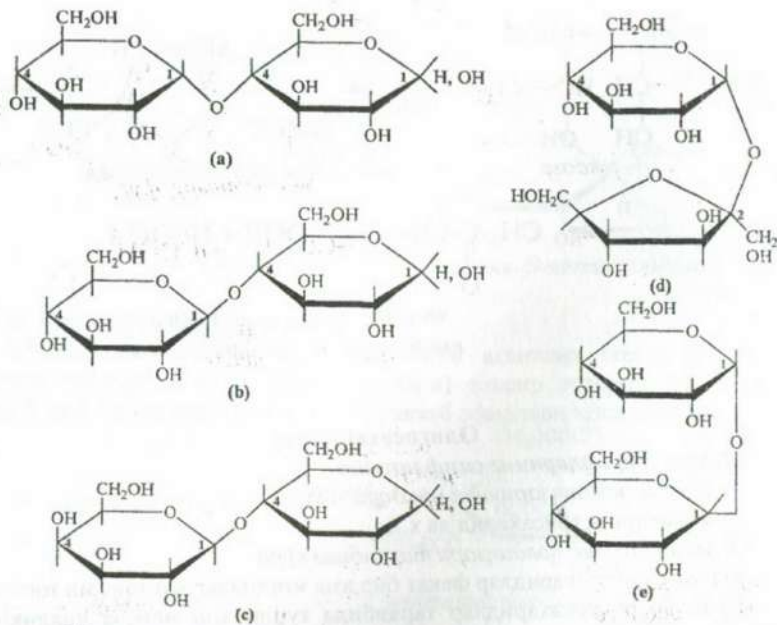
Олигосахаридлар

Олигосахаридларнинг синфланиши:

1. Моноза қолдиқларининг миқдорига кўра: дисахарид, трисахарид ва х.к.;
 2. Моносахарид қолдиқлари таркибига кўра:
 - а) гомоолигосахаридлар фақат бир хил монозалардан ташкил топган;
 - б) гетероолигосахаридлар таркибидa турли хил моноза қолдиқлари бўлади.
 3. Мономерларнинг ўзарo бир-бири билан бирикishi тартибига кўра:
 - а) чизиксимон;
 - б) шоҳланган.
 4. Қайтарувчанлик хоссасига кўра:
 - а) қайтариладиган: моноза қолдиқлари ўзарo бир-бири билан спирт ва полуацетал гидроксил гурухлари ҳисобига боғланади, бундай молекулалар таркибидa полуацетал гидроксил гурухлар мавжуд бўлиб улар осонгина альдегид гурухига ўтиши ҳисобига қайтарилиши мумкин;
 - б) қайтарилмайдиган: моноза қолдиқлари ўзарo бир-бир билан фақат полуацетал гидроксил гурухлар ҳисобига боғланади, бундай полуацетал гидроксил гурухлар эса альдегид гурухига айланмайди.
- Табиатда асосан қуйидаги дисахаридлар: канд лавлаги ёки шакар камиш шакари - *сахароза*, солод шакари - *мальтоза*, сут шакари - *лактоза* ва *целлобиоза* (крахмалнинг қисман гидролизланиши натижасида ҳосил бўлади) мавжуд.

Табиатда кенг тарқалган дисахаридларнинг формулалари:

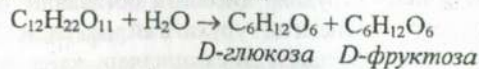
Қайтариладиган дисахаридлар
Қайтарилмайдиган дисахаридлар



Кўп тарқалган дисахаридлар: (а)-мальтоза (1- α -D-глюкопиранозил-4- α -D-глюкопираноза); (б)-целлобиоза (β -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопираноза); (с)-лактоза (1- β -D-галактопиранозил-4-D-глюкопираноза); (д)-сахароза (1- α -D-глюкопиранозил-2- β -D-фруктофураноза); (е)-трегалоза (1- α -D-глюкопиранозил-1- α -D-глюкопираноза).

Ҳамма юқорида қайд қилинган дисахаридлар бир хил $C_{12}H_{22}O_{11}$ тузилиш формуласига эга.

Дисахаридларнинг таркиби уларнинг гидролизланиш маҳсулотларига қараб белгиланади: масалан, сахароза икки хил D-глюкоза ва D-фруктоза молекулалари қолдигидан ташкил топган:



Мазкур жараён организмда *сахараза* ферменти иштирокида бориб, бунда монозалар осонгина қонга сўрилади.

Полисахаридлар (гликанлар)

Табиатда углеводлар асосан полисахаридлар кўринишида учрайди. Организмда бажарадиган функциясига кўра икки гуруҳга бўлинади:

- 1) Тузилиш функциясини бажаради (целлюлоза);
- 2) Озука функцияси (гликоген).

- Полисахаридлар тузилишига кўра қуйидаги синфларга бўлинади:
- *Гомополисахаридлар* фақат бир хил фрагментли монозалардан (целлюлоза, крахмал) ташкил топган;
 - *Гетерополисахаридлар* таркибида турли хил моноза фрагментлари учрайди (масалан, гиалурон кислотаси таркибида аминокандлар билан гексурон кислота қолдиклари учрайди).

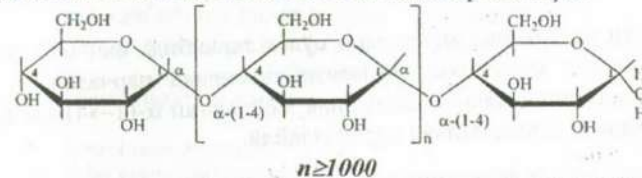
Гомополисахаридларнинг номи тегишли монозалар номидаги *оза* кўшимчасини *-ан* га алмаштириш орқали ҳосил қилинади (глюкан, маннан, арабан ва х.к.).

Асосий занжири глюкоза, ён занжири эса маннозадан ташкил топган шохланган занжирли гетерополисахаридлар *манноглюкан* деб аталса, аксинча бўлганда эса – *глюкоманнан* деб аталади.

Заҳира полисахаридлари.

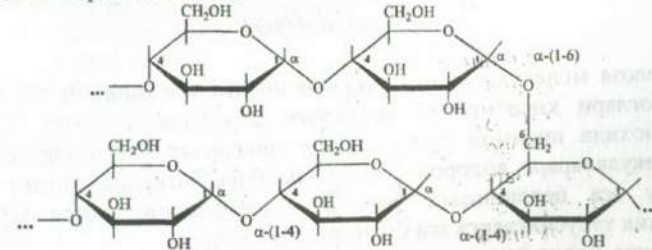
Краxмал ($C_6H_{10}O_5$)_n *амилоза* ва *амилопектин* лар аралашмасидан ташкил топган бўлади.

Амилоза - D-глюкопираноза молекулаларининг ўзаро α (1—4) гликозид ҳисобига чизиксимон боғланган полимер занжири:



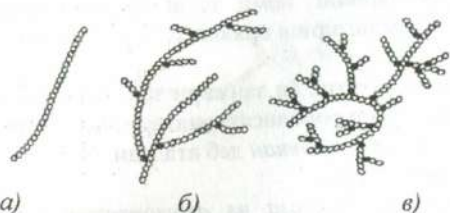
Амилоза кристалл тузилишга эга бўлиб натив тузилишли крахмалга иссиқ сув таъсир эттириш натижасида олинади. Бунда амилоза эритмага ўтиб амилопектин эса умуман эримайди. Йод билан кўк ранг ҳосил қилади. Амилоза осонгина мальтоза ва глюкозагача гидролизланади.

Амилопектин кучли шохланган занжирларга эга бўлиб молекуласи таркибида 4000 тагача глюкоза қолдиклари ва 0,4% фосфат кислота бўлади. Молекуладаги глюкозалар ўзаро бир-бирлари билан 1-4 ва 1-6-гликозид боғлари боғланган:



Йод билан бинафша ранг ҳосил қилади. Металл оксидларини қайтара олмайди.

Гликоген. Барча ҳайвонлар глюкозани, захира васифасини бажарадиган ҳайвон крахмали гликоген сифатида сақлайди. Гликоген асосан уларнинг мушак ва жигарларида сақланади. Гликоген молекуласи жуда тармоқланган кўринишда бўлиб унинг молекуляр массаси 10^2 дан 10^5 kDa гача бўлади.



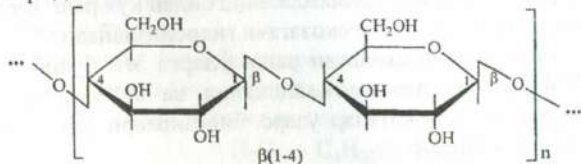
Амилоза (а), амилопектин (б) ва гликоген (в)

•-Глюкоза қолдиқлари ўзаро α -1,6-боғлар ёрдамида боғланган;
о-Глюкоза қолдиқлари ўзаро α -1,4-боғлар ёрдамида боғланган

Гликоген ва крахмал моддалари сўлак таркибида ёки ошқозон ости безида бўладиган α -амилаза ферменти таъсирида парчланади. Бунда амилаза гликогеннинг ташки занжирида жойлашган α -(1 \rightarrow 4)-боғларни ва амилопектинни D-глюкозагача гидролизлайди.

Полисахаридлар (тузилиш полисахаридлари)

Целлюлоза (клетчатка) - β -D-глюкоза молекулаларининг ўзаро β -(1 \rightarrow 4)-боғ орқали боғланишидан ҳосил бўладиган табиатда кенг тарқалган гомополисахарид:



целлюлоза, $n \geq 10000$

Целлюлоза молекуласининг занжири ипсимон тузилишга эга бўлиб, водород боғлари ҳисобига ўз текислиги атрофида айланган ҳолатда бўлади. Алоҳида ипсимон кўринишдаги занжирлар ўзаро бир-бирлари билан молекулаларо водород боғлар ҳисобига боғланиб толани ҳосил қилади. Бу эса целлюлозага (толага) молекуласига юқори механик мустаҳкамлик хусусиятларга эга бўлишга олиб келади.

Клетчатка, барча ўсимлик ҳужайраларининг қобиғини ташкил қилади, масалан, пахта толасининг 90% ини, айрим дарахтларда эса 50% ни.

Целлюлоза органик эритувчилар, ишқорнинг сувли эритмаси ва суьолтирилган минерал кислоталарда эримайди. У фақат концентранган хлорид ва фосфат кислота эритмалари, 72%-ли сульфат кислота, *Швейцар Реагенти* (икки валентли мис тузларининг аммиакдаги эритмаси) ва айрим тўртламчи органик аминларнинг эритмасида эрийди.

Кислоталар таъсирида осон гидролизланади:

Целлюлоза \rightarrow декстринлар \rightarrow целлобиоза \rightarrow глюкоза.

№14 Лаборатория машғулоти

Углеводлар учун сифат реакциялар ўтказиш

Ишнинг мақсади:

1. Талабаларни углеводларнинг сифат реакциялари билан таништириш;
2. Талабаларда кимёвий идишлар ва реагентлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш;
3. Талабаларни, ишлатилиб бўлинган Реагентларни йўқ қилиш усуллари билан таништириш;
4. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш.

Реактивлар

1. α -нафтолнинг спиртли эритмаси
2. Этанол
3. Крахмалнинг сувли эритмаси (1-2%)
4. Глюкозанинг сувли эритмаси (1-2%)
5. Сульфат кислота (конц.)
6. Хлорид кислота (25-30%)
7. CH_3COOH эритмаси (1%)
8. Нитрат кислота (конц.)
9. NaOH эритмаси (10%)
10. Мис сульфат эритмаси (10%)
11. Фруктозанинг сувли эритмаси (1-2%)
12. Йоднинг KI даги эритмаси
13. Кумуш нитрат эритмаси
14. CuSO_4 эритмаси (0,1%)
15. Натрий гидроксид эритмаси (конц.)
16. $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ эритмаси
17. NaNO_2 эритмаси
18. Нингидрин эритмаси (0,1%)
19. Фелинг реагенти
20. Барфед реагенти
21. Резорцин
22. Сахароза эритмаси (10%)
23. Шақллдегид эритмаси
24. Лакмус
25. Лактоза
26. Манноза
27. Галактоза

28. Сегнет тузи

29. Тимол

Идиш ва ускуналар

1. Пробирка
2. Томизгич
3. Ушлагич
4. Спирт лампаси
5. Сув хаммоми
6. Музли кристаллизатор

1-Таъжриба.

Подобедов-Молиш пробаси (бу реакция барча углеводлар учун умумий ҳисобланади).

1 см³ ҳажмли глюкоза (лактоза, фруктоза ва б.) эритмасига 1-2 томчи 10% ли α-нафтолнинг спиртли эритмаси ва 4-6 томчи конц. H₂SO₄ эритмасидан кўшинг (эҳтиётлик билан ишланг).

Аналитик эффекти: иккита қават чегарасида бинафша тусли айлана (агар α-нафтол ўрнига тимол эритмасидан фойдаланилса, кизил рангли айлана) ҳосил бўлиши кузатилади.

Бу реакция концентрланган сульфат кислота таъсирида пентозалардан фурфурол, гексозалардан эса - 5-оксиметилфурфурол ҳосил бўлишига, улар эса ўз навбатида нафтол билан конденсацияланиб рангли маҳсулотлар ҳосил қилишига асосланган.

2-Таъжриба.

Альдегид смолаларининг ҳосил бўлишига проба. 5 мл глюкоза (лактоза, фруктоза, манноза) 1-2% эритмасига 2 мл 10% натрий гидроксид эритмасидан кўшиб спирт лампаси ёрдамида қайнатинг.

Аналитик эффекти: пробирка ичидаги аралашма аввал сариқ рангга, сўнгра тўқ қўнғир рангга бўялади. Карамел хидини эслатувчи хид ҳосил бўлади.

Бу реакция, альдозаларнинг ишқорий шароитда конденсацияланиб альдегид смолаларини ҳосил бўлишига асосланган.

3-Таъжриба.

Вознесенский усули (углеводларни миқдорий аниқлаш). 3 мл глюкоза (лактоза, фруктоза, манноза) эритмасига 1 мл Фелинг реагентидан кўшиб сув хаммоми ёрдамида 5-10 минут давомида киздириг.

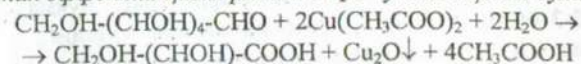
Аналитик эффекти: қизил рангли Cu₂O чўкмаси ҳосил бўлади.

Фелинг суюқлиги мис купороси, сегнет тузи ва натрий гидроксиддан тайёрланади.

4-Таъжриба.

Барфед пробаси. Барфед реагенти бу, мис ацетат ва натрий ацетатларнинг суюлтирилган сирка кислотадаги эритмасидир. 2 см³ глюкоза (манноза, лактоза, фруктоза) эритмасига 2 см³ Барфед реагентидан кўшиб қайнагунча киздириг.

Аналитик эффекти: қизил рангли Cu₂O чўкмаси ҳосил бўлади.



Барфед пробасининг бошқа усулларида энг асосий фарқи мазкур реакциянинг нейтрал муҳитга яқин бўлган шароитда олиб борилиши ҳисобланади. Бундай шароитда қайтарилмаган дисахаридлар оксидланмайди, шунинг учун бу реакция моносахаридларни дисахаридлардан ажратишда қўлланилиши мумкин.

5-Таъжриба.

Селиванов реакцияси. 2 мл моноза эритмасига 2 мл хлорид кислота эритмаси ва бир нечта резорцин кристалларидан кўшинг. Аралашмани киздириг.

Аналитик эффекти: тўқ қизил рангнинг ҳосил бўлиши.

Селиванов реакцияси кетозаларни альдозалардан фарқ қилишда ёрдам беради. Монозалар концентрланган минерал кислота эритмалари билан киздирилганда дегидратланиш реакциясига киришиб гетероциклик табиатли альдегид фурфурал ҳосил бўлади: бунда кетозалар - *фурфурал*, гексозалар - *оксиметилфурфурал* ҳосил қилади.

Ҳосил бўлган модда резорцин билан конденсацияланиб рангли маҳсулот ҳосил қилади. Кетозаларга қараганда бундай шароитда альдозалар нисбатан кам фаолликка эга бўлиб, уларнинг бундай реакциялари кўпроқ вақт давомида кислоталар билан киздирилганда амалга ошади.

6-Таъжриба.

Сахарозанинг хоссаларини текшириш. Энг аввало, сахарозанинг 5-10% ли эритмаси билан Фелинг реагенти, Подобедова-Молиш ва Селиванов реакцияларини ўтказиш мумкин:

а) 3 мл сахароза эритмасига икки томчи 10% сульфат кислота эритмаси кўшиб 5-10 мин давомида киздириг, сўнгра пробиркадаги аралашмани тенг иккига бўлинг;

б) 1,5 мл сахароза эритмасининг ҳосил қилинган гидролизатини суюлтирилган ишқор эритмаси билан нейтраллаб унинг устига 0,5 мл Фелинг реагентидан кўшиб киздириг. Кузатиш натижаларни ёзинг;

в) 1,5 мл сахароза эритмасининг ҳосил қилинган гидролизатини суюлтирилган ишқор эритмаси билан нейтраллаб унинг устига 1 мл

Барфед реagentидан кўшинг. Ҳосил қилинган аралашма қиздирилганда кузатиладиган ҳодисани ёзинг.

7-Тажриба.

Крахмал хоссаларини текшириш. а) Кам микдордаги крахмални илик сувда эритиб филтрланг;

б) (а) тажрибада ҳосил қилинган филтрат, чўкма ва крахмал эритмасига 2-3 томчи йоднинг KI даги эритмасидан кўшинг.

Аналитик эффекти: крахмал сувли эритмаси кўк рангга бўялади. Бу реакция амилозанинг йод билан тахминан $nI_2 + 10n(C_6H_{10}O_5)_x$ дан то $nI_2 + 20n(C_6H_{10}O_5)_x$ кўринишда бўлган таркибли бирикма ҳосил қилишига асосланган.

Ҳосил бўлган рангли эритмани уч қисмга бўлинг:

а) Биринчи эритмага 3-4 томчи 10%-ли натрий гидроксид эритмасидан кўшинг;

б) Иккинчи эритмага 5 см³ этанол эритмасидан кўшинг;

в) Учинчи эритмани сув ҳаммоми ёрдамида 5-10 мин давомида қиздириш.

Аналитик эффекти: эритманинг рангсизланиши.

№15 Лаборатория машғулоти

Углеводларни курук мевалар (майиз, туршак, мева қоқилари)дан ажратиш олиш ва хроматография ёрдамида ўрганиш

Ишнинг мақсади:

1. Углевод молекулалари тузилишининг ўзига хослиги тўғрисидаги маълумотларни мустаҳкамлаш;
2. Талабаларда кимёвий идишлар ва реagentлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш;
3. Талабаларни хроматография қилиш усуллари билан таништириш;
4. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш.

Ишнинг умумий изохи. Курук мевалардан маълум микдорда олиб, майдалаб, сувда гомогенланади ва кетма-кет дистилланган сув билан экстракция қилинади, сўнгра 82%-ли спирт билан 1:10 нисбатда экстракция қилинади.

Жихозлар ва реактивдар. Майдаланган курук мевалар (10-15г.), чинни ҳовонча, сув ҳаммоми, вентилятор, хроматография учун камера, силикагелли пластинкалар, анилин реактиви (100 мл ацетонда эритилган 1г анилин ва 1г дифениламиндан иборат бўлиб, фойдаланишдан олдин 10 мл 85 % ли ортофосфор кислота кўшилади), этил спирти-100 мл.

Ишнинг бориши. 10 г олдиндан майдаланган курук мевани кварц кумли ҳовончада 100 мл-гача сув кўшиб гомогенланади (кварц кум бўлмаган пайтда шиша капиллярлардан ҳам фойдаланиш мумкин). Гомогенат қолбага солиниб, 30-45 мин давомида 75-80°C-да сув ҳаммомида қиздирилади. Кейин махсулотнинг эримаган қисмини филтрлаб ёки центрифугалаб ажратилади (2-3 мин айл/мин, 10 мин). Чўкма устидаги суюқликни (филтрат) буглатиб, ҳажми энг минимал микдоргача концентрланади (суюқлик кристаллизаторга кўйилади, сув ҳаммоми устига кўйилади, ҳаво вентилятор ёрдамида юборилади). Чўкма 82%-ли спирт билан экстракция қилинади ва буглатиб, концентрланади.

Концентрланган экстрактлар алоҳида силикагелли пластинкаларда кўйидаги системада хроматография қилинади: этилацетат:ацетон:сув=40:50:10; глюкоза (Rf= 0,28), сахароза (Rf= 0,16), фруктоза (Rf= 0,21)-гувоҳлар билан текширилади. Доғлар ҳолатини анилин реактиви пуркалиб аниқланади, бунда углеводлар ҳолати 5-10 мин давомида 120°C-да қиздирилиши натижасида ҳар хил рангли доғлар кўринишида намоён бўлади. Лактоза кўкиш-кулранг, сахароза-жигар кулранг, галактоза- кизгиш -кулранг, фруктоза-жигарранг, глюкоза - кизгиш-кулранг ва ниҳоят ксилоза-кўк рангли доғлар ҳосил қилади. Анилин реактиви бўлмаганда хроматограммадаги доғларни 30%-ли H₂SO₄ билан қиздириш ёрдамида ҳам кўриш мумкин. Экстрактдаги углеводлар аралашмаси қоғоз хроматографияси ёрдамида ҳам н-бутанол:сирка кислота:сув=4:1:5 системасидан фойдаланиб ажратилиши мумкин. Бу системада эрийдиган углеводлар кўйидагича тақсимланади: рафиноза (Rf=0,05), лактоза (Rf=0,08), мальтоза (Rf=0,11), сахароза (Rf=0,14), галактоза (Rf=0,16), глюкоза (Rf=0,18), манноза (Rf=0,20), арабиноза (Rf=0,22), фруктоза (Rf=0,23), ксилоза (Rf= 0,25), рибоза (Rf= 0,31).

Олинган барча натижалар хроматограмма расм ва хулосалари билан лаборатория дафтарида ёзилади.

№16 Лаборатория машғулоти

Углеводлар гидролизи

Ишнинг мақсади:

1. Углевод молекулалари тузилишининг ўзига хослиги тўғрисидаги маълумотларни мустаҳкамлаш;
2. Сахароза ва крахмалнинг кислотали гидролизи махсулотларини ЮҚХ ёрдамида солиштириб ўрганиш
3. Талабаларни хроматография қилиш усуллари билан таништириш;
4. Махсус адабиётлар билан ишлаш кўникмаларини ривожлантириш ва ўтказилган тажрибалар юзасидан хулосалар қилишни ўрганиш.

Ишнинг умумий изохи. Крахмал қайтар совутгичли сув ҳаммомида 1н HCl ёрдамида киздириб, гидролизланади, сахароза ҳам худди юкоридаги усул билан ва 6 н HCl ёрдамида 1 соат давомида гидролизланади. 3та гидролизатнинг углеводлар таркиби ЮҚХ ёрдамида ўрганилади, гидролизатларнинг эфирли ажратмалари фурфурол резорцин реактиви ёрдамида аниқланади.

Жихозлар ва реактивлар. Крахмал, сахароза, хроматография учун камера, сув ҳаммоми, қайтар совитгич, резорцин реактиви, силикагель, H_2BO_3 , гидролиз учун колбалар.

Ишнинг бориши. Крахмалнинг сувдаги 2%-ли эритмасига тенг ҳажмда 2 н HCl кўшиб, қайтар совутгичли сув ҳаммомида 3 соат давомида гидролиз қилинади. Сахарозани худди крахмал каби ва параллел равишда юкоридаги шароитда 6 н HCl таъсирида 1 соат давомида гидролизга учратилади.

3та гидролизатнинг ҳар бири концентрланган КОН ёрдамида нейтралланади ва моносахарид таркиби алоҳида компонентларни кўз билан чамалаш орқали аниқланади, бунда фруктоза микдорининг ўзгаришига эътибор бериш керак. ЮҚХ H_2BO_3 ва силикагелли пластинкаларда бутанол:ацетон:сув - (4:5:1) системасида олиб борилади. Гувоҳлар – сахароза, глюкоза, мальтоза ва фруктоза.

3 та гидролизат ҳам эфир билан экстракция қилинади, сув қисмидан ажратилиб, буглантиради ва минерал кислоталар таъсирида пентоза (фруктоза)–дан ҳосил бўлган фурфурол микдори резорцин реактиви ёрдамида аниқланади. Кўз билан чамалаб, ҳосил бўлган фурфурол микдори орасидаги фарқ аниқланади.

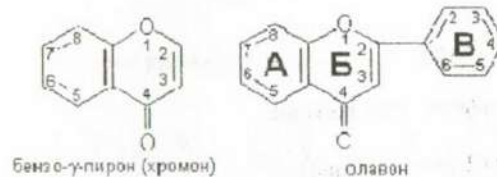
Хроматограмма резорцин реактиви ёки анилин реактиви ёки сульфат кислота иштирокида ёритилади (очилади).

Эслатма: Гидролизни худди шундай концентрациядаги H_2SO_4 ёрдамида ҳам олиб бориш мумкин, у ҳолда $Ca(OH)_2$ ёки $Ba(OH)_2$ билан нейтраллаш бир вақтда гидролизатни тузсизланишига ҳам олиб келади. Тузларнинг бўлиши ЮҚХ – да ажратиш сифатига салбий таъсир кўрсатади.

ФЛАВОНОИДЛАР

Флавоноидлар C6-C3-C6 умумий таркибий бирикмаси билан бирлаштирилган иккита ароматик халқали фенол бирикмалар гуруҳидир. Кўпгина синфларда кислотадли гетероциклик С ёки тўғридан-тўғри пропан қисми яқинида жойлашган карбонил гуруҳига қўшни бўлган биринчи бензол халқаси А ҳарфи билан белгиланади ва ёнаки фенол ўриндош лотин алифбоси бўйича В белгиси билан белгиланади. Бу белгилардан келиб чиққан ҳолда, гетероциклик флавоноидларда рақамлаш тартиби А халқасининг гетероатоми билан бошланади ва В халқасида рақамлаш тартиби молекуланинг бошқа қисмлари билан боғланган углевод билан бошланади.

Кўп флавоноидларга хромон ҳосилалари (бензо-γ-пирон) сифатида қараш мумкин.



Флавоноидлар атамаси (лотинча flavus - сарик рангли, чунки ўсимликлардан ажратилган биринчи флавоноидлар сарик рангга эга бўлган, кейинчалик уларнинг кўпчилиги рангсиз эканлиги аниқланди) генетик жиҳатдан бир-бирига боғлиқ бўлган, аммо турли хил фармакологик таъсирга эга бўлган турли аралашмаларни бирлаштирган.

Флавоноидларни ўрганиш 18-асрнинг бошларига тўғри келади, 1814 йилда Шевроле кверцетрин деб аталадиган махсус эман тури қобиғидан кристал модда ажратиб олган. 40 йил ўтгач, Риганд ушбу модданинг гликозид хусусиятини аниқлади ва агликонни кверцетин деб номлади. 1842 йилда Вайс Ruta graveolens ўсимлигидан рутин ажратиб олди. 1864 йилда биринчи марта теракдан хризин алоҳида олинган; унинг структураси 1898 йилда хлорацетофенон метил эфири этил бензоат билан синтези орқали Косанецкий томонидан тасдиқланган. 1903 йилда Ваяшко рутин тузилишини аниқлади. Табиий флавоноидларнинг тузилишини ўрганишда Польша кимёгарлари катта ҳисса қўшдилар. Антоцианларни ўрганиш бўйича Вильштеттер томонидан амалга оширилди. А.Л.Курсанов,

М.Н.Запрометов, К.Фрейденберг ва бошқалар катехинлар тадқиқотини амалга оширишди. Флавоноид бирикмаларга бўлган қизиқиш, айниқса XX асрнинг 40-йилларида янада ошди: флавоноидлар турли биологик фаоллик ва жуда паст захарлилиги билан олимларнинг эътиборини тортди. 1970 йилдан кейин флавоноидларга тегишли 1400 дан ортик бирикмалар ажратиб олинди.

Флавоноидларнинг синфланиши

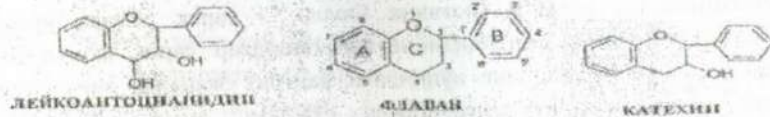
Пропан скелетининг С6-С3-С6 оксидланиш ва гидроксилланиш даражасига, фенил радикалининг жойлашиши ва гетероциклнинг катталигига кўра флавоноидлар бир неча гуруҳга бўлинади:

1. С2 да жойлашган ёнаки фенил радикалли асли флавоноидлар (эуфлавоноидлар).
2. Фенил радикали С3 да жойлашган изофлавоноидлар.
3. Фенил радикали С4 да жойлашган неофлавоноидлар.
4. Бифлавоноидлар.

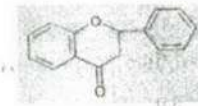
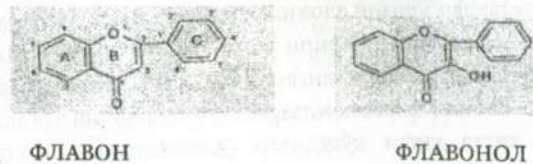
I. Асли флавоноидлар

Ушбу кичик гуруҳга қуйидагилар киради:

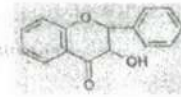
- 1) флаван хосилалари (2 фенилхроман):



- 2) флавор хосилалари (2 фенилхромон):

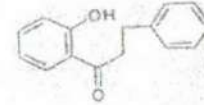


ФЛАВОН

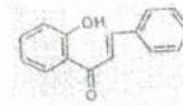


ФЛАВОНОЛ

- 3) очик пирон халқали флавоноидлар

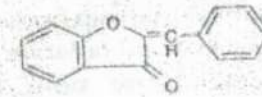


ХАЛКОН



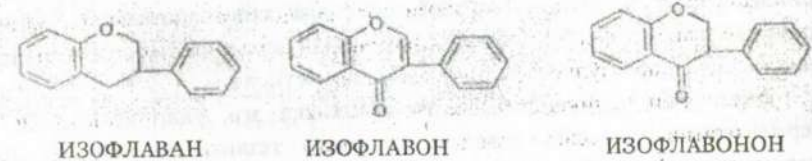
ДИГИДРОХАЛКОН

- 4) ауронлар

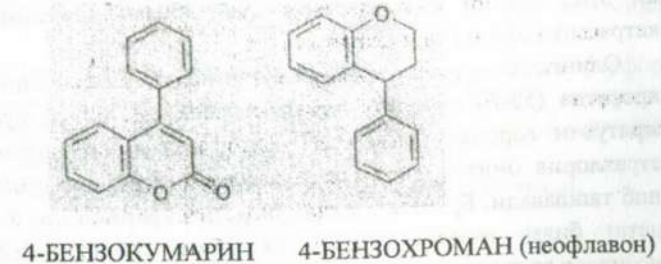


АУРОН

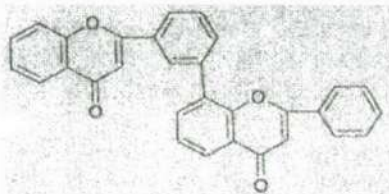
II. Фенил радикали 3 холатда жойлашган изофлавоноидлар



III. Фенил радикали С4 да жойлашган неофлавоноидлар



IV. Бифлавоноидлар – С-С бириктирилган флавонолар, флавонолар ва бошқалардан иборат димерли бирикмалардир.



БИФЛАВОН

Физикавий ва кимёвий хусусиятлари

Флавоноидлар маълум суюқлиниш температурасига эга бўлган кристалл моддалар бўлиб, хидсиз, сарик рангга эга (флавонолар, флавонолар, халконлар ва бошқалар), рангсиз (изофлавонолар, катехинлар, флавонолар ва бошқалар), шунингдек, рН га боғлиқ кизил ёки кўк рангли (антоцианлар). Кислотали муҳитда улар кизил (катионлар тузлари), ишқорийда эса-кўк рангга эга (анионларнинг тузлари).

Флавоноид агликонлари одатда ацетон, спирт, органик эритувчиларда эрийди, сувда эримади. Гликозидлар сувда яхши эримади, органик эритувчиларда (эфир ва хлороформ) эримади, молекуласида учдан ортик канд колдиклари бўлган гликозидлар бундан истисно.

Флавоноид гликозидлар оптик фаолликка эга, улар кислотали ва ферментатив гидролизга учрайди. Гидролиз тезлиги ва уни ўтказиш шароитлари флавоноидларнинг турли гуруҳлари учун фарқ қилади.

Ўсимлик материалларидан флавоноидларни ажратиш олиш учун метил ёки этил спирти ёки уларнинг сув билан аралашмалари кўпинча экстрагент сифатида ишлатилади.

Олинган спиртли экстракция буглатилади (бугланишни вакуумда паст ҳароратда (50-70°)) олиб борилади, иссиқ сув билан суюлтирилади ва ажратувчи воронка ёрдамида сувли фазадан дихлорэтан ёки углевод тетрахлорид билан липофил моддаларни (ёғлар, смолалар, хлорофилл) олиб ташланади. Бу тозалашдан сўнг, этил эфири билан агликонлар, этил ацетат билан монозидлар ва сув билан тўйинган n-бутанол билан биозидлар ва тризидлар ажратиш олинади.

Ҳар бир фракциянинг таркибий қисмлари сорбент сифатида полиамид, силикагель ёки целлюлозалардан фойдаланиб, устунли хроматография ёрдамида ажратилади.

Кўпгина флавоноидларни ажратиш ва тозалаш учун оғир металллар ионлари билан ўзаро таъсирлашиб, сувда ёки спиртта эримайдиган туз ҳосил қилиш, ҳамда чўкма ҳосил бўлишига рН таъсири бўлган қобилятидан фойдаланилади. Эркин орто-гидроксил гуруҳларни В халқада тутган флавоноидларнинг спиртли эритмаларини кўрғошин ацетат ўрта ёки асосий тузлари билан ишланганда, сарик ва кизил рангли чўкмалар ҳосил бўлади. Чўкмалар центрифугаланади ва суюлтирилган спиртта суспензия ҳосил бўлгандан кейин, водород сульфид ёрдамида парчаланаяди. Кейинчалик, флавоноидлар қайта кристалланиш ёки хроматографик усуллар билан ажратиш олинади.

Флавоноидларни аниқлаш учун уларнинг физик-кимёвий хусусиятларидан фойдаланилади: суюқлиниш температурасини аниқлаш, гликозидларнинг солиштирма айланишини аниқланади ва уларнинг УБ, ИҚ ва ПМР спектрларини маълум намуналар спектрлари билан таққосланади.

№17 Лаборатория машғулоти

Янтоқ ва наматақдан экстрактив моддалар йиғиндисини ажратиш олиш.

Ишнинг мақсади: Янтоқ ва наматақ ўсимликларидан флавоноидларни ажратиш олиш ва текшириш.

Жихозлар ва реактивлар: янтоқ ёки наматақнинг майдаланган меваси, дистирланган сув, тубиясси қолба, фарфор чашка, қайтарсовутгич, тарози ва термостат.

Ишнинг бориши: 50 г майдаланган янтоқ ёки наматақнинг майдаланган меваси туби юмалок қолбага солинади ва 400 мл дистирланган сув қуйилади. Қолба қайтар совутгичга уланиб икки соат давомида қайнатаилади.

Иссиқ экстракт филтр қоғоз ёрдамида филтрланади ва фарфор чашкада (чашкача парлатишдан аввал доимий оғирликка келгунча қуритиш шкафида қуритилади) сув қолмагунча парлатилади ва қуритиш шкафида 4 соат давомида қуритилади.

Флавоноидлар йиғиндисининг % микдори қуйидагича ҳисобланади.

$$X = (a - b) * 100\% / C$$

- X – Флавоноидлар йиғиндисининг % микдори,
a – флавоноид йиғиндисини билан чашканинг оғирлиги;
b – чашка оғирлиги;
C – анализда олинган маҳсулот оғирлиги.

Флавоноидларга сифат реакциялари:

Ишнинг мақсади: Янтоқ ва наматақ ўсимликларидан ажратиб олинган флавоноидларга сифат реакциялари ўтказиш.

Жихозлар ва реактивлар: курук флавоноидлар йиғиндиси, дистилланган сув, конуссимон колба, 2% ли аммоний хлорид эритмаси, концентранган хлорид кислотаси, 48%ли этил спирти, магний кукуни, кайтар совутгич, сув хаммони.

Ишнинг бориши: 1гр курук флавоноидлар йиғиндисини конуссимон колбага солиб унга 50мл 48%ли этил спиртидан куйилади. Колбани кайтар совутгичга улаб бир соат давомида сув хаммонида қиздирилади ва хона хароратигача совутилади.

Ҳосил бўлган эритмадан куйидаги сифат реакциялари амалга оширилади:

А) Эритмадан 4мл олинадиди ва унга 2мл 2% ли аммоний хлориднинг 95% ли спиртдаги эритмасидан озгина куйилади, эритма аста секин сарик рангга бўялади.

Б) Эритмадан 4 мл олинадиди ва унга 1 мл концентранган хлорид кислотаси ва 0,1 гр магний кукуни солинадиди. Аралашмани сув хаммонида 3-5 минут қиздирилганда эритма қизғиш рангга бўялади.

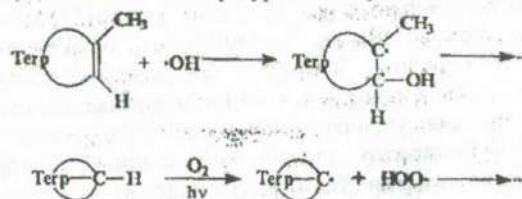
ТЕРПЕН ВА ТЕРПЕНОИДЛАР

Одатда *терпенлар* атамаси таркибида изо- C_5 -фрагментларнинг бутун сонли бирикмаларга қўлланилади. *Терпеноидлар* - бу ҳар хил сонли C -атомларининг бирикмалари, лекин тузилишининг асоси тўғри терпенлар, яъни улар терпенларнинг иккиламчи метаболизми натижасида ҳосил бўлганлар деб ҳисобланади. Баъзида терпенлар деб ўзига хос таркиби ва тузилишга эга бўлган бирикмаларга айтилади, терпеноидлар эса уларнинг ҳосилалари ва метаболитларидир. Бу иккита тушунча бир-бири билан ўзаро боғлангалиги сабабли, уларнинг атамаларида катта фарқи йўқ.

Терпен ва терпеноидлар ўсимлик дунёсида кенг тарқалган бўлиб, уларга хидли ўсимликларнинг (атиргул, райхон ва ҳкз.) эфир мойлари, "живица" деб ном олган игна баргли ўсимликларнинг сақич ҳосил бўлиши ва ажралиши киради. Игнабаргликлар терпенларнинг номланиши ва миқдори бўйича энг бой манбаалардан ҳисобланади. Тирик организмларда терпенлар кўп учрамаса-да, уларнинг метаболизм маҳсулотлари (айниқса ди-, три- ва тетратерпенларга тегишли) ҳайвон ва одамлар учун жуда керакли ҳисобланади (витами́нлар, гормонлар ва бошқ.).

Терпенларнинг табиатда кенг тарқалиши, одам фаолиятида уларнинг ҳар томонлама ишлатилиши, уларнинг учувчанлиги яна бир қизиқ табиий муаммо- атмосфера қимёси билан боғлиқ. Терпенларга радикал турдаги реакциялар хос, улар атмосферада ҳосил бўладиган элементар радикал заррачалари (NO^* , O^* , OH^* ва бошқ.) билан ўзаро таъсирлашадилар.

Терпенларнинг учувчанлигини инобатга олиб, атмосфера учун ҳам ижобий, ҳам салбий таъсир кўрсатиш мумкинлигини ҳисобга олиш керак.



Терпенлар классификацияланиши уларнинг молекуласида изо- C_5 -қолдиқлар сонига асосланган бўлиб, тарихий сабабларга кўра терпен бирлиги деб иккита изопрен занжирли молекула қабул қилинган, чунки шу вақтгача табиатда топилган углерод таркиби C_{10} бўлган. Яқиндан кўпчилик ўсимликларда кам миқдорда изопрен ва унинг ҳосилалари топилган.

Терпенларнинг синфланиши

Терпенлар тури	Углерод атомларининг сони	Мисол	
		Тузилиши	Номланиши
Гемитерпенлар	5		Изопрен
Монотерпенлар	10		Гераниол
Сесквитерпенлар	15		Фарнезол
Дитерпенлар	20		Гераниол-гераниол
Сестертерпенлар	25		Офноболин А
Тритерпенлар	30		Сквален
Тетратерпенлар	40		Фитоин
Политерпенлар	$7 \cdot 10^3$ $3 \cdot 10^5$ гача		Каучук

Монотерпенлар

C₁₀-таркибли изопреноидлар терпенлар орасида микдор бўйича энг кўп тарқалган бўлиб, игнабарглиларда 50 %гача етади. Монотерпенлар юқори ўсимликлар Labitae, Pinaceae, Umbrelliferae оиладошлар эфир мойларида кенг тарқалган. Violates синфининг ўсимликлари монотерпенларни сезиларли микдорда синтез қилмайдилар. Одатда, эркин монотерпенлар-ўтқир хидли учувчан бирикмалар бўлиб, уларнинг бу хусусиятидан хушбуй моддалар ишлаб чиқаришда фойдаланилади. Лабораторияда бу бирикмаларни ўсимлик хомашёдан сув буги билан ҳайдаш йўли орқали ажратиб олинади. Спирт гуруҳларини тутган монотерпенлар ўсимликда боғланган шаклда-гликозидлар кўринишида бўлиши мумкин.

Монотерпенларнинг таснифи молекуланинг углерод скелети тузилишига асосланган, унинг циклланиш даражаси ва циклнинг тузилишига боғлиқ.

Гуруҳлар номи	Тузилиш тури	Мисол
Ациклик 2,6-диметилоктанлар		
Моноциклик ментанлар (циклогексанлар)		
Ириданлар (циклопентанлар)		

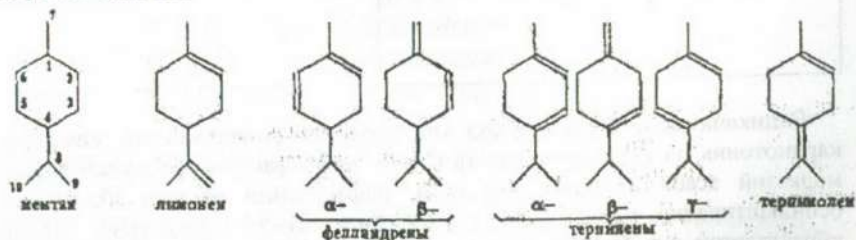
Ациклик монотерпенлар

Ациклик монотерпенлар тўйинмаган бирикмалар бўлиб, бир-биридан кўш боғ сони ва жойланиши ҳамда функционал гуруҳлар - асосан спирт гуруҳи мавжудлиги билан фарқланади. Уларнинг углерод скелети 2,6-диметилоктан тузилишига эга бўлиб, “боши думга” туташиш қондасига кўра ҳосил бўладилар. Хужайра ичидаги жараёнлар натижасида баъзи бир ациклик монотерпенлар эфир табиатига эга бўлган циклик фрагментлар (тетрагидрофуран, пиран, лактон) билан функционал ҳосилаларини ҳосил қиладилар. Бирок улар карбоциклик эмас, балки углерод скелети бўйича ациклик монотерпенларга тегишли.

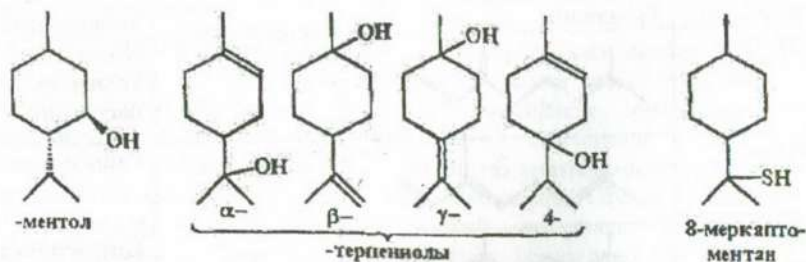
Бирикмалар	Тузилиши	Табиий манбаа
Мирцен		Шивит (укроп), кориандр, багульник
Оцимен		Райҳон
Цитраль, цитронелаль		Цитруслилар, эвкалипт мойи
Гераниол, цис-изомер нерол		Гуларнинг эфир мойлари (атиргул, бергамот)

Моноциклик терпенлар

Биринчидан, ментан катори терпенларни-диен углеводородларнинг вакили лимоненни кўрсатиб ўтиш керак: ментан, лимонен, фелландрен, терпинен, терпинолен. Ўсимликлар, айниқса цитруслар эфир мойларида лимонен кўп учрайди. Цитрусларнинг хушбўйлигини (+)-лимонен асослаб беради, (-)-лимонен эса игнабарглилар сакичидан ажратиб олинандиган скипидар таркибига қиради. Игнабаргли ўсимликлар умумий номланиши терпинен ва фелландрен бўлган ментан катори диен углеводородлар ажратиб олинган.



Ҳаммага маълум бўлган ментол ялпиз (*Mentha piperita*) эфир мойида кўп учрайди-40-70%гача. Ментол тўртта стереоизомер кўринишида мавжуд, уларнинг асосийси циклогексан ҳалқасидаги учта ўринбосарларининг экваториал ҳолатили бирикма бўлиб, ўз вақтида энантиомер жуфти кўринишида бўлади.



Ушбу терпенлардан фармацевтика ва озик-овкат саноатида кўп ишлатиладиган ва энг фаол бўлган (-)-ментолдир.

Бициклик монотерпенлар

Бициклик углерод скелетли монотерпенларнинг барча турлари игнабарглилар живицасида келтирилган (кўп миқдорда). Юмшоқ игнали (*Pinus nigra*) ва алеп (*Pinus halepensis* Mill.) карағайларнинг учувчан фракциясида 90% α-пинен, кумли карағай (*Pinus clausa* Champ.) скипидарида 75% β-пинен, Семенов пихтаси (*Abies Semenovii*) скипидарида эса 56% 3-карен мавжуд.

Кичик дозада бу терпенлар кўплаб бошқа ўсимлик эфир мойлариди ҳам мавжуд. Олефин бициклик терпенлар турли хил қўш боғ ҳолати изомерияси билан таърифланади- у ҳам эндоциклик, ҳам экзоциклик бўлиб, баъзи вақтларда қўшимча кўприк боғга ўрин алмашиб, терпеннинг бициклик тузилишини трициклик тузилишига айлантиради.



Бициклик монотерпенлар ҳар хил биологик фаолликка эга: камфора-кардиотоник ва аналептик восита бўлиб, юрак фаоллигини кучайтиради, марказий асаб тизimini кўзгатади, нафас олиш ва қон айланишни осонлаштиради; марказий асаб тизимига кучли кўзгатувчи таъсир кўрсатадиган яна бир бициклик кетон- бу туйондир, камфорадан фарқи шундаки, туйон наркотик характерга эга; хамат кислота 3-каренга ўхшаш инсектицид фаолликка эга; шунингдек, пинен ва унинг ҳосилалари феромон фаолликни кўрсатадилар (вербенол-агрегатив феромондир).

№18 Лаборатория машғулот

Райхондан эфир мойларини ажратиб олиш

Ишнинг макседи: Райхондан эфир мойларини сув буғи ёрдамида олиш.

Жихозлар ва реактивлар: райхон барглари, дистилланган сув, туби ясси колба, Гинзберг асбоби, фарфор чашка, кайтар совутгич, тарози ва термостат.

Ишнинг бориши: Ўсимлик хом ашёларидан эфир мойларини сув буғи ёрдамида олинади. Бунинг учун 1-2л ҳажмдаги конуссимон колбага 15-30г майдаланган ўсимлик аъзоларини солиб, ушбу колбага сув буғи юборилади. Бунинг учун бошқа бир сув солинган колбани электр плита устида киздириб, ҳосил бўлган буғ шиша трубка орқали ўсимлик хомашёси солинган колбанинг тагидан чиқади. Бу буғ ўсимликдаги эфир мойларини ўзи билан совуткичга ҳайдалади ва бу аралашма совуткичда суюқликка айланиб, Гинзберг асбобига томчилаб тушади. Эфир мойи сувдан енгил бўлгани учун суюқликнинг тепасига йиғилади ва сув асбобнинг қиска учидан колбага оқиб тушади. Агар Гинзберг асбобига йиғилган эфир мойи 10-20 минут ичида ўзгармаса сув буғини ҳайдашни тўхтатиш лозим. Сўнгра Гинзберг асбобидаги неча мл эканлиги аниқланади ва % миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{V * 100 * 100}{m * (100 - a)}$$

бу ерда: X – ўсимликдаги эфир мойининг ҳажм оғирлиги, %

V – Гинзберг асбобидаги эфир мойининг ҳажми, мл

m – анализ учун олинган ўсимлик миқдори, г

a – хомашёнинг намлиги (14%)

№19 Лаборатория машғулот

Лагохилус ўсимлигидан хом ашёсидан озод ва боғланган дитерпеноидларни ажратиб олиш ва физик кимёвий хоссаларини ўрганиш

Ишнинг макседи: Ўсимлик хом ашёсидан озод лагохилини ажратиб олиш.

Жихозлар ва реактивлар: 100 г хавода қуритилган лагохилус ўсимлиги, туби ясси колба, 400 мл дихлорэтан, Бюхнер воронкаси, ацетон, кайтар совутгич, тарози ва термостат.

Ишнинг бориши: Лагохилус ўсимлиги оиласида лагохилин дитерпеноидининг сирка кислота эфирлари ҳар хил изомерлар формасида мавжудлиги маълумдир. Лагохилин ўсимликда соф ҳолда ҳам бўлади.

100 г ҳавода қуритилган лагохилус ўсимлигини қолбага жойлаштириб унга 400 мл дихлорэтан солинади ва эритувчининг қайнаш температурасида қайтар совутгич ўрнатиб 3 соат давомида қиздирилади. Иссик дихлорэтан эритмасини ўсимликдан ажратиш учун уни доқа қатлами ёки пахтадан ўтказилади ва эритмани музлаткичда сақланади. 8-10 соатдан кейин тушган лагохилинни Бюхнер воронкасида филтрлаб ажратилади, дихлорэтан билан ювилади ва ацетонда қайтадан кристаллга туширилади. Лагохилиннинг молекуляр оғирлиги-356 гр, формуласи $C_{20}H_{36}O_5$, суюкланиш температураси 168-169°C, $R_f=0,25$ (система этилацетат:ацетон 5:1), лагохилиннинг унуми тахминан 1%.

Ўсимлик хом ашёсидан боғланган лагохилинни ажратиб олиш

Ишнинг мақсади: Ўсимлик хом ашёсидан боғланган лагохилинни ажратиб олиш.

Жихозлар ва реактивлар: 100 г ҳавода қуритилган лагохилус ўсимлиги, кристаллизатор, пуркагич, туби ясси қолба, 5%ли ўювчи натрий эритмаси, 400 мл дихлорэтан, Бюхнер воронкаси, ацетон, қайтар совутгич, тарози ва термостат.

Ишнинг бориши:

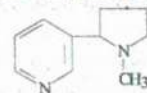
100 г ҳавода қуритилган лагохилус ўсимлиги (*Lagochilus inebrianus*) кристаллизаторга ёйилади ва у пуркагич ёки устига қуйиш ёрдамида 5%ли ўювчи натрий эритмаси билан ишланади. Ишқорий эритма билан ҳўлланган ўсимликка 400мл дихлорэтан қуйилади ва эритувчининг қайнаш температурасида 3 соат давомида қайтар совутгич ўрнатилиб қайнатилади, иссик дихлорэтан эритмасини ўсимликдан доқа қатлами ёки пахта ёрдамида ажратилади. Филтрат музлаткичда 8-10 соат давомида сақланади. Кристаллга тушган лагохилин дистилланган сув билан ювилади, қуритилади ва ацетондан қайтадан кристаллизацияга учратилади.

АЛКАЛОИДЛАР

Алкалоидлар ёввойи ўсимлик ва баъзи бир гриблар, ҳайвонларда учрайдиган азот тутувчи гетероциклик бирикмалар бўлиб, улар организм учун ўзини химоя қилувчи моддалар ҳисобланади. Улар ишқорий хоссага эга. Уларнинг кўплари физиологик актив моддалардир. Улар асосида кўплаб доривор моддалар олинган.

Никотин. Бу алкалоид тоза ҳолатда биринчи маротаба Поссельт ва Рейманлар томонидан 1828 йили тамакидан (*Nicotiana tabacum*) ажратиб олинган. У рангсиз, ёғсимон суюқлик, ҳавода тез қораяди. $T_{қайн} = 264^\circ C$

(730 мм). $d_4 = 1,0180$, $[\alpha]_D = -169,3^\circ$. Никотин органик эритувчиларда яхши эрийди, сувда 60 °C дан пастда эрийди.

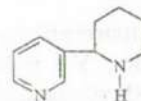


N-метилпирролидин 2-пиридин-3

Никотин анча кучли захарли модда ($LD_{50}=10$ мг/кг), инсектицид сифатида (айниқса унинг тузлари, масалан сульфат тузи) қўлланилади. Бу алкалоид оксидланса никотин кислотасини беради.

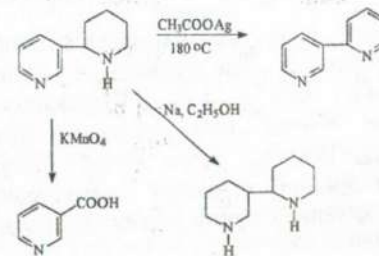
Анабазин. Анабазин алкалоиди асосан Марказий Осиё ва Қозоғистонда ўсувчи *Anabasis aphylla* «қирк бўғим» ўсимлигидан 1929 йили Орехов А.П. томонидан ажратиб олинган ва унинг тузилиши Меньшиков Г.П. билан биргаликда ўрганилган (1931 й). Анабазин алкалоиди никотин билан бир қаторда *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glauca* ўсимликларида ҳам учрайди ва унга «никотимин» деб ном берилган.

Анабазин рангсиз, ёғсимон суюқлик бўлиб, унинг $T_{қайн} = 276^\circ C$ (760 мм.сим.ус.), 104-105 °C (2 мм сим.ус.), $d_{20} = 1,0455$, $n_D = 1,5430$, $[\alpha]_D = -82^\circ$, сувда ва олдий органик эритувчиларда осон эрийди, дипикратининг $T_{суюкл} = 200-205^\circ C$.



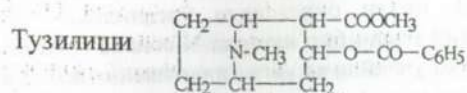
α-пиперидил-β-пиридин

Анабазин иккиламчи ва учламчи асосли хоссаларига эга. У α-пиперидил-β-пиридин тузилишга эга бўлиб, каталитик равишда гидроланганда α,β'-(2,3'-)-дипиперидилни, каталитик дегидроланганда α,β'-(2,3'-)-дипиридилни, оксидланганда эса молекуладаги пиперидил халқаси оксидланиб никотин (β-пиридинкарбон) кислотасини ҳосил қилади.



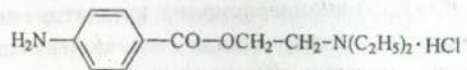
Анабазин кучли захарли моддалар каторига киради, $LD_{50}=10$ мг/кг. У кам микдорда дори восита хисобланади, нафас олиш ва юрак иши фаолиятларига таъсир кўрсатиб уларни кўзгатади ва тезлаштиради. Юкори микдорларда эса ишдан чиқаради ва паралич қилади. Қон босимини оширади. Анабазин инсектицидлик хоссасига ҳам эга. Унинг тузлари, масалан, сульфат тузи кишлоқ хўжалигида ҳашоратларга қарши курашда ишлатилади.

Кокаин. Бу алкалоид Жанубий Америкада ёввойи ҳолатда ўсадиган *Erythroxylon Cola Lam.* ўсимлигининг баргида бўлади, Ҳозирда бу ўсимлик Ява оролида маданий ҳолатда ўсишга мослаштирилган. Кокаин бу ўсимликдан 1860 йили ажратиб олинган, ўсимлик баргида у 1% ни ташкил қилади.



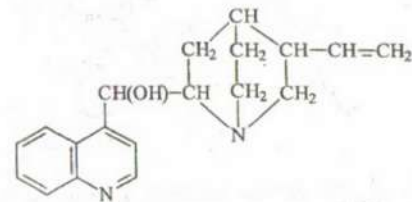
Кокаин рангсиз, призма шаклидаги кристалл модда, $T_{\text{суюқл}}=98^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{20}=-15,8^\circ$ (спирт), сувда кийин эрийди, органик эритувчиларда яхши эрийди.

Кокаин кучли захарли модда, паралич қилиш қобилятига эга. Нерв системасининг сезиш қобилятига таъсир қилади. У тиббиётда аъзоларнинг сезгирлигини йўқотувчи (местноанестетик) модда сифатида ишлатилади. Кокаин кўп ишлатилса унга ўрганиб қолиш мумкин, шунинг учун уни кам, зарур ҳолатларда ишлатилади. Ҳозирги вақтда унинг ўрнида новокаин, дикаин каби анестетик моддалар кўпроқ ишлатилади.



Новокаин (п-аминобензоилдиэтиламиноэтанол гидрохлорид)

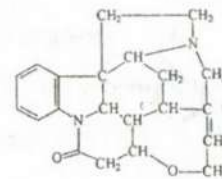
Хинин. Бу алкалоид Жанубий Америкада ўсувчи хин (*Cinchona*) ва ремиджия (*Remidjia*) дарахтларида учрайди. У 1820 йили Пельтье ва Кавентулар томонидан очилган. 1854 йили Штреккер томонидан тузилиш формуласи ўрганилган. Хинин аччиқ таъмга эга бўлган, сариқ рангли кристалл модда, $T_{\text{суюқл}}=177^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20}=-158,2^\circ$ (спирт). Хинин сувда, лигроинда жуда кам эрийди, бензолда кийин эрийди, хлороформда, спиртда, эфирда яхши эрийди. У кучли асосли хоссага эга.



Хинин

Хинин юрак ва марказий асаб тизимларини (МНС) параличлайди. Хининни маълум дозада ишлатилганда безгак (малярия) касаллигини яхши тузатади ва плазматик захарланишнинг олдини олади.

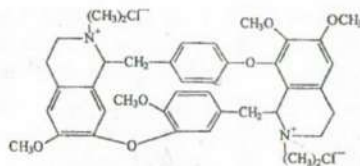
Стрихнин. Бу алкалоид Рвотнўй орех, *Struchnos Nux - Vomica L.* ва боба Игнатия-*S. Ignatii Berg.* ўсимликларининг уруғларида 2-3% гача учрайди ва улардан ажратиб олинган. Бу ўсимликлар /арбий ва Жанубий Африка, Ҳиндистон, Австралия мамлакатларида ва Филиппин ороқларида учрайди. Стрихнин Пельтье ва Кавентулар томонидан 1818 йили очилиб ўрганилган. Стрихнин кристалл модда, $T_{\text{суюқл}}=286-288^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20}=-109,9^\circ$ (спирт).



Стрихнин

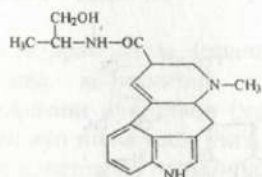
Стрихнин кучли захарли алкалоидлар каторига киради, судоргни (томир тортишиш) ҳосил қилади. Унинг кичик дозаси қон босимини оширади. Стрихнин ҳар хил паралич ҳолатларни, айниқса МНС билан боғлиқ бўлган параличларни, тузатишда ёрдам беради. Ошқозон-ичак йўллари бузилишига қарши ишлатилади. Стрихнин инсектицид сифатида ҳам қўлланилиши мумкин.

Тубокураринхлорид. Бу алкалоид кристалл ҳолатдаги бирикма, $T_{\text{суюқл}}=274-275^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20}=+264^\circ$ (сув). У Жанубий Америкада ўсувчи Америка Чилибухаси (*S. americana strychnonos*), ҳамда *Menispermaceae* оиласига кирувчи Абута имене (*Abuta imene*), (*Mart*) *Eichl* ўсимликларидан олинган.

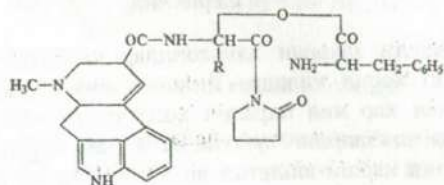


Тубокураринхлорид кучли захарли модда. У харакатланувчи нерв мускулларини параличлайди ва харакатни, нафас олишни тўхтатади. Медицинада мускулларни бўшаштириш учун анестетик сифатида ишлатилади.

Эргоалкалоидлар (Споринь алкалоидлари). Эргоалкалоидлар, жумладан эргометрин, эрготоксин ва эрготаминлар хар хил ўтларда, дон ўсимликларида ва асосан, жавдарда учрайдиган *Claviceps purpurea* замбуруғидан ва моголдан иборат бўлган споринлардан ажратиб олинган. Улар кристалл ҳолатда бўлиб, эргометриннинг $T_{\text{суюқл}} = 162-163^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = -464^\circ$ (хлороформ) га, эрготоксиннинг $T_{\text{суюқл}} = 190-200^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = +226^\circ$ (хлороформ) га, эрготаминнинг $T_{\text{суюқл}} = 213-214^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = +195^\circ$ (хлороформ) га тенг. Тузилишлари куйидагича:



эргометрин



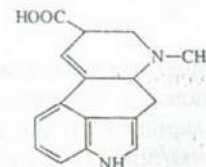
$R = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (эрготоксин)

$R = \text{CH}_3$ (эрготамин)

Эргометрин МНС ни кўзгатади, гинекологияда туғилиш жараёнини тезлаштириш учун ишлатилади, кўз қорачиғини кичрайтиради. Эрготоксин

ва эрготаминлар мускулларни қискартишда ишлатилади. Эрготамин мигрен касаллигини даволашда кенг қўлланилади.

Лизергин кислотаси. Лизергин кислотаси эргоалкалоидлар тузилишига эга бўлиб, уни хусусан эрготамин, эрготоксин ва изоэргинларни гидролаш, сўнгра гидролиз қилиш орқали олинади. Лизергин кислотаси кристалл модда бўлиб, $T_{\text{суюқл}} = 238^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = +40^\circ$ (пиридинда) га тенг. Унинг тузилиши куйидагича:



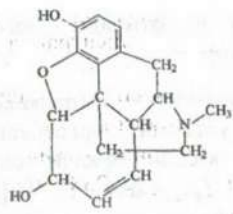
Лизергин кислотаси МНС ни кўзгатади. Кўз қорачиғининг кичрайшини секинлаштиради. Эргоалкалоидлар ва лизергин кислотаси асосан микотоксинлар гуруҳига киради. Улар билан захарланишнинг олдини олиш керак бўлади.

Наркотик хусусиятли моддалар

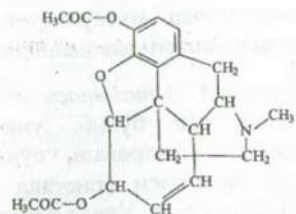
Бу хусусиятга эга бўлган моддалар кўп бўлиб, улардан айримларини кўриб чиқамиз. Наркотик моддалар асосан МНС га таъсир кўрсатадилар ва уларни кўп истеъмол қилинганда организм нерв системаларини паралич ҳолатга олиб келади, натижада организмдаги асосий органларни, яъни мия қобиғини, юрак фаолиятини ишдан чиқаради. Бундай моддаларга мисол қилиб морфин алкалоидини, унинг ҳосиласи героинни, ҳамда марихуана препаратини олишимиз мумкин.

Морфин. Бу алкалоид 1803 йили Дерон томонидан кора дори деб аталувчи ухлатувчи кўкнори (*Papaver somniferum* L. - мак снотворнўй) дан олинган. Морфин кристалл модда бўлиб, унинг $T_{\text{суюқл}} = 247-248^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = -140^\circ$ га тенг.

Героин. Бу модда морфинни ациллаб олинади, демак у морфинни диацил ҳосиласи ҳисобланади.



Морфин

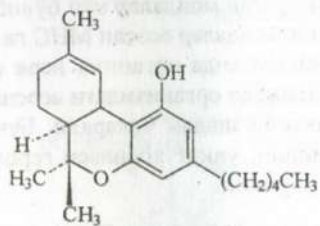


Героин

Морфин оғрикни қолдирувчи - наркотик аналгетик (грекча: $\alpha\lambda\upsilon$ - йўқ қилувчи, $\alpha\lambda\upsilon\tau$ - оғрик) моддадир. У седативлик ва тинчлантирувчилик хоссаларига ҳам эга, мускулларни қўзғатади. Уни кўп миқдорда истеъмол қилинса, қайт қилиш, ичкотиш (қабзият), ҳамда нафас олишни қийинлаштириш ҳолатларига олиб келади ва шу билан бирга унга ўрганиб қолиш касаллиги - наркотизмни юзага келтиради.

Морфиндаги бу хоссалар героинда бирнеча баробар кучли намоён бўлади. Героин нафас олиш фаолиятини морфинга нисбатан тез ишдан чиқаради.

Марихуана. Марихуана кучли наркотик модда бўлиб, кишиларда ваҳима касаллигини келтириб чиқарувчи бирикмалар қаторига киради. У хинд конопциси (*Cannabis sativa* L.) ўсимлигидан олинган Δ^9 -тетрагидроканнабинол моддаси асосида тайёрланади:

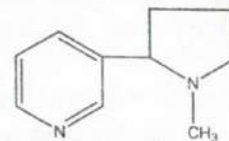


Δ^9 -Тетрагидроканнабинол

Тамакидан никотин алкалоидини ажратиб олиш ва идентификация қилиш

Мол.массаси 162,24

$C_{10}H_{14}N_2$



Ишнинг максоди: Тамакидан никотин алкалоидини ажратиб олиш

Никотин 3- (N-метил -2-пиролидин)-пиридин,- тамаки (*nikotiana tabacum*) ва махорканинг (*Nicotiana rustica*) асосий алкалоиди бўлиб, бу ўсимликларда у лимон кислотасининг тузи ҳолида бўлади. Никотин жуда захарли бўлганлиги сабабли медицинада қўлланилмайди. Қишлоқ хўжалигида инсектицид сифатида ишлатилади. Бундан ташқари никотин никотин кислотаси ва унинг хосилаларини олишда ҳам ашёлик вазифасини бажаради. Сотишга алкалоид сульфат тузи ҳолатида чиқарилади.

Керакли асбоб ва реактивлар: 100 г Тамаки ёки махорка, 100 мл эфир, 15 г сўндирилган оҳак, 20-30 г оксалат кислота, ўювчи натрий, хлорид кислота, кремневолфрамат кислотасининг 2% ли эритмаси метилйодид метил спирт пикрин кислота сирка кислота n-бутил спирт Драгендорф реактиви.

Ишнинг бориши: Тамаки сўндирилган оҳак билан биргаликда чинни ховончада яхшилаб эзиб аралаштирилади. Аралашма қолбага жойлаштирилади ва унга сув буги юборилади. Сув буги ёрдамида ажратилган эритма кремневолфрамат кислотасининг 2% ли эритмаси билан чўкма бермагунча хайдалади. Хайдаб олинган эритма конго бўйича кислотали мухит хосил бўлгунча оксалат кислота билан аралаштирилади ва сув ҳаммомида сироп ҳолатигача буглатилади. Совитилган қолдиқдан никотин ва бошқа алкалоидларнинг оксалат тузи чўқади. Чўкма филтрланиб сиқилади ва унча қатта бўлмаган ажратгич воронкасига ўтказилади. Эркин ҳолатдаги асосларни ажратиб олиш учун чўкма ишқорнинг 30% ли эритмаси билан ишланади ва 3-4 маротаба эфир билан (хар бир порция 50-40мл) ажратилади. Эфир сувсиз K_2CO_3 билан қуритилади ва хайдалади.

Асосларнинг йиғиндиси парафин ҳаммомида вакуум билан ҳайдалади. Ҳайдаб олинган модда тортиб олинган балончага йиғилади ва унуми аниқланади. (эслатмага қаранг) олинган модда кавшарланган балончада сақланади.

Никотиннинг қайнаш даражаси 760мм симоб устунда $247,3^{\circ}$; 14 мм симоб устунда 120° ; 10мл симоб устунда 114° ; α_D^{20} -168° ; n_D^{20} 1,5280; d_4^{20} 1,0920.

Органик эритувчиларда ва сувда яхши эрийди. Янги ҳайдалган никотин рангсиз, хидсиз ёғ ҳолатидадир. Сақланганда секин-аста қора тусга ўтади. Қоғоздаги хроматография. Бўлғич варонкага Н-бутил спирти муз сирка кислотаси (25:1) солинади ва эритма сув билан тўйинтирилади. Сув пастки юпка қаватга ажралиши билан тўйинтириш тўхтатилади.

Олинган эритма хроматография идишга солинади. Хроматография қоғози учун ленто шаклида қиркилиб оддий қора қалам билан старт чизиғи ва аниқланадиган моддани кўйиш жойи белгиланади. Бир томчи асосларнинг йиғиндиси (эфир ҳайдалгандан сўнг олинган) ва бир томчи тоза никотин пробиркаларга солинади ва ўн барабар миқдордаги метил спиртида эритилади. Эритмалар капилляр найчалар ёрдамида анализ учун таёрланган қоғозга томизилади ва юқорига қараб юривчи хроматографияга куйилади. Хроматограмма финиш чизиғига етгач олиб ҳавода қуритилади ва Драгендорф реактиви пуркалади. Бу реактив олдиндан иккита эритмадан қуйдагича таёрланади.

1. 0,85 г висмут нитрат асосли тузи, 40мл дистилланган сув ва 10мл муз сирка кислота аралашмаси.

2. 8 г калий йодид ва 20мл дистилланган сув аралашмаси. Эритмалар қора шишадан ясалган идишларда алоҳида-алоҳида сақланади. Пуркаш учун ишлатиладиган реактив. 5мл биринчи эритма, 5мл иккинчи эритма, 20мл сирка кислота, 100мл сувдан иборат бўлади.

Хроматограмма реактив пурқалганда модда турган жойда тиник қовоқ – сариқ доғ ҳосил бўлади.

Никотиннинг $R_f=0.44$

Хроматограмма натижасига қараб алкалоидлар суммаси таркибига ва ажратиб олинган никотиннинг тозалигига баҳо берилади.

БАЖАРИЛГАН ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТИ ЮЗАСИДАН ҲИСОБОТ ТУЗИШ

Биоорганик кимё курсидан бажарилган барча тажрибалар ҳисобот кўринишида расмийлаштириши шарт. Ҳисобот, олиб борилган илмий-текшириш ишларини оптималлашни, ўтказилган тажрибалардан олинган натижалар юзасидан тўғри хулосалар қилиш, хатоларни аниқлаш ҳамда кейинчалик бу хатоларни йўқотишга ҳаракат қилиш, шунингдек, ҳар бир тажриба олиб бориш учун керак бўладиган реагентлар, идишлар ва кетадиган вақтни системалаш имкониятини яратади.

Намуна

_____ курс _____ гуруҳ талабаси _____ нинг Биоорганик кимё
курсидан _____ мавзудаги лаборатория машғулоти
юзасидан

ҲИСОБОТИ

1. Тажрибанинг рақами ва номи
1-Тажриба
Аминокислоталарнинг физик-кимёвий хоссалари
2. Тажриба ўтказиш усули.
а) Аминокислота – оқ кристаллсимон модда
б) Сувда жуда яхши эрийди, органик эритувчиларда ёмон ёки умуман эрмайди. Амносирка кислотаси (глицин, гликокол) нинг сувли эритмаси нейтрал муҳитга эга.
в) Аминокислоталарнинг барчаси амфотерлик хоссасини намоён қилганлиги сабабли, улар ҳам ишқорлар ҳам кислоталар билан реакцияга киришиш хоссасига эга.
3. *Аналитик эффекти*
4. Олинган натижалар жадвалга тулдирилади
5. Дарс бўйича хулоса
6. Талаба имзоси (иш тўлиқ бажарилди)
7. Талаба томонидан реактивлар, ишлатилган идиш ва асбоб-ускуналар, иш жойи топширилганлиги ҳақида лаборант имзоси
8. Ўқитувчи имзоси (иш химоясидан сўнг)

АДАБИЁТЛАР

1. В.В.Племенков. Введение в химию природных соединений. Казань.2001. 376 б.
2. В. Н. Леонтьев, О. С. Игнатовец. Химия биологически активных веществ. Электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология». Минск 2013
3. Н.А.Тюкавкина, Ю.И.Бауков. Биоорганическая химия. 3-е издание. Москва. 2004. 528 б.
4. Essential Cell Biology (Fourth Edition), Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter, 2014, 863 pages
5. Д.Н.Далимов, А.Х.Хаитбаев. Биоорганик кимёдан амалий машғулотлар. Тошкент. Университет. 2011
6. Алейникова Т.Л. и др. Руководство к практическим занятиям по биоорганической химии / Под ред. Е.С. Северина. М.: Медицина, 2000. С. 126
7. Пустовалова Л.М. Практические работы по биоорганической химии. Ростов н/Д: Феникс, 2004. С. 319.

Босишга рухсат этилди 8.01.2020. Ҳажми 6 босма табок.
Бичими 60×84 1/16. Адади 50 нусха. Буюртма 03.
М.Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети
босмахонасида чоп этилди.