

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АМОНОВА ДИЛНОЗА МУХТАРОВНА**

**ГАЛАКТОМАННАНЛАР АСОСИДА ЎСМАГА ҚАРШИ ФАОЛЛИККА  
ЭГА МАКРОМОЛЕКУЛЯР ТИЗИМЛАР СИНТЕЗИ ВА ТАДҚИҚИ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2020**

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

**Амонова Дилноза Мухтаровна**

Галактоманнанлар асосида ўсмага қарши фаолликка эга макромолекуляр  
тизимлар синтези ва тадқиқи..... 3

**Амонова Дилноза Мухтаровна**

Синтез и исследование макромолекулярных систем на основе галактоманнанов,  
обладающих противоопухолевой активностью..... 21

**Amonova Dilnoza Mukhtarovna**

Synthesis and study of macromolecular systems based on galactomannans with  
antitumor activity..... 39

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

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

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АМОНОВА ДИЛНОЗА МУХТАРОВНА**

**ГАЛАКТОМАННАНЛАР АСОСИДА ЎСМАГА ҚАРШИ ФАОЛЛИККА  
ЭГА МАКРОМОЛЕКУЛЯР ТИЗИМЛАР СИНТЕЗИ ВА ТАДҚИҚИ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2020**

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.3.PhD/K239 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (Ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси ([www.biochem.uz](http://www.biochem.uz)) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим тармоғида ([www.ziyounet.uz](http://www.ziyounet.uz)) жойлаштирилган.


Илмий раҳбар:	Тураев Аббасхан Сабирханович кимё фанлари доктори, академик
Расмий оппонентлар:	Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович кимё фанлари доктори, катта илмий ходим Рамазонов Нурмурод Шералиевич кимё фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	Ўзбекистон кимё-фармацевтика илмий тадқиқот институти


Диссертация химояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «05» 21 соат 12 даги мажлисида бўлиб ўтди (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўч., 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).


Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (234 рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўч., 83 Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Диссертация автореферати 2020 йил «25» 12 да тарқатилди.  
(2020 йил 25.12 даги 1 рақамли реестр баённомаси)



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

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

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

## **КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)**

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда хавфли ўсма касаллиги аҳоли орасида кенг тарқалиб бораётган касалликлардан ҳисобланади. Касалликни даволашнинг кўплаб янги усуллари ва воситалари ишлаб чиқиляётган бўлсада, цитотоксик препаратлар билан кимёвий даволаш ушбу касалликни даволашнинг асосий қисми бўлиб қолмоқда. Шунинг учун хавфли ўсма касалликларига қарши курашишда одам организмига ножўя таъсири кам бўлган, юқори самарали таъсирга эга дори воситаларини яратиш муҳим вазифалардан бири бўлиб қолмоқда. Ҳозирда биоорганик кимё, фармацевтик кимё, молекуляр биология, тиббиёт соҳаларининг ривожланиши ўсма касалликларига қарши қўлланилувчи, ножўя таъсири кам бўлган, ўсмага қарши йўналтирилган таъсирга эга ҳамда иммун тизимларини специфик фаоллаштирувчи янги авлод дори воситаларини яратиш имконини бермоқда.

Бугунги кунда, цитотоксик дори воситаларининг танлаб таъсир этиш хусусиятга эга эмаслиги организмнинг жиддий зарарланишига олиб келмоқда. Ўсмага қарши дори воситаларининг носпецифик фаолликлари натижасида юзага келувчи қайтариб бўлмас ножўя таъсирлари аксарият ҳолларда уларни клиникада қўллашни чекланишига сабаб бўлмоқда. Бу борада амалда қўлланилувчи цитотоксик препаратларни модификациялаш орқали ўсма хужайраларига йўналтирилган (таргет) ва узок муддатли таъсирга эга, кам захарли дори воситаларини яратиш истиқболли йўналишлардан ҳисобланади. Айрим полисахаридлар, хусусан галактоманнанлар ўсма хужайралари юзасидаги галектин оксиллари билан комплементар таъсирлашувчи лигандлар ҳисобланади. Галактоманнанларни маълум цитотоксик бирикмалар билан модификациялаш ўсмага қарши йўналтирилган цитотоксик фаоллик кўрсатувчи, кам захарли оригинал воситалар олиш имконини беради. Шу сабабли, полисахаридларнинг цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилаларини олиш, биологик фаолликларини тадқиқ қилиш ва улар асосида самарали дори воситалари яратиш йўналишларида изланишлар олиб борилмоқда.

Мамлакатимизда маҳаллий хом-ашёлар асосида янги, самарали, импорт ўрнини босувчи доривор препаратлар ишлаб чиқишга ва аҳолини сифатли дори-дармонлар билан таъминлашга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика sanoатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган<sup>1</sup>. Бу борада, маҳаллий ўсимлик ва ҳайвон хом-ашёлари биологик фаол моддаларини тадқиқ қилиш, уларнинг тузилиши ва фаоллигини ўрганиш ҳамда улар асосида янги, самарали дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

---

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

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил, 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-2640-сонли «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги Қарори ҳамда ушбу соҳа бўйича қабул қилинган бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация ишида олиб борилган тадқиқотлар муайян даражада хизмат қилади.

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

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Галактозилланган бирикмаларни тадқиқ этиш, уларнинг ўсмага қарши биологик фаолликларини ўрганиш борасида хорижлик олимлар томонидан айрим изланишлар олиб борилган. Жумладан, E.N.Olsufyeva ва унинг ҳамкасблари томонидан доксорубициннинг галактозилланган ҳосилаларининг лейкомия P-388 ўсмаси билан зарарланган сичқонларда доксорубицинга нисбатан кам захарлилиги ва галактоза қолдиғи тутган доксорубицин ҳосилалари таъсирида ҳаёт давомийлигининг ортиши аниқланган. H. Bai ва M.C. Miller томонидан олиб борилган изланишларда галактоманнанларнинг ўзига хос тузилиши ва ўсма хужайраларида юқори экспрессияланувчи лектинлар билан галактоза қолдиғи тутган моно- ва дисахаридларга нисбатан юқори селективлик асосида боғланиши кўрсатилган. E. Zomer томонидан гуар галактоманнани деполимерлаш орқали сувда яхши эрувчан намуналар олинган ва уларнинг молекуляр-структуравий катталиклари ҳамда физик-кимёвий хусусиятлари аниқланган. A.A. Klyosov, E. Zomer ва D. Platt томонидан кичик молекуляр массали галактоманнанинг 5-фторурацил билан механик аралашмасини ичак ўсмасига қарши фаолликлари ўрганилганда, 5-фторурацил/галактоманнан аралашмаси 5-фторурацилга нисбатан кам захарлилик намоён қилган. Шунингдек, муаллифлар томонидан олиб борилган тадқиқотларда кичик молекуляр массали галактоманнан 5-фторурацилнинг терапевтик эффектини ошириши аниқланган. A.N. Tevyashova томонидан олиб борилган тадқиқотларда гуар галактоманнани кислотали гидролизлаб олинган галактоманнан намунасининг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари олинган ва уларнинг ўсмага қарши *in vitro* шароитлардаги фаолликлари ўрганилган.

Мамлакатимизда биологик фаол полисахарид ҳосилалари синтези, уларнинг тузилишини ўрганиш, улар асосида турли касалликларга қарши самарали таъсирга эга бирикмаларни олиш ва уларнинг биологик фаолликларини тадқиқ қилиш бўйича илмий изланишлар Биоорганик кимё институти, Ўсимлик моддалари кимёси институти, Полимерлар кимёси ва

физикаси институти, Тошкент кимё технология институтларида, академик Ш.И. Салихов, академик, С.Ш. Рашидова, академик А.С. Тураев, профессор. А.А. Сарымсаков ва профессор Г.Р. Рахманбердиев раҳбарлигида олиб борилмоқда.

Галактоманнанлар асосидаги биологик фаол бирикмаларни тадқиқ қилишга оид сўнгги адабиётларда асосан галактозилланган кичик молекуляр бирикмаларни ўсма хужайраларида юқори экспрессияланувчи оксиллар билан ўзаро таъсирлашувини ўрганиш, уларнинг цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилаларини олиш ва ўсмага қарши биологик фаолликларини тадқиқ қилишга қаратилган. Галактоманнанларни модификациялаш орқали уларни ўсма хужайраларидаги галектинларга комплементар бўлган ҳосилалари ва улар асосида ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар яратиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмаган.

**Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг Ф6-Т097 «Нишон-органлар учун янги доривор воситалар олиш мақсадида модификацияланган полисахаридлар синтези ва уларнинг биологик функциялари» (2012-2016 й.й.) ва ТА-ФА-Ф6-003 «Ракка қарши йўналтирилган таъсирли препаратлар яратиш мақсадида бета-глюканлар, галактоманнанлар ва уларнинг модификацияланган аналогларининг хужайра лектинлари билан комплементар ўзаро таъсирлашувларини ўрганиш» (2017-2020 й.й.) мавзусидаги фундаментал лойиҳалари доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** галактоманнанларнинг модификацияланган ҳосилаларини олиш, улар асосида цитотоксик бирикмалар тутган, ўсма хужайраларига йўналтирилган таъсирга эга макромолекуляр тизимлар синтез қилиш ва биологик фаолликларини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

- галактоманнанларни деполимерлаш орқали галактоманнан олигосахаридларини олиш, уларни структуравий катталикларини аниқлаш;
- галактоманнанларни тозил ва диальдегид ҳосилалари орқали таркибида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимлар олиш;
- галактоманнанлар асосида олинган макромолекуляр тизимларнинг молекуляр структуралари ва молекуляр катталикларни аниқлаш;
- галактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятларини аниқлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида гуар галактоманнани, олигогалактоманнанлар, галактоманнан тозил ҳосилалари, галактоманнан диальдегид ҳосилалари, галактоманнанларнинг цитотоксик бирикмалар билан модификацияланган ҳосилалари, уларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятлари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** кичик молекуляр массали галактоманнанлар олиш, галактоманнанларнинг тозил, диальдегид ва цитотоксик бирикмалар

билан модификацияланган ҳосилалари синтези, реакция шароитлари, молекуляр структуралар ва биологик фаолликларни аниқлаш ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқот ишида биоорганик кимё усуллари (полисахаридларни деполимерлаш, кимёвий модификациялаш, тозалаш), бирикмаларнинг кимёвий структураларини аниқлаш (УБ-, ИҚ-, ЯМР-спектроскопия, гель хроматография, элемент анализ), ўсмага қарши фаолликни аниқлаш (*in vitro*, *in vivo*) ҳамда фармако-токсикологик тадқиқот усулларида фойдаланилган.

**Диссертация тадқиқотининг илмий янгилиги** куйидагилардан иборат: галактоманнанларни радикал деполимерлаш реакциясида мақбул реакция шароитлари ва асосий полиманнан занжирининг селектив парчаланиши аниқланган;

галактоманнан олигосахаридларининг тозил ҳосилалари ва улар орқали амин боғлари билан боғланган, таркибида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимлар олишнинг мақбул реакция шароитлари исботланган;

галактоманнан олигосахаридларининг диальдегид ҳосилалари ва улар орқали азометин боғлари билан боғланган, таркибида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимлар синтез қилинган ва уларнинг тузулиши физик-кимёвий усуллар ёрдамида исботланган;

галактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари, фармако-токсикологик хусусиятлари, структура-фаоллик ўзаро боғлиқликлари аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** куйидагилардан иборат:

таркибида галактоза ва манноза қолдиқлари нисбатини сақлаган холда олигогалактоманнанлар олиш имконини берувчи мис (II) ионлари иштирокида радикал деполимерлаш усули ишлаб чиқилган;

галактоманнан олигосахаридларини сувли муҳитда гомоген тозиллаш, тозилланган олигогалактоманнанлар асосида цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилалар олиш усуллари ишлаб чиқилган;

галактоманнан олигосахаридларини перйодат оксидлаш, олинган диальдегид галактоманнанлар орқали цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилалар олиш усуллари ишлаб чиқилган;

галактоманнанлар асосида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимлар олинган, уларнинг кам захарлилик ва юқори биологик фаоллик намоён қилиши ҳамда ўсмага қарши дори воситалари яратилишида потенциал объектлиги аниқланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** олинган макромолекуляр тизимларни тадқиқ қилишда замонавий физик-кимёвий ва биологик тадқиқот усулларида фойдаланилганлиги; тадқиқот натижаларининг республика ва халқаро миқёсдаги илмий конференцияларда муҳокама этилганлиги, тажрибалар натижаларини Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссияси томонидан тан олинган маҳаллий ва халқаро илмий журналларида чоп этилганлиги билан асосланди.



**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти галактоманнан олигосахаридларини олиш учун радикал деполимерлаш реакцияси таклиф қилинганлиги, тозил ҳосилалар олиш учун галактоманнан олигосахаридларининг сувли муҳитда тозиллаш усули ишлаб чиқилганлиги, тозил ҳосилалар орқали таркибида цитотоксик бирикмалар полисахарид занжири билан амин боғлари орқали боғланган макромолекуляр тизимлар олиш усули таклиф қилинганлиги, олигогалактоманнан диальдегид ҳосилалари олиш ва улар орқали таркибида цитотоксик бирикмалар полисахарид занжири билан азометин боғлари орқали боғланган макромолекуляр тизимлар олинганлиги, олинган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятлари аниқланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, таклиф қилинган усуллар галактоманнан олигосахаридлари ва улар асосидаги макромолекуляр тизимлар олиш имконини беради. Таклиф қилинган усуллар ҳамда аниқланган биологик фаолликлардан полисахаридлар асосида ўсмага қарши янги дори воситалари яратишда фойдаланиш мумкин. Тадқиқот натижалари галактоманнанлар асосидаги таркибида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимлар асосида ўсмага қарши самарали дори воситалар олишга хизмат килади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Галактоманнанлар асосида ўсмага қарши фаолликка эга макромолекуляр тизимлар синтези бўйича олинган илмий натижалар асосида:

галактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг олиниш усуллари ва олинган намуналардан Хитой Фанлар академияси, Шинжон физика ва кимё-техника институти «International Science and Technology Center Projects» лойиҳасида турли ўсмаларга қарши фаолликларни аниқлашда фойдаланилган (Хитой Фанлар академияси, Шинжон физика ва кимё-техника институти маълумотномаси). Натижада, полисахаридлар ҳосилаларининг ўсмага қарши фаоллик механизмларини аниқлаш имконини берган;

синтез қилиб олинган галактоманнанлар асосидаги ўсмага қарши макромолекуляр тизимлардан A11-T019 рақамли «Изофлавононлар билан бойитилган соя оксилени олиш технологиясини яратиш» лойиҳасида «Биокор» препаратининг *in vivo* ва *in vitro* шароитда биологик фаоллигини аниқлашда назорат препарати сифатида фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 2 декабрдаги 4/1255-2709-сон маълумотномаси). Натижада, «Биокор» препаратининг биологик фаоллигини бошқа препаратлар билан таққослаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 3 та халқаро ва 9 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 15 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий

илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 3 та мақола, жумладан, 2 таси Республика ва 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 119 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

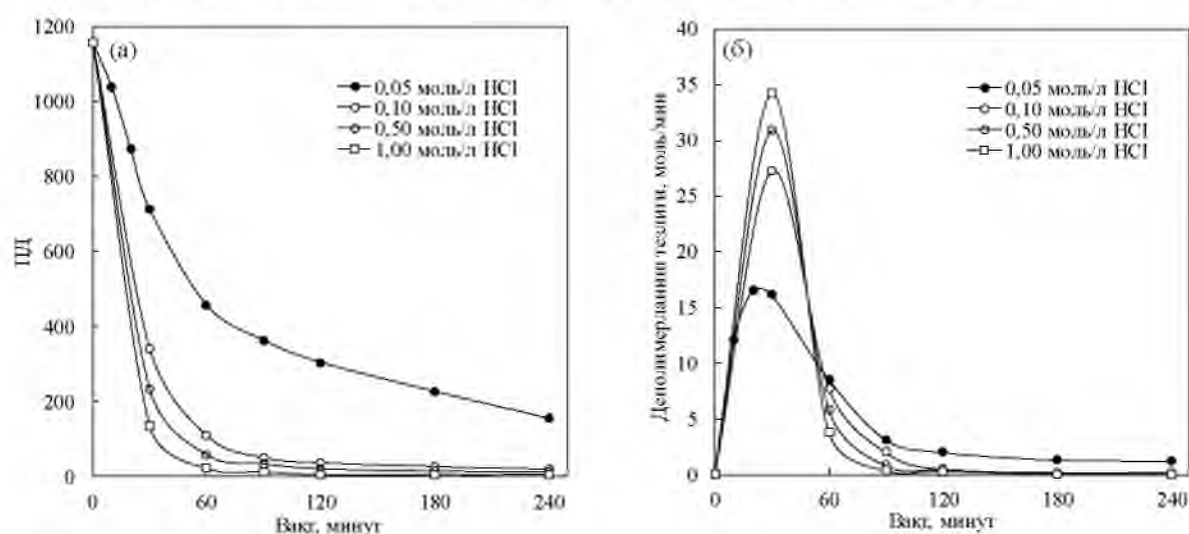
**Кириш** қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикасида фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий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

Диссертациянинг **«Галактоманнанларнинг тузилиши, хоссалари, ва улар асосида ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олиш бўйича замонавий тадқиқотлар»** деб номланган биринчи бобида диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар ва муаммонинг ўрганилганлик даражаси батафсил таҳлил қилинган, галактоманнанлар, уларнинг табиий манбалари ва тузилиши, физик-кимёвий хоссалари, галактоманнан ҳосилалари ва уларнинг синтез усуллари, ўсма касаллиги ва унга қарши қўлланилувчи цитотоксик препаратлар, галактоманнанларнинг хужайра лектинлари билан ўзаро таъсирлашуви ва улар асосидаги макромолекуляр тизимлар бўйича сўнгги йиллардаги тадқиқот натижалари келтирилган.

Диссертациянинг **«Галактоманнанлар асосида макромолекуляр тизимлар синтези, уларни физик-кимёвий ва биологик тадқиқ қилиш усуллари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш босқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва усуллар, хусусан, галактоманнан олигосахаридларини олиниши, галактоманнанларнинг тозил ва диальдегид ҳосилалари орқали ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар синтези, галактоманнан ҳосилаларининг молекуляр катталиклари ва структураларини таҳлил қилиш, биологик фаолликларини аниқлаш усуллари келтирилган.

Диссертациянинг **«Галактоманнанлар асосида макромолекуляр тизимлар синтези ва уларнинг физик-кимёвий хоссалари»** деб номланган учинчи бобида галактоманнан олигосахаридларини олиниши ва структураларини тадқиқ қилиш, галактоманнанларнинг тозил ҳосилалари синтези ва уларни структураларини аниқлаш, тозил ҳосилалар орқали ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар синтези ва уларни структураларини ўрганиш, галактоманнан диальдегид ҳосилалари ва улар орқали олинган ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар синтези, уларни структураларини аниқлаш натижалари келтирилган.

Галактоманнанларни кислотали деполимерлаш оркали турли молекуляр катталиктаги ( $M_w=505,1-2,6$  кДа, ПД=1039-5, ПДИ=2,78-1,45,  $Man/Gal=1,89-3,19$ ) намуналар олинди. Натижалар реакцияда деполимерланиш давомийлиги ортиши билан олинган махсулотларнинг ПД қийматлари ва унуми камайиши,  $Man/Gal$  нисбатлари ортиб бориши, деполимерланиш тезлиги дастлабки вақтларда юкори бўлишини кўрсатди. Кислота концентрацияси ортиши билан деполимерланиш махсулотларининг ПД қийматлари ва унуми кескин камайиши, деполимерланиш тезлиги ва  $Man/Gal$  нисбатлари ортиб бориши аниқланди (1-расм). Галактоманнан олигосахаридлари (ПД=58-5,  $M_w=28,1-2,6$  кДа,  $Man/Gal=2,07-3,19$ ) асосан хлорид кислотанинг 0,1-1,0 моль/л концентрацияли эритмалари билан олинди ва кислотали деполимерлашнинг мақбул шароитлари (HCl 0,1 моль/л, 240 минут, 80°C) аниқланди.

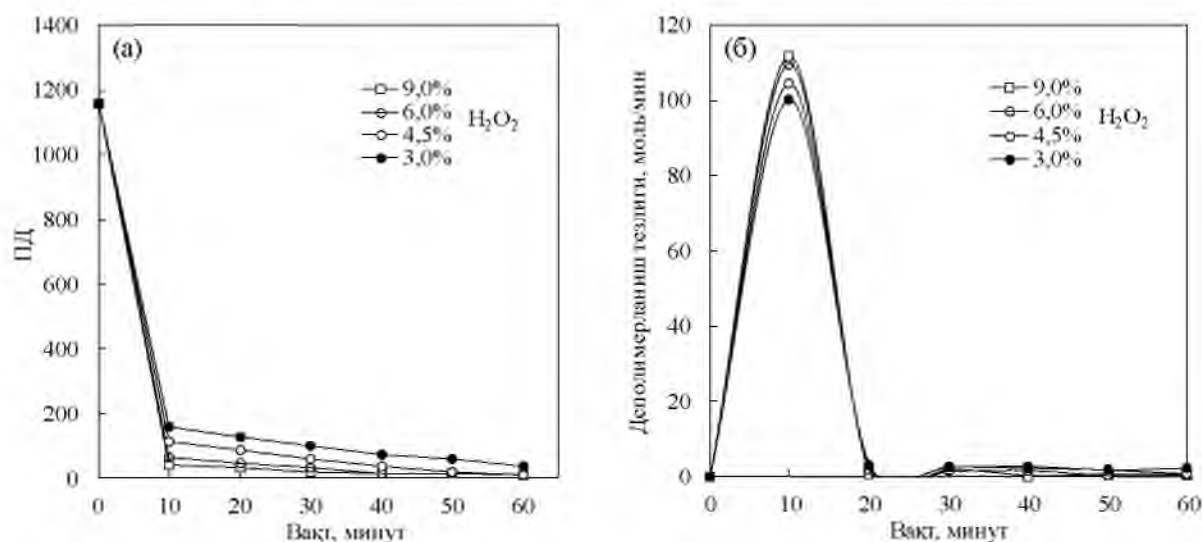


1-расм. Гуар галактоманнани хлорид кислота иштирокида деполимерланиш реакцияси давомида ПД қиймати (а) ва деполимерланиш тезлигининг (б) ўзгариши (HCl 0,05-1,0 моль/л, 80°C)

Ушбу усулда молекуляр катталиклари турлича бўлган галактоманнан олигосахаридлари олинган бўлсада,  $Man/Gal$  нисбатлари 1,9-2,0 дан юкори бўлган намуналарнинг сувда шаффоф бўлмаган эритмалар ҳосил қилиши кузатилди. Бу ҳолат галактоманнанларда манноза колдиклари миқдори ортиши билан уларнинг сувли эритмаларда микроагрегатланиши ҳисобига эрувчанлигининг камайиши билан тушунтирилади. Бу эса  $Man/Gal$  нисбатлари 1,9-2,0 дан юкори бўлган галактоманнан олигосахаридларидан олинадиган ўсмага қарши макромолекуляр тизимларни вена оркали қўллаш имкониятини камайтиради ва уларни ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олиш учун номақбул эканлигидан далолат беради. Шунинг учун сувда тўлик эрувчан галактоманнан олигосахаридларини олиш учун деполимерланиш реакцияларида имкони борича полисахарид ён занжирининг дегалактозилланиши содир бўлмаслиги талаб этилади.

Галактоманнанларни Cu (II) ионлари иштирокида водород пероксид билан радикал деполимерлаш оркали ПД қийматлари 159-6 бўлган ( $M_w=77,1-2,7$  кДа, ПДИ=2,11-1,05,  $Man/Gal=1,89-1,70$ ) кичик молекуляр массали

галактоманнан ва олигогалактоманнан намуналари олинди. Деполимерланиш давомийлиги ортиши билан дастлабки вақтларда олинган маҳсулотларнинг ПД қийматлари кескин камайиши, деполимерланиш тезлигининг юкори бўлиши аникланди (2-расм). Галактоманнан занжирининг деполимерланишида водород пероксид концентрацияси муҳим ўрин тутиши, бунда қўлланилаётган водород пероксид концентрацияси ортиши билан маҳсулотнинг ПД ва ПДИ қийматлари ҳамда унумининг камайиб бориши аникланди. Ушбу реакцияда кислотали гидролиздан фаркли равишда галактоманнан таркибида галактоза қолдиқлари миқдорининг сақланиши, деполимерланиш жараёнида асосий полиманнан занжири  $\beta$ -(1,4)-гликозид боғларининг селектив парчаланиши кузатилди. Галактоманнанлар асосида ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олиш учун мақбул молекуляр катталиклардаги галактоманнан олигосахаридлари водород пероксиднинг 4,5% ли эритмаси билан 50-60 минут давомида 60°C да олиб борилган реакцияларда юкори унум (50,3-52,6%) билан олиниши аникланди. Реакция давомида галактоманнаннинг ПДИ қиймати деярли монодисперс ҳолатгача камайиши кузатилди. Олинган кичик молекуляр массали галактоманнан намуналари ва галактоманнан олигосахаридларининг барчаси сувда яхши эриган ҳолда, шаффоф эритмалар ҳосил қилди. Галактоманнанларни радикал деполимерлаш реакциясида галактоза қолдиқларини сақлаган ҳолда галактоманнан олигосахаридлари олиш имконини беради ва ушбу биополимерлар асосида ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олишда қўллаш учун мос келади.

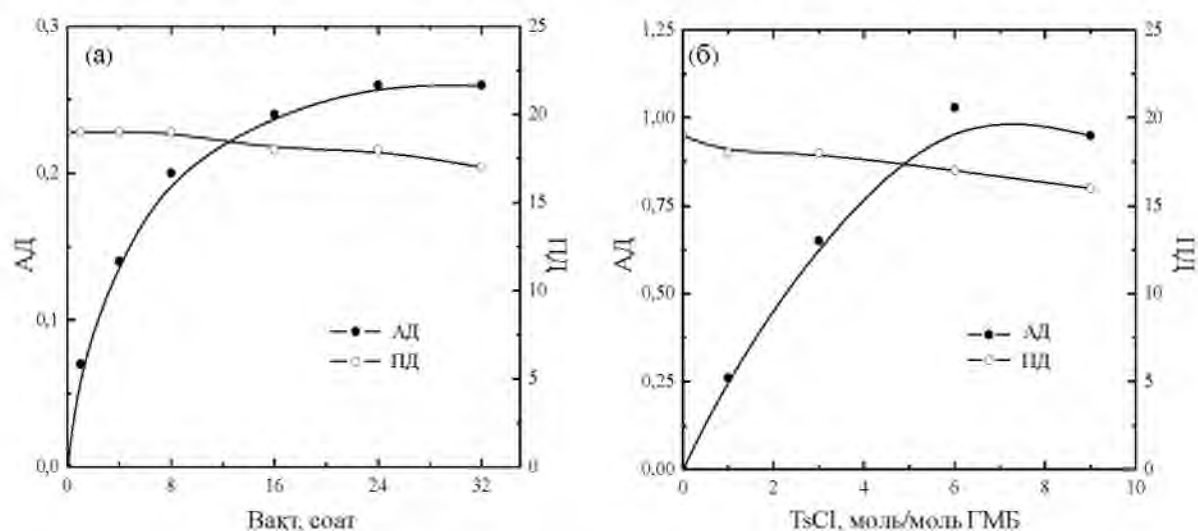


2-расм. Гуар галактоманнани водород пероксид билан Cu (II) ионлари иштирокида радикал деполимерлаш реакцияси давомида ПД қиймати (а) ва деполимерланиш тезлигининг (б) ўзгариши (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,0-9,0%, 60°C, Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 0,32 мг/мл)

Гуар галактоманнани кислотали ва радикал деполимерланиш маҳсулотларининг структуралари ИҚ- ва <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопия усуллари ёрдамида тадқиқ қилинди. ManC4 углерод атомларига хос сигналларни таҳлил қилиш натижалари радикал деполимерланиш реакцияси ёрдамида олинган

намуналарда галактозилланган манноза колдиклари микдори кислотали деполимерлаш оркали олинган намуналардагига нисбатан кўпроқ бўлишини кўрсатди. Ушбу натижалар радикал деполимерланиш реакциясида полисахарид занжиридаги  $\beta$ -(ManC1-O-ManC4)-глюкозид боғлари селектив парчаланишидан далолат беради.

Олинган галактоманнан олигосахаридларини тозиллаш оркали турли молекуляр катталиқдаги (ПД=13-19,  $M_w$ =6,5-11.0, АД=0,07-1,03, унум 12,1-78,5%) олигогалактоманнан тозил ҳосилалари олинди. Натижалар галактоманнан олигосахаридларини тозиллашда реакция муҳити сифатида сувдан фойдаланиш мумкинлигини кўрсатди. Реакция давомийлиги ва тозил хлорид (TsCl, *para*-толуолсульфонилхлорид) ортиши билан олинган маҳсулотларнинг АД қийматларининг ортиши, полисахарид занжирининг минимал даражада деполимерланиши, олинган тозил ҳосилаларнинг унуми ортиб бориши кузатилади (3-расм). Натижалар реакциянинг боришида ҳарорат муҳим ўрин тутишини кўрсатди. Ҳарорат ортиши билан олинган маҳсулотларнинг молекуляр катталиқларида сезиларли камайиш кузатилди. Тадқиқотларда олинган олигогалактоманнан тозил ҳосилалари (АД=0,14-1,03) сув, этанол, ДМСО ҳамда ацетонда шаффоф эритмалар ҳосил қилган ҳолда тўлиқ ва осон эриши аниқланди. Тозилланган галактоманнан олигосахаридларининг сув ва кенг камровли органик эритувчиларда эриши улардан оралиқ маҳсулотлар сифатида кейинги модификациялаш реакцияларда фойдаланишда қулайликлар яратади.



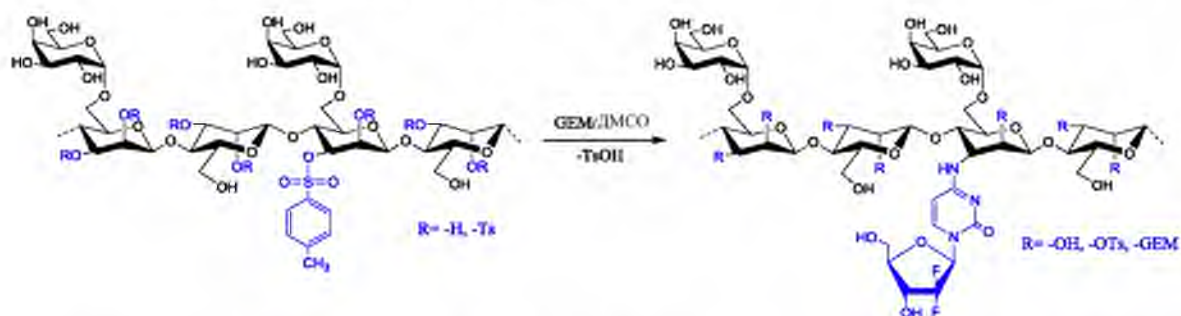
**3-расм.** Галактоманнани тозиланиш реакцияси давомида вақт (а) ва тозил хлорид микдорининг ортиши (б) билан маҳсулотнинг АД ва ПД қийматидаги ўзгаришлар ((а)TsCl 1,0 моль/моль ГМБ, 5°C; (б) вақт 24 соат, ҳарорат 5°C)

Тадқиқотлар галактоманнан олигосахаридларини сувли муҳитда тозил хлорид иштирокида тозиллаш реакцияси оркали тозилланган олигогалактоманнан ҳосилаларини олиш мумкинлигини кўрсатди. Тозилловчи реагент ва реакция давомийлигини ўзгартириш билан турли молекуляр катталиқлардаги тозил ҳосилалар олиш, уларнинг молекуляр

катталикларини бошқариш мумкинлиги ва бунда реакцияни паст (0-8°C) ҳароратда 24 соат давомида олиб бориш мақсадга мувофиқ бўлиши аниқланди.

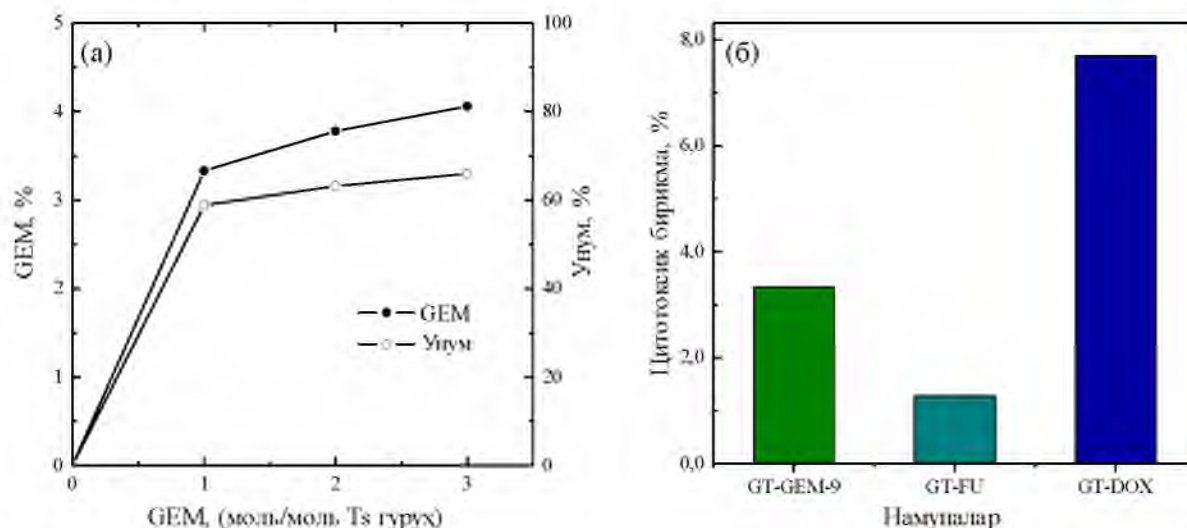
Галактоманнан тозил ҳосилаларининг структуралари ИҚ- ва <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганилди. Спектроскопик таҳлил натижалари галактоманнан тозил ҳосилаларида тозил гуруҳлари полисахарид занжирига ManC2 ва ManC3 углерод атомлари орқали боғланганлигини кўрсатди.

Галактоманнан тозил ҳосилалари орқали ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олиш (4-расм) бўйича олиб борилган тадқиқотларда таркибида 0,35-4,06% GEM, 1,28% FU ва 7,70% DOX тутган намуналар мос равишда 8,63-65,94%, 43,88% ва 62,35% унум билан олинди.



4-расм. Галактоманнан тозил ҳосилаларининг аминогуруҳ тутган цитотоксик бирикмалар билан алмашиниш реакцияси (GEM мисолида)

Тадқиқот натижалари ўрганилган шароитларда полисахарид занжирини деполимерланиш содир бўлмаслигини кўрсатди. Реакция давомийлиги ва ҳарорат ортиши билан олинган маҳсулот таркибида GEM миқдори ва маҳсулот унуми ортиб борди.

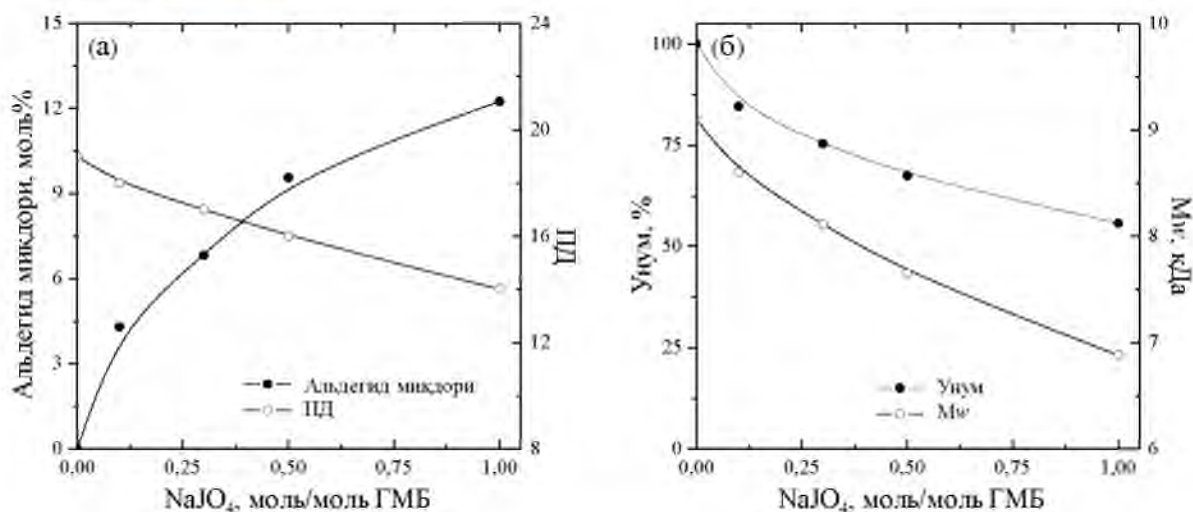


5-расм. Галактоманнан тозил ҳосилаларининг цитотоксик бирикмалар билан алмашиниш реакциясида GEM миқдори ортиши билан маҳсулот таркибидаги GEM миқдори ва унумидаги ўзгаришлар (а) ҳамда бир хил шароитда олинган намуналарда цитотоксик бирикмаларнинг миқдорлари (б) ((а) вақт 24 соат, ҳарорат 40°C; (б) GEM/FU/DOX 1,0 моль/моль Ts гуруҳ, 24 соат, ҳарорат 40°C)

Реакция GEM микдори оширилиши билан олинган махсулот таркибидаги GEM микдори ва махсулот унуми ортиши кузатилди. Бирок, натижалар тадқиқ қилинган реакцияда АД қиймати юқори бўлган намуналар олишда GEM микдори асосий омил эмаслигини кўрсатди (5-расм). Тадқиқотларда шунингдек, галактоманнаннинг FU ва DOX тутган ҳосилалари олинди ва натижалар тадқиқ қилинган цитотоксик бирикмаларнинг реакция фаоллиги  $FU < GEM < DOX$  тартибида ортиб боришини кўрсатади (5-расм). Тадқиқотларда ушбу реакцияларни тозил гуруҳга нисбатан 1,0 моль/моль микдорда олинган цитотоксик бирикма билан 24 соат давомида 40°C да олиб бориш мақсадга мувофиқ бўлишини, олинган галактоманнаннинг цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилалари сувда шаффоф эритмалар ҳосил қилган ҳолда тўлиқ эриши аниқланди. Бу эса уларни *in vivo* шароитларда кенг қамровли қўллаш имконини беради.

Галактоманнан тозил ҳосилаларидан олинган, таркибида цитотоксик бирикмалар тутган макромолекуляр тизимларнинг структуралари УБ-, ИҚ- ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганилди. Натижалар олинган макромолекуляр тизимлар таркибида цитотоксик бирикмалар (FU/GEM/DOX) тутишини ва бунда цитотоксик бирикмалар асосан ManC2 ва ManC3 углерод атомлари билан амин боғлари орқали боғланганлигини кўрсатади.

Олиб борилган тадқиқотларда таркибида 1,02-12,27 моль% альдегид гуруҳи тутган диальдегид ҳосилалар 98,32-55,73% унум билан олинди.  $\text{NaIO}_4$  микдори ортиши билан олинган махсулот таркибида альдегид гуруҳлари микдори ортиши, ПД ва  $M_w$  қийматлари ҳамда унумнинг камайиши аниқланди (6-расм).



6-расм. Галактоманнан олигосахаридини перйодат оксидлаш реакциясида оксидловчининг турли микдорлари таъсирида альдегид гуруҳлари микдори ва ПД қиймати (а) ҳамда махсулот унуми ва  $M_w$  қийматидаги (б) ўзгаришлар (реакция вақти 24 соат, ҳарорат 40°C)

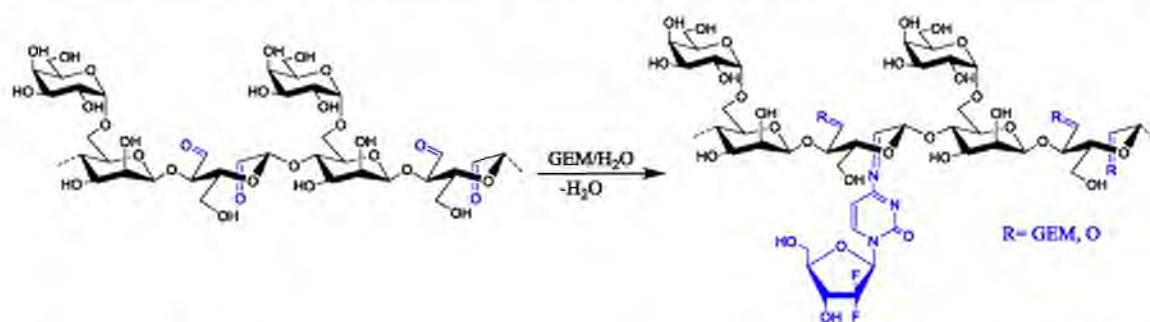
Реакцияларда галактоманнан занжирининг деполимерланиши кузатилган бўлсада, ПД қийматининг кескин камайиши аниқланмади. Натижалар реакция давомийлиги ортиши билан, дастлабки 8 соат давомида полисахарид

занжирининг жадал оксидланиши кейинги вақтларда эса нисбатан кам ўзгаришини кўрсатди. Шунингдек, реакция давомийлиги ортиши билан маҳсулотлар ПД ва Мв қийматлари ҳамда унумининг камайиши аниқланди. Натижалар олинган диальдегид ҳосилалар таркибида альдегид гуруҳи миқдори ортиши билан уларнинг сувда эрувчанлиги камайиб боришини кўрсатди ва бунда полисахарид занжирида альдегид гуруҳлари миқдори 9,98 моль% дан юқори бўлган намуналарнинг сувда қийин эриши маълум бўлди.

Олинган натижалар галактоманнан олигосахаридларини  $\text{NaIO}_4$  нинг 0,3 моль/моль ГМБ миқдори билан 24 соат давомида перйодат оксидлаш мақсадга мувофик бўлишини кўрсатди. Бу эса галактоманнанларда перйодат оксидланиш асосан ManC2 ва ManC3 углерод атомларида содир бўлишидан далолат беради.

Галактоманнан диальдегид ҳосилаларининг структуралари ИҚ- ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия усуллари ёрдамида тадқиқ қилинди. Спектрлардаги ютилишлар оксидланиш реакцияси натижасида галактоманнан занжирида альдегид гуруҳлари ҳосил бўлганлигини тасдиқлади.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопик таҳлил натижалари галактоманнанларда перйодат оксидланиш асосан ManC2 ва ManC3 углерод атомларида содир бўлишини кўрсатди.

Галактоманнан диальдегид ҳосилалари оркали ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар олиш (7-расм) бўйича олиб борилган тадқиқотларда таркибида 0,03-2,07% GEM ҳамда 3,31 ва 4,02% DOX тутган намуналар мос равишда 98,32-75,73%, 85,27% ва 83,84% унум билан олинди. Натижалар реакция давомийлиги ортиши билан олинган маҳсулот таркибида GEM миқдори ва конъюгацияланиш самарадорлиги ортиб боришини кўрсатди. Шунингдек, реакция давомийлиги ортиши билан олинган маҳсулотларнинг унуми камайиши, ПД қийматлари кам ўзгариши аниқланди.



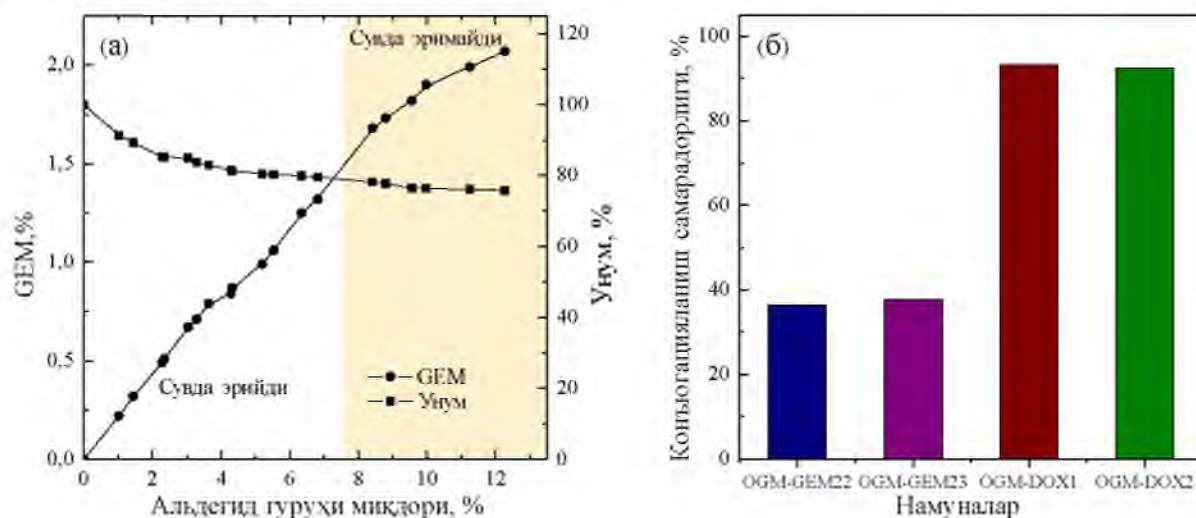
7-расм. Галактоманнан диальдегид ҳосилаларининг аминогуруҳ тутган цитотоксик бирикмалар билан реакцияси (GEM мисолида)

Галактоманнан диальдегид ҳосилаларида альдегид гуруҳи миқдори ортиши билан олинган маҳсулотлар таркибида GEM миқдори ортиб борган бўлсада, шу тартибда уларнинг сувда эрувчанлиги камайиб бориши кузатилди (8-расм). Натижалар ушбу реакцияларни цитотоксик бирикманинг 1,0 моль/моль ГМБ миқдори билан 24 соат давомида  $20^\circ\text{C}$  да олиб бориш мақсадга мувофик бўлишини ва галактоманнан диальдегид ҳосилалари оркали ўсмага



қарши макромолекуляр тизимлар олишда DOX нинг реакцион қобилияти GEM га нисбатан ўртача 2,5 марта юкори бўлишини кўрсатди (8-расм).

Олигогалактоманнан диальдегид ҳосилалари орқали олинган, таркибида GEM ва DOX тутган макромолекуляр тизимларнинг структуралари УБ-, ИҚ- ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганилди. Диальдегид ҳосилалар орқали олинган макромолекуляр тизимларнинг структураларини ўрганиш бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари олинган намуналарнинг структура жиҳатдан галактоманнанни GEM ва DOX тутган ҳосилаларига мос келишини кўрсатди. Шунингдек,  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия натижалари цитотоксик бирикмалар полисахарид занжири бўйлаб Man/Gal (асосан Man) C2/C3 углерод атомлари билан азометин боғлари орқали боғланганлигини кўрсатди.

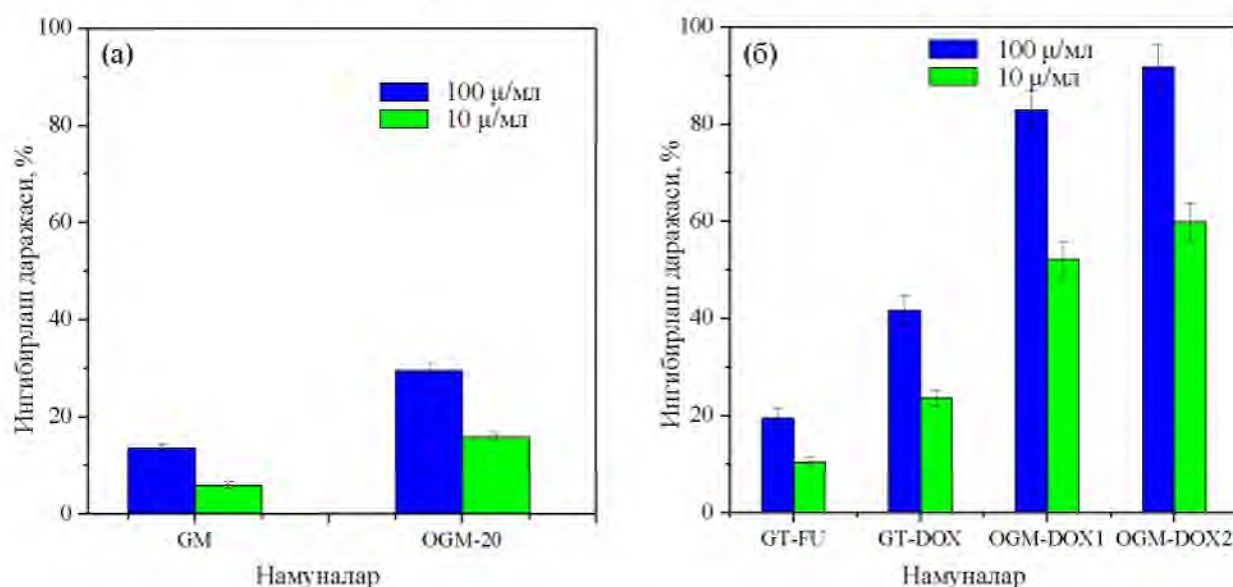


**8-расм.** Галактоманнан диальдегид ҳосилаларининг цитотоксик бирикмалар билан алмашиниш реакциясида альдегид гуруҳи миқдори ортиши билан маҳсулот таркибидаги GEM миқдори ва унумидаги ўзгаришлар (а) ҳамда бир хил шароитларда GEM ва DOX нинг конъюгациялаш самарадорликлари (б) (GEM/DOX 1,0 моль/моль ГМБ, вақт 24 соат, ҳарорат 25°C)

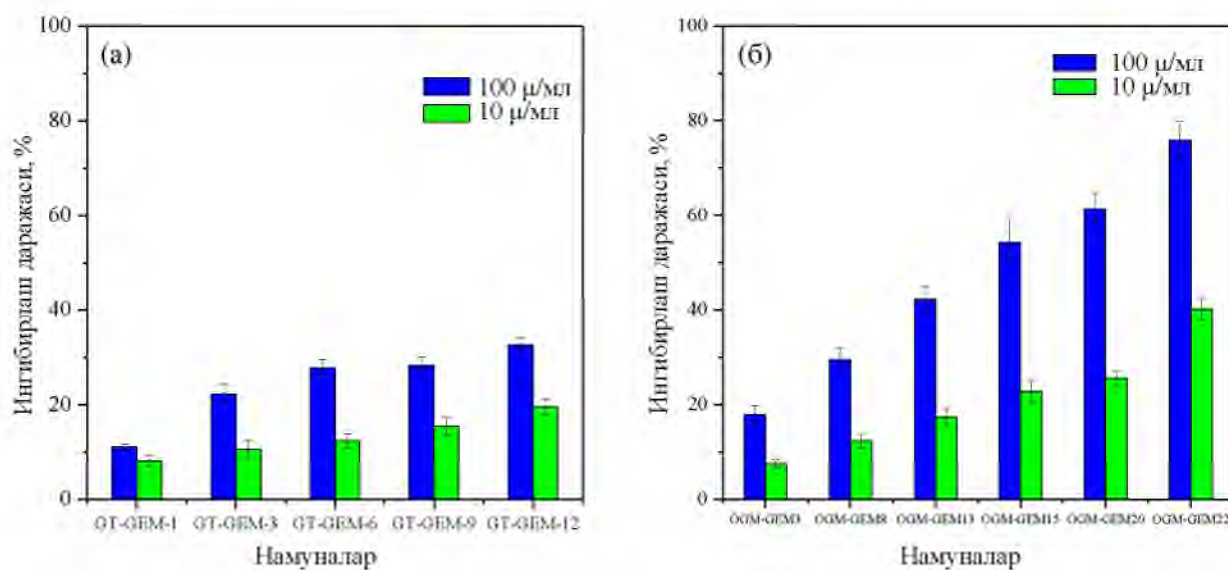
Диссертациянинг «Галактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари» деб номланган тўртинчи бобида галактоманнан асосида олинган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари, *in vivo* фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятларига оид тадқиқот натижалари келтирилган.

Галактоманнан асосидаги макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликларини аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқотларда галактоманнан (GM, Mw=563,8 кДа, ПД=1160) ва олигогалактоманнан (OGM-20, Mw=9,1 кДа, ПД=19) намуналари 100 мг/мл концентрацияда ўсма (Hela) хужайраларини мос равишда 13,60 ва 29,50% гача ингибирлаши аниқланди. Ушбу ҳолат олигогалактоманнанларнинг ўсма хужайраларидаги галектинлар билан специфик таъсирлашуви ПД киймати юкори бўлган галактоманнанларга нисбатан юкори эканлигини кўрсатади. Тадқиқотларда шунингдек, диальдегид ҳосилалар орқали олинган макромолекуляр тизимлар (OGM-

GEM3-22/GEM=0,12-1,32%, OGM-DOX1-2/DOX=3,31-4,02) таркибида нисбатан кам миқдорда цитотоксик бирикмалар (GT-GEM-1-12/GEM=0,35-4,06, GT-FU/FU=1,28%, GT-DOX/DOX=7,70%) тутишига қарамасдан тозил хосилалар орқали олинган намуналарга (11,18-41,67%) нисбатан ўсма хужайраларига қарши юқори фаоллик (17,88-91,78) намоён қилиши аниқланди (9,10-расм). Ушбу намуналарнинг ўсмага қарши фаолликларидаги фарқлар уларда полисахарид занжири билан цитотоксик бирикма қолдиғи орасидаги кимёвий боғлинишнинг турличалиги (амин ёки азометин) билан боғлиқ.



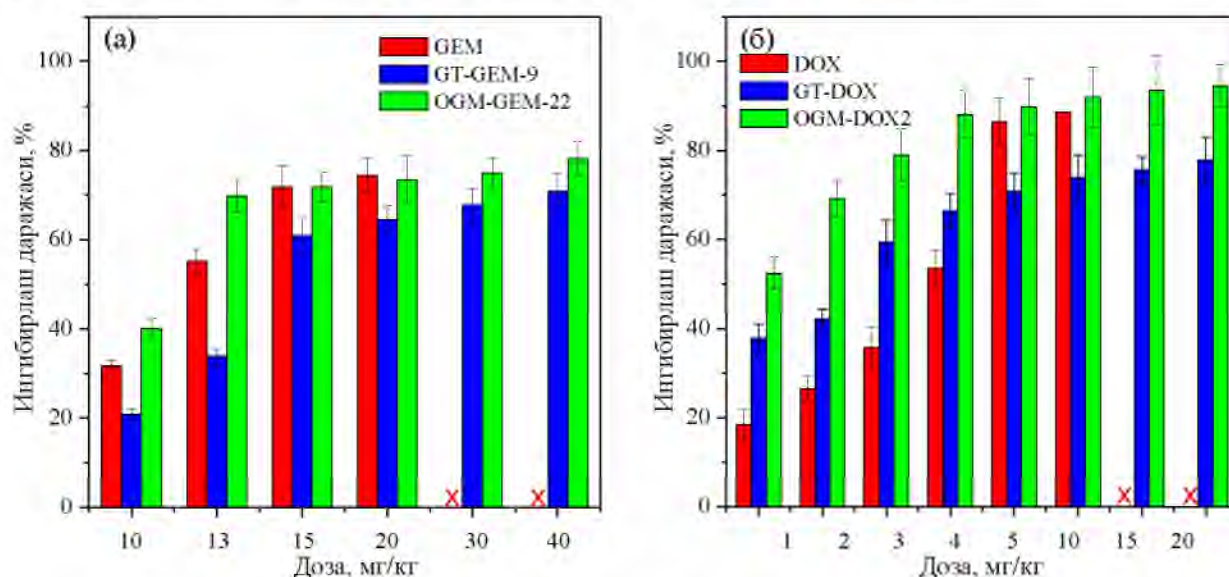
9-расм. Галактоманнанлар (а) ҳамда таркибида DOX ва FU тутган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари. Расмда (а) гуар галактоманнан (GM) ва олигогалактоманнан (OGM-20) ҳамда (б) GT-FU, GT-DOX, OGM-DOX1 ва OGM-DOX2 намуналарининг ўсмага қарши фаолликлари келтирилган



10-расм. Галактоманнаннинг тозил (а) ва диальдегид (б) хосилалари орқали олинган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари. Расмда

(а) тозилланган галактоманнандан олинган GT-GEM-1-12 ҳамда (б) диальдегид галактоманнандан олинган OGM-GEM3-22 намуналарининг фаолликлари келтирилган

Галактоманнанлар асосида олинган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vivo* фаолликларини ўрганиш натижалари тадқиқ қилинган намуналар қўлланилганда ҳайвонларнинг ўлими 86,4-90,0% гача камайишини ва галактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг организмга заҳарли таъсири камлигини кўрсатди. Ҳайвонлар массасининг умумий камайиш даражаси цитотоксик бирикмалар таъсирида нисбатан юқори бўлиши кузатилди. Тозилланган галактоманнанлардан олинган GT-GEM-9 ва GT-DOX намуналарининг ўсмага қарши *in vitro* шароитларда кам даражада (мос равишда 28,28 ва 41,67%, 100 мг/мл, Hela) фаоллик кўрсатган ҳолда, *in vivo* шароитларда юқори (мос равишда ҳажм бўйича 70,83 ва 77,30%, 40 мг/кг, 20 мг/кг) даражада фаоллик намоён қилиши аниқланди ва бу олигосахарид занжирининг бевосита ёки фрагментларга парчаланган ҳолда ўсма хужайраларига кириши мумкинлигини кўрсатади (11-расм).



**11-расм. Галактоманнан асосида олинган, таркибида GEM (а) ва DOX (б) тутган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vivo* фаолликлари.** Расмда (а) GEM, тозилланган галактоманнандан олинган GT-GEM-9, диальдегид галактоманнандан олинган OGM-GEM-22 ҳамда (б) DOX, тозилланган галактоманнандан олинган GT-DOX, ва диальдегид галактоманнандан олинган OGM-DOX2 намуналарининг ўсмага қарши фаолликлари келтирилган

Тозилланган галактоманнанлардан олинган намуналар (GT-GEM-9, GT-DOX) *in vivo* шароитларда юқори фаоллик (ҳажм бўйича 20,83-77,30%) кўрсатган бўлсада, диальдегид ҳосилалардан олинган намуналар (OGM-GEM-22, OGM-DOX2) уларга нисбатан юқорирок фаоллик (ҳажм бўйича 40,10-94,59%) намоён қилди. Бу эса галактоманнан диальдегид ҳосилалари орқали олинган ўсмага қарши макромолекуляр тизимлар тозилланган галактоманнанлардан олинганларига нисбатан истиқболлироқ эканлигини кўрсатади.

Фармако-токсикологик тадқиқот натижалари GT-GEM-9, OGM-GEM-22, GT-DOX ва OGM-DOX-2 намуналари ҳайвонлар қорин бўшлиғига киритилганда, нисбатан зарарсиз бирикмаларнинг VI синфига, доксорубицин (DOX) препарати эса ўртача токсик бирикмаларнинг III синфига киришини кўрсатди.

## ХУЛОСАЛАР

1. Галактоманнанларни кислотали, радикал деполимерлаш реакциялари тадқиқ қилинди. Илк бор, радикал деполимерлашда кислотали гидролиздан фарқли равишда полиманнан занжири  $\beta$ -(1,4)-гликозид боғларининг селектив парчаланиши аниқланди, ушбу усул галактоза қолдиқлари миқдори юқори даражада сақланган, ўсма хужайраси қобиғидаги галектинлар билан комплементар таъсирлашувчи олигогалактоманнанлар олиш учун тавсия этилди.

2. Олигогалактоманнанларнинг реакция фаол тозил ҳосилаларини олиш усуллари ишлаб чиқилди ва бунда тозил гуруҳлари ManC2/C3 углерод атомлари орқали боғланиши аниқланди. Галактоманнан тозил ҳосилалари орқали таркибида 0,35-4,06% GEM, 1,28% FU ва 7,70% DOX тутган намуналар олинди ва уларнинг реакция фаоллиги  $FU < GEM < DOX$  тартибида ортиб бориши билан изоҳланади.

3. Олигогалактоманнанлар асосида Man C2/C3 углерод атомларида 1,02-12,27 моль% альдегид гуруҳи тутган диальдегид ҳосилалар ва уларнинг асосида таркибида 0,03-2,07% GEM ҳамда 3,31 ва 4,02% DOX тутган бирикмалар олинди. Ушбу реакцияларда DOX нинг реакция қобилияти GEM га нисбатан 2,5 марта юқори бўлиши аниқланди.

4. Илк бор, олигогалактоманнанлар асосидаги макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши *in vitro* ва *in vivo* фаоллиги аниқланди. Тадқиқотларда азометин боғ билан боғланган макромолекуляр тизимлар таркибида нисбатан кам миқдорда цитотоксик бирикмалар тутишига қарамадан юқори фаоллик (*in vitro* 17,88-91,78%, *in vivo* ҳажм бўйича 40,10-94,59%) намоён қилиши билан изоҳланади.

5. Ўсмага қарши *in vivo* фаолликларда ҳайвонларнинг ўлими DOX ва GEM га нисбатан 86,4-90,0% камайиши, макромолекуляр тизимларнинг LD<sub>50</sub> қийматлари 4500-3550 мг/кг қийматларни ташкил қилиши аниқланди. Тадқиқотлар натижасида цитостатик фаолликка эга бўлган ва таркибида DOX тутган намуналар (GT-DOX, OGM-DOX2) цитостатик бирикмалар сифатида ишлатиш учун тавсия этилди.

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

---

**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**АМОНОВА ДИЛНОЗА МУХТАРОВНА**

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ  
НА ОСНОВЕ ГАЛАКТОМАННАНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ  
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

**02.00.10 - Биоорганическая химия**

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

**Ташкент - 2020**

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2019.3.PhD/K239.

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

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

Научный руководитель:	<b>Тураев Аббасхан Сабириханович</b> доктор химических наук, академик
Официальные оппоненты:	<b>Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович</b> доктор химических наук, старший научный сотрудник <b>Рамазонов Нурмурод Шералиевич</b> доктор химических наук, профессор
Ведущая организация:	<b>Узбекский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт</b>

Защита диссертации состоится « 05 » 01 2021 года в 12<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № 234). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: [shsha@mail.ru](mailto:shsha@mail.ru)).

Автореферат диссертации разослан: « 25 » 12 2020 г.  
(реестр протокола рассылки № « 1 » от 25.12. 2020 г).



*Sh. N. Salikhov*

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

*Sh. A. Shomurotov*  
**Ш.А.Шомуротов**  
Ученый секретарь Научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.х.н.

*M. B. Gafurov*  
**М.Б.Гафуров**  
Председатель Научного семинара при Научном совете  
по присуждению ученых степеней, д.х.н.

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

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире злокачественные новообразования являются одним из самых распространенных заболеваний среди населения. Несмотря на то, что разрабатывается много новых методов и средств лечения заболевания, химиотерапия цитотоксическими препаратами остается основной частью лечения данного заболевания. Поэтому одной из важных задач в борьбе со злокачественными опухолями остается создание высокоэффективных препаратов с минимальными побочными действиями на организм человека. В настоящее время развитие биоорганической химии, фармацевтической химии, молекулярной биологии, медицины позволяет создавать препараты нового поколения, применяемые против различных раковых заболеваний, обладающие направленным противоопухолевым действием, минимальными побочными эффектами, специфической активацией иммунной системы.

В настоящее время отсутствие избирательного действия цитотоксических препаратов приводит к серьезным повреждениям организма. Необратимые побочные эффекты, возникающие в результате неспецифической активности противоопухолевых препаратов, часто приводят к их ограниченному клиническому применению. В связи с этим перспективным направлением считается разработка малотоксичных препаратов с направленным и пролонгированным действием на опухолевые клетки путем модификации применяемых на практике цитотоксических препаратов. Некоторые полисахариды, особенно галактоманнаны, являются лигандами, комплементарно взаимодействующими с белками галектина на поверхности опухолевых клеток. Модификация галактоманнана некоторыми цитотоксическими соединениями позволяет получать низкотоксичные оригинальные средства, обладающие направленной на опухоль цитотоксической активностью. В связи с чем, ведутся исследования по получению производных полисахаридов, содержащих цитотоксические соединения, с целью изучения их биологической активности и разработки эффективных лекарственных препаратов на их основе.

В нашей стране особое внимание уделяется разработке новых эффективных импортозамещающих препаратов на основе местного сырья и обеспечению населения качественными лекарствами. Конкретные задачи в реализации данной работы предусмотрены в 4-м направлении Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан «Развитие фармацевтической промышленности, улучшение обеспечения населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными препаратами и медицинскими изделиями»<sup>1</sup>. В связи с этим важным является исследование биологически активных веществ местного растительного и

---

<sup>1</sup>Указ Президента № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017 – 2021 годах».

животного сырья, изучение их структуры и активности, а также создание на их основе новых эффективных препаратов.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Указе Президента Республики Узбекистан УП-5229 от 7 ноября 2017 года «О мерах по коренному совершенствованию системы управления фармацевтической отраслью», Указе Президента Республики Узбекистан № PQ-2640 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями, предусмотренными в VI разделе «Медицина и фармакология» развития науки и технологий Республики.

**Степень изученности проблемы.** Проведены исследования зарубежными учеными по изучению галактозилированных соединений, их противоопухолевой биологической активности. В частности, E.N. Olsufyeva и ее коллегами установлено, что галактозилированные производные доксорубина менее токсичны, чем доксорубин, у мышей, инфицированных опухолью лейкемии P-388, и увеличивают продолжительность жизни под действием производных доксорубина, содержащих галактозный остаток. В исследованиях H. Bai и M.C. Miller показана специфическая структура галактоманнанов и их связывание с высокоселективными лектинами в опухолевых клетках на основе высокой избирательности по сравнению с моно- и дисахаридами, содержащими остаток галактозы. Путем деполимеризации гуарового галактоманнана Э. Зомером получены образцы хорошо растворимые в воде и установлены их молекулярно-структурные параметры и физико-химические свойства. В исследованиях A.A. Klyosov, E. Zomer и D. Platt при изучении противоопухолевой активности образца низкомолекулярного галактоманнана и его механической смеси с 5-фторурацилом в отношении опухоли кишечника, смесь 5-фторурацил/галактоманнан проявляла низкую токсичность по сравнению с 5-фторурацилом. Авторы также обнаружили, что низкомолекулярный галактоманнан усиливает терапевтический эффект 5-фторурацила. В исследованиях A.N. Tevyashova путем кислотного гидролиза гуарового галактоманнана получены модифицированные доксорубином производные галактоманнана и изучена их противоопухолевая активность в условиях *in vitro*.

В нашей стране научные исследования по синтезу биологически активных производных полисахаридов, изучению их структуры, получению соединений на их основе, эффективных против различных заболеваний, и изучению их биологической активности проводятся в Институте биоорганической химии, Институте химии растительных веществ, Институте



химии и физики полимеров, Ташкентском химико-технологическом институте, под руководством академика Салихова Ш.И., академика Рашидовы С.Ш., академика Тураева А.С., профессора Сарымсакова А.А. и профессора Рахманбердиева Г.

Литература последних лет по изучению биологически активных соединений на основе галактоманнана сосредоточена на изучении взаимодействия галактозилированных низкомолекулярных соединений с высокоэкспрессивными белками в опухолевых клетках, получении их производных, содержащих цитотоксические соединения, и исследовании их противоопухолевой биологической активности. Однако данные по получению путем модификации производных галактоманнанов, комплементарных к галектинам опухолевых клеток, и созданию на их основе противоопухолевых макромолекулярных систем отсутствуют.

**Связь темы диссертации с планами научно-исследовательских работ высших учебных заведений или научно-исследовательских учреждений, где выполнена работа.** Диссертационное исследование выполнено в рамках проектов Ф6-Т097 «Синтез и исследование биологической функции модифицированных полисахаридов с целью получения новых лекарственных средств к органам-мишеням» (2012-2016 г.г.), ТА-ФА-Ф6-003 «Исследование комплементарных взаимодействий бета-D-глюканов, галактоманнанов и их модифицированных аналогов с лектинами клеток, с целью создания противоопухолевых препаратов направленного действия» (2017-2020 г.г.).

**Целью исследования** является получение модифицированных производных галактоманнанов, синтез на их основе макромолекулярных систем, содержащих цитотоксические соединения, обладающих направленным действием на опухолевые клетки, и определение их биологической активности.

**Задачи исследования** заключаются в следующем:

получение олигосахаридов галактоманнана путем деполимеризации, определение их структурных параметров;

получение макромолекулярных систем, содержащих цитотоксические соединения на основе тозил и диальдегид производных галактоманнанов;

определение молекулярных параметров и структур полученных макромолекулярных систем на основе галактоманнанов;

оценка противоопухолевой биологической активности и фармако-токсикологических свойств макромолекулярных систем на основе галактоманнанов.

**Объектами исследования** являются гуаровый галактоманнан, олигогалактоманнаны, тозилпроизводные галактоманнана, диальдегидпроизводные галактоманнана, модифицированные производные галактоманнана с цитотоксическими соединениями, их противоопухолевая биологическая активность и фармако-токсикологические свойства.

**Предметом исследований** является получение низкомолекулярных галактоманнанов, синтез тозил, диальдегид и модифицированных с

цитотоксическими соединениями производных галактоманнанов, определение условий реакции, молекулярной структуры и биологической активности.

**Методы исследования.** В исследовательской работе использованы биоорганические химические методы (деполимеризация полисахаридов, химическая модификация, очистка), определение химической структуры соединений (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия, гель-хроматография, элементный анализ), определение противоопухолевой активности (*in vitro*, *in vivo*) и фармакотоксикологические методы исследования.

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

в реакции радикальной деполимеризации галактоманнанов определены оптимальные условия реакции и селективный разрыв основной полиманнановой цепи;

показаны оптимальные условия получения тозилпроизводных олигосахаридов галактоманнана и макромолекулярных систем на их основе, содержащих цитотоксические соединения, связанных посредством аминных связей;

синтезированы диальдегидпроизводные олигосахаридов галактоманнана и макромолекулярные системы на их основе, содержащие цитотоксические соединения, связанные посредством азометиновых связей, и их структура доказана физико-химическими методами;

определены противоопухолевая биологическая активность, фармакотоксикологические свойства, взаимосвязь структура-активность макромолекулярных систем на основе галактоманнанов.

**Практические результаты исследования** состоят в следующем:

разработан метод радикальной деполимеризации в присутствии ионов меди (II), позволяющий получать олигогалактоманнаны с сохранением соотношения остатков галактозы и маннозы;

разработаны методы гомогенного тозилирования олигосахаридов галактоманнанов в водной среде, получения производных на основе тозилированных олигогалактоманнанов, содержащих цитотоксические соединения;

разработаны методы периодатного окисления олигосахаридов галактоманнана, получения производных на основе диальдегид галактоманнанов, содержащих цитотоксические соединения;

получены макромолекулярные системы на основе галактоманнанов, содержащие цитотоксические соединения, установлено, что они проявляют низкую токсичность и высокую противоопухолевую активность, а также являются потенциальным объектом при создании противоопухолевых средств.

**Достоверность результатов исследований** подтверждается тем, что при изучении полученных макромолекулярных систем использованы современные физико-химические и биологические методы исследований; результаты исследований обсуждены на республиканских и международных

научных конференциях; результаты экспериментов опубликованы в республиканских и международных научных журналах, признанных Высшей аттестационной комиссией при Кабинете Министров Республики Узбекистан.

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

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что для получения олигосахаридов галактоманнана впервые предложена реакция радикальной деполимеризации, для получения тозилпроизводных разработан метод тозилрования олигосахаридов галактоманнана в водной среде, предложен способ получения макромолекулярных систем на основе тозилпроизводных, содержащих цитотоксические соединения посредством аминной связи, получены диальдегидпроизводные олигогалактоманнанов и макромолекулярные системы на их основе, содержащие цитотоксические соединения посредством азометиновой связи. Впервые изучены противоопухолевая активность и фармако-токсикологические свойства полученных макромолекулярных систем.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что предложенные методы позволяют получать олигосахариды галактоманнана и макромолекулярные системы на их основе. Предложенные методы и выявленные биологические активности могут быть использованы при разработке новых противоопухолевых препаратов на основе полисахаридов. Результаты исследования послужат получению эффективных противоопухолевых препаратов на основе макромолекулярных систем, содержащих галактоманнаны и цитотоксические соединения.

**Внедрение результатов исследований.** На основании полученных научных результатов по синтезу макромолекулярных систем на основе галактоманнанов, обладающих противоопухолевой активностью:

Методы получения макромолекулярных систем на основе галактоманнанов использованы в проекте «International Science and Technology Center Projects» Синьцзянского института физики и химии Китайской академии наук при установлении различных противоопухолевых активностей полученных образцов (справка Синьцзянского института физики и химии Китайской академии наук). В результате появилась возможность определения механизмов противоопухолевой активности производных полисахаридов.

Синтезированные противоопухолевые макромолекулярные системы на основе галактоманнанов использованы в проекте A11-T019 «Разработка технологии получения соевого белка, обогащенного изофлавононами» в качестве контрольного препарата при изучении биологической активности в условиях *in vivo* и *in vitro* препарата «Биокор» (справка Академии наук Республики Узбекистан № 4/1255-2709 от 2 декабря 2020 года). В результате появилась возможность сравнительного изучения биологической активности препарата «Биокор» с другими препаратами.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования обсуждены на 3 международных и 9 республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 3 статьи, в том числе 1 в зарубежных и 2 в республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 119 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обоснованы актуальность и востребованность темы диссертации, цель и задачи, охарактеризованы объекты и предмет исследования, показано соответствие исследования направлениям развития науки и технологии Республики Узбекистан, изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыты научная и практическая значимость результатов, предложено внедрение результатов исследования в практику, приведены сведения по опубликованным научным работам и структуре диссертации.

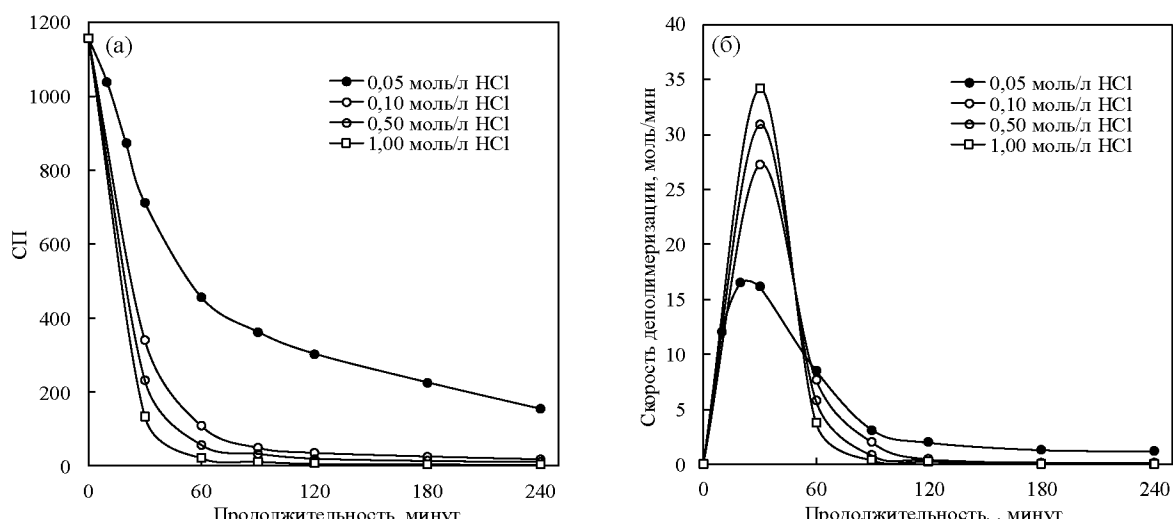
В первой главе диссертации **«Структура, свойства галактоманнанов и современные исследования по получению противоопухолевых макромолекулярных систем на их основе»** приведен подробный анализ научных исследований и степени изученности проблемы, рассмотрены результаты современных исследований последних лет по галактоманнанам, их природным источникам и структуре, физико-химическим свойствам, производным галактоманнанов и методам их синтеза, опухолевым заболеваниям и применяемым цитотоксическим препаратам, взаимодействию галактоманнанов с клеточными лектинами и макромолекулярным системам на их основе.

Во второй главе диссертации **«Синтез макромолекулярных систем на основе галактоманнанов, их физико-химические и биологические методы исследования»** приведены этапы проведения исследований, материалы и методы, использованные при их выполнении, в частности, получение олигосахаридов галактоманнана, синтез противоопухолевых макромолекулярных систем на основе тозил и диальдегид производных галактоманнанов, анализ молекулярных параметров и структуры производных галактоманнана, методы определения биологической активности.

В третьей главе диссертации **«Синтез макромолекулярных систем на основе галактоманнанов, их физико-химические свойства»** представлены результаты по получению олигосахаридов галактоманнана и исследованию их структур, синтезу тозилпроизводных галактоманнанов и установлению их структур, синтезу противоопухолевых макромолекулярных систем на основе тозилпроизводных и изучению их структур, диальдегидпроизводным

галактоманнана и синтезу противоопухолевых макромолекулярных систем на их основе, установлению их структур.

Путем кислотной деполимеризации галактоманнана получены образцы с различными молекулярными параметрами ( $M_w=505,1-2,6$  кДа, СП=1039-5, ИПД=2,78-1,45, Man/Gal=1,89-3,19). Показано, что с увеличением продолжительности реакции деполимеризации, уменьшаются СП и выход полученных продуктов, увеличивается соотношение Man/Gal, скорость деполимеризации в начальное время была высокой. Установлено, что с увеличением концентрации кислоты, СП и выход продуктов деполимеризации резко снижаются, скорость деполимеризации и соотношения Man/Gal возрастают (рис.1). Получены олигосахариды галактоманнана (СП=58-5,  $M_w=28,1-2,6$  кДа, Man/Gal=2,07-3,19) в присутствии 0,1-1,0 моль/л растворов соляной кислоты, определены оптимальные условия кислотной деполимеризации (HCl 0,1 моль/л, 240 мин, 80°C).

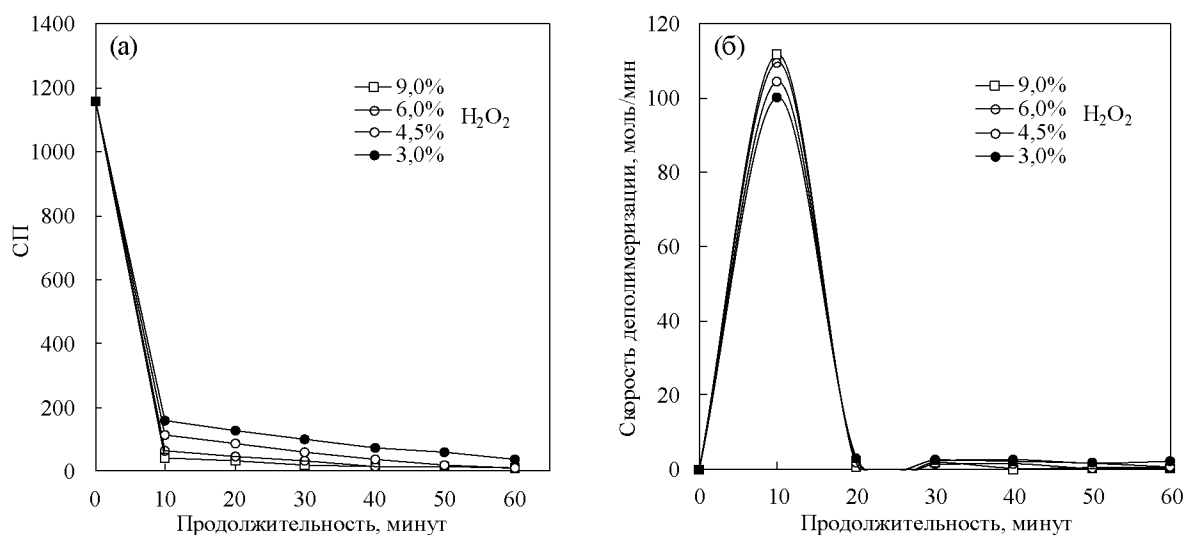


**Рисунок 1. Изменение СП (а) и скорости деполимеризации (б) в процессе реакции деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии соляной кислоты (HCl 0,05-1,0 моль/л, 80°C)**

Несмотря на то, что данным методом получены олигосахариды галактоманнана с различными молекулярными параметрами, образцы с соотношением Man/Gal более 1,9-2,0 образуют непрозрачные растворы в воде. Это объясняется увеличением количества остатков маннозы в галактоманнанае и снижением их растворимости из-за микроагрегации в водных растворах. Что снижает возможность внутривенного введения противоопухолевых макромолекулярных систем на основе олигосахаридов галактоманнана с соотношением Man/Gal более 1,9-2,0, и указывает на их непригодность при получении противоопухолевых макромолекулярных систем. Следовательно, для получения водорастворимых олигосахаридов галактоманнана, в реакциях деполимеризации в максимально возможной степени не должно происходить дегалактозилирования боковой цепи полисахарида.

Путем радикальной деполимеризации галактоманнанов с пероксидом водорода в присутствии ионов Cu (II) получены низкомолекулярный

галактоманнан и олигогалактоманнан со СП 159-6 ( $M_w=77,1-2,7$  кДа, ИПД=2,11-1,05, Man/Gal=1,89-1,70). Установлено, что по мере увеличения продолжительности деполимеризации резко снижается СП полученных продуктов, деполимеризация в начальное период была высокой (рис.2). Показано, что концентрация пероксида водорода играет важную роль в деполимеризации макромолекулы галактоманнана, при этом с увеличением концентрации пероксида водорода уменьшается СП, ИПД, а также выход продуктов. В данной реакции, в отличие от кислотного гидролиза, наблюдается сохранение остатков галактозы в составе галактоманнана, селективный разрыв (1,4)-гликозидных связей основной полиманнановой цепи. Для получения противоопухолевых макромолекулярных систем на основе галактоманнана получены олигосахариды галактоманнана с оптимальными молекулярными параметрами и высоким выходом (50,3-52,6%) в реакциях с 4,5% раствором пероксида водорода при 60°C в течение 50-60 минут. В ходе реакции наблюдалось снижение ИПД галактоманнана до монодисперсного состояния. Полученные образцы низкомолекулярного галактоманнана и олигосахариды галактоманнана хорошо растворимы в воде, с образованием прозрачных растворов. Реакция радикальной деполимеризации галактоманнанов с пероксидом водорода в присутствии ионов Cu (II) позволяет получать олигосахариды галактоманнана, с сохранением галактозных остатков, и подходит для получения противоопухолевых макромолекулярных систем на основе данных биополимеров.

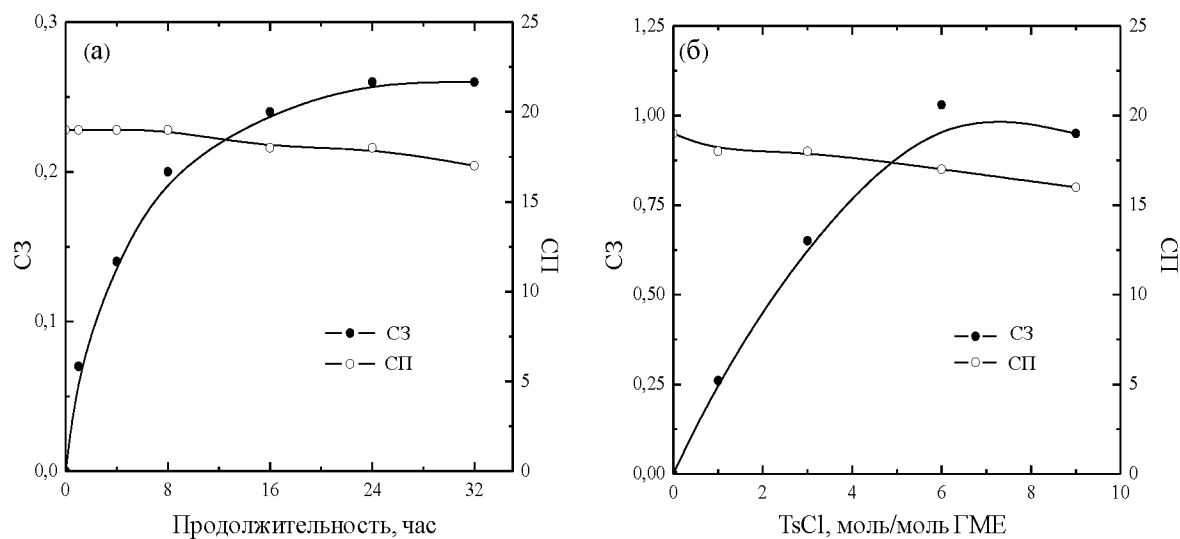


**Рисунок 2. Изменение СП (а) и скорости деполимеризации (б) со временем реакции радикальной деполимеризации гуарового галактоманнана с пероксидом водорода в присутствии ионов Cu (II) ( $H_2O_2$  3,0-9,0%, 60 °C,  $Cu(CH_3COO)_2$  0,32 мг/мл)**

Структуры продуктов кислотной и радикальной деполимеризации гуарового галактоманнана исследованы методами ИК- и <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопии. Результаты анализа специфических сигналов для атомов углерода ManC4 показали, что количество остатков галактозилированной

маннозы в образцах, полученных путем реакции радикальной деполимеризации, было выше, чем в образцах, полученных кислотной деполимеризацией. Данные результаты также указывают на избирательный разрыв  $\beta$ -(ManC1–O–ManC4)-гликозидных связей полисахаридной цепи в реакции радикальной деполимеризации.

Путем тозилрования олигосахаридов получены тозилпроизводные олигогалактоманнана с различными молекулярными параметрами (СП=13-19,  $M_w$ =6,5-11,0, СЗ=0,07-1,03, выход 12,1-78,5%). Результаты показали возможность использования воды в качестве реакционной среды при тозилровании олигосахаридов галактоманнана. С увеличением продолжительности реакции и количества тозилхлорида (TsCl, *para*-толуолсульфонилхлорид) наблюдается увеличение СЗ и выхода продуктов, минимальная деполимеризация полисахаридной цепи (рис.3). Показано, что температура играет важную роль в ходе реакции. С повышением температуры наблюдалось значительное уменьшение молекулярных параметров полученных продуктов. В исследованиях было установлено, что полученные тозилпроизводные олигогалактоманнана (СЗ=0,14-1,03) полностью и легко растворяются в воде, этаноле, ДМСО, ацетоне, с образованием прозрачных растворов. Растворимость тозилрованных олигосахаридов галактоманнана в воде и широком диапазоне органических растворителей облегчает их использование в качестве промежуточных продуктов в последующих реакциях модификации.



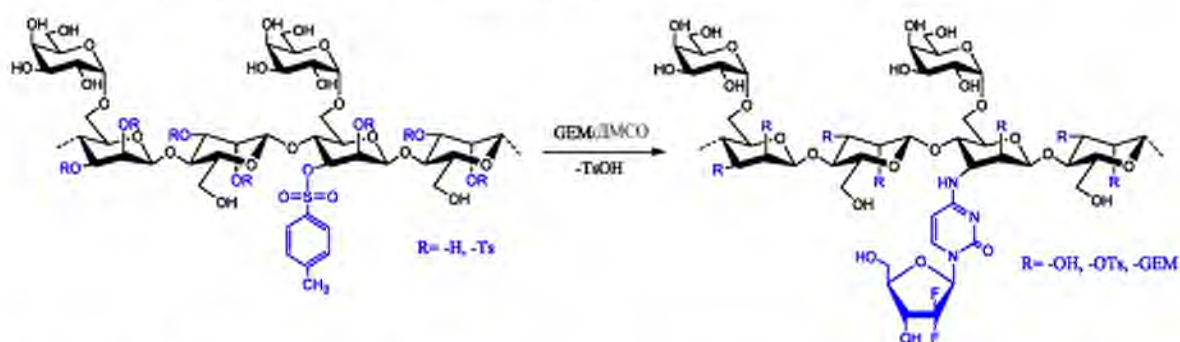
**Рисунок 3.** Изменение СЗ и СП продукта в реакции тозилрования галактоманнана с увеличением продолжительности реакции (а) и количества тозилхлорида (б) ((а) TsCl 1,0 моль/моль ГМЕ, 5°C; (б) продолжительность 24 часа, температура 5°C)

Исследования показали возможность получения тозилрованных производных олигогалактоманнана путем реакции тозилрования в присутствии тозилхлорида в водной среде. Было установлено, что с изменением количества тозилрующего реагента и продолжительности реакции, можно

получать тозилпроизводные с различными и регулируемыми молекулярными параметрами, при этом реакцию целесообразно проводить при низкой температуре (0-8°C) в течение 24 часов.

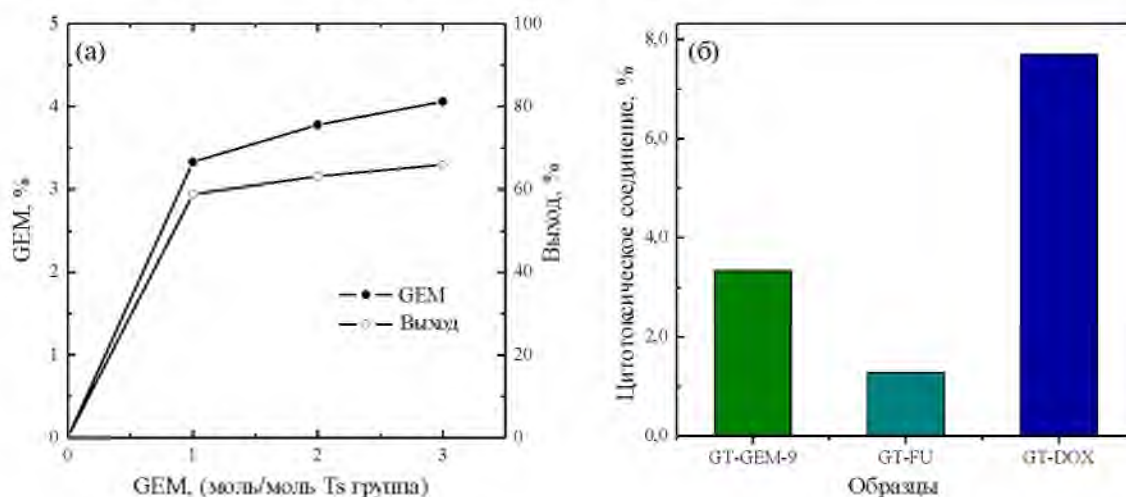
Структуры тозилпроизводных галактоманнана исследованы методами ИК- и <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопии. Результаты спектроскопического анализа показали, что тозилные группы в тозилпроизводных галактоманнана связаны с полисахаридной цепью посредством атомов углерода ManC2 и ManC3.

В исследованиях по получению противоопухолевых макромолекулярных систем на основе тозилпроизводных галактоманнана (рис.4), были получены образцы, содержащие 0,35-4,06% GEM, 1,28% FU и 7,70% DOX, выход которых составил 8,63-65,94, 43,88 и 62,35%, соответственно.



**Рисунок 4.** Реакция замещения тозилпроизводных галактоманнана с цитотоксическими соединениями, содержащими аминогруппу (на примере GEM)

Результаты исследования показали отсутствие деполимеризации полисахаридной цепи в исследуемых условиях. С повышением продолжительности реакции и температуры увеличивается количество GEM, в составе полученного продукта, и выход продукта.



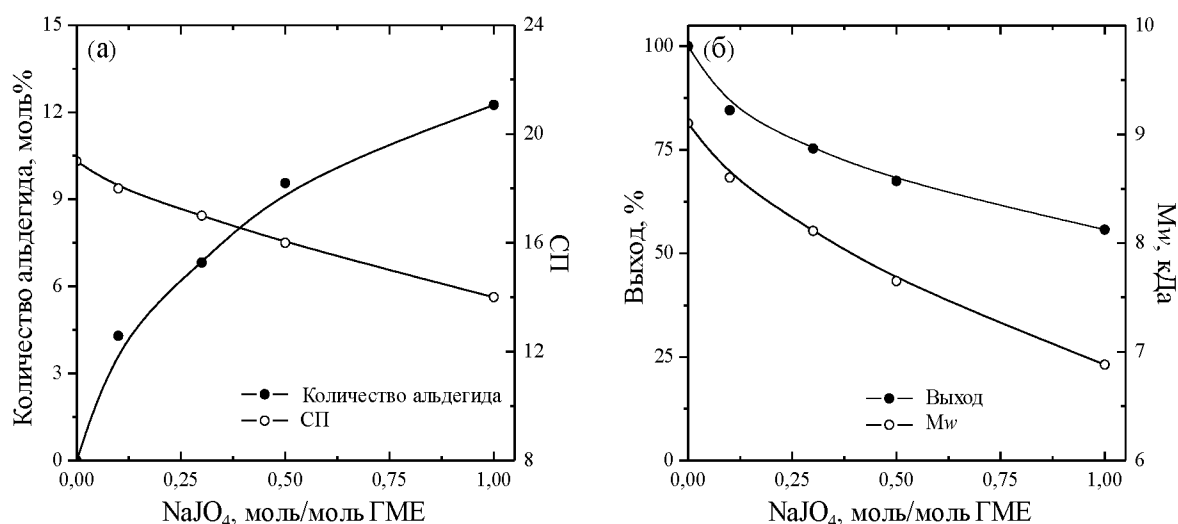
**Рисунок 5.** Изменение выхода и количества GEM в составе продукта с увеличением количества GEM в реакционной среде (а) и количества связанных цитостатиков в реакции замещения тозилпроизводных галактоманнана, полученных при одинаковых условиях (б) ((а) продолжительность 24 часа, температура 40°C; (б) GEM/ FU/DOX 1,0 моль/моль Ts группа, 24 часа, температура 40°C)



В исследованиях, с повышением температуры также наблюдалось увеличение выхода продукта. С увеличением количества GEM в реакции наблюдалось увеличение выхода продукта и содержания GEM в составе полученного продукта. Однако результаты показали, что в исследуемой реакции количество GEM не является основным фактором при получении образцов с высоким значением СЗ (рис.5). В ходе исследований были получены также производные галактоманнана, содержащие FU и DOX, показано, что реакционная активность исследованных цитотоксических соединений увеличивается в ряду FU<GEM<DOX (рис. 5). Установлено, что данные реакции целесообразно проводить с цитотоксическим соединением в количестве 1,0 моль/моль по отношению к тозилльной группе при 40°C в течение 24 часов, полученные производные галактоманнана, содержащие цитотоксические соединения, полностью растворимы в воде с образованием прозрачных растворов. Что позволяет широко использовать их в условиях *in vivo*.

Структуры макромолекулярных систем на основе тозилпроизводных галактоманнана, содержащих цитотоксические соединения, исследованы методами УФ-, ИК- и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии. Результаты показывают, что полученные макромолекулярные системы содержат цитотоксические соединения (FU/GEM/DOX), которые в основном связаны с атомами углерода ManC2 и ManC3 посредством аминных связей.

В проведенных исследованиях получены диальдегидпроизводные олигогалактоманнана, содержащие 1,02-12,27 моль% альдегидных групп, с выходом 98,32-55,73%. Установлено, что по мере увеличения количества NaJO<sub>4</sub> происходит увеличение содержания альдегидных групп, снижение значений СП и Mw, а также уменьшение выхода продуктов (рис.6).



**Рисунок 6.** Изменение количества альдегидных групп и СП (а), а также Mw и выхода продукта (б) под действием различного количества окисляющего реагента при периодатном окислении олигосахаридов галактоманнана (продолжительность реакции 24 часа, температура 40°C)

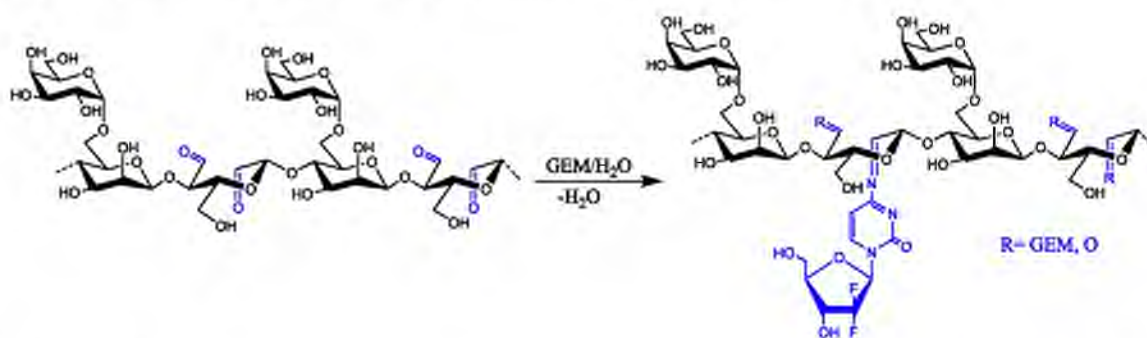
Несмотря на то, что в реакциях наблюдалась деполимеризация цепи галактоманнана, резкого снижения СП не происходило. Результаты показали,

что с увеличением продолжительности реакции быстрое окисление полисахаридной цепи происходит в течение первых 8 часов и незначительно изменяется в последующий промежуток времени. Также установлено, что СП и Mw, а также выход продукта уменьшаются с возрастанием продолжительности реакции. По мере увеличения содержания альдегидных групп в составе полученных диальдегидпроизводных, их растворимость в воде снижалась, образцы с содержанием альдегидных групп более 9,98 моль% в полисахаридной цепи не растворялись в воде.

Результаты показали, что периодатное окисление олигосахаридов галактоманнана целесообразно проводить с  $\text{NaIO}_4$  в количестве 0,3 моль/моль ГМЕ в течение 24 часов. Это говорит о том, что периодатное окисление в галактоманнанах происходит в основном по атомам углерода ManC2 и ManC3.

Структуры диальдегидпроизводных галактоманнана исследованы методами ИК- и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии. Поглощения спектров в результате периодатного окисления свидетельствуют об образовании альдегидных групп в цепи галактоманнана. Результаты  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопического анализа показали, что периодатное окисление в галактоманнанах происходит в основном по атомам углерода ManC2 и ManC3.

В исследованиях по получению противоопухолевых макромолекулярных систем на основе диальдегидпроизводных (рис.7) получены образцы, содержащие 0,03-2,07% GEM, а также 3,31 и 4,02% DOX, выход которых составил 98,32-75,73, 85,27, 83,84%, соответственно. Результаты показали, что по мере увеличения продолжительности реакции возрастают количество GEM в составе полученного продукта и эффективность конъюгации. Также установлено, что с увеличением продолжительности реакции снижается выход полученных продуктов, незначительно изменяется их СП.

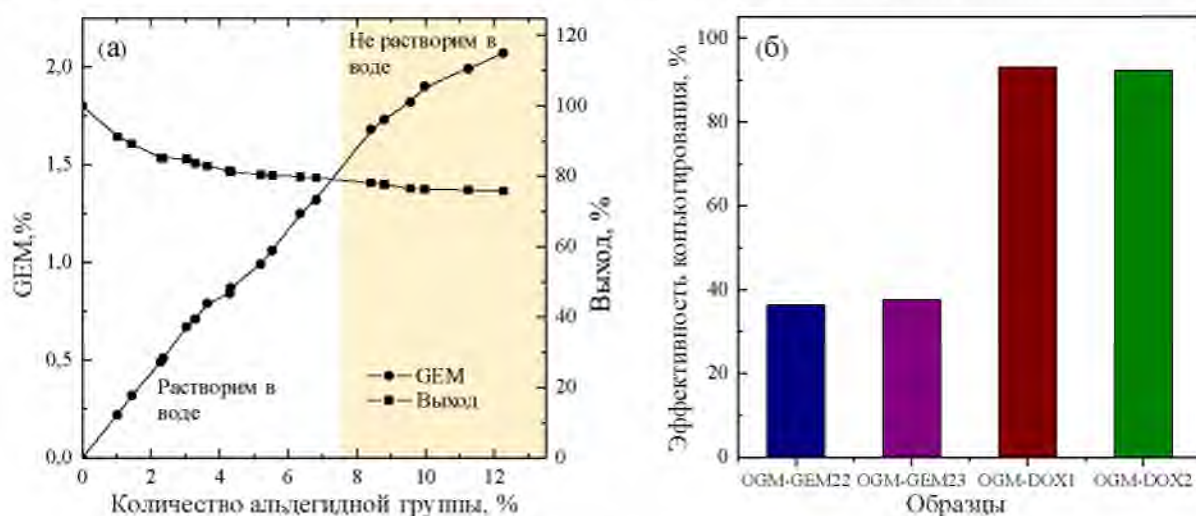


**Рисунок 7.** Реакция диальдегидпроизводных галактоманнана с цитотоксическими соединениями, содержащими аминогруппу (на примере GEM)

С увеличением количества альдегидной группы в диальдегидпроизводных галактоманнана, возрастает количество GEM в составе продуктов реакции, что способствует снижению их растворимости в воде (рис.8). Результаты показали, что данные реакции целесообразно проводить с количеством цитотоксического соединения 1,0 моль/моль ГМЕ в течение 24 часов при  $20^\circ\text{C}$ , а также при получении противоопухолевых

препаратов на основе диальдегидпроизводных галактоманнана реакционная способность DOX в среднем в 2,5 раза выше, чем у GEM (рис.8).

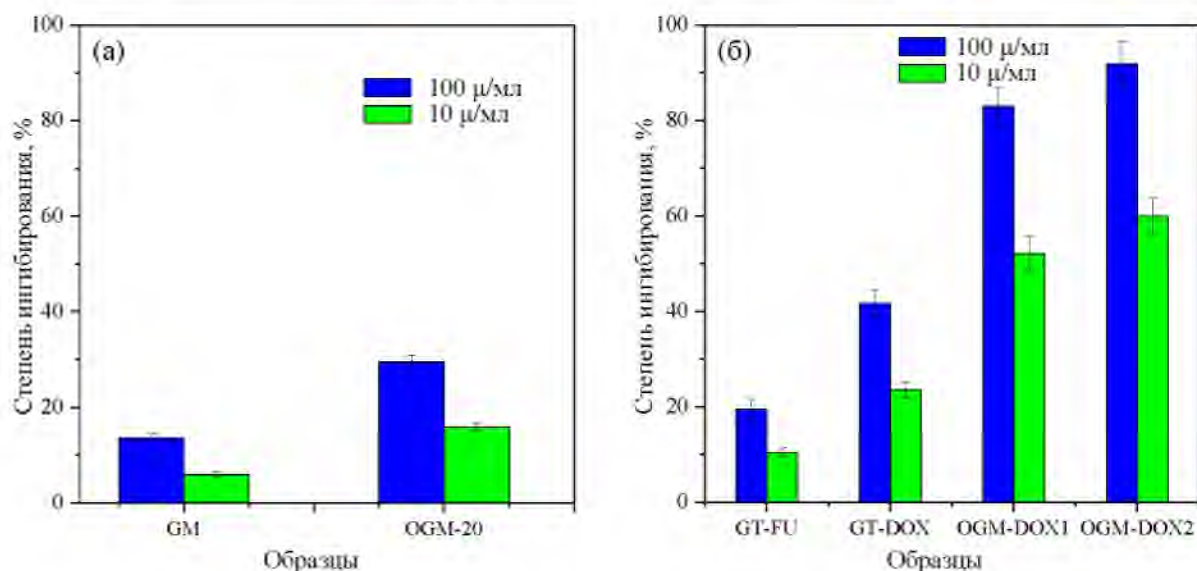
Структуры макромолекулярных систем на основе диальдегидпроизводных галактоманнана, содержащих GEM и DOX, исследованы методами УФ-, ИК- и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии. Результаты исследования структуры макромолекулярных систем, полученных на основе диальдегидпроизводных, показали, что полученные образцы структурно совместимы с содержащими GEM и DOX производными галактоманнана. Кроме того, результаты  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии показали, что цитотоксические соединения связаны с атомами углерода C2 или C3 Man/Gal (в основном Man) вдоль полисахаридной цепи посредством азометиновых связей.



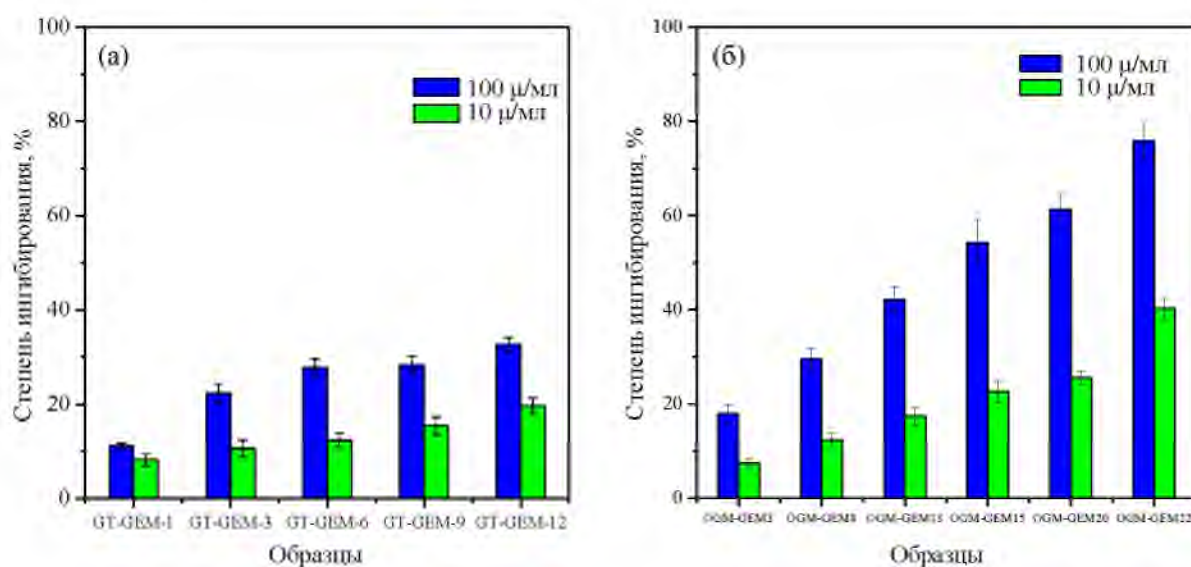
**Рисунок 8.** Изменение выхода и количества GEM в составе продукта с увеличением количества альдегидной группы (а), а также эффективность конъюгации GEM и DOX (б) при одинаковых условиях в реакции замещения диальдегидпроизводных галактоманнана с цитотоксическими соединениями (GEM/DOX 1,0 моль/моль ГМЕ, продолжительность 24 часа, температура 25°C)

В четвертой главе диссертации «Противоопухолевая биологическая активность макромолекулярных систем на основе галактоманнанов» представлены результаты исследования противоопухолевой активности *in vitro*, *in vivo* и фармако-токсикологических свойств макромолекулярных систем на основе галактоманнана. В ходе исследования установлено, что образцы галактоманнана (GM, Mw=563,8 кДа, СП=1160) и олигогалактоманнана (OGM-20, Mw=9,1 кДа, СП=19) ингибируют опухолевые клетки (Hela) в концентрации 100 мг/мл до 13,60 и 29,50%, соответственно. Это указывает на то, что специфическое взаимодействие олигогалактоманнанов с галектинами опухолевых клеток выше, чем у галактоманнанов с высоким значением СП. Несмотря на то, что макромолекулярные системы, полученные на основе диальдегидпроизводных (OGM-GEM3-22/GEM=0,12-1,32%, OGM-DOX1-2/DOX=3,31-4,02%), содержат небольшие количества цитотоксических соединений (GT-GEM-1-12/GEM=0,35-4,06%, GT-FU/FU=1,28%, GT-DOX/DOX=7,70%), они обладают высокой активностью против опухолевых

клеток (17,88-91,78%) по сравнению с образцами, полученными на основе тозилпроизводных (11,18-41,67%) (рис.9,10). Различия в противоопухолевой активности данных образцов обусловлены разнообразием химической связи (аминной или азометиновой) между полисахаридной цепью и остатком цитотоксического соединения в них.



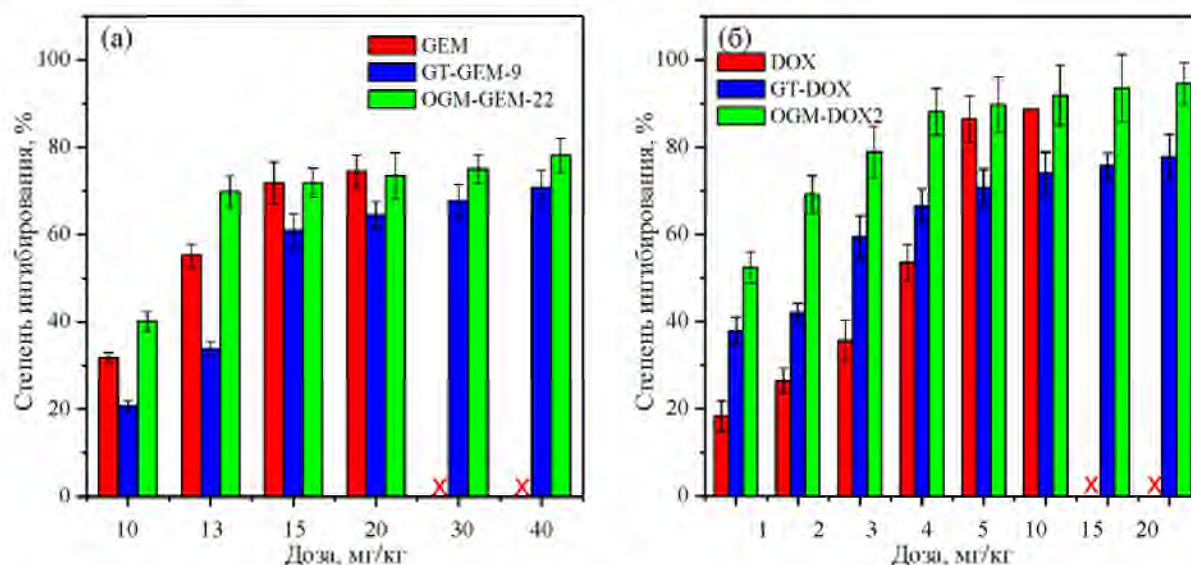
**Рисунок 9.** Противоопухолевая активность *in vitro* галактоманнанов: гуаровый галактоманнан (GM) и олигогалактоманнан (OGM-20) (а), а также макромолекулярных систем, содержащих DOX и FU (GT-FU, GT-DOX, OGM-DOX1 и OGM-DOX2) (б)



**Рисунок 10.** Противоопухолевая активность *in vitro* макромолекулярных систем, полученных на основе тозилпроизводных GT-GEM-1-12 (а) и диальдегидпроизводных OGM-GEM3-22 (б) галактоманнана

Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* макромолекулярных систем на основе галактоманнанов показали, что смертность животных снизилась на 86,4-90,0% при использовании

исследуемых образцов, токсичность макромолекулярных систем на основе галактоманнанов была низкой. Общая скорость уменьшения массы животных была относительно высокой под влиянием цитотоксических соединений. Образцы GT-GEM-9 и GT-DOX, полученные на основе тозилированного галактоманнана, показали низкую противоопухолевую активность в условиях *in vitro* (28,28 и 41,67% при 100 мг/мл, Hela), в то время как в условиях *in vivo* наблюдалась их выраженная активность (соответственно, 70,83 и 77,30% по объему, 40 мг/кг, 20 мг/кг), что указывает на возможность проникновения олигосахаридной цепи образцов в опухолевые клетки напрямую или фрагментами (рис.11).



**Рисунок 11. Противоопухолевая активность *in vivo* макромолекулярных систем, содержащих GEM (а) и DOX (б), полученных на основе галактоманнана: (а) образцы GEM; GT-GEM-9, на основе тозилированного галактоманнана; OGM-GEM-22, на основе диальдегида галактоманнана, и (б) DOX; GT-DOX, на основе тозилированного галактоманнана, и OGM-DOX2, на основе диальдегида галактоманнана**

Несмотря на то, что образцы, полученные на основе тозилированных галактоманнанов (GT-GEM-9, GT-DOX), показали высокую активность *in vivo* (20,83-77,30% по объему), образцы на основе диальдегидпроизводных (OGM-GEM-22, OGM-DOX2) проявили более высокую активность (40,10-94,59% по объему). Это говорит о том, что противоопухолевые макромолекулярные системы, полученные на основе диальдегидпроизводных галактоманнана, являются более перспективными, чем макромолекулярные системы, полученные на основе тозилированных галактоманнанов.

Результаты фармако-токсикологических исследований показали, что образцы GT-GEM-9, OGM-GEM-22, GT-DOX и OGM-DOX-2, при введении в брюшную полость животных, относятся к VI классу относительно безвредных соединений, а доксорубицин (DOX) - к III классу умеренно токсичных соединений.

## ВЫВОДЫ

1. Исследованы реакции кислотной, радикальной деполимеризации галактоманнанов. Впервые установлено, что при радикальной деполимеризации, в отличие от кислотного гидролиза, происходит селективный разрыв  $\beta$ -(1,4)-гликозидных связей полиманнановой цепи, данный метод рекомендован для получения олигогалактоманнанов с высоким содержанием остатков галактозы, комплементарно взаимодействующих с галектинами в оболочке опухолевой клетки.

2. Разработаны методы получения реакционно-активных тозилпроизводных олигогалактоманнанов и установлено, что тозилные группы связаны посредством атомов углерода ManC2/C3. На основе тозилпроизводных галактоманнана получены образцы, содержащие 0,35-4,06% GEM, 1,28% FU и 7,70% DOX, и их реакционная активность возрастает в ряду  $FU < GEM < DOX$ .

3. На основе олигогалактоманнанов получены диальдегидпроизводные, содержащие 1,02-12,27 мол.% альдегидной группы в атомах углерода Man C2/C3, и соединения на их основе, содержащие 0,03-2,07% GEM и 3,31 и 4,02% DOX. Установлено, что в данных реакциях реакционная способность DOX была в 2,5 раза выше, чем у GEM.

4. Впервые установлена противоопухолевая активность *in vitro* и *in vivo* макромолекулярных систем на основе олигогалактоманнанов. В исследованиях показано, что макромолекулярные системы, связанные азометиновой связью, несмотря на относительно низкое содержание цитотоксических соединений в составе, проявляют высокую активность (*in vitro* 17,88-91,78%, *in vivo* 40,10-94,59% по объему).

5. В исследованиях противоопухолевой активности *in vivo* установлено, что смертность животных уменьшилась на 86,4-90,0% по сравнению с DOX и GEM, LD<sub>50</sub> макромолекулярных систем составила 4500-3550 мг/кг. В результате исследований образцы (GT-DOX, OGM-DOX2), обладающие цитостатической активностью и содержащие DOX, были рекомендованы для применения в качестве цитостатических соединений.

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

---

**INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY**

**AMONOVA DILNOZA MUKHTAROVNA**

**SYNTHESIS AND STUDY OF MACROMOLECULAR SYSTEMS BASED  
ON GALACTOMANNANS WITH ANTITUMOR ACTIVITY**

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

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

**Tashkent - 2020**

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2019.3.PhD/K239.

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

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


<b>Scientific supervisor:</b>	<b>Turaev Abbaskhan Sabirkhanovich</b> doctor of chemical sciences, academician
<b>Official opponents:</b>	<b>Ziyavitdinov Jamolitdin Fazlitdinovich</b> doctor of chemical sciences, senior scientific researcher <b>Ramazonov Nurmurod Sheraliyevich</b> doctor of chemical sciences, professor
<b>Leading organization:</b>	<b>Uzbekistan scientific research institute of chemistry and pharmaceutics</b>

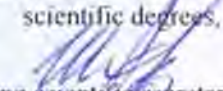
Defense will take place on 05.01 2021 year 12<sup>00</sup> at the meeting of the Scientific council DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 of the Institute of Bioorganic Chemistry. Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

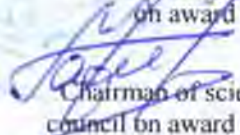
The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63), e-mail: [shsha2@mail.ru](mailto:shsha2@mail.ru)).

Abstract of the dissertation is distributed on «25» 12 2020.  
(protocol at the register No 1 dated 25.12 2020).



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

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

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



## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the research work** is obtaining modified derivatives of galactomannans, the synthesis on their basis of macromolecular systems containing cytotoxic compounds, having a targeted effect on tumor cells, and the determination of their biological activity.

**The object of the research work** were guar galactomannan, oligo-galactomannan, galactomannan tosyl derivatives, galactomannan dialdehyde derivatives, modified derivatives of galactomannan with cytotoxic compounds, their anti-tumor biological activity and pharmacotoxicological properties.

### **Scientific novelty of the research work:**

in the reaction of radical depolymerization of galactomannan, optimal reaction conditions and selective decomposition of the main poly-mannan chain were determined;

the optimal conditions for obtaining tosyl derivatives of galactomannan oligosaccharides and macromolecular systems based on them, containing cytotoxic compounds linked by amine bonds, were proven;

dialdehyde derivatives of galactomannan oligosaccharides and through them, macromolecular systems containing cytotoxic compounds, bounded by azomethin bonds were obtained and their structures were proven by physicochemical methods;

antitumor biological activities, pharmacotoxicological properties, structure-activity correlations of galactomannan-based macromolecular systems were determined.

**Implementation of the research results.** On the basis of results on synthesis and study of macromolecular systems based on galactomannans with antitumor activity:

methods for obtaining and prepared samples of galactomannan-based macromolecular systems were used in the International Science and Technology Center Projects of the Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Institute of Physics and Chemistry (reference letter of Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Institute of Physics and Chemistry). The results have made it possible to determine the mechanisms of antitumor activity of polysaccharide derivatives;

the results of the dissertation and the synthesized galactomannan-based antitumor macromolecular systems were used in the project A11-T019 "Development of technology for obtaining soy protein enriched with isoflavonones" as a control preparation in studying the *in vivo* and *in vitro* biological activities of the "Biokor" preparation. (Reference letter of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated December 2, 2020, No 4/1255-2709). The results have made it possible to study the biological activity of the "Biokor" preparation in comparison with other drugs.

**The structure and volume of the thesis.** Containing 119 pages of text, the dissertation has introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendixes.

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

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Амонова Д.М., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С. Синтез полимер-носителя на основе галактоманнана // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2012. № 6. –Б.21-24. (02.00.00. №6).

2. Амонова Д.М., Филатова А.В., Нормакхаматов Н.С., Джурабоев Д.Т., Мухитдинов Б.И., Чуркина К. М., Тураев А.С. Разработка состава и технологии антикоагулянтного средства наружного действия // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2017. № 4. –Б.62-67. (02.00.00. №6).

3. Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С., Хайтметова С.Б., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Филатова А.В., Халилова Г.А., Киргизбаев Х.Х., Тураев А.С. Выделение и изучение физико-химических свойств галактоманнанов из растительного сырья // Химия растительного сырья Барнаул, 2019. №2. –С.35-41. (02.00.00. №30 IF 0.495)

**II бўлим (II часть; Part II)**

4. Амонова Д.М., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С. Гуарнинг периодат оксидланиш реакцияси хусусиятларини ўрганиш // Bioorganika kimyo fani muammolari.VII Respublika yosh kimyogarlار konferensiyasi materiallari. Namangan, 2011. –Б.123

5. Амонова Д.М., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С. Исследование гидролитического расщепления гуаровой камеди // Бухоро давлат университети илмий ахбороти. 2013. №4. –Б.30-33.

6. Амонова Д.М., Мухамеджанова М.Ю., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С. Реологические свойства концентрированных водных растворов гидролизированных производных галактоманнана // Химия растительного сырья. Барнаул, 2014. № 4. –С.67-75. (02.00.00. №30 IF 0.495)

7. Амонова Д.М., Шомуротов Ш.А., Тураев А.С., Эргашева М.Р. Исследование особенностей периодатного окисления галактоманнана // Конференция молодых ученых Актуальные проблемы химии природных соединений . Ташкент, 2012. –Б. 128

8. Амонова Д.М., Мухамеджанова М.Ю., Тураев А.С. Кислотный гидролиз галактоманнана // Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажаги. Тошкент, 2016. –Б.148.

9. Muhitdinov B.I., Amonova. D.M., Normakhamatov N.S., Turayev A.S. Monosaccharide composition of polysaccharides from *Bongardia chrysogonum* (L.) Boiss // The 5<sup>th</sup> International Symposium on Edible & Medical Plant Resources and the Bioactive Ingredients. Shenzhen, China. 2016. –P. 47.

10. Нормакхаматов Н.С., Чуркина К.М., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Азимова Л.Б., Тураев А.С. Исследование комплексообразования между

анионными полисахаридами и белками. // Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажаги. Тошкент, 2016. –Б.149.

11.Амонова Д.М., Бердиев Н.Ш., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Разработка нового метода ферментативного гидролиза галактоманна // Биоорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства. Ташкент, 2016. –Б.6.

12. Amonova D.M., Kirgizbaev H.X., Muhitdinov B.I., Normakhamatov N.S., Turaev A.S. Preparation and characterization of low molecular weight galactomannans // Актуальные проблемы химии природных соединений. Ташкент, 2019. –Б.109.

13.Amonova D.M., Muhitdinov B.I., Kirgizbaev H.X., Shomurotov Sh.A., Turaev A.S. Synthesis of galactomannan dialdehyde derivatives by periodate oxidation // Материалы IX Республиканской конференции молодых химиков Проблемы биоорганической химии. Наманган, 2019. –Б.158.

14.Amonova D.M., Muhitdinov B. I., Kirgizbayev H.H., Turaev A.S. Preparation of galactomannan oligomers with preserved monosaccharide composition // XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (ISCNC 2019) Shanghai, 2019. –P.63.

15.Amonova D.M., Muhitdinov B. I., Kirgizbayev H.H., Synthesis and cytotoxic activity of galactomannan-gemcitabine conjugates // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR, FBFS and FHLE SUA in Nitra with international participation Nitra, Slovak Republic, 2019. –P.55.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журнали» таҳририягида таҳрирдан ўтказилди, унинг ўзбек, рус ва инглиз тили матнлари мос келади (24.12.2020).

Босишга рухсат этилди 24.12.2020 й. Бичими 60x84 1/16  
Офис қоғози. Ризограф усулда. Times гарнитураси.  
Шартли босма табағи 2.8. Адади 100 нусха. Буюртма № 24-12  
Тел: (99) 832-99-79. (97) 815-44-54

“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмахонасида чоп этилди.  
Манзил: Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6 уй