

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ХАЛИЛОВА ГУЛНОЗА АБДУВАХАБОВНА**

**БАЗИДИОМИЦЕТ  $\beta$ -ГЛЮКАНЛАРИНИНГ ТУЗИЛИШИ,  
ХОССАЛАРИ ВА БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2021**

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

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

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

**Халилова Гулноза Абдувахобовна**

Базидиомицет  $\beta$ -глюканларининг тузилиши, хоссалари ва биологик фаоллиги ..... 3

**Халилова Гулноза Абдувахобовна**

Структура, свойства и биологическая активность  $\beta$ -глюканов из базидиомицетов..... 21

**Khalilova Gulnoza Abduvakhabovna**

Structure, properties and biological activity of  $\beta$ -glucans from basidiomycetes ..... 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**

**ХАЛИЛОВА ГУЛНОЗА АБДУВАХАБОВНА**

**БАЗИДИОМИЦЕТ  $\beta$ -ГЛЮКАНЛАРИНИНГ ТУЗИЛИШИ,  
ХОССАЛАРИ ВА БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2021**

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2021.2.PhD/K212. 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.ziyo.net](http://www.ziyo.net)) жойлаштирилган.


|                    |  |
|--------------------|--|
| Илмий раҳбар:      | Тураев Аббасхан Сабирханович<br>кимё фанлари доктори, академик   |
| Расмий оponentлар: | Раҳмонбердиев Гаппар Раҳмонбердиевич<br>кимё фанлари доктори, профессор<br>Абдулладжанова Нодира Гуломжоновна<br>кимё фанлари доктори, профессор |
| Етакчи ташкилот:   | Ўзбекистон кимё-фармацевтика илмий тадқиқот<br>институти   |


Диссертация химояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил « 15 » 07 соат 12<sup>00</sup> даги мажлисида бўлиб ўтади (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 (239 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](mailto:shsha@mail.ru)).

Диссертация автореферати 2021 йил « 2 » июль да тарқатилди.  
(2021 йил 2 июльдаги 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  
кошидаги Илмий семинар раиси, к.ф.д.

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

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда табиий хом-ашёлардан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш, уларнинг кимёвий тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлаш ҳамда уларни амалиётга тадбиқ этиш бўйича кўплаб тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Тиббиёт амалиётида қўлланилаётган доривор воситаларнинг тенг ярми ўсимликлардан олинади. Табиий манбалардан, жумладан, ўсимликлардан олинган дори воситаларига бўлган талаб кун сайин ортиб бормоқда, чунки синтез йўли билан олинган дори препаратлари тез ва самарали таъсир этишига қарамай, уларни узлуксиз равишда истеъмол қилиш организмда турли нохуш ҳолатларни келиб чиқишига сабаб бўлади. Шу боис, табиий манбалардан физиологик фаол моддаларни ажратиб олиш ва тиббиёт учун янги самарали дори воситаларини яратиш муҳим аҳамиятга эга ҳисобланади.

Бугунги кунда дунёда биологик фаол бирикмаларга бой бўлган табиий манбаларни излаб топиш, улар таркибидан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш ҳамда структура ва биологик фаолликларини аниқлашга оид илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу борада истиқболли объектлардан бири ҳисобланган базидиал замбуруғлардан (*Ganoderma lucidum* (Curt Fr.) биологик фаол моддалар ажратиб олиш усуллари ишлаб чиқиш, олинган биологик фаол бирикмаларнинг структураси ва биологик фаоллигини аниқлаш ҳамда улар асосида иммуномодуловчи ва ўсмага қарши фаолликка эга бўлган дори воситаларини яратишга алоҳида эътибор қаратилмоқда.

Республикамизда табиий манбалардан импорт ўрнини босувчи дори воситаларини яратиш, аҳолини сифатли дори-дармон воситалари билан таъминлаш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Жумладан, юртимиз олимлари томонидан табиий манбалардан биологик фаол полисахаридларни ажратиб олиш, уларнинг кимёвий тузилиши ва хусусиятларини аниқлаш, улар асосида ножўя таъсири кам бўлган самарали дори воситаларини яратиш борасида муайян илмий натижаларга эришилмоқда. Ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш, дори-дармонлар нархларини ўсишига йўл қўймаслик бўйича чора-тадбирларни амалга ошириш»<sup>1</sup> юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу борада вазифаларни амалга оширишда табиий манбалардан юқори самарали дори воситаларини ишлаб чиқариш ва аҳолини арзон ҳамда сифатли дори-дармон билан таъминлаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги, 2017 йил 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика

---

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги фармони

тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармони, 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида» ги Қарори, ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти 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 йўналишига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Адабиёт маълумотлари таҳлили натижалари шуни кўрсатадики, базидиомицетлардан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш ҳамда базидиал замбуруғларнинг тармоқланган полисахаридлари хоссаларини, тузилишини ва уларнинг биологик фаоллигини ўрганиш бўйича олимлардан Shi L., Abe.M., Liu Y., Nie S., Wasser S., Tao Y., Meng X., Ferreira S., Alzorqi I., Ookushi Y. мақсадли тадқиқотлар олиб борганлар.

Ёввойи *Ganoderma lucidum* замбуруғидан биологик фаол моддаларни излаш ва ажратиб олиш бўйича бажарилган ишларнинг аксарияти Zhang M., Bao X., Pan D., Бабицкая В., Kozarski M. ва бошқалар томонидан олиб борилган. Натижада замбуруғ мева танаси асосида биологик фаол қўшимчалар, чой ва тетиклаштирувчи ичимликларнинг қўплаб патентланган формулалари ишлаб чиқилди. Аммо  $\beta$ -D-глюканларнинг организм иммунитет тизимига таъсири бўйича тадқиқотлар кам.

Мамлакатимизда биологик фаол полисахаридларни ажратиб олиш, уларнинг тузилишини ўрганиш, улар асосида турли касалликларга қарши самарали таъсирга эга бирикмалар 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. Раҳманбердиевлар раҳбарлигида олиб борилмоқда.

**Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ №ТА-ФА-Ф6-003 «Ракка қарши йуналтирилган таъсирли препаратлар яратиш мақсадида бета-глюканлар, галактоманнанлар ва уларнинг модификацияланган аналогларининг ҳужайра лектинлари билан комплементар ўзаро таъсирлашувларини ўрганиш» (2017-2020 й.й.) мавзусидаги фундаментал лойиҳаси доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғларидан тармоқланган полисахаридларни ажратиб олиш, уларнинг физик-кимёвий

хусусиятлари, макромолекуляр тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғларидан β-D-глюканларни ажратиб олиш ва тозалаш;

ажратиб олинган β-D-глюканларни физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш ва макромолекуляр структураларини (тармоқланишини) аниқлаш;

auto Dock Gasteiger дастурий таъминоти ёрдамида докинг ҳисоблаш усулида дектин-1 рецепторларининг β-D-глюканлар билан ўзаро таъсирини молекуляр моделлаштириш;

β-D-глюканларнинг *in vitro* усулида *KML*, *HeLa* ўсма ҳужайра линияларига таъсирини ўрганиш;

ажратиб олинган β-D-глюканларни ҳужайра ва гуморал иммунитетга таъсирини ўрганиш;

маҳаллий ва маданийлаштирилган замбуруғлардан ажратиб олинган β-D-глюканларнинг ўсмага қарши фаоллигини *in vivo* шароитида Эрлих аденокарциномаси (*solid Ehrlich tumor model*) моделида ўрганиш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида Ўзбекистон ҳудуди, Бўстонлик туманида маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғлари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** базидиомицет хом-ашёсидан ажратиб олинган тармоқланган тузилишга эга β-D-глюканлар, уларнинг макромолекуляр тузилиши - тармоқланиши, молекуляр параметрлари ва уларнинг организм иммун тизимига таъсири ҳамда биологик фаоллиги ташкил этади.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Диссертация ишини бажарилишида биоорганик кимё усуллари (экстракция, тозалаш, ажратиш), элемент таҳлили, ион алмашилиш ва гель хроматографияси, газ хроматография масс спектрометрияси (ГХ-МС), УБ-, ИҚ-, бир ўлчамли (<sup>13</sup>С ЯМР, <sup>1</sup>Н ЯМР), икки ўлчамли (<sup>1</sup>Н-<sup>1</sup>Н COSY, <sup>1</sup>Н-<sup>13</sup>С HSQC) ЯМР спектроскопияси усулларидан, ўсмага қарши фаолликни аниқлаш (*in vitro*, *in vivo*) ҳамда фармакотоксикологик тадқиқот усулларидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгиллиги** куйидагилардан иборат:

илк бор маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғларидан β-D-глюканлар ажратиб олинди ва уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари ва макромолекуляр структуралари ГХ-масс спектрометрия, УБ-, ИҚ-Фурье ҳамда ЯМР – спектроскопия усуллари ёрдамида исботланган;

илк бор дектин-1 рецепторининг β-D-глюканлар билан ўзаро таъсирини молекуляр моделлаштириш орқали докинг ҳисоблаш усулида β-D-глюканларнинг комплементарлиги аниқланган;

β-D-глюканларни *in vitro* (*KML*, *HeLa* ўсма ҳужайра линияларида) ҳамда *in vivo* (Эрлих аденокарциномаси ўсма ҳужайра линиясида) шароитида ўсмага қарши фаолликлари аниқланган;

$\beta$ -D-глюканларнинг ўсмага қарши фаоллиги уларнинг хужайра ва гуморал иммунитетга таъсири билан боғлиқ эканлиги исботланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғлари кимёвий таркиби аниқланган;

маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғларидан  $\beta$ -D-глюканлар ажратиб олинган ва уларнинг тузилиши, молекуляр характеристикалари аниқланган;

$\beta$ -D-глюканларнинг иммуномодуловчи хусусиятлари аниқланган ва уларнинг лейкоцитлар, лимфоцитлар, Т-лимфоцитлар, В-лимфоцитлар, CD16 ва CD25 хужайралари ҳамда организмдаги Т-супрессорлар сонининг кўпайишга ижобий таъсир кўрсатиши аниқланган;

*Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғларидан ажратиб олинган  $\beta$ -D-глюканлар ўсманинг ўсишини ингибирлаши (ҳажм бўйича - 69,82%; вазн бўйича - 61,87%) аниқланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** уларнинг замонавий физик-кимёвий тадқиқот усуллари ёрдамида олинганлиги билан тасдиқланади. Олинган маълумотларга статистик ишлов бериш ўртача қийматларнинг ишонч оралиғининг чегара қийматларини ҳисоблашда Стъудент мезонидан фойдаланилгани билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти тармоқланган полисахаридлар -  $\beta$ -D-глюканларни организм иммун тизимининг иммун хужайралари рецепторлари билан ўзаро таъсирлашиш хусусиятига эга биологик фаол моддалар эканлигини исботланганлиги ва бу ўз навбатида ўсмаларни даволаш ва олдини олишда қўлланиладиган БФҚ ва дори воситаларини ишлаб чиқаришга кенг имкониятлар очиб бериши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундаки,  $\beta$ -D-глюканларнинг макромолекуляр асосини кимёвий модификациялаш йўли билан улардан кам захарли, юқори терапевтик фаолликка ва узайтирилган таъсирга эга, нишон органга дори воситаларини етказиб берувчи (таргет хусусияти), ўсмага қарши дори воситаларини ўзида мужассамлаштирган макромолекуляр дори тизимини яратишда макромолекуляр ташувчилар сифатида фойдаланиш мумкинлиги билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** *Ganoderma lucidum* базидиомицет замбуруғидан  $\beta$ -D-глюканларни ажратиб олиш, уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари, макромолекуляр тузилиши ва биологик фаоллигини аниқлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиомицет замбуруғидан ажратиб олинган  $\beta$ -D-глюканларнинг тузилиши ва биологик фаоллиги бўйича олинган натижалардан №ФА–Ф-6-007 “Доривор ўсимликларнинг биологик фаол полисахаридлари ва уларнинг модификацияланган шакллари ўрганиш” лойиҳасида доривор ўсимликлар полисахаридларининг тузилиши ва биологик фаоллигини таққослаш мақсадида фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг



2021 йил 4/1255-1613-сон маълумотномаси). Натижада, тадқиқот объектларининг ортишига, турли табиатли полисахаридларнинг тузилиши ва биологик фаолликлари орасидаги боғлиқликларни аниқлаш ҳамда умумий хулосалар чиқаришга имкон берган;

замбуруғлардан ажратиб олинган  $\beta$ -глюкан типидagi полисахаридлардан Загреб университети (Хорватия) лойиҳасида ҳар хил ўсма турларига қарши хусусиятлари ва саратонга қарши иммунитетни ошириш механизмини аниқлашда фойдаланилган (Division of Physical Chemistry Department of Chemistry Faculty of Science, University of Zagreb, Croatia 2021 йил 21 майдаги маълумотномаси). Натижада, полисахаридлар ҳосилаларининг ўсмага қарши фаоллик механизмларини аниқлаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация иши материаллари асосида 17 та илмий иш, шу жумладан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан тавсия этилган халқаро илмий журналларда 1 та илмий мақола ва республика илмий журналларида 5 та илмий мақола чоп этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация кириш, тўртта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловадан иборат. Диссертациянинг ҳажми 108 бет.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

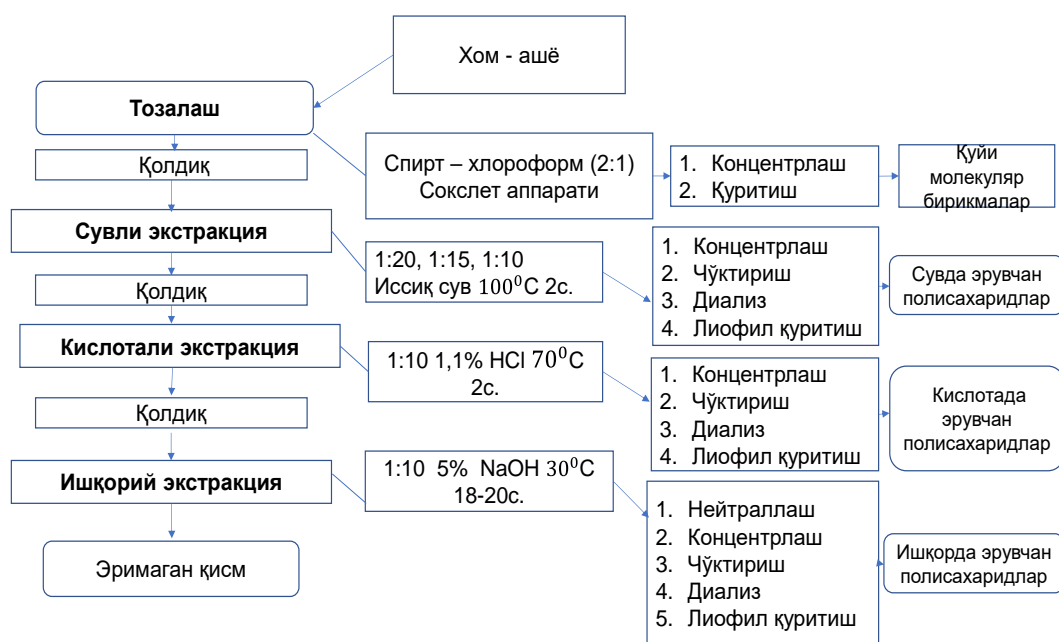
**Кириш** қисмида олиб борилган тадқиқотларнинг долзарблиги, зарурати асослаб берилган, илмий ишнинг мақсади, вазифалари келтирилган, тадқиқот объекти, предмети тавсифланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикаси фан ва техника тараққиёти йўналишларига мувофиқлиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги, амалий натижалари баён қилинган, натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, уларни амалга ошириш таклиф этилган, чоп этилган ишлар ҳамда диссертациянинг тузилиши ҳақида маълумот берилган.

Диссертациянинг **“Ўсимлик хом-ашёсининг полисахаридлари, манбалари, тармоқланган полисахаридларни ажратиш, тозалаш ва ажратиш усуллари”** номли биринчи бобида базидиомицетлардан ажратилган полисахаридларнинг тузилишини, молекуляр параметрларини ва биологик фаоллигини ўрганиш соҳасидаги тадқиқотларнинг ҳозирги ҳолати ҳақида сўз боради. Диссертация мавзуси ва муаммони ўрганиш даражаси бўйича олиб борилган илмий тадқиқотларнинг батафсил шарҳи берилган.

Диссертациянинг **“Тармоқланган полисахаридларни ажратиб олиш, уларнинг тузилишини, физик-кимёвий хусусиятлари ва биологик фаоллигини тадқиқ қилиш усуллари”** деб номланган иккинчи бобида материаллар, реактивлар, тадқиқотларда қўлланилган асбоб-ускуналарнинг хусусиятлари, тадқиқот босқичлари, фойдаланилган материаллар, ажратиб

олинган полисахаридларнинг тадқиқот усуллари тавсифи, уларни тозалаш усуллари, тузилиши ва молекуляр параметрларини ўрганиш, шунингдек, полисахаридларнинг прототипларини фармакологик текшириш усуллари келтирилган. Олинган маълумотларни статистик қайта ишлаш Microsoft Excel компьютер дастури ёрдамида, умумий қабул қилинган статистик мезонлардан фойдаланган ҳолда амалга оширилди.

Диссертациянинг “Ўсимлик хом-ашёсидан тармоқланган полисахаридларни ажратиб олиш ҳамда уларнинг физик-кимёвий хоссалари ва молекуляр параметрларини ўрганиш” номли учинчи бобида базидиомицетлардан олинган полисахаридларни ажратиб олиш, маданийлаштириш ва тозалаш бўйича тадқиқот натижалари келтирилган. Базидиомицетлардан тармоқланган полисахаридларни ажратиб олиш жараёнида биз базидиомицет хом-ашёсидан полисахаридларни максимал даражада ажратиб чиқишини таъминлаш мақсадида экстракция жараёни учун мақбул шароитларни танлаб олдик. 1-расмда полисахаридларни базидиомицеталардан ажратиб олиш схемаси келтирилган.



1-расм. *Ganoderma lucidum*дан полисахаридларни ажратиб олиш схемаси

Полисахаридларни ажратиб олиш учун 40-50°C ҳароратда доимий оғирликкача қуриштирилган маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиал замбуруғлари мева танасидан фойдаланилди. Базидиал замбуруғлар Тошкент вилоятида табиий ўсиш жойидан йиғиб олинди. *Ganoderma lucidum* штаммини маданийлаштириш ва базидиал замбуруғни етиштириш биология фанлари номзоди И.Мустафаев томонидан ЎЗР ФА Ботаника институтида амалга оширилди.

Хом-ашё липофил моддалар ва қуйи молекуляр аралашмалардан тозалаш мақсадида спирт:хлороформнинг 2:1 нисбатдаги аралашмаси билан экстракция қилинди.

Хом-ашё ёғсизлантирилгандан сўнг сув, кислота ва ишқор билан экстракциялаш орқали сувда, кислотада ва ишқорда эрувчан полисахаридларнинг 3 хил фракцияси ажратиб олинди. Сувда ва ишқорда эрувчан фракциялар паст концентрацияларда рангсиз эритмалар ҳосил қиладиган ва юқори концентрацияларда юқори нисбий қовушқоқликка эга бўлган қовушқоқ эритмалар ҳосил қиладиган жигарранг кукун кўринишида бўлади. 1-жадвалда маданийлаштирилган ва маҳаллий шароитда ўсган базидиомицет хом-ашёсидан ажратилган сувда эрувчан (СЭФ), кислотада эрувчан (КЭФ), ишқорда эрувчан (ИЭФ) фракциялар йиғиндиси ва қуйи молекуляр бирикмалар (ҚМБ) ажратиб олиш натижалари келтирилган.

1-жадвал

**Базидиал замбуруғлардан ажратиб олинган полисахарид фракцияларининг экстракция нумлари**

| № | Базидиал замбуруғ номи                 | ҚМБ, % | СЭП, % | КЭП, % | ИЭП, % | Полисахаридлар суммаси, % | Қолдиқ, % |
|---|--|--------|--------|--------|--------|---------------------------|-----------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i> (табиий) GW   | 3,6    | 15,16  | 1,23   | 2,13   | 18,52                     | 29,75     |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i> (маданий) GWL | 14,39  | 12,47  | 2,54   | 4,65   | 19,66                     | 24,87     |

1-жадвалдан кўринадикки, маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган базидиомицет хом-ашёсидан ажратилган фракцияларнинг умумий таркиби бир-биридан деярли фарқ қилмайди.

2-жадвалда маданийлаштирилган *G. lucidum* замбуруғидан ажратилган фракцияларнинг элемент таркибини аниқлаш натижалари келтирилган.

2-жадвал

**Ажратиб олинган фракцияларнинг элемент таркибини аниқлаш натижалари**

| № | Намуналар                 | №%           | С%            | Н%           |
|---|---------------------------|--------------|---------------|--------------|
| 1 | Кислотада эрувчан фракция | 2,083/ 1,82  | 54,305/53,990 | 7,787/7,931  |
| 2 | Ишқорда эрувчан фракция   | 6,983/6, 703 | 54,305/53,752 | 7,787/ 6/992 |
| 3 | Сувда эрувчан фракция     | 5,273/4,990  | 54,305/55,023 | 7,787/ 6,661 |

2-жадвал маълумотларидан кўринадикки, базидиомицет хом-ашёсидан ажратилган барча фракциялар таркибида азот мавжуд бўлиб, таркибида полисахаридлардан ташқари бошқа моддалар ҳам мавжудлиги, хусусан, меланин, оксил моддалари ва бошқалар полисахаридлар билан биргаликда комплекс ҳолатда бўлиши мумкинлигини кўришимиз мумкин.

Ажратиб олинган фракциялардаги углеводлар миқдори фенол сульфат кислота усули ёрдамида аниқланди.

3-жадвал

**Базидиал замбуруғлардан ажратиб олинган полисахарид фракцияларининг миқдорий таҳлили**

| № | Базидиал замбуруғ номи              | Фракция         | Шифр | Углевод миқдори, % | Аралашмалар, % |
|---|-------------------------------------|-----------------|------|--------------------|----------------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i> (маҳаллий) | Сувда эрувчан   | GW   | 52,74              | 47,26          |
|   |                                     | Ишқорда эрувчан | GSH  | 41,03              | 58,97          |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i> (маданий)  | Сувда эрувчан   | GWL  | 74,0               | 26,0           |
|   |                                     | Ишқорда эрувчан | GSHL | 64,02              | 35,98          |

3-жадвалдан кўринадики, маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган базидиомицет хом-ашёсидаги углеводлар миқдори сувда эрувчан фракцияларда ишқорда эрувчанларига қараганда кўпроқ, мос равишда улар таркибида ишқорда эрийдиган фракцияларга қараганда камроқ аралашмалар мавжуд. GWL ва GSHL маданий хом-ашёсидан олинган намуналарда полисахаридлар миқдори маҳаллий ўсадиган GW хом-ашёсидан олинган полисахаридлар миқдоридан 30% га ортиқ.

Полисахарид фракцияларининг ИҚ-спектрлари ўрганилганда  $3300\text{ см}^{-1}$ ,  $2950\text{ см}^{-1}$ ,  $1600\text{ см}^{-1}$ ,  $1420\text{-}1380\text{ см}^{-1}$ ,  $1200\text{-}750\text{ см}^{-1}$  соҳаларда полисахаридларга хос ютилишлар кузатилди.  $1200\text{-}950\text{ см}^{-1}$  соҳасида C-O ва C-C боғланишларига хос бўлган валент тебранишларининг ютилиш интенсивликлари аниқланди. ИҚ-спектрнинг яқин соҳаси (аномер соҳа) полисахариднинг тузилиши ҳақида энг кўп маълумот беради, макромолекуладаги боғланиш йўналиши ва турини, шунингдек полимернинг конформацион ва конфигурацион хусусиятларини тавсифловчи боғларнинг мавжудлиги билан характерланади. Ушбу соҳада полисахаридларнинг структуравий фарқлари жуда аниқ кўринади. Полисахариднинг  $898\text{-}900\text{ см}^{-1}$  соҳада  $\beta$ -тип боғланишларга хос ( $\beta$ - (1-3),  $\beta$ - (1-6)) бўлган ютилишлари кузатилди.

Кейинги тадқиқотлар сувда эрувчан полисахарид фракцияларида олиб борилди.

**Сувда эрувчан полисахарид фракцияларини тозалаш.** Базидиомицетлардан ажратиб олинган полисахаридлар таркибида ноорганик тузлар, моносахаридлар, олигосахаридлар, кичик молекуляр массали кутбсиз моддалар ва юқори молекуляр массали органик аралашмалар (масалан, оксиллар, меланин) мавжуд.

Полисахаридларнинг тузилиши ва биологик фаоллигини ўрганиш учун тозаланган фракциялардан фойдаланиш лозим. Шунинг учун сувли фракциялар 2-расмда кўрсатилган схема бўйича оксилсизлантирилиб сўнгра ион алмашиниш ва гель хроматография усуллари билан кўшимча тозalandи.



2-расм. Полисахаридларнинг сувда эрувчан фракцияларини тозалаш схемаси

Полисахаридларни ион алмашиниш хроматографияси усулида тозалангандан сўнг икки хил GWL-1 ва GWL-2 полисахарид фракциялари олинди. Бунда GWL-1 нейтрал полисахаридлар 29,85%, анион полисахаридлар GWL-2 унуми эса 4,19 % ни ташкил этди.

Маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган хом-ашё нейтрал ва анион полисахарид унумлари таққосланганда, унумлар фарқи 1,5% ни ташкил этади, яъни натижалар кам фарқ қилади. Дастлабки полисахарид фракцияларининг гомогенлигини аниқлаш, шунингдек кейинги тадқиқотларда углевод занжирининг таркибини ва тузилишини ўрганиш мақсадида уларни мавжуд аралашмалардан тозалаш учун гель хроматографияси Сефадекс G-75 да олиб борилди. Ажратиш жараёнида ҳар бир полисахарид намунаси бир хил табиатли полисахаридлардан иборат эканлиги аниқланди.

Ион алмашиниш хроматографиясидан сўнг полисахаридлар унуми 25,71%, 29,85% нейтрал ва 5,26%, 4,19% анион полисахаридларни (оқсил ва фенол бирикмаларининг аралашмаларидан тозалаш), гель хроматографиясидан сўнг эса (молекуляр оғирликлари бўйича ажратиш ва кейинчалик тозалаш) полисахаридлар миқдори 94,27% ва 96,31% ни ташкил этди.

Полисахаридлар тозалангандан сўнг намуналар таркибидаги углевод миқдори фенол-сульфат кислота усули ёрдамида аниқланди. 4-жадвалда полисахарид фракцияларининг тозалангандан кейинги углеводлар миқдори келтирилган.

4-жадвал

**Полисахаридларнинг фракциялашдан кейинги умумий углевод миқдори (%)**

| № | Базидиал замбуруғ номи              | Эритувчи  | Шифр  | Полисахарид миқдори, % | Аралашмалар, % |
|---|-------------------------------------|-----------|-------|------------------------|----------------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i> (маҳаллий) | Сув       | GW-1  | 99,41                  | 0,59           |
|   |                                     | 0,1M NaCl | GW-2  | 65,01                  | 34,99          |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i> (маданий)  | Сув       | GWL-1 | 99,32                  | 0,68           |
|   |                                     | 0,1M NaCl | GWL-2 | 79,54                  | 20,46          |

4-жадвалдан кўринадикки, нейтрал фракциялардаги углеводлар миқдори анион фракцияларга нисбатан кўпроқ. Бунинг сабаби, анион фракциялар таркибида полисахаридга комплекс ҳолатида боғланган маълум миқдорда оқсил ёки меланин мавжудлиги билан боғлиқ. Маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган хом-ашёлар таркибидаги полисахаридларнинг нейтрал фракциялари таркиби деярли бир хил эканлиги аниқланди.

Кейинги тадқиқотларда ажратиб олинган фракцияларнинг молекуляр оғирлик хусусиятлари гель фильтрация усули ёрдамида аниқланди. Натижалар сувли фракция намуналарининг (GW, GW1,2, GWL, GWL1,2) молекуляр оғирлиги 9800-17700 Да, ММТ 1,2-1,5 оралиғида эканлигини кўрсатди. Маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган хом-ашё намуналари молекуляр оғирлиги бўйича бир-биридан деярли фарқ қилмайди.

Тадқиқотлар ажратиб олинган фракцияларнинг моносахарид таркибини аниқлаш билан давом эттирилди. Полисахаридларнинг моносахарид

таркибини аниқлаш натижалари 5-жадвалда келтирилган. Тадқиқот натижалари полисахарид намуналари таркибида минор миқдорда фруктоза, рамноза, ксилоза, манноза ва галактоза қолдиқлари мавжудлигини кўрсатди.

GW-1 ва GW-2, GWL-1, GWL-2 полисахаридлари асосан глюкоза қолдиқларидан иборат бўлиб, улар таркибида бошқа моносахаридлар кам миқдорда бўлгани сабабли улар асосий тузилишга киритилмади.

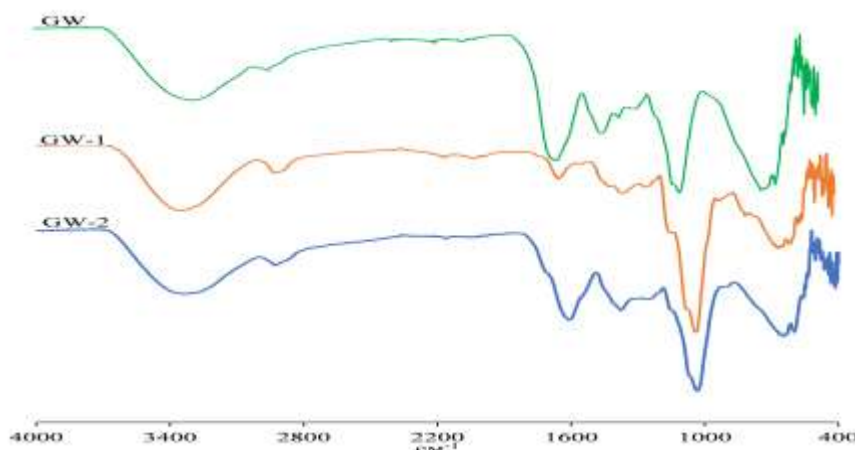
5-жадвал

**Ажратиб олинган полисахарид намуналарининг моносахарид таркиби**

| Намуналар | Моносахарид таркиб, % |      |     |     |      |      |       |     |
|-----------|-----------------------|------|-----|-----|------|------|-------|-----|
|           | Fruc                  | Rha  | Rib | Ara | Xyl  | Man  | Glc   | Gal |
| GW-1      | 7,41                  | 1,8  | -   | -   | 3,70 | 2,2  | 84,89 |     |
| GW-2      | 6,24                  | 2,3  | -   | -   | 2,2  | 3,13 | 86,13 | -   |
| GWL-1     | 5,6                   | 0,55 | -   | -   | 0,58 | 1,73 | 91,54 |     |
| GWL-2     | 3,4                   | 1,5  | -   | -   | 3,5  | 4,57 | 85,83 | 1,2 |

5-жадвалдан кўринадикки, маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган замбуруғ мева таналарининг моносахарид таркиби деярли бир хил.

Полисахаридлар тузилишини кейинги таҳлиллари учун ажратилган фракциялар ИҚ-спектроскопия усулида ўрганилди.



**3-расм. Полисахарид намуналарининг тозаланмаган (GW) ва тозаланган (GW-1, GW-2) фракциялари ИҚ-спектрлари**

Тадқиқ этилаётган намуналарнинг ИҚ-спектрларида β-глюканларга ва меланинларга хос бўлган барча ютилиш интенсивликлари аниқланган: 2900 см<sup>-1</sup> соҳада полисахаридларнинг О-Н боғлари ва меланинларнинг N-Н боғлари учун, 2850-2900 см<sup>-1</sup> оралиғидаги ютилиш интенсивлиги полисахаридларнинг С6 углерод атомидаги С-Н боғлар валент тебранишларига мос келади. 1460-1650 см<sup>-1</sup> оралиғида меланин ароматик ҳалқасининг С=С боғлари ва карбоксил гуруҳининг С=О боғлари валент тебранишларига мос келувчи ютилиш интенсивлиги кузатилди. 1170-1350 см<sup>-1</sup> соҳада полисахаридларга ва карбоксил гуруҳининг С-О боғларига мос келувчи ютилиш интенсивликлари аниқланди. Спектрларда полисахаридларнинг глюкопираноза ҳалқасидаги С-О-С боғланишларининг валент тебранишларига мос келувчи ютилиш интенсивликлари 1050-1150 см<sup>-1</sup> оралиғида аниқланди. 500-650 см<sup>-1</sup> соҳаларда

C-H боғланишининг ҳар хил турдаги тебранишларига хос бўлган ютилиш интенсивликлари мавжуд (3-расмга мувофиқ). 3-расмдан кўринадик, GW-1, GW-2 тозаланган фракцияларда 1660 см<sup>-1</sup> соҳада ютилиш интенсивлигини камайиши кузатилади, бу намуналар меланиндан тозаланганлигини кўрсатади.

β-D-глюканларнинг тузилиши (тармоқланиши) газ хроматография масс спектрометрияси (ГХ-МС) усулида аниқланди.

Моносахаридларнинг полисахаридлардаги боғланиш турлари метиллаш ёрдамида аниқланди. Перметилланган альдитол ацеталлари фрагментациясининг ўзига хослиги ва характери масс спектрлари ва ГХ даги нисбий ушлаб туриш вақти ёрдамида аниқланди. Метилланган қандларнинг фоизи чўққи майдонининг нисбатига кўра баҳоланди. Перметилланган альдитол ацеталларининг ГХ-МС таҳлили б-жадвалда келтирилган.

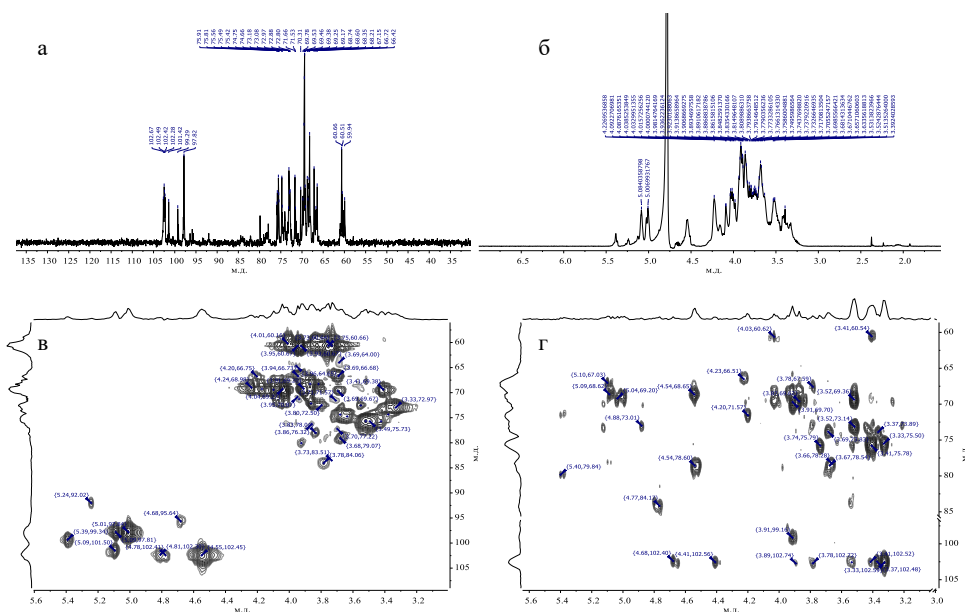
б-жадвал

**Маҳаллий ва маданий *Ganoderma l.* дан ажратиб олинган GW-1 ва GWL-1 метилланган полисахаридларининг ГХ-МС таҳлил натижалари**

| Метилланган қанд              | Гликозид боғлар      | GW-1         | GWL-1 | Асосий массавий фрагментлар ( <i>m/z</i> )  |
|-------------------------------|----------------------|--------------|-------|---|
|                               |                      | Моляр нисбат |       |   |
| 2,3,4,6-Me <sub>4</sub> -GlcP | 1-боғланган GlcP     | 3,0          | 2,0   | 43,45,71,87,102,118,129,145,161,162,205     |
| 2,4,6-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,3-боғланган GlcP   | 1,0          | 3,0   | 43,45,71,87,101,118,129,161,174,217,234,277 |
| 2,3,6-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,4--боғланган GlcP  | 1,0          | 1,0   | 43,45,71,87,102,113,118,129,162,173,233,277 |
| 2,3,4-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,6-боғланган GlcP   | 1,0          | 3,0   | 43,59,71,87,99,102,118,129,162,189,233      |
| 2,3-Me <sub>2</sub> -GlcP     | 1,4,6-боғланган GlcP | 1,0          | 1,0   | 43,85,102,118,127,162,201,261,305           |
| 2,4-Me <sub>2</sub> -GlcP     | 1,3,6-боғланган GlcP | 2,0          | 1,0   | 43,87,102,118,129,189,234,305               |

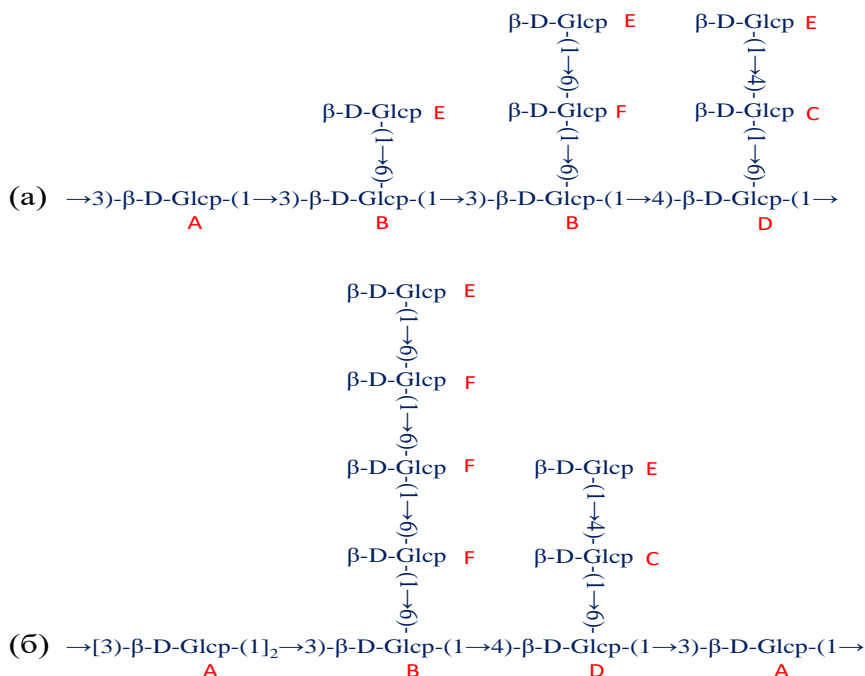
GW-1 ва GWL-1 полисахаридларидаги қолдиқлар 3,0: 1,0: 1,0: 1,0: 1,0: 2,0 ва 2,0: 3,0: 1,0: 3,0: 1,0: 1,0 моляр нисбатларда эканлиги аниқланди. Натижалар ажратиб олинган ва тозаланган полисахаридлар (1,4,6)- ва (1,3,6) - боғланган глюкопираноза қолдиқларидан ташкил топган β-глюкан типдаги полисахаридлар эканлигини кўрсатди.

Кейинги тадқиқотларда маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган базидиомицет хом-ашёларидан ажратиб олинган GW-1 ва GWL-1 полисахаридларининг тузилиши ва моносахарид кетма-кетлиги бир ўлчамли (<sup>13</sup>C ЯМР, <sup>1</sup>H ЯМР) ва икки ўлчамли (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) ЯМР-спектроскопия усуллари ёрдамида ўрганилди. GW-1 ва GWL-1 намуналарнинг <sup>1</sup>H ЯМР спектрларида ҳар иккала полисахарид ҳам 4,42-5,09 м.у. да олти аномер сигналларга эга бўлиб, бу ушбу полисахаридларнинг глюкопиранозил бирликлари β-конфигурацияга эга эканлигини кўрсатади. Ушбу натижалар ИҚ-спектроскопия таҳлили натижаларига мос келади. Бундан ташқари, полисахаридларнинг моносахарид қолдиқлари β-конфигурацияси <sup>13</sup>C ЯМР спектрлари билан тасдиқланади, 97,84-102,75 м.у. да C-1 атомлари учун характерли бўлган сигналлар кузатилди.



**4-расм. GW-1 полисахариднинг  $^{13}\text{C}$  ЯМР (а),  $^1\text{H}$  ЯМР (б), HSQC (в) ва HMBC (г) спектрлари**

Метиллаш, 1D ва 2D ЯМР-спектроскопик тадқиқотлар натижалари асосида GW-1 ва GWL-1 полисахаридлардаги моносахарид қолдиқларнинг боғланиш тартиби, боғланиш кетма-кетлиги ва тузилиши аниқланди. 5-расмда GW-1 ва GWL-1 полисахаридларнинг боғланиш тартиби, боғланиш кетма-кетлиги ва тузилишлари келтирилган.



**5-расм. Моносахаридларнинг боғланиш тартиби, кетма-кетлиги ва полисахаридларнинг тузилиши GW-1 (а), GWL-1 (б)**

GW-1 ва GWL-1 полисахаридларнинг аниқланган структуралари  $\beta$ -глюкан типидagi тармоқланган полисахаридлар эканлигини кўрсатди. Полисахарид занжирида тармоқланиш 1,3,6-Glcp ва 1,4,6-Glcp қолдиқлари



ҳисобига содир бўлади. Аммо натижалар полисахаридлар занжиридаги тармоқланиш нуқталарининг бир хил эмаслигини, полисахаридларнинг ҳар хил тармоқланиш даражаларига эга эканлигини кўрсатди. GW-1 ва GWL-1 полисахаридлари 0,75 ва 0,40 тармоқланиш даражасига эга эканлиги аниқланди. GWL-1 да тармоқланиш даражасининг пасайишига қарамай, полисахарид занжирида GW-1 га қараганда кўпроқ миқдорда 1,3-Glcp ва 1,6-Glcp қолдиқлар сақлайди.

Тадқиқотлар натижасида маҳаллий базидиомицетлар асосида  $\beta$ -D-глюканларнинг қуйидаги хусусиятлари аниқланди:

-тузилиш тадқиқотлари натижасида олинган полисахаридлар асосан  $\beta$ -1,4/1,3-глюкозид боғига эга бўлган ва тармоқланган бир ёки бир неча  $\beta$ -1,6-глюкозид боғлари билан боғланган  $\beta$ -1,3/6- тармоқланган глюкан тузилишидан иборат эканлиги аниқланди;

-элемент таҳлили, ИҚ- ва УБ-спектроскопия усуллари ёрдамида олинган намуналарнинг физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди. Олинган тармоқланган полисахарид фракцияларининг тозалик даражаси аниқланди. Ажратиб олинган полисахарид намуналарининг таркиби ва молекуляр тузилиши газ хроматография, ИҚ-, бир ўлчамли ( $^{13}\text{C}$  ЯМР,  $^1\text{H}$  ЯМР) ва икки ўлчамли (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) ЯМР-спектроскопия усуллари билан аниқланди;

табиий шароитда ўсган базидиал замбуруғидан ажратиб олинган MM=12300 (GW сувли фракция), тармоқланган тузилишга эга бўлган  $\beta$ -D-глюкан иммун тизими рецепторларига комплементар таъсир этувчи биологик фаол қўшимча сифатида келгуси тадқиқотлар учун таклиф қилинди.

Диссертациянинг «**Маҳаллий шароитда ўсадиган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum*дан ажратиб олинган  $\beta$ -D-глюканларнинг биологик фаоллигини ўрганиш**» деб номланган тўртинчи бобида  $\beta$ -D-глюканлар асосида олинган макромолекуляр тизимларнинг ўсмага қарши фаолликлари *in vitro* ва *in vivo* шароитида ҳамда фармакотоксикологик хусусиятларига оид тадқиқот натижалари келтирилган.

Тармоқланган полисахаридларнинг биологик фаоллигини тахмин қилиш мақсадида компьютер моделлаштириш ёрдамида уларнинг иммун ҳужайра рецептори билан ўзаро таъсири ўрганилди. Ҳисоблашларда молекуляр механика, квант-кимёси, молекуляр динамика, кластерларни таҳлил қилиш ва потенциал функциялар усулларидан фойдаланган ҳолда физик-кимёвий ўзаро таъсирларни кўп ўзгарувчан таҳлиliga асосланиб, ўзаро таъсир қилувчи заррачалар молекуляр докинг усуллари ишлатилди. Ҳисоблашларда  $\beta$ -D-глюканларнинг тегишли комплементарлик намоён этиши, 1,6 гексоза тутган  $\beta$ -D-глюканларнинг, айниқса диалмашинган тармоқланган занжирлари водород, ван-дер-ваальс ва бошқа боғланишлар ҳисобига дектинлар билан боғланиши аниқланди ва бу иммун тизимининг кейинги реакциясини кўрсатади (хусусан, тармоқланган полисахариднинг иммун тизимининг тегишли ферментлари томонидан парчаланиши).

$\beta$ -D-глюканларни иммунитетнинг гуморал ва ҳужайра кўрсаткичларига таъсирини ўрганишда тадқиқотлар 0,5; 5,0; 25,0 ва 50,0 мг/кг дозаларда олиб

борилди. Сичқонларда иммунитетнинг марказий (тимус, суяк илиги) ва периферик (талок, лимфа тугунлари) органларидаги хужайралар сонига препаратларнинг таъсири ўрганилди.

Полисахаридларнинг ўсмали сичқонларда иммунитет органларидаги хужайралар сонига таъсирини таҳлил қилиш асосида ўсманинг ўсиши билан суяк илигидаги хужайралар сонининг ўзгармаслиги, тимусда камайиши, талок ва лимфа тугунларида эса, аксинча кўпайиши аниқланди, яъни  $\beta$ -D-глюканлар иммунитет тизимидаги хужайралар сонини тиклаши мумкин.

Шундай қилиб, маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган базидиал замбуруғ  $\beta$ -D-глюканлари организм иммун тизимига жавоб берувчи хужайралар миқдорини рағбатлантиради.  $\beta$ -D-глюканнинг антитела ҳосил бўлиш жараёнига, иммунитетнинг марказий ва периферик органларидаги хужайралар массаси ва сонига аниқланган иммуностимулловчи таъсири унинг иммуномодулловчи хусусиятидан дарак беради.

Кейинги тадқиқотларда  $\beta$ -D-глюканларнинг ўсмага қарши фаоллиги *in vitro* шароитида текширилди.

7-жадвал

**Полисахаридларнинг КМЛ ва HeLa хужайра линияларига таъсири**

| Доза, мкг<br>Намуналар | Хужайра ўсишини ингибирлаши %<br>КМЛ |      |      | Хужайра ўсишини ингибирлаши %<br>HeLa |      |      |
|------------------------|--------------------------------------|------|------|---------------------------------------|------|------|
|                        | 100                                  | 10   | 1    | 100                                   | 10   | 1    |
| GW                     | 18,2                                 | 11,4 | 6,5  | 14,6                                  | 9,2  | 8,1  |
| GWL                    | 17,5                                 | 7,9  | 5,8  | 16,5                                  | 11,2 | 10,0 |
| Цисплатин              | 96,0                                 | 53,9 | 49,3 | 87,8                                  | 54,2 | 51,5 |

7-жадвалдан кўринадикки, *Ganoderma lucidum* базидиомицет хом-ашёсидан ажратиб олинган сувда эрувчан полисахаридлар тўғридан-тўғри цитотоксик таъсирга эга эмас.

Шунингдек  $\beta$ -D-глюканларнинг ўсмага қарши *in vivo* фаоллиги Эрлих аденокарциномаси штаммида (*solid Ehrlich tumor model*) ўрганилди.

Тадқиқот натижалари (8-жадвал) маданийлаштирилган базидиомицет хом-ашёсидан (GWL) ажратиб олинган  $\beta$ -D-глюкан маҳаллий хом-ашёдан олинган  $\beta$ -D-глюканга (59,34 % ва 60,21% ҳажми бўйича ва оғирлиги бўйича) солиштирилганда ўсманинг ўсишини 63,82% (ҳажми бўйича) ва 64,96% (оғирлиги бўйича) ингибирлашини кўрсатди.  $\beta$ -D-глюкан концентрациясининг ортиши билан ўсманинг ингибирлаш даражаси 24,5% дан 72,14% гача кўтарилади. Маданийлаштирилган базидиомицет хом-ашёсидан (GWL) ажратиб олинган  $\beta$ -D-глюкан, маҳаллий хомашёдан (GW) олинган  $\beta$ -D-глюкан билан солиштирилганда ўсманинг ўсишини 25 мг/кг концентрациясида яхшироқ ингибирлайди. Тадқиқот натижаларида намуналарнинг ўсма ўсишини ингибирлаши оғиз орқали ва қорин бўшлиғига юборилганда деярли фарқ қилмаслигини кўрсатди. Шундай қилиб, GWL ва GW  $\beta$ -D-глюканлари ўсманинг ўсишини ингибирлаш, яъни ўсмага қарши фаолликка эга эканлиги аниқланди.

**Маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган базидиомицет хомашёсидан ажратиб олинган полисахарид намуналари сувда эрувчан фракциялари β-глюканларининг ўсмага қарши фаоллигини *in vivo* шароитида ўрганиш натижалари**

| Гуруҳлар             | Доза<br>мг/<br>кг | Хайвон<br>сони/<br>ўлим | Хайвон массаси, г     |                       | Ўсма<br>хажми, см <sup>3</sup> | Ўсма<br>массаси, г | Талоқ<br>массаси,г | Жигар<br>массаси,г | Ингибирлаш<br>даражаси, % |                 |
|----------------------|-------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|-----------------|
|                      |                   |                         | Таъриба-<br>дан олдин | Таъриба-<br>дан кейин |                                |                    |                    |                    | Хажм<br>бўйича            | Масса<br>бўйича |
| Ўсмали<br>назорат    |                   | 7/0                     | 27,29±9,75            | 23,00±9,00            | 5,34±3,72                      | 3,00±2,23          | 0,35±0,11          | 1,41±0,66          | 0,00                      | 0,00            |
| GW                   | 25                | 5/0                     | 19,05±3,51            | 18,34±3,43            | 2,23±3,23                      | 1,12±1,23          | 0,19±0,10          | 1,34±0,22          | 59,34±2,45                | 60,21±1,18      |
| GWL                  | 25                | 5/1                     | 25,76±4,50            | 20,75±2,50            | 1,93±0,59                      | 1,05±0,52          | 0,23±0,07          | 1,53±0,40          | 63,82±2,71                | 64,96±2,98      |
| Ўсмали<br>назорат    |                   | 5/1                     | 22,66±2,05            | 17,95±2,20            | 2,44±1,53                      | 1,26±0,80          | 0,29±0,08          | 1,63±0,53          | 0,00                      | 0,00            |
| GWL                  | 2                 | 5/0                     | 21,74±4,70            | 19,47±3,50            | 1,84±1,12                      | 0,983±1,01         | 0,26±0,06          | 1,50±0,41          | 24,54±1,67                | 21,71±2,35      |
| GWL                  | 10                | 5/0                     | 20,76±3,65            | 20,00±5,00            | 1,77±1,09                      | 0,957±0,98         | 0,38±0,09          | 1,40±0,13          | 27,42±1,67                | 23,79±3,21      |
| GWL                  | 25                | 5/0                     | 22,80±4,30            | 22,54±2,90            | 0,80±0,69                      | 0,52±0,35          | 0,35±0,09          | 1,66±0,16          | 67,13±2,81                | 58,26±1,95      |
| GWL                  | 50                | 5/0                     | 19,91±5,69            | 23,24±5,70            | 0,68±1,12                      | 0,49±0,56          | 0,37±0,04          | 1,70±0,56          | 72,14±3,28                | 60,74±2,51      |
| Ўсмали<br>назорат    |                   | 5/1                     | 22,66±2,05            | 17,95±2,2             | 2,44±1,53                      | 1,26±0,80          | 0,29±0,08          | 1,63±0,53          | 0,00                      | 0,00            |
| GW оғиз<br>орқали    | 25                | 6/0                     | 24,78±4,25            | 22,08±6,75            | 1,098±1,04                     | 0,674±0,35         | 0,18±0,10          | 1,30±0,55          | 55,04±1,25                | 46,26±0,54      |
| GW қорин<br>бўшлиғи  | 25                | 5/0                     | 23,2±5,45             | 22±5,5                | 0,916±0,94                     | 0,572±0,31         | 0,36±0,08          | 1,53±0,49          | 62,53±3,78                | 54,43±3,81      |
| GWL оғиз<br>орқали   | 25                | 5/1                     | 25,76±4,50            | 20,75±2,50            | 0,897±0,59                     | 0,535±0,23         | 0,23±0,07          | 1,53±0,40          | 63,28±3,34                | 57,38±1,24      |
| GWL қорин<br>бўшлиғи | 25                | 5/0                     | 22,8±4,3              | 22,54±2,9             | 0,80±0,69                      | 0,52±0,35          | 0,35±0,09          | 1,66±0,16          | 67,13±2,14                | 58,26±2,98      |

Шунингдек, олинган полисахаридларнинг фармакотоксикологик тадқиқотлари олиб борилди.

Полисахаридларнинг ўткир заҳарлилигини ўрганиш шуни кўрсатдики, GW ва GWL препаратларини сичқонларга оғиз орқали киритилганда LD<sub>50</sub> ≥6000 мг/кг дан юқори бўлди. Бу намуналар оғиз орқали юборилганда деярли заҳарли бўлмаган бирикмаларнинг V синфига киради.

Сурункали заҳарлиликни ўрганиш натижалари шуни кўрсатдики, ушбу гуруҳ хайвонларининг барча кўрсаткичлари кузатув давомида назоратдан сезиларли даражада фарқ қилмаган.

### Хулосалар

1. Илк бор маҳаллий шароитда ўсган ва маданийлаштирилган *Ganoderma lucidum* базидиомицет хом-ашёларидан тармоқланган полисахаридлар ажратиб олинди. Ажратиб олинган фракциялар оқсиллар, меланинлар ва бошқа бирикмалар билан комплекс ҳолатдаги тармоқланган полисахаридлар сақлашини кўрсатди. Ажратилган фракцияларнинг кимёвий таркиби тавсифланди.

2. Ажратиб олинган β-D-глюканларнинг физик-кимёвий хусусиятлари ва тузилиш тавсифи ўрганилди. β-D-глюканларнинг макромолекуляр тузилиши β-1,3-, қисман β-1,4-гликозид боғи орқали боғланган ангидроглюкопираноза бирлигидан, тармоқланган қисми эса β-1,3- ва (α- ёки β)-1,6-гликозид боғи орқали боғланган β-D-глюкоза қолдиқларидан иборат эканлиги аниқланди. Маҳаллий шароитда ўсган замбуруғ β-D-

глюканларининг (GW) тармоқланиш даражаси 0,75, маданийлаштирилган замбуруғ  $\beta$ -D-глюканлари (GWL) учун эса 0,40 қийматларда бўлиши исботланди.

3.  $\beta$ -D-глюканларнинг иммун тизими рецепторлари билан ўзаро таъсирини компьютер моделлаштириш орқали улар орасида, хусусан 1,6 гексоза тутувчи тармоқланган макромолекулалар ва Dectin-1 рецепторлари ўртасида ўзаро комплементарлик мавжудлиги аниқланди.

4. *In vitro* шароитида олиб борилган тадқиқотларда  $\beta$ -D-глюканларнинг КМЛ ва *HeLa* ўсма хужайраларига цитотоксик таъсир кўрсатмаслиги аниқланди. *In vivo* тадқиқотларда эса  $\beta$ -D-глюканларнинг иммуномодуллашчи фаоллик кўрсатиши ва бунда лейкоцитлар, Т- ва В-лимфоцитлар, Т-супрессорлар ҳамда CD16, CD25 хужайралари умумий микдорининг сезиларли ортиши аниқланди.

5.  $\beta$ -D-глюканларнинг ўсмага қарши фаоллиги *in vivo* шароитида ўрганилди. Натижада GW ўсманинг ўсишини 59,64% (ҳажми бўйича) ва 60,21% (оғирлиги бўйича), GWL эса 63,82% (ҳажми бўйича) ва 64,96%га (оғирлиги бўйича) ингибирлаши аниқланди. Макромолекула тармоқланиш даражасининг ортиши билан ўсмага қарши фаоллиги ортиши ва  $\beta$ -D-глюканлар иммун тизими орқали таъсир кўрсатиши аниқланди.

6. Фармакотоксикологик тадқиқотлар  $\beta$ -D-глюканлар заҳарли бўлмаган бирикмаларнинг V синфига кириши, LD<sub>50</sub> мос равишда 6000 мг/кг ни ташкил қилиши ҳамда  $\beta$ -D-глюканнинг сурункали заҳарлилиги йўқлигини кўрсатди. Олинган натижалар асосида  $\beta$ -D-глюканларни ўсма касалликларини даволаш ва олдини олиш учун биологик фаол қўшимча сифатида тавсия этиш мумкинлиги кўрсатилди.

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

---

**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**ХАЛИЛОВА ГУЛНОЗА АБДУВАХАБОВНА**

**СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ  
β-ГЛЮКАНОВ ИЗ БАЗИДИОМИЦЕТОВ**

**02.00.10 - Биоорганическая химия**

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

**Ташкент – 2021**

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2021.2.PhD/K212.

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)).

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>Научный руководитель:</b>  | <b>Тураев Аббасхан Сабирханович</b><br>доктор химических наук, академик  |
| <b>Официальные оппоненты:</b> | <b>Рахмонбердиев Гаппар Рахмонбердиевич</b><br>к.и.м. фанлари доктори, профессор<br><b>Абдулладжанова Нодира Гуломжоновна</b><br>к.и.м. фанлари доктори, профессор |
| <b>Ведущая организация:</b>   | <b>Узбекский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт</b>   |

Защита диссертации состоится «15» 07 2021 года в 12<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/V.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 № 239). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан «2» июня 2021 г.  
(реестр протокола рассылки № «1» от 2 июня 2021 г).



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

**Ш.А.Шомуротов**  
Ученого секретаря Научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.х.н.

**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 проводится множество исследований по извлечению биологически активных веществ из природного сырья, определению их химической структуры, биологической активности и применению их на практике. Большинство лекарственных средств, используемых в медицинской практике, получают из растений. Спрос на лекарства, получаемые из природных источников, в том числе из растений, возрастает с каждым днем, потому что, несмотря на быстрое и эффективное действие препаратов, полученных путем синтеза, их постоянное употребление может привести к различным неблагоприятным явлениям в организме. Поэтому важным является извлечение физиологически активных веществ из природных источников и создание новых эффективных лекарственных препаратов для медицины.

На сегодняшний день в мире ведутся научные исследования по поиску природных источников, богатых биологически активными соединениями, по выделению из них биологически активных веществ, а также по определению их структуры и биологической активности. В связи с этим особое внимание уделяется разработке методов выделения биологически активных веществ из базидиальных грибов (*Ganoderma lucidum* (Curt Fr.)), являющихся одним из перспективных объектов, определению структуры и биологической активности полученных биологически активных соединений, а также созданию лекарственных средств на их основе, обладающих иммуномодулирующей и противоопухолевой активностями.

В нашей Республике принимаются комплексные меры по созданию импортозамещающих лекарств из природных источников для обеспечения населения качественными лекарствами. В частности, ученые нашей страны достигают определенных научных результатов в выделении биологически активных полисахаридов из природных источников, определении их химической структуры и свойств, на основе которых создаются эффективные препараты с минимальными побочными эффектами. Четвертое направление Стратегии действий ставит важные задачи по «дальнейшему развитию фармацевтической отрасли, улучшению снабжения населения и медицинских учреждений дешевыми и качественными лекарствами и медикаментами, принятию мер по предотвращению роста цен на лекарства»<sup>2</sup>. В связи с этим важно производить высокоэффективные лекарства из природных источников и обеспечивать население дешевыми и качественными лекарствами.

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 пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы», УП-5229 от 7 ноября 2017 года «О мерах по коренному

---

<sup>2</sup> Указ Президента Республики Узбекистан № ПФ-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы»

совершенствованию системы управления фармацевтической отраслью», в Постановлении № PQ-3532 от 14 февраля 2018 г «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологий в республике.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики, предусмотренными в VI разделе «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** Результаты анализа литературных данных показывают, что целенаправленные исследования по изучению структуры, свойств разветвленных полисахаридов из базидиальных грибов и изучению их биологической активности, выделению из базидиомицетов биологически активных веществ внесли ученые Shi L., Abe.M., Liu Y., Nie S., Wasser S., Tao Y., Meng X., Ferreira S., Alzorqi I., Ookushi Y. Большинство работ по поиску и выделению биологически активных веществ из дикорастущего гриба *Ganoderma lucidum* проведены Zhang M., Bao X., Pan D., Бабицкой В., Kozarski M. и другими. В результате разработаны многочисленные запатентованные формулы биологически активных добавок, чаев и тонизирующих напитков на основе плодовых тел гриба. Однако немногочисленны исследования по влиянию  $\beta$ -D-глюканов на иммунную систему организма.

В нашей стране научные исследования по выделению биологически активных 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 Тураева А.С., академика Рашидовой С.Ш., профессора Сарымсакова А.А. и профессора Рахманбердиева Г.Р.

**Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения.** Диссертация выполнена в рамках плана научно-исследовательских работ Института биоорганической химии АН РУз по проектам: № ТА-ФА-Ф6-003 «Исследование комплементарных взаимодействий  $\beta$ -D-глюканов, галактоманнанов и их модифицированных аналогов с лектинами клеток, с целью создания противоопухолевых препаратов направленного действия» (2017-2020 г.)

**Целью исследования** является выделение разветвленных полисахаридов из местнорастущего и культивируемого базидиального гриба - *Ganoderma lucidum*, определение их физико-химических свойств, макромолекулярной структуры и биологической активности.

**Задачи исследования:**

выделение  $\beta$ -D-глюканов из местнорастущего и культивируемого базидиального гриба *Ganoderma lucidum* и их очистка;



исследование физико-химических свойств и установление макромолекулярной структуры (разветвленности)  $\beta$ -D-глюканов;

молекулярное моделирование взаимодействия рецептора Дектин-1 с  $\beta$ -D-глюканами методом стыковочных расчетов с использованием пакета программы AutoDock Gasteiger;

исследование в эксперименте *in vitro* на культурах раковых клеток *КМЛ*, *HeLa* противоопухолевой активности  $\beta$ -D-глюканов;

исследование влияния  $\beta$ -D-глюканов на клеточный и гуморальный иммунитет;

исследование в эксперименте *in vivo* противоопухолевой активности  $\beta$ -D-глюканов, на культурах раковых клеток аденокарциномы Эрлиха.

**Объектами исследования** являются местнорастущий и культивируемый базидиальный гриб *Ganoderma lucidum*, собранный в местах естественного произрастания на территории Узбекистана в Бустанлыкском районе.

**Предметом исследования** являются  $\beta$ -D-глюканы, обладающие разветвленной структурой, выделенные из базидиомицетного сырья, изучение их макромолекулярной структуры - разветвленности, молекулярных параметров и влияние их на иммунную систему организма и установление биологической активности.

**Методы исследования.** При выполнении диссертационной работы использованы биоорганические химические методы (экстракция, очистка, разделение), элементный анализ, газ хроматография масс спектрометрия (ГХ-МС), УФ-, ИК-, одномерная ( $^{13}\text{C}$  ЯМР,  $^1\text{H}$  ЯМР), двумерная ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC) ЯМР-спектроскопия, определение противоопухолевой активности (*in vitro*, *in vivo*) и фармакотоксикологические методы исследования.

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

впервые из местнорастущих и культивируемых базидиальных грибов *Ganoderma lucidum* выделены  $\beta$ -D-глюканы и доказаны физико-химические свойства и макромолекулярные структуры выделенных  $\beta$ -D-глюканов методами ГХ-масс спектрометрии, УФ-, ИК-Фурье и ЯМР –спектроскопией;

впервые путем молекулярного моделирования посредством стыковочных расчетов определено взаимодействие рецепторов дектин-1 с  $\beta$ -D-глюканами и установлена комплементарность  $\beta$ -D-глюканов;

выявлена противоопухолевая активность  $\beta$ -D-глюканов в условиях *in vitro* (на культурах раковых клеток *КМЛ*, *HeLa*) и *in vivo* (на культурах раковых клеток аденокарциномы Эрлиха);

доказано, что противоопухолевая активность  $\beta$ -D-глюканов связана с их воздействием на клеточный и гуморальный иммунитет.

**Практические результаты исследования** состоят в следующем:

определены химический состав местнорастущих и культивируемых базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*;

выделены  $\beta$ -D-глюканы из местнорастущих и культивируемых базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*, определены их структура, молекулярные характеристики;

были идентифицированы иммуномодулирующие свойства  $\beta$ -D-глюканов и выявлено их положительное влияние на увеличение количества лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, V-лимфоцитов, клеток CD16 и CD25 и Т-супрессоров в организме;

было установлено, что  $\beta$ -D-глюканы, выделенные из базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*, подавляют рост опухоли (69,82% по объему; 61,87% по весу).

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что они получены с применением современных физико-химических методов исследований. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи критерия Стьюдента с вычислением граничных значений доверительного интервала средних значений.

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

Научная значимость результатов исследования объясняется тем, что разветвленные полисахариды –  $\beta$ -D-глюканы являются биологически активными веществами, которые взаимодействуют с рецепторами иммунных клеток иммунной системы организма, что открывает широкий спектр используемых БАД и лекарственных препаратов в лечении и профилактике опухолей.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что путем химической модификации макромолекулярной основы  $\beta$ -D-глюканов они превращаются в макромолекулярную лекарственную систему с низкой токсичностью, высокой терапевтической активностью и пролонгированным действием, доставляющую лекарства к органу-мишени (свойство-таргет) могут использоваться в качестве макромолекулярных носителей в пласте.

**Внедрение результатов исследований.** На основе научных результатов, полученных по выделению  $\beta$ -D-глюканов из базидиального гриба *Ganoderma lucidum*, определению их физико-химических свойств, макромолекулярной структуры и биологической активности:

полученные результаты о структуре и биологической активности  $\beta$ -D-глюканов из местнорастущего и культивируемого базидиального гриба *Ganoderma lucidum* были использованы в проекте № ФА–Ф-6-007 «Исследование биологически активных полисахаридов лекарственных растений и их модифицированных форм» для сравнения структуры и биологической активности полисахаридов в лекарственных растениях (справка Академии наук Республики Узбекистан № 4/1255-2709 от 2021 года). В результате появилась возможность увеличения количества объектов исследования, установления взаимосвязи между структурой и биологической активностью полисахаридов различной природы и сделать общие выводы;

полисахариды  $\beta$ -глюканового типа, выделенные из грибов, были использованы в проекте Загребского университета (Хорватия) для определения противоопухолевых свойств и механизмов повышения иммунитета против рака (справка от 21 мая 2021 года, Division of Physical Chemistry Department of Chemistry Faculty of Science, University of Zagreb,

Croatia). В результате появилась возможность определения механизмов противоопухолевой активности производных полисахаридов.

**Апробация результатов исследования.** Результаты настоящих исследований докладывались и обсуждались на научно-практических конференциях, в том числе на 2-х международных и на 6-ти республиканских, а также на научных семинарах Институтов биоорганической химии и общей неорганической химии, Ташкентского фармацевтического института и др.

**Опубликованность результатов.** По материалам диссертационной работы опубликовано 17 научных работ, в том числе 1 научная статья в международном и 5 научных статей в республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов (PhD) диссертаций.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырёх глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объём диссертации составляет 108 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Во введении** обоснованы актуальность и востребованность проведенных исследований, цель и задачи исследования, охарактеризованы объект 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 их внедрение, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Полисахариды растительного сырья, источники, методы выделения, очистки и разделения разветвленных полисахаридов»** приводится современное состояние исследований в области изучения структуры, молекулярных параметров и биологической активности полисахаридов, выделенных из базидиомицетов. Приведен детальный обзор научных исследований по теме диссертации и степени изученности проблемы.

Во второй главе диссертации **«Выделение разветвленных полисахаридов, методы исследования их структуры, физико-химических свойств и биологической активности»** приведены характеристика материалов, реактивов, оборудования использованных в исследовании, этапы проведения исследований, использованные материалы, дано описание методов исследований выделенных полисахаридов, методы очистки, исследования структуры и молекулярных параметров, методы фармакологических испытаний опытных образцов полисахаридов. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением компьютерной программы “Microsoft Excel”, с использованием общепринятых статистических критериев.

В третьей главе диссертации “Выделение разветвленных полисахаридов из растительного сырья и изучение их физико-химических свойств и молекулярных параметров” приведены исследования по выделению, культивированию и очистке полисахаридов, выделенных из базидиомицетов. Для выделения разветвленных полисахаридов из базидиомицетов проведен подбор оптимальных условий процесса экстракции для максимального выделения полисахаридов из плодового тела базидиомицетного сырья. На рисунке 1 представлена схема выделения полисахаридов из базидиомицетов.

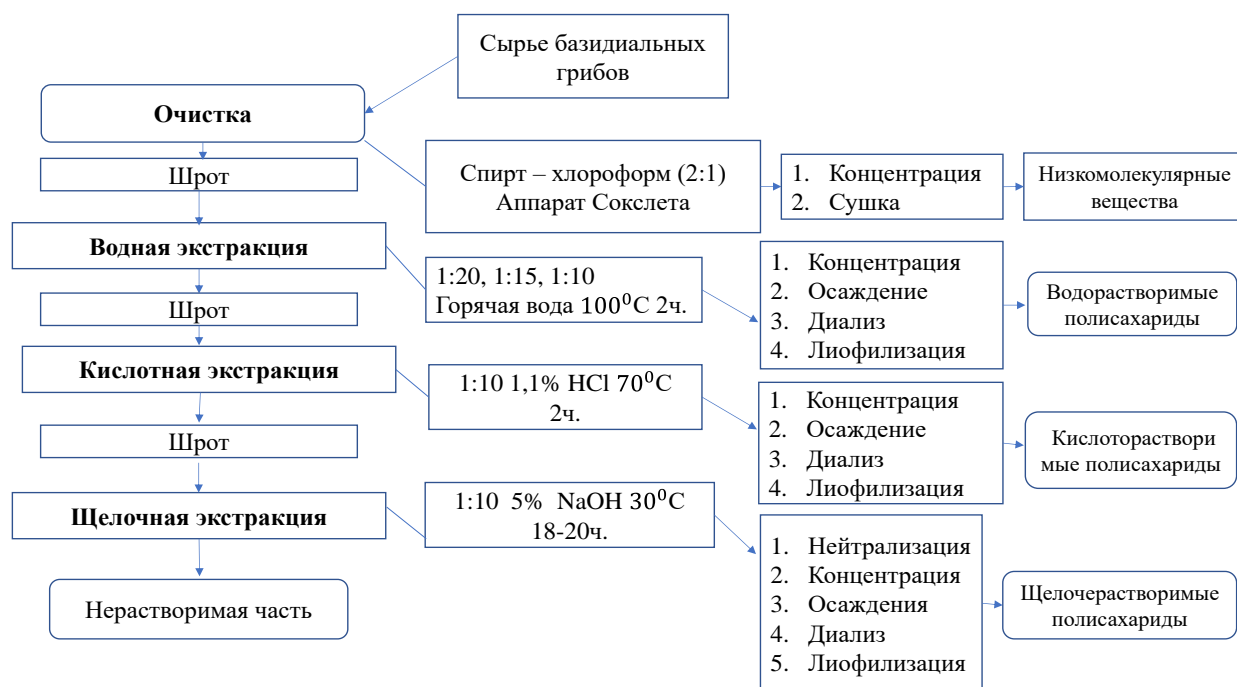


Рисунок 1. Схема выделения полисахаридов из *Ganoderma lucidum*

Для выделения полисахаридов были использованы высушенные до постоянной массы, при температуре 40-50°C плодовые тела местнорастущих и культивируемых базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*. Базидиальные грибы были собраны в местах естественного произрастания в Ташкентской области. Культивирование штамма *Ganoderma lucidum* и последующее выращивание базидиального гриба было проведено кандидатом биологических наук И. Мустафаевым в Институте ботаники АН РУз.

Сырье экстрагировали смесью спирт: хлороформ при соотношении 2:1 для извлечения липофильных веществ и низкомолекулярных примесей из грибного сырья (рисунок 1).

После обессмоливания сырья методами водной, кислотной и щелочной экстракций выделено 3 фракции водорастворимых, кислоторастворимых и щелочерастворимых полисахаридов. Выделенные водорастворимые и щелочерастворимые фракции представляют собой порошки коричневого цвета, которые при низкой концентрации образуют опалесцирующие растворы, а при высокой концентрации образуют вязкие растворы с высокими показателями относительной вязкости. В таблице 1 представлены результаты выхода суммы кислоторастворимой (КРФ), щелочерастворимой (ЩРФ),

водорастворимой (ВРФ) фракций и низкомолекулярных веществ (НМВ), выделенных из культивируемого и местнорастущего базидиомицетного сырья.

Таблица 1

**Выход НМВ, КРФ, ЩРФ, ВРФ фракций после соответствующих экстракций**

| № | Название базидиального гриба                 | НМВ, % | ВРФ, % | КРФ, % | ЩРФ, % | Сумма полисахаридов, % | Остаток, % |
|---|--|--------|--------|--------|--------|------------------------|------------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i> (местнорастущий) GW | 3,6    | 15,16  | 1,23   | 2,13   | 18,52                  | 29,75      |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i> (культивируемый)GWL | 14,39  | 12,47  | 2,54   | 4,65   | 19,66                  | 24,87      |

Как видно из таблицы 1, суммарное содержание выделенных фракций местнорастущего и культивируемого базидиомицетного сырья практически не отличаются.

В таблице 2 представлены результаты определения элементного состава фракций, выделенных из культивируемого гриба *G. lucidum*.

Таблица 2

**Результаты определения элементного состава фракций**

| № | Наименование образца       | N%           | C%            | H%           |
|---|----------------------------|--------------|---------------|--------------|
| 1 | Кислоторастворимая фракция | 2,083/ 1,82  | 54,305/53,990 | 7,787/7,931  |
| 2 | Щелочерастворимая фракция  | 6,983/6, 703 | 54,305/53,752 | 7,787/ 6/992 |
| 3 | Водорастворимая фракция    | 5,273/4,990  | 54,305/55,023 | 7,787/ 6,661 |

Как видно из данных таблицы 2, все выделенные фракции из культивируемого базидиомицетного сырья *G. lucidum* содержат азот, что указывает на содержание кроме полисахаридов и других веществ, в частности меланина, белковых веществ и других, в виде комплекса с полисахаридом.

Количество углеводов в выделенных фракциях определяли фенол-серноокислотным методом.

Таблица 3

**Количество углеводов в выделенных фракциях**

| № | Название базидиального гриба              | Фракция           | Шифр | Количество полисахаридов, % | Примеси, % |
|---|---|-------------------|------|-----------------------------|------------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i> (местнорастущий) | Водорастворимая   | GW   | 52,74                       | 47,26      |
|   |   | Щелочерастворимая | GSH  | 41,03                       | 58,97      |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i> (культивируемый) | Водорастворимая   | GWL  | 74,0                        | 26,0       |
|   |   | Щелочерастворимая | GSHL | 64,02                       | 35,98      |

Как видно из таблицы 3, количество полисахаридов как в местнорастущем, так и в культивируемом базидиомицетном сырье, в водорастворимых фракциях больше, чем в щелочерастворимых, соответственно примесей в них меньше, чем в щелочерастворимых фракциях. В образцах из культивируемого вида сырья GWL и GSHL количество полисахаридов превышает на 30% местнорастущего сырья GW.

При изучении ИК-спектров полисахаридных фракций наблюдались соответствующие полисахаридам полосы поглощения при 3300 см<sup>-1</sup>, 2950 см<sup>-1</sup>, 1600 см<sup>-1</sup>, 1420-1380 см<sup>-1</sup>, 1200-750 см<sup>-1</sup>. В областях 1620 см<sup>-1</sup> и 1420-1380 см<sup>-1</sup>

наблюдались полосы поглощения, соответствующие полисахаридам. В области 1200-950 см<sup>-1</sup> наблюдались полосы поглощения валентных колебаний, соответствующие С–О и С–С связям. Наибольшую информацию о структуре полисахарида несёт ближняя ИК-область спектра (аномерный регион), наличие полос в которой характеризует направление и тип связей в макромолекуле, а также конформационные и конфигурационные особенности полимера. В этой области очень хорошо видны структурные различия полисахаридов. В спектре полисахарида присутствует полоса 898-900 см<sup>-1</sup>, свидетельствующая о наличии β-типа связи: β- (1-3), β- (1-6).

Все дальнейшие исследования проведены с водорастворимыми фракциями.

**Очистка водорастворимых фракций полисахаридов.** Выделенные из базидиомицетов полисахариды содержат много примесей, таких как неорганические соли, моносахариды, олигосахариды, неполярные вещества с низкой молекулярной массой и органические примеси с высокой молекулярной массой (например, белки, меланин).

Для исследования структуры и биологической активности необходимо использовать чистые фракции полисахаридов. Поэтому водные фракции были дополнительно очищены методами депротенинизации, ионного обмена и гель-хроматографии по схеме, представленной на рисунке 2.

После очистки полисахаридов методом ионнообменной хроматографии получили две фракции полисахаридов GWL-1 и GWL-2. При этом выход нейтральных полисахаридов GWL-1 составил 29,85%, анионных GWL-2 - 4,19 %.



**Рисунок 2. Схема очистки водорастворимых фракций полисахаридов**

При сравнении выхода нейтральных и анионных полисахаридов из местнорастущего и культивируемого вида сырья, оказалось, что разница в выходе составляет всего 1,5%, т.е. незначительна. Для определения гомогенности фракций исходных полисахаридов, а также очистки их от

сопутствующих примесей с целью дальнейшего изучения их состава и строения углеводных цепей проведена гель-хроматография на сефадекс G-75. В процессе разделения было определено, что каждый образец полисахарида состоял из однородных полисахаридов.

Выход после ионообменной хроматографии составил 25,7, 29,8% нейтральных и 5,26, 4,19% анионных (очистка от сопутствующих примесей белка и фенольных соединений), после гель хроматографии (разделение по величине молекулярных масс и дальнейшей очистки) количество полисахаридов составило 94,27 и 96,31%.

После очистки полисахаридов определяли количество углеводов в образцах фенол-серноокислотным методом. В таблице 4 представлен выход полисахаридов после очистки.

Таблица 4

**Выход полисахаридов после фракционирования**

| № | Название базидиального гриба                 | Растворитель | Шифр  | Количество полисахаридов, % | Примеси, % |
|---|--|--------------|-------|-----------------------------|------------|
| 1 | <i>Ganoderma lucidum</i><br>(местнорастущий) | Вода         | GW-1  | 99,41                       | 0,59       |
|   |  | 0,1M NaCl    | GW-2  | 65,01                       | 34,99      |
| 2 | <i>Ganoderma lucidum</i><br>(культивируемый) | Вода         | GWL-1 | 99,32                       | 0,68       |
|   |  | 0,1M NaCl    | GWL-2 | 79,54                       | 20,46      |

Как видно из таблицы 4, количество полисахаридов в нейтральных фракциях больше, чем в анионных фракциях. Это, по-видимому, связано с тем, что анионные фракции содержат определенное количество белка или меланина, связанные с полисахаридом в виде комплексов. Содержание полисахаридов в нейтральных фракциях в культивируемом и местнорастущем сырье почти одинаково.

Далее были определены молекулярно-массовые характеристики полученных фракций с помощью метода гель-фильтрации. Результаты показали, что молекулярная масса образцов водной фракции (GW, GW1,2, GWL, GWL1,2) находится в пределе 9800-17700 Да, MMP находится в пределах 1,2-1,5. Образцы из местнорастущего и культивируемого сырья по молекулярной массе почти не отличаются друг от друга.

Далее были проведены исследования по определению моносахаридного состава выделенных фракций. Результаты определения моносахаридного состава полисахаридов представлены в таблице 5. Установлено, что полисахариды GW-1 и GW-2, GWL-1, GWL-2 состоят в основном из остатков глюкозы, в их составе обнаружены и другие моносахариды в следовых количествах, вследствие чего в основную структуру их не включают.

Результаты исследования показали, что в составе образцов полисахаридов возможно наличие остатков фруктозы, рамнозы, ксилозы, маннозы и галактозы в качестве минорных моносахаридов.

Из таблицы 5 видно, что полисахариды, выделенные из культивируемого гриба и местнорастущих плодовых тел, идентичны по моносахаридному составу.

Моносахаридный состав образцов полученных полисахаридов

| Образцы | Моносахаридный состав, % |      |     |     |      |      |       |     |
|---------|--------------------------|------|-----|-----|------|------|-------|-----|
|         | Fruc                     | Rha  | Rib | Ara | Xyl  | Man  | Glc   | Gal |
| GW-1    | 7,41                     | 1,8  | -   | -   | 3,70 | 2,2  | 84,89 |     |
| GW-2    | 6,24                     | 2,3  | -   | -   | 2,2  | 3,13 | 86,13 | -   |
| GWL-1   | 5,6                      | 0,55 | -   | -   | 0,58 | 1,73 | 91,54 |     |
| GWL-2   | 3,4                      | 1,5  | -   | -   | 3,5  | 4,57 | 85,83 | 1,2 |

Для дальнейшего анализа структуры полисахаридов были проведены ИК-спектроскопические исследования выделенных фракций.

В ИК-спектрах исследуемых образцов обнаружены все полосы поглощения, характерные для  $\beta$ -глюканов и меланинов: для О-Н связей полисахаридов, N-H связей меланинов в области  $2900\text{ см}^{-1}$ . Полоса поглощения в интервале  $2850\text{-}2900\text{ см}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям атома углерода С-Н связей С6 полисахаридов. В интервале  $1460\text{-}1650\text{ см}^{-1}$  находятся полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям С=С связи ароматического кольца меланина и С=О связи карбоксильных групп. В области  $1170\text{-}1350\text{ см}^{-1}$  наблюдаются полосы поглощения, соответствующие полисахаридам и С-О связи карбоксильных групп. В спектрах отмечены полосы поглощения в интервале  $1050\text{-}1150\text{ см}^{-1}$ , соответствующие валентным колебаниям С-О-С связей глюкопиранозного кольца полисахаридов. В области  $500\text{-}650\text{ см}^{-1}$  присутствуют полосы поглощения, характерные для различных типов колебаний С-Н связи (в соответствии с рисунком 4). Как видно из рисунка 4, в очищенных фракциях GW-1, GW-2 наблюдаются менее интенсивные полосы поглощения в области  $1660\text{ см}^{-1}$ , это говорит о том, что образцы очищены от меланина.

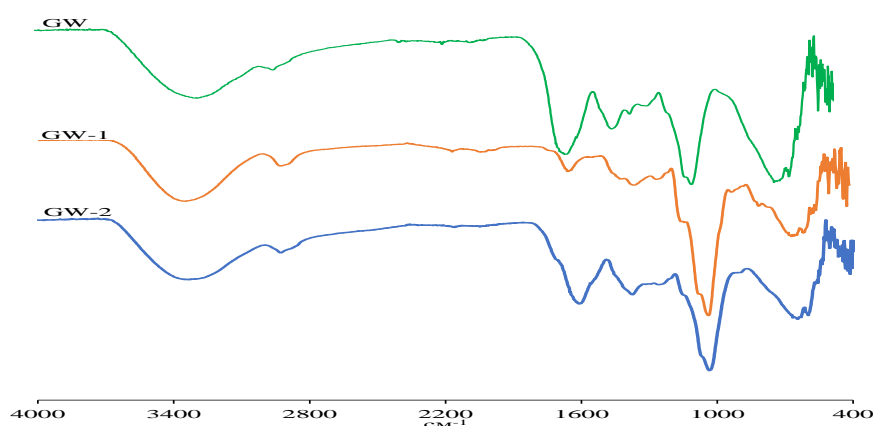


Рисунок 4. ИК-спектры образцов GW и очищенных фракций полисахаридов GW-1, GW-2

Структуру (разветвленность)  $\beta$ -D-глюканов определяли методом газ хроматографии масс спектрометрии (ГХ-МС).

Типы связывания моносахаридов в полисахаридах были идентифицированы с помощью метода метилирования. Индивидуальность и характер фрагментации перметилированных альдитолацеталей детектировали с помощью масс-спектров и относительного времени удерживания в ГХ.



Процент метилированных сахаров оценивался как отношение площадей пиков. ГХ-МС анализ перметилированных альдитолацеталей представлен в таблице 6.

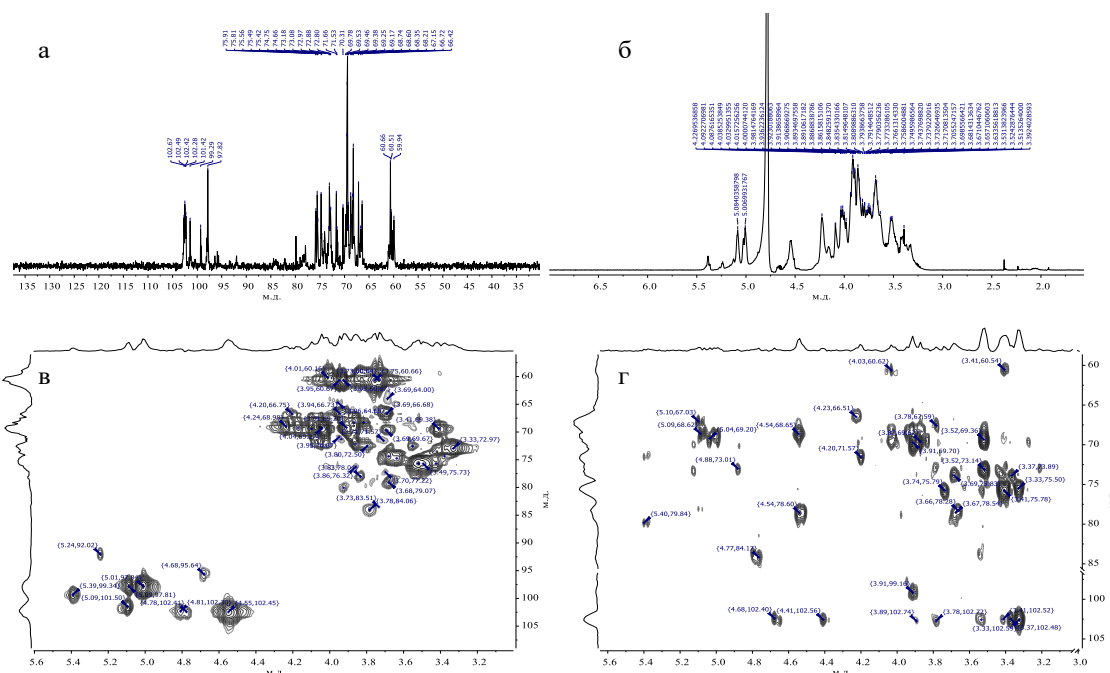
Было определено, что остатки в полисахаридах GW-1 и GWL-1 находятся в молярном соотношении 3,0: 1,0: 1,0: 1,0: 1,0: 2,0 и 2,0: 3,0: 1,0: 3,0: 1,0: 1,0 соответственно.

Таблица 6

**Результаты ГХ-МС анализа метилированных полисахаридов GW-1 и GWL-1, выделенных из природного и культивируемого *Ganoderma l.***

| Метилированный сахар          | Гликозидные связи    | GW-1                 | GWL-1 | Основные массовые фрагменты ( <i>m/z</i> )  |
|-------------------------------|----------------------|----------------------|-------|---|
|                               |                      | Молярные соотношения |       |   |
| 2,3,4,6-Me <sub>4</sub> -GlcP | 1-связанный GlcP     | 3,0                  | 2,0   | 43,45,71,87,102,118,129,145,161,162,205     |
| 2,4,6-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,3-связанный GlcP   | 1,0                  | 3,0   | 43,45,71,87,101,118,129,161,174,217,234,277 |
| 2,3,6-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,4-связанный GlcP   | 1,0                  | 1,0   | 43,45,71,87,102,113,118,129,162,173,233,277 |
| 2,3,4-Me <sub>3</sub> -GlcP   | 1,6-связанный GlcP   | 1,0                  | 3,0   | 43,59,71,87,99,102,118,129,162,189,233      |
| 2,3-Me <sub>2</sub> -GlcP     | 1,4,6-связанный GlcP | 1,0                  | 1,0   | 43,85,102,118,127,162,201,261,305           |
| 2,4-Me <sub>2</sub> -GlcP     | 1,3,6-связанный GlcP | 2,0                  | 1,0   | 43,87,102,118,129,189,234,305               |

Результаты показали, что выделенные и очищенные полисахариды представляют собой разветвленные полисахариды β-глюканового типа, которые имеют точки разветвления (1,4,6) - и (1,3,6)-связанных глюкопиранозных остатков.

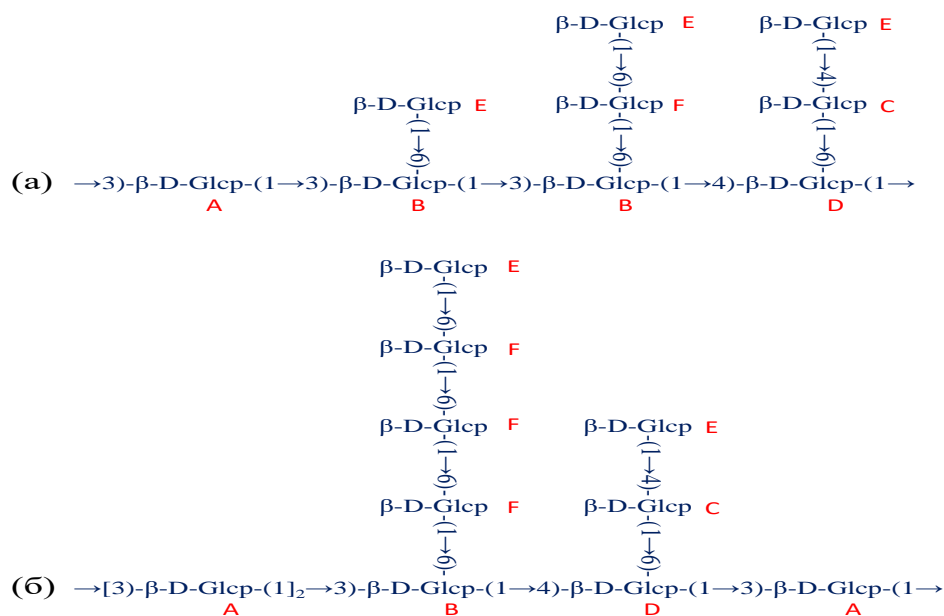


**Рисунок 5. Спектры <sup>13</sup>С ЯМР (а), <sup>1</sup>Н ЯМР (б), HSQC (в) и HMBC (г) полисахарида GW-1**

Дальнейшее изучение моносахаридных последовательностей и структуры полисахаридов GW-1 и GWL-1, очищенных из местнорастущего и культивируемого сырья базидиомицетов, были изучены с использованием одномерных (<sup>13</sup>С ЯМР, <sup>1</sup>Н ЯМР) и двумерных (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) методов ЯМР-спектроскопии (рис.5). Спектры <sup>1</sup>Н ЯМР GW-1 и GWL-

1 показали, что оба полисахарида имеют шесть аномерных сигналов, наблюдаемых при 4,42-5,09 м.д., что указывает на то, что глюкопиранозильные звенья полисахаридов обладают  $\beta$ -конфигурацией. Эти результаты согласуются с результатами анализа ИК-спектроскопических исследований. Кроме того,  $\beta$ -конфигурация моносахаридных остатков полисахаридов подтверждается спектрами  $^{13}\text{C}$  ЯМР, в которых характерные сигналы для аномерных атомов углерода C-1 появляются при 97,84-102,75 м.д.

На основании результатов метилирования, 1D и 2D ЯМР-спектроскопических исследований были выяснены порядок и последовательность связывания и возможные структуры моносахаридных остатков в полисахаридах GW-1 и GWL-1. На рисунке 6 показан порядок связывания, последовательность и возможные структуры полисахаридов GW-1 и GWL-1.



**Рисунок 6. Порядок связывания, последовательность моносахаридов и возможные структуры полисахаридов GW-1 (а) и GWL-1 (б)**

Установленные структуры показывают, что полисахариды GW-1 и GWL-1 являются разветвленными полисахаридами  $\beta$ -глюканового типа. В полисахаридных цепях разветвление происходит за счет остатков 1,3,6-Glcp и 1,4,6-Glcp. Однако результаты показали, что частота точек разветвления в цепи полисахарида различается, что указывает на то, что полисахариды обладают разной степенью разветвления. Было определено, что полисахариды GW-1 и GWL-1 имеют степень разветвления 0,75 и 0,40. Несмотря на уменьшение степени разветвления GWL-1, полисахаридная цепь содержит большее количество остатков 1,3-Glcp и 1,6-Glcp, чем GW-1.

В результате исследования  $\beta$ -D-глюканов на основе местных базидиомицетов установлены следующие особенности:

-структурными исследованиями установлено, что полученные полисахариды состоят из  $\beta$ -1,3/6-разветвленных глюкановых структур, имеющих в основном  $\beta$ -1,4/1,3-гликозидные связи и разветвленные одной или несколькими  $\beta$ -1,6-гликозидными связями;

-изучены физико-химические свойства полученных образцов методами элементного анализа, ИК и УФ-спектроскопии. Установлена степень чистоты полученных фракций разветвленных полисахаридов. Методами газ хроматографии, ИК-, одномерной ( $^{13}\text{C}$  ЯМР,  $^1\text{H}$  ЯМР) и двумерной (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) ЯМР-спектроскопии установлены состав и молекулярная структура полученных образцов полисахаридов;

- $\beta$ -D-глюкан, выделенный из местнорастущего базидиального гриба с ММ=12300 (водная фракция GW), имеющий разветвленную структуру и обладающий комплементарностью к рецепторам иммунной системы, предложен для дальнейшего исследования в качестве биологически активной добавки.

В четвертой главе диссертации «Исследование биологической активности  $\beta$ -D-глюканов, выделенных из местнорастущего и культивируемого *Ganoderma lucidum*» представлены результаты исследования противоопухолевой активности *in vitro*, *in vivo* и фармако-токсикологических свойств макромолекулярных систем на основе  $\beta$ -D-глюканов.

С целью прогнозирования биологической активности разветвленных полисахаридов, путем компьютерного моделирования, исследовано их взаимодействие с рецепторами иммунных клеток. В расчете были применены методы молекулярного докинга, взаимодействующих частиц, основанный на многомерном анализе физико-химических взаимодействий, с привлечением методов молекулярной механики, квантовой химии, молекулярной динамики, кластерного анализа и потенциальных функций. Расчетами установлено, что разветвленные  $\beta$ -D-глюканы проявляют соответствующую комплементарность, разветвленные цепи  $\beta$ -D-глюканов, содержащие 1,6 гексозу, особенно двузамещенные за счет водородных, ван-дер-ваальсовых и других связей, удерживаются как дектинами, что указывает на возможную дальнейшую реакцию иммунной системы (в частности, расщепление разветвленного полисахарида соответствующими ферментами иммунной системы).

Проведено экспериментальное исследование по изучению влияния  $\beta$ -D-глюканов на показатели гуморального и клеточного иммунитета, в дозах - 0,5; 5,0; 25,0 и 50,0 мг/кг. Изучено влияние препаратов на численность клеток в центральных (тимус, костный мозг) и периферических (селезенка, лимфатические узлы) органах иммунитета у мышей.

Изучением влияния  $\beta$ -D-глюканов на численность клеток, в органах иммунитета, у мышей-опухоленосителей установлено, что в процессе роста опухоли, численность клеток в костном мозге не изменяется, в тимусе снижается, а в селезенке и лимфатических узлах, напротив, повышается, т.е.  $\beta$ -D-глюканы могут восстанавливать численность клеток в органах иммунитета.

Таким образом,  $\beta$ -D-глюканы из культивируемого и местнорастущего базидиального гриба стимулируют количество клеток, отвечающих за иммунную систему организма. Выявленный иммуностимулирующий эффект  $\beta$ -D-глюкана на процессы антителообразования, на массу и численность

клеток в центральных и периферических органах указывает на его иммуномодулирующие свойства.

Далее была исследована противоопухолевая активность  $\beta$ -D -глюканов в условиях *in vitro*.

Как видно из таблицы 7, водорастворимые полисахариды, полученные из базидиомицетного сырья *Ganoderma lucidum*, не обладают прямым цитотоксическим действием.

Таблица 7

**Действие полисахаридов на клеточную культуру КМЛ и HeLa**

| Доза, мкг<br>Образцы | Подавления рост клеток %<br>КМЛ |           |           | Подавления рост клеток %<br>HeLa |           |           |
|----------------------|---------------------------------|-----------|-----------|----------------------------------|-----------|-----------|
|                      | 100                             | 10        | 1         | 100                              | 10        | 1         |
| GW                   | 18,2±0,82                       | 11,4±1,96 | 6,5±2,41  | 14,6±1,23                        | 9,2±3,52  | 8,1±0,54  |
| GWL                  | 17,5±2,79                       | 7,9±2,56  | 10,0±1,87 | 16,5±0,96                        | 11,2±2,15 | 10,0±1,25 |
| Цисплатин            | 96,0±1,93                       | 53,9±3,87 | 51,5±3,14 | 87,8±3,25                        | 54,2±0,90 | 51,5±1,25 |

Также была изучена противоопухолевая активность  $\beta$ -D –глюканов *in vivo* на штамме аденокарцинома Эрлиха (*solid Ehrlich tumor model*).

Таблица 8

**Результаты *in vivo* исследования по изучению противоопухолевой активности образцов полисахаридов из местнорастущего и культивируемого базидиомицетного сырья водорастворимых фракций  $\beta$ -глюканов**

| Группы              | Доза мг/кг | Число животных/ гибель | Масса животных, г |                    | Объем опухоли, см <sup>3</sup> | Масса опухоли, г | Масса селезенки, г | Масса печени, г | Степень ингибирования, % |          |
|---------------------|------------|------------------------|-------------------|--------------------|--------------------------------|------------------|--------------------|-----------------|--------------------------|----------|
|                     |            |                        | До эксперимента   | После эксперимента |                                |                  |                    |                 | По объему                | По массе |
| Контроль с опухолью |            | 7/0                    | 27,29±9,75        | 23,00±9,00         | 5,34±3,72                      | 3,00±2,23        | 0,35±0,11          | 1,41±0,66       | 0,00                     | 0,00     |
| GW                  | 25         | 5/0                    | 19,05±3,51        | 18,34±3,43         | 2,23±3,23                      | 1,12±1,23        | 0,19±0,10          | 1,34±0,22       | 59,34                    | 60,21    |
| GWL                 | 25         | 5/1                    | 25,76±4,50        | 20,75±2,50         | 1,93±0,59                      | 1,05±0,52        | 0,23±0,07          | 1,53±0,40       | 63,82                    | 64,96    |
| Контроль с опухолью |            | 5/1                    | 22,66±2,05        | 17,95±2,20         | 2,44±1,53                      | 1,26±0,80        | 0,29±0,08          | 1,63±0,53       | 0,00                     | 0,00     |
| GWL                 | 2          | 5/0                    | 21,74±4,70        | 19,47±3,50         | 1,84±1,12                      | 0,983±1,01       | 0,26±0,06          | 1,50±0,41       | 24,54                    | 21,71    |
| GWL                 | 10         | 5/0                    | 20,76±3,65        | 20,00±5,00         | 1,77±1,09                      | 0,957±0,98       | 0,38±0,09          | 1,40±0,13       | 27,42                    | 23,79    |
| GWL                 | 25         | 5/0                    | 22,80±4,30        | 22,54±2,90         | 0,80±0,69                      | 0,52±0,35        | 0,35±0,09          | 1,66±0,16       | 67,13                    | 58,26    |
| GWL                 | 50         | 5/0                    | 19,91±5,69        | 23,24±5,70         | 0,68±1,12                      | 0,49±0,56        | 0,37±0,04          | 1,70±0,56       | 72,14                    | 60,74    |
| Контроль с опухолью |            | 5/1                    | 22,66±2,05        | 17,95±2,2          | 2,44±1,53                      | 1,26±0,80        | 0,29±0,08          | 1,63±0,53       | 0,00                     | 0,00     |
| GW перорально       | 25         | 6/0                    | 24,78±4,25        | 22,08±6,75         | 1,098±1,04                     | 0,674±0,35       | 0,18±0,10          | 1,30±0,55       | 55,04                    | 46,26    |
| GW внутри брюшина   | 25         | 5/0                    | 23,2±5,45         | 22±5,5             | 0,916±0,94                     | 0,572±0,31       | 0,36±0,08          | 1,53±0,49       | 62,53                    | 54,43    |
| GWL перорально      | 25         | 5/1                    | 25,76±4,50        | 20,75±2,50         | 0,897±0,59                     | 0,535±0,23       | 0,23±0,07          | 1,53±0,40       | 63,28                    | 57,38    |
| GWL внутри брюшина  | 25         | 5/0                    | 22,8±4,3          | 22,54±2,9          | 0,80±0,69                      | 0,52±0,35        | 0,35±0,09          | 1,66±0,16       | 67,13                    | 58,26    |

Результаты исследования показали (таблица 8), что  $\beta$ -D-глюкан, выделенный из культивированного базидиомицетного сырья (GWL), ингибировал рост опухоли на 63,82% (по объему) и 64,96% (по массе) по сравнению с  $\beta$ -D-глюканом, полученным из местнорастущего сырья (59,34 % и 60,21% по объему и массе, соответственно). С увеличением концентрации  $\beta$ -D-глюкана увеличивается степень ингибирования опухоли с 24,5% до 72,14%.  $\beta$ -D-глюкан GWL, культивируемый, в сравнении с местнорастущим GW,

незначительно лучше ингибирует рост опухоли при концентрации 25 мг/кг. Результаты исследования показали, что ингибирование роста опухоли при пероральном и внутривнутрибрюшинном введении практически не отличается. Таким образом, определено, что  $\beta$ -D-глюканы GWL и GW обладают способностью ингибировать рост опухоли, т.е. обладают противоопухолевой активностью.

Далее были проведены фармакотоксикологические исследования полученных полисахаридов.

Изучение острой токсичности препаратов GW и GWL показало, что для них LD<sub>50</sub> при внутривнутрибрюшинном введении на мышах составила более  $\geq 6000$  мг/кг. Эти препараты при пероральном введении относятся к V классу практически нетоксичных соединений.

Результаты исследования хронической токсичности на протяжении всего периода наблюдения показали, что все показатели животных данной группы не отличались значимыми различиями от контроля.

### Выводы

1. Впервые исследовано выделение разветвленных полисахаридов, из базидиомицетного сырья - местнорастущего и культивируемого *Ganoderma l.* Установлено, что выделенные фракции содержат разветвленные полисахариды в виде комплексов с белками, меланином и другими веществами. Охарактеризованы химические составы выделенных фракций.

2. Изучены физико-химические свойства, структурные характеристики выделенных  $\beta$ -D- глюканов. Установлено, что макромолекулярные структуры  $\beta$ -глюканов, состоят из ангидроглюкопиранозного звена, связанного посредством  $\beta$ -1,3-, частично  $\beta$ -1,4-гликозидными связями, разветвленная часть состоит из остатков  $\beta$ -D-глюкозы, которые связаны  $\beta$ -1,3-гликозидными связями и ( $\alpha$ - или  $\beta$ )-1,6-гликозидными связями. Доказана степень разветвления  $\beta$ -D-глюканов для местнорастущего (GW) со значением 0,75, для культивируемого (GWL) - 0,40.

3. Компьютерное моделирование взаимодействия  $\beta$ -D-глюканов с рецепторами иммунной системы выявило наличие дополнительных взаимодействий между ними, в частности между разветвленными макромолекулами, содержащими 1,6 гексозы, и рецепторами дектина-1.

4. Исследования *in vitro* показали, что  $\beta$ -D-глюканы не обладают цитотоксическим действием на опухолевые клетки *KML* и *HeLa*. Исследования *in vivo* показали, что  $\beta$ -D-глюканы обладают иммуномодулирующей активностью со значительным увеличением общего количества лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, Т-супрессоров и клеток CD16 и CD25.

5. Изучена противоопухолевая активность в условиях *in vivo*  $\beta$ -глюканов. В результате GW ингибирует рост опухоли на 59,64 % (по объему) и 60,21 % (по массе), тогда как GWL ингибирует рост опухоли на 63,82 % (по объему) и 64,96% (по массе). Установлено, что с увеличением степени разветвленности макромолекулы возрастает противоопухолевая активность и  $\beta$ -D-глюканы действуют через иммунную систему.

6. Фармакотоксикологическими исследованиями установлено, что  $\beta$ -D-глюканы относятся к V классу практически нетоксичных соединений, их острая токсичность  $LD_{50}$  равна 6000 мг/кг и отсутствует хроническая токсичность. Основываясь на полученные результаты,  $\beta$ -D-глюканы могут быть рекомендованы в качестве биологически активной добавки для профилактики и лечения опухолевых заболеваний.

**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**

**KHALILOVA GULNOZA ABDUVAKHABOVNA**

**STRUCTURE, PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF  $\beta$ -  
GLUCANS FROM BASIDIOMYCETES**

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

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

**Tashkent - 2021**

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2021.2.PhD/K212.

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)).

**Scientific supervisor:** Turaev Abbaskhan Sabirkhanovich  
doctor of chemical sciences, academician

**Official opponents:** Rakhmonberdiev Gaffor Rakhmonberdievich  
doctor of chemical sciences, professor  
Abdulladjanova Nodira Gulamjanovna  
doctor of chemical sciences, professor

**Leading organization:** Uzbekistan scientific research institute of chemistry  
and pharmaceuticals

Defense will take place on 15.04 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)

Abstract of the dissertation is distributed on «2» July 2021.  
(protocol at the register No 1 dated 2 July 2021).



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

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

*M.B. Gafurov*  
**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 to isolate branched polysaccharides from locally growing and cultivated basidiomycetes - *Ganoderma lucidum*, to study their macromolecular structure (branching), physicochemical properties, molecular parameters and biological activity.

**The object of the research work** were the locally growing and cultivated basidiomycete mushroom *Ganoderma lucidum*, collected in places of natural growth on the territory of Uzbekistan in the Bustanlyk region.

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

for the first time, polysaccharides were isolated from a local species of locally growing and cultivated basidiomycete *Ganoderma lucidum*, and a method and technology for their purification was developed, which makes it possible to obtain  $\beta$ -D-glucans with preservation of the native, branched structure, which has been proven by GC-MS, UV-, IR-Fourier methods and NMR spectroscopy;

for the first time, by molecular modeling by means of docking calculations, the interaction of dectin-1 receptors with  $\beta$ -D-glucans was determined and the complementarity of  $\beta$ -D-glucans was established;

revealed the antitumor activity of  $\beta$ -D-glucans in vitro (on cultures of cancer cells *KML*, *HeLa*) and in vivo (on cultures of cancer cells of *Ehrlich's adenocarcinoma*);

it has been proven that the antitumor activity of  $\beta$ -D-glucans is associated with their effect on cellular and humoral immunity.

**Implementation of the research results.** Based on scientific results obtained on the isolation of  $\beta$ -D-glucans from the basidiomycete *Ganoderma lucidum*, to determine their physicochemical properties, macromolecular structure and biological activity: the obtained results on the structure and biological activity of  $\beta$ -D-glucans from the wild and cultivated basidiomycete fungus - *Ganoderma lucidum* were used in the project No.FA - F-6-007 "Study of biologically active polysaccharides of medicinal plants and their modified forms" to compare the structure and biological activity of polysaccharides in medicinal plants (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4 / 1255-2709 of 2021). As a result, it became possible to increase the number of research objects made it possible to determine the relationship between the structure and biological activity of polysaccharides of different nature and to draw general conclusions;

$\beta$ -glucan type polysaccharides isolated from mushrooms were used in the project of University of Zagreb, (Croatia) to study the antitumor properties and mechanisms of increasing immunity against cancer (reference dated May 21, 2021, Division of Physical Chemistry Department of Chemistry Faculty of Science, University of Zagreb, Croatia). As a result, it became possible to determine the mechanisms of antitumor activity of polysaccharide derivatives.

**The structure and volume of the thesis.** The thesis consists of an introduction, three chapters, conclusions, bibliography and an appendix. The volume of the thesis is 108 pages.

**ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**  
**I бўлим (I часть, I part)**

1. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Ўзбекистонда учрайдиган базидиал замбуруғларни полисахарид таркибини ўрганиш // Ўзбекистон кимё журнали. 2019. №2.-Б.48-55. (02.00.00. №6).

2. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н. С., Тураев А. С. Базидиал замбуруғлардан сувда эрувчан полисахаридларни ажратиб олиш, уларнинг таркиби ва экстракция шароитларини ўрганиш // Фармацевтика журнали. 2019. №4. –Б.77-82. (02.00.00. №2).

3. Халилова Г.А., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С. *Ganoderma lucidum* замбуруғининг сувда эрувчан полисахаридлари ва уларнинг структуравий тавсифлари. Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси маърузалари. 2020. № 5. –Б.55-62. (02.00.00.№8).

4. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. *Ganoderma lucidum* замбуруғининг сувда эрувчан анион полисахаридлари ва уларнинг структуравий тавсифлари // Ўзбекистон кимё журнали. 2020. №5. -Б.88-94. (02.00.00. №6).

5. Хайтметова С.Б., Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Тураев А.С. Оценка острой токсичности полученных меланин глюкозидный комплекс, меланин и полисахарида из природного сырья // Фармацевтический вестник Узбекистана. 2020. №2. -С.68-70.(02.00.00.№5)

6. Khalilova G.A., Turaev A.S., Muhitdinov B.I., Filatova A.V., Khaytmetova S.B., Normakhamatov N.S. Research on the composition and structure of B -glucans isolated from basidiomycete raw materials *Inonotus hispidus* The American Journal of Applied Sciences 2021 V.03. -P.9-17. (SJIF IF:5,634. №23).

**II бўлим (II часть, II part)**

1. Халилова Г.А., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Дарахтлардан озикланувчи замбуруғлар асосида полисахаридлар ажратиб олиш. Соғлиқни сақлаш ва қишлоқ хўжалигининг долзарб муаммоларини ечишда биоорганик кимёнинг роли. Ёш олимлар республика конференцияси. Тошкент, 2016. – Б.10-11.

2. Халилова Г.А., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Тармоқланган полисахаридлар асосида иммун стимулловчи ва ўсмага қарши биологик фаол моддалар ажратиш ва уларни структуравий характерлаш. Фармацияда фан, таълим ва ишлаб чиқаришнинг долзарб масалалари. Республика илмий-амалий анжумани (халқаро иштирокда) материаллари. Тошкент, 2016. –Б.91-92.

3. Muhitdinov B., Normakhamatov N., Khaytmetova S., Azimova L., Khalilova G., Amanova D., Kirgizbayev H., Turayev A. Isolation and identification of water-soluble and alkali-soluble polysaccharide fractions from basidiomycetes // Scientific conference of PhD students with international participation. Nitra, Slovakia, 2018. -P.66.

4. Халилова Г.А., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Замбуруғлардан сувда эрувчан полисахаридларни ажратиб олиш ва уларнинг физик кимёвий хоссаларини ўрганиш / Ёш олимлар ахборотномаси. 2018.-№2 (1).-Б.64-65.

5. Khalilova G.A., Muhitdinov B.I., Khaytmetova S.B., Normakhamatov N.S., Azimova L.B., Turaev A.S. Isolation and characterization of mushroom polysaccharides // XIII International Symposium on the Chemistry of natural Compounds. Shanghai, 2019. -P.118.

6. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Базидиал замбуруғлардан ажратиб олинган полисахаридларни ИҚ-спектроскопия усулида ўрганиш // Научная конференция “Актуальные проблемы химии природных соединений”, ИХРВ. Тошкент, 2019. –Б.108.

7. Khalilova G.A., Muhitdinov B.I., Khaytmetova S.B., Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Turaev A.S. Isolation and characterization of polysaccharides from *Polyporus Hispidus* // Биоорганик кимё фани муаммолари IX республика ёш кимёгарлар конференцияси материаллари. Наманган, 2019. –Б.159-160.

8. Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Халилова Г.А., Курман П.В. Состав полисахаридов GSH-P1 по данным ГХ/МС // Международная научно-практическая конференция “Белорусские лекарства”. Минск, 2019. -С.190.

9. Халилова Г.А., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С. *Ganoderma lucidum* замбуруғининг сувда эрувчан полисахаридларини <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопия усулида ўрганиш // Республиканская научная конференция Современные проблемы науки о полимерах. Тошкент, 2020. –Б.90-91.

10. Хайтметова С.Б., Халилова Г.А., Азимова Л.Б., Мухитдинов Б.И., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Определение острой токсичности полученных экстрактов из растительного сырья // Товарлар кимёси ҳамда халқ табобати муаммолари ва истиқболлари Халқаро илмий-амалий конференция Андижон, 2020. –С.76.

11. Халилова Г.А., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Филатова А.В., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С. Изучение in vitro цитотоксической активности полисахаридов базидиальных грибов // «Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine» Materials of the V International Scientific and Practical Conference. Kharkiv, 2021. -P.812

Автореферат «Ўзбекистон кимё журналы» таҳририятида таҳрирдан ўтказилди ва унинг ўзбек, рус ва инглиз тили матнлари мос келади

Босишга руҳсат этилди: 01.07. 2021 йил  
Бичими 60×84  $\frac{1}{16}$ , «Times New Roman»  
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.  
Шартли босма тобоғи 2,75. Адади: 100. Буюртма № 83.  
Тел (99) 832 99 79; (97) 815 44 54.  
Гувоҳнома reestr № 10-3279  
“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмаҳонасида чоп этилган.  
100031, Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6-уй.