

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ҚИРҒИЗБАЕВ ХУСНИДДИН ХАСАНБАЕВИЧ**

**ГИАЛУРОН КИСЛОТАНИНГ ДОКСОРУБИЦИН БИЛАН  
МОДИФИКАЦИЯЛАНГАН ҲОСИЛАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ЎСМАГА  
ҚАРШИ ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2022**

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

**Қирғизбаев Хусниддин Хасанбаевич**

Гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари ва уларнинг ўсмага қарши фаоллигини ўрганиш..... 3

**Киргизбаев Хусниддин Хасанбаевич**

Изучение модифицированных производных гиалуроновой кислоты с доксорубицином и их противоопухолевой активности..... 21

**Kirgizbayev Husniddin Hasanbayevich**

Study of modified derivatives of hyaluronic acid with doxorubicin and their anti-tumor activity ..... 39

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ  
List of published works..... 42

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

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ҚИРГИЗБАЕВ ХУСНИДДИН ХАСАНБАЕВИЧ**

**ГИАЛУРОН КИСЛОТАНИНГ ДОКСОРУБИЦИН БИЛАН  
МОДИФИКАЦИЯЛАНГАН ҲОСИЛАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ЎСМАГА  
ҚАРШИ ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент - 2022**

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2021.2.PhD/K241 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

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

**Илмий раҳбар:** **Мухитдинов Бахтиёр Икромович**  
кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD), катта илмий ходим

**Расмий оппонентлар:** **Бобоев Баҳром Нуриллаевич**  
кимё фанлари доктори, катта илмий ходим

**Мирзааҳмедов Шарофиддин Яшипович**  
кимё фанлари номзоди, катта илмий ходим

**Етақчи ташкилот:** **Ўзбекистон кимё ва фармацевтика илмий текшириш институти**

Диссертация химояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 рақамли Илмий кенгашнинг 2022 йил «29» Май соат 10<sup>00</sup> даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (243 рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Диссертация автореферати 2022 йил «24» Март да тарқатилди.  
(2022 йил 24 Март даги 12 рақамли реестр баённомаси)



*Shahin*  
**Ш.И.Салихов**  
Илмий даражалар берувчи  
илмий кенгашчиси, б.ф.д., академик

*Shahin*  
**Ш.Р.Хошимова**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби б.ф.д.

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

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

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда хавфли ўсма касалликларига қарши курашишда табиий биополимерлар асосида олинадиган, сувда эрувчан, биопарчаланувчан, кам захарли ва самарали таъсирга эга дори воситаларига бўлган эҳтиёж ортиб бормокда. Ушбу йўналишда полисахаридлар ва уларнинг цитотоксик бирикмалар билан модификацияланган ҳосилалари асосида ўсмага қарши янги авлод дори воситаларини яратиш ва амалиётга тадбиқ қилиш муҳим аҳамият касб этмокда.

Бугунги кунда дунёда хавфли ўсмага қарши дори воситаларининг носпецифик фаолликлари натижасида юзага келувчи қайтариб бўлмас ножўъя таъсирлари аксарият холларда уларни амалий тиббиётда қўллашни чекланишига сабаб бўлмокда. Гиалурон кислотани ўсма хужайраларида юкори экспрессияланувчи рецепторлар билан комплементар таъсирлашувини инобатга олган ҳолда, ушбу полисахарид асосида ўсмага қарши фаолликка эга, организмга ножўъя таъсирлари кам бўлган ҳосилалар олишга багишланган фундаментал тадқиқотлар олиб борилмокда. Бу борада гиалурон кислотанинг цитотоксик бирикмалар билан кимёвий модификациялаш орқали сувда эрувчан, кам захарли, ўсмага қарши йўналтирилган таъсирга эга ҳосилаларни синтез қилиш, молекуляр кагталиклари, структуравий, физик-кимёвий, биологик ва фармакологик хоссаларини ўрганиш, ҳамда улар асосида хавфли ўсмага қарши самарали дори воситаларини ишлаб чиқиш долзарб ҳисобланади.

Республикамизда маҳаллий табиий хом ашё асосида янги дори воситаларини яратиш, илмий ҳажмдор тадқиқотлар олиб бориш ва маҳаллий фармацевтика саноатини ривожлантириш бўйича кенг қўламли чора-тадбирлар амалга оширилмокда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида<sup>1</sup> ва 2030 йилгача фанни ривожлантириш концепциясида<sup>2</sup> «...фармацевтика соҳасида ишлаб чиқаришни ошириш...» вазибалари белгилаб берилган. Бу борада, маҳаллий ўсимлик ва ҳайвон хом-ашёлари биологик фаол моддаларини тадқиқ қилиш, уларнинг тузилиши ва фаоллигини ўрганиш ҳамда улар асосида янги, самарали дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 07 февралдаги ПФ-4947-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2017 йил 17 февралдаги ПҚ-2789-сонли «ЎЗР ФА фаолиятини такомиллаштириш, илмий тадқиқот ишларини ташкиллаштириш, бошқариш ва молиялаштиришни янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ва 2020 йил 12 августдаги ПҚ-4805-сонли «Кимё ва биология йўналишларида узлуксиз таълим сифати ва

---

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» Фармони.

<sup>2</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 29 октябрдаги ПФ-6097-сон «Илм-фанни 2030 йилгача ривожлантириш концепциясини тасдиқлаш тўғрисида» Фармони.

фан самарадорлигини ошириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарорлари ҳамда ушбу соҳада қабул қилинган бошқа меъёрий ҳужжатлар билан белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.**

Гиалурон кислота ва унинг модификацияланган ҳосилаларини тадқиқ этиш, уларнинг ўсмага қарши биологик фаолликларини ўрганиш борасида хорижлик олимлар томонидан айрим изланишлар олиб борилган. Жумладан, E.J. Oh ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислотани карбоксил гуруҳлари орқали кимёвий модификациялашда амидлаш реакциялари ўрганилган. J.J. Young ва унинг ҳамкасблари томонидан олиб борилган тадқиқотларда гиалурон кислота асосида олинган ички молекуляр боғланган гидрогеллар мустаҳкамроқ бўлиши ва *in vitro* шароитда ферментатив парчаланишга нисбатан чидамлироқ эканлиги. R. Bergman ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислотани 2-хлор-диметокси-1,3,5-триазин ёрдамида ва амидлаш усули ишлаб чиқилган. G. Huerta-Angeles ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислотани бирламчи аминлар билан карбоксил гуруҳлари орқали модификацияланган ҳосилаларини олишда карбоксил гуруҳларини фаоллаштирувчи реагент сифатида 1,1-карбонилдимидазолдан ҳам фойдаланиш мумкинлиги келтирилган. J.E. Prata ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислота метакрилат ҳосилаларини олишда полисахарид карбоксил гуруҳларини глицидилметакрилат билан модификациялаш реакциялари самарали эканлиги кўрсатилган. S.A. Bencherif ва унинг ҳамкасблари томонидан эса ушбу реакция асосан полисахарид карбоксил гуруҳлари билан содир бўлиши, гидроксил гуруҳларининг иккиламчи транс-этерификацияланиши эса қайтар жараён эканлиги аниқланган. J.N. Zhang ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислотани гидроксил гуруҳлари орқали модификациялаш реакцияларини ўрганиш бўйича олиб борилган тадқиқотларда полисахарид гидроксилларни бутандиол диглицидил эфири билан модификациялаш орқали ички молекуляр ва молекулалараро тикилган ҳосилалар олиш мумкинлиги келтирилган. M.N. Collins ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислота гидроксил гуруҳларини дивинил сульфон билан кимёвий модификациялаш орқали ҳам ички молекуляр ва молекулалараро тикилган ҳосилалар олиш мумкинлиги аниқланган. S. Banerji ва унинг ҳамкасблари томонидан CD44 рецептори билан гиалурон кислота октамерининг икки хил конформацияга (А, Б) эга кристаллари ўрганилган ва ўзаро таъсирлашувида асосан олигосахарид занжиридаги 5-8 моносахарид қолдиқлари жойлашган соҳа иштирок этиши аниқланган. H. Lee ва унинг ҳамкасблари томонидан гиалурон кислотанинг паклитаксел билан модификацияланган ҳосилаларини сувли муҳитда дисперсиялаш орқали наномицеллар тайёрланган ва *in vitro* биологик фаоллиги аниқланган.

Мамлакатимизда биологик фаол полисахарид ҳосилалари синтези, уларнинг тузилишини ўрганиш, улар асосида турли касалликларга қарши самарали таъсирга эга бирикмаларни олиш ва уларнинг биологик фаолликларини тадқиқ қилиш бўйича илмий изланишлар Биоорганик кимё институти, Ўсимлик моддалари кимёси институти, Полимерлар кимёси ва физикаси институти, Тошкент кимё технология институтларида, академик Ш.И. Салихов, академик, С.Ш. Рашидова, академик А.С. Тураев, профессор. А.А. Саримсаков ва профессор Г.Р. Раҳманбердиев раҳбарлигида олиб борилмоқда.

Гиалурон кислотанинг айрим цитотоксик бирикмалар билан модификацияланган ҳосилалари олинган бўлсада, модификациялаш реакциялари ва мақбул реакция шароитлари етарлича ўрганилмаган ва кўшимча изланишлар талаб қилади. Шунинг учун гиалурон кислотани цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилаларини бевосита биоконъюгатлар ҳолида олиш, биологик фаолликларини ўрганиш муҳим аҳамият касб этади, чунки улар саклаш ва турли дори шакллари олиш бўйича истиқболли ҳисобланади.

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

**Тадқиқотнинг мақсади** гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларини олиш, реакция шароитларини ҳамда ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармакотоксикологик хусусиятларини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

гиалурон кислотани деполимерлаш орқали кичик молекуляр массали гиалуронанлар олиш, уларни структуравий катталикларини аниқлаш;

гиалурон кислотанинг сульфатланган ҳосилаларини олиш ва уларнинг молекуляр катталиклари ҳамда структураларини аниқлаш;

гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларини олиш, молекуляр катталиклар ва структураларини аниқлаш;

гиалурон кислота модификацияланган ҳосилаларини ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятларини аниқлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида гиалурон кислота, кичик молекуляр массали гиалурон кислоталар, гиалурон кислота сульфат ҳосилалари, гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари, сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин билан

модификацияланган ҳосилалари, уларнинг ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятлари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** кичик молекуляр массали гиалурон кислоталар олиш, гиалурон кислотанинг сульфатланган ҳосилалари, гиалурон кислота ва унинг сульфатланган ҳосилаларини доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари синтези, реакция шароитлари, молекуляр структуралар ва биологик фаолликларни аниқлаш ҳисобланади.

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

**Диссертация тадқиқотиини илмий янгиллиги** қуйидагилардан иборат: гиалурон кислотани кислотали деполимерлаш реакциясида полисахарид занжирининг ўзгариши, кичик молекуляр массали гиалуронанлар олишнинг мақбул реакция шароитлари аниқланган;

сульфатланган гиалурон кислота ҳосилаларининг гомоген синтез усули, юқори сульфатланиш даражасидаги сульфат ҳосилалар олишнинг мақбул реакция шароитлари ишлаб чиқилган;

гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари синтез қилинган, уларнинг тузулиши физик-кимёвий усуллар ёрдамида исботланган;

гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларини ўсмага қарши биологик фаолликлари, фармако-токсикологик хусусиятлари, структура-фаоллик ўзаро боғлиқликлари аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

юқори молекуляр массали гиалурон кислоталардан кичик молекуляр массали гиалурон кислоталар ва олигогиалуронанлар олиш имконини берувчи кислотали деполимерлаш усули ва унинг мақбул шароитлари ишлаб чиқилган;

кичик молекуляр массали гиалурон кислоталарни пиридин муҳитида пиридин/олтигугурт (VI) оксиди билан гомоген сульфатлаш, юқори сульфатланиш даражасидаги ҳосилалар олиш усуллари ишлаб чиқилган;

кичик молекуляр массали гиалурон кислота ва унинг сульфатланган намуналарини бир босқичли конъюгациялаш орқали доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалар олиш усуллари ишлаб чиқилган;

гиалурон кислоталарнинг доксорубицин тутган ҳосилаларини кам захарлилик ва юқори биологик фаоллик намоён қилиши ҳамда ўсмага қарши дори воситалари яратилишида потенциал объектлиги аниқланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** олинган ҳосилаларни тадқиқ қилишда замонавий физик-кимёвий ва биологик тадқиқот усулларидан фойдаланилганлиги; тадқиқот натижаларининг республика ва халқаро миқёсдаги илмий конференцияларда муҳокама этилганлиги, тажрибалар натижаларини Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги



Олий аттестация комиссияси томонидан тан олинган маҳаллий ва халқаро илмий журналларида чоп этилганлиги билан асосланди.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти кичик молекуляр массали гиалурон кислота ва олигогиалуронанни олиш учун кислотали деполимерлаш усули таклиф қилинганлиги, сульфатланган гиалурон кислота ҳосилалари олиш учун кичик молекуляр массали гиалурон кислоталарни пиридин муҳитда гомоген сульфатлаш усули ишлаб чиқилганлиги, кичик молекуляр массали гиалурон кислоталар ва уларнинг сульфатланган намуналарини доксорубицин билан модификациялаш усули таклиф қилинганлиги, таркибида доксорубицин полисахарид занжири билан амид боғлари орқали боғланган ҳосилаларни олинганлиги, уларнинг молекуляр катталиклари, молекуляр структуралари, ўсмага қарши биологик фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятлари аниқланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, таклиф қилинган усуллар кичик молекуляр массали гиалурон кислота ва унинг сульфатланган ҳосилалари, таркибида доксорубицин тутган модификацияланган ҳосилалар олиш имконини беради. Таклиф қилинган усуллар ҳамда аниқланган биологик фаолликлардан полисахаридлар асосида хавфли ўсмага қарши янги авлод дори воситалари яратишда фойдаланиш мумкин. Тадқиқот натижалари гиалурон кислоталар асосидаги таркибида цитотоксик бирикмалар тутган ҳосилалар асосида ўсмага қарши самарали дори воситалар олишга хизмат килади.

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

ўсмаларга қарши таъсирга эга олигогиалурон ва фолий кислоталари ва доксорубицин асосидаги биоконъюгат учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№ IAP 06578, 2021). Натижада хавфли ўсма кассалликларига қарши самарали, йўналтирилган таъсирга эга дори воситасини яратиш имконини берган;

гиалурон кислота, унинг сульфатланган ва доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларини олиниш усуллари ва олинган намуналардан Хитой Фанлар академияси, Шинжон физика ва кимё-техника институтининг «International Science and Technology Center Projects» лойиҳасида турли ўсмаларга қарши фаолликларни аниқлашда фойдаланилган (Хитой Фанлар академияси, Шинжон физика ва кимё-техника институти маълумотномаси). Натижада, полисахаридлар ҳосилаларининг ўсмага қарши фаоллик механизмларини аниқлаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 4 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 10 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий

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

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 112 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

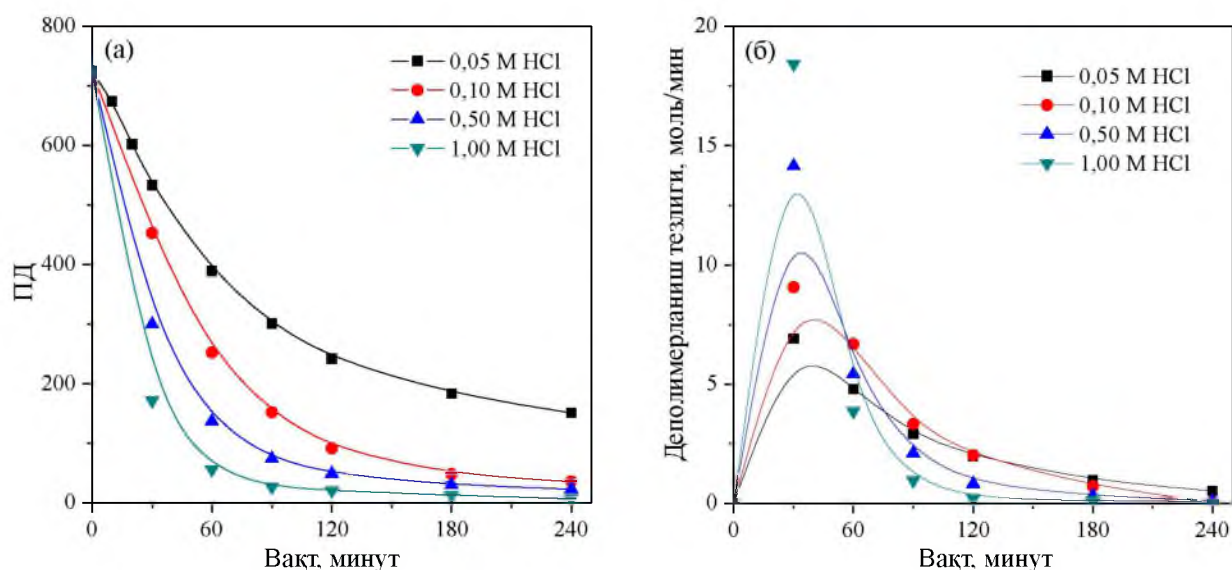
Диссертациянинг «**Гиалурон кислотанинг тузилиши, хоссалари ва уни цитотоксик бирикмалар билан модификациялаш бўйича адабиётлар таҳлили**» деб номланган биринчи бобида диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар ва муаммонинг ўрганилганлик даражаси батафсил таҳлил қилинган, гиалурон кислота ва унинг табиий манбалари, биологик функциялари, физик-кимёвий хусусиятлари, модификацияланган ҳосилалари ва уларнинг олиниш усуллари, доксорубицин, унинг саратонга қарши биологик фаоллик механизмлари ва организмга ноҳўя таъсирлари, гиалурон кислотани доксорубицин билан кимёвий модификациялашда структуравий ўзига хослиги, ҳужайра лектинлари билан ўзаро таъсирлашуви, полисахаридларни цитотоксик бирикмалар билан кимёвий модификациялаш усуллари бўйича сўнгги йиллардаги тадқиқот натижалари келтирилган.

Диссертациянинг «**Гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари синтези, уларни физик-кимёвий ва биологик тадқиқ қилиш усуллари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш босқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва усуллар, хусусан, кичик молекуляр массали гиалурон кислотани олиниши, гиалурон кислотанинг сульфатланган ҳосилалари синтези, гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотани доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари синтези, гиалурон кислота ва унинг модификацияланган ҳосилаларини молекуляр катталиклари ва структураларини аниқлаш, биологик фаолликларини аниқлаш усуллари келтирилган.

Диссертациянинг «**Гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари синтези ва уларнинг физик-кимёвий хоссалари**» деб номланган учинчи бобида кичик молекуляр массали гиалурон кислоталарини олиниши ва структураларини тадқиқ қилиш, сульфатланган гиалурон кислота ҳосилалари синтези ва уларни структураларини аниқлаш, гиалурон кислота ва унинг сульфатланган ҳосилаларининг доксорубицин

билан модификацияланган ҳосилалари синтези ва уларни структураларини аниқлаш натижалари келтирилган.

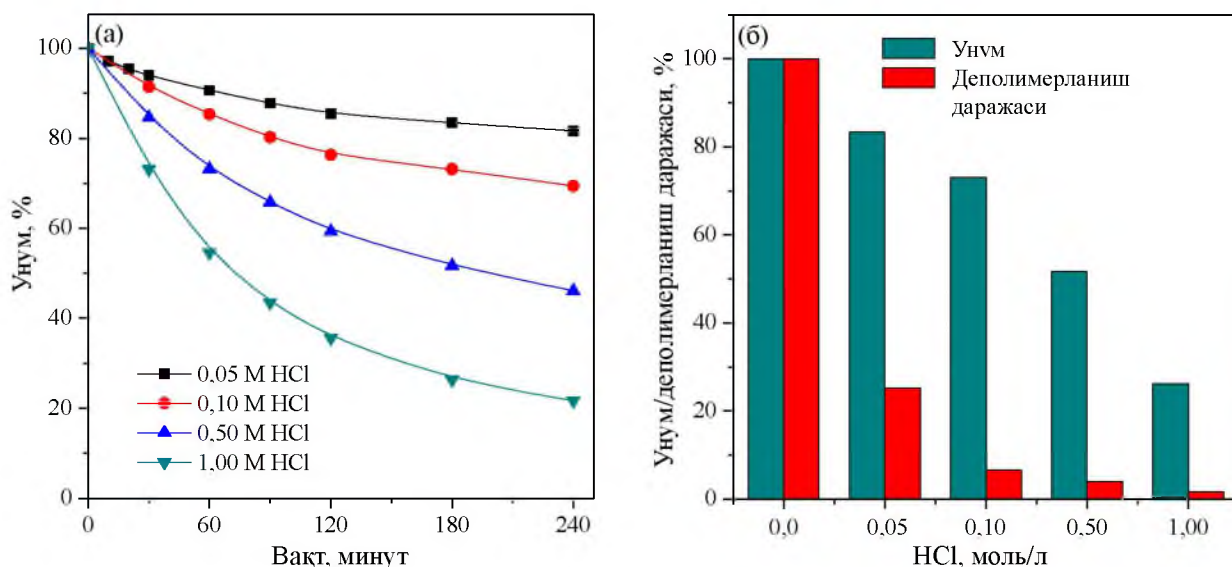
Кичик молекуляр массали гиалурон кислота ва олигогиалуронанлар тайёрлашда кислотали деполимерлаш усулини қўллаш имкониятларини ўрганиш мақсадида гиалурон кислотани кислотали деполимерлаш реакциялари илк бор батафсил тадқиқ қилинди. Шунингдек, тадқиқотларда гиалурон кислота ва доксорубицин асосидаги ўсмага қарши модификацияланган ҳосилалар олиш учун мақбул молекуляр массавий катталиклардаги намуналар тайёрланди. Гиалурон кислотанинг кислотали деполимерлаш бўйича тадқиқотлар хлорид кислота иштирокида, ПД қиймати 725 ( $M_w=290,6$  кДа) бўлган гиалурон кислота намунаси билан олиб борилди. Деполимерланиш реакцияси давомида ҳосил бўлган маҳсулотнинг  $M_w$  ва ПД қийматлари, структуравий ўзгаришлари, деполимерланиш тезлиги ҳамда унумнинг ўзгариши таҳлил қилинди. Кислота концентрацияси ва ҳарорат ўзгармаган ( $HCl$  0,05-1,0 моль/л,  $80^\circ C$ ) шароитларда деполимерланиш давомийлиги ортиши билан олинган маҳсулотларнинг ПД қийматлари камайиб бориши кузатилди. Шунингдек, олинган натижалар реакциянинг дастлабки вақтлари (10-30 минут) давомида гиалурон кислота макромолекуласининг деполимерланиш даражаси юқори бўлиши, кейинги вақтлар давомида эса камайиб боришини кўрсатди (1(а)-расм).



1-расм. Гиалурон кислотани хлорид кислота иштирокида деполимерланиш реакцияси давомида ПД қиймати (а) ва деполимерланиш тезлигининг (б) ўзгариши ( $HCl$  0,05-1,0 моль/л,  $80^\circ C$ )

Деполимерланиш тезлиги реакция бошлангандан сўнг дастлабки 10-30 минут давомида юқори бўлиши, кейинчалик эса камайиб боришини кўрсатди (1(б)-расм). Шунингдек, кислота концентрацияси ва ҳарорат ўзгармаган ( $HCl$  0,05-1,0 моль/л,  $80^\circ C$ ) шароитларда турли вақтларда олинган намуналарнинг полидисперслик индекси (ПДИ) таҳлил қилинганда, реакция давомида олинган маҳсулотларнинг ПДИ қиймати аввалига ортиши вақт ўтиши билан

камайиб бориши аниқланди ва ушбу ўзгаришлар кислотанинг юқорирок концентрацияли эритмалари билан олиб борилган тадқиқотларда яққолроқ намоён бўлди. Тадқиқот натижалари деполимерланиш жараёнининг дастлабки вақтларида олинган маҳсулотларнинг ПД қийматлари билан кескин фарқ қилиши, вақт ўтиши билан уларнинг ПД қийматлари орасидаги фарқ камайиб, бир хилликка интилишини кўрсатади. Деполимерлаш вақти ва ҳарорат ўзгармаган шароитларда (30-240 минут, 80°C) кислота концентрациясининг маҳсулот молекуляр катталикларига таъсири ўрганилганда, хлорид кислота концентрацияси ортиши билан деполимерланиш маҳсулотларининг ПД қийматлари кескин камайиб бориши аниқланди (2(a)-расм). Тадқиқотларда деполимерланиш тезлиги ҳам кислота концентрациясига боғлиқ ҳолда ортиши кузатилди. Деполимерланиш тезлигидаги фарқлар реакциянинг дастлабки вақтларида яққол намоён бўлди (2(б)-расм). Тадқиқотларда шунингдек, вақт ва ҳарорат ўзгармаган шароитларда хлорид кислотанинг юқорирок концентрацияли эритмалари билан олиб борилган деполимерлаш реакция натижасида ПДИ қиймати кичикроқ бўлган намуналар олинди.

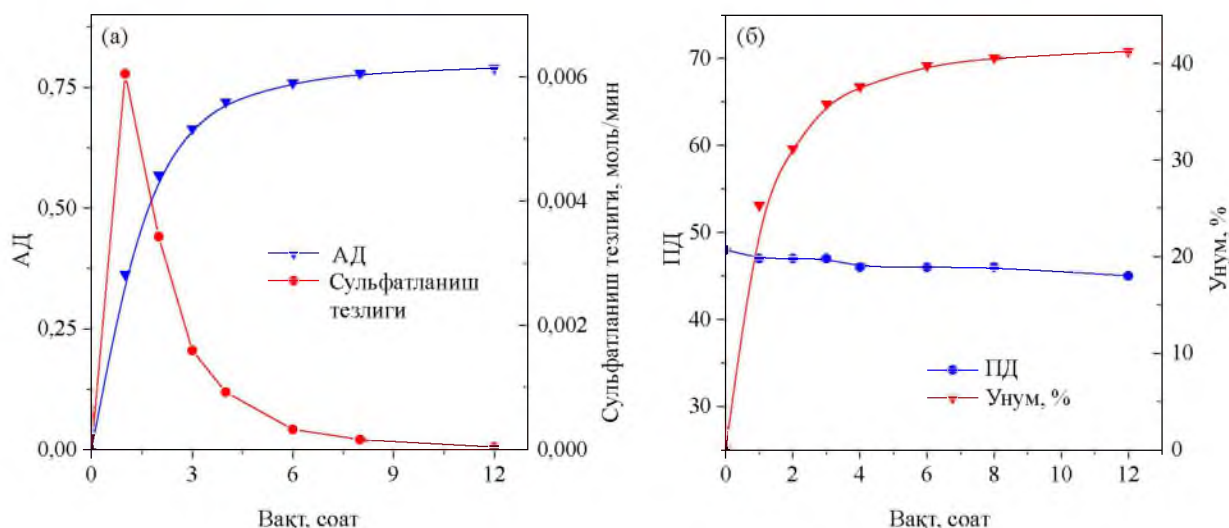


**2-расм. Гиалурон кислотани хлорид кислота иштирокида деполимерланиш реакцияси давомида маҳсулот унуми (а) (б) ўзгариши (НСІ 0,05-1,0 моль/л, 80°C)**

Шундай қилиб, гиалурон кислотанинг кислотали деполимерлаш бўйича тадқиқотлар хлорид кислотанинг 0,05-1,0 моль/л концентрацияли эритмалари билан, 80°C ҳароратда, 10-240 минут давомида, ПД қиймати 725 ( $M_w=290,6$  кДа) бўлган гиалурон кислота намунаси билан олиб борилди ва турли молекуляр катталиқдаги ( $M_w=270,2-2,8$  кДа, ПД=674-7, ПДИ=3,17-1,55, унум 97,1-21,7%) кичик молекуляр массали гиалурон кислота ва олигогиалуронатлар олинди. Реакциянинг мақбул шароитлари (НСІ 0,1 моль/л, ҳарорат 80°C, реакция давомийлиги 180-240 минут) танланди. ИҚ- ва ЯМР спектроскопик тадқиқот натижалари ўрганилганда кислотали деполимерланиш реакциясида гиалурон кислотанинг асосий структураси сақланиши ҳамда полисахарид занжирида қўшимча реакцияларнинг содир

бўлмаслигини ҳамда полисахарид занжирининг парчаланиши гликозид боғларининг узилиши ҳисобига содир бўлишини кўрсатди.

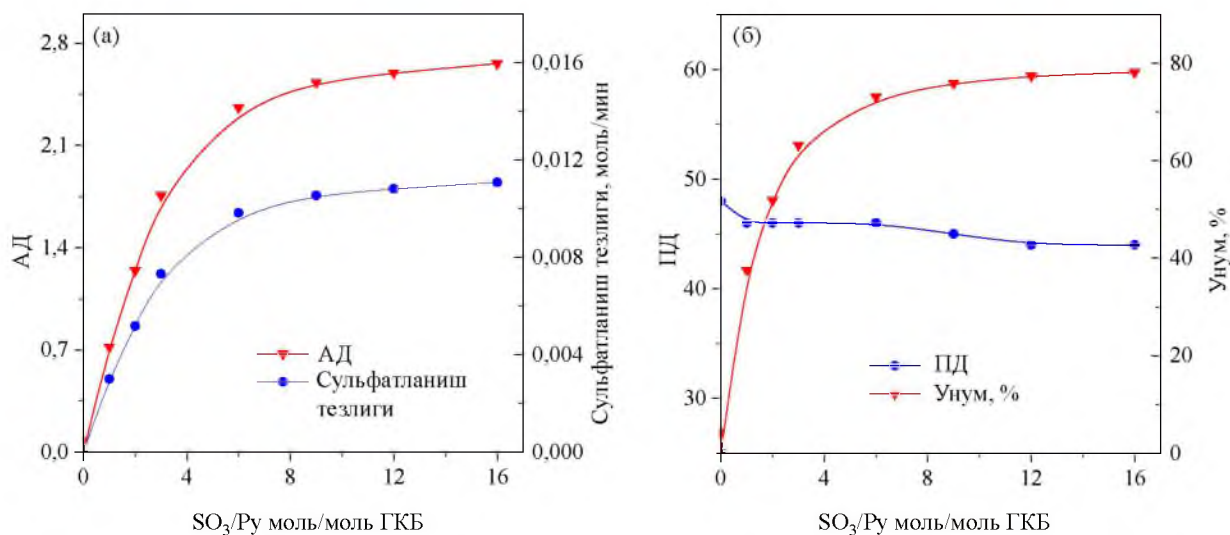
Кичик молекуляр массали гиалурон кислотани  $\text{SO}_3/\text{Py}$  ёрдамида сульфатлаш реакциялари илк бор батафсил тадқиқ қилинди. Шунингдек, тадқиқотларда гиалурон кислота ва доксорубицин асосидаги ўсмага қарши модификацияланган ҳосилалар олиш учун макбул молекуляр катталиклардаги сульфатланган намуналар тайёрланди. Сульфатлаш реакциялари ПД қиймати 48 ( $M_w=19,3$  кДа) бўлган кичик молекуляр массали гиалурон кислота намунаси билан  $40-90^\circ\text{C}$  ҳароратда, 1-12 соат давомида,  $\text{SO}_3/\text{Py}$  нинг 1,0-12,0 моль/моль ГКБ миқдорларида  $\text{Py}$  ёки DMSO муҳитида олиб борилди. Тадқиқотларда кичик молекуляр массали гиалурон кислотанинг сульфатланишига ҳарорат, реакция давомийлиги, сульфатловчи реагент миқдори ҳамда муҳитнинг таъсири ўрганилди. Реакция давомида маҳсулотнинг АД ва ПД қийматлари, сульфатланиш тезлиги, маҳсулот унумидаги ўзгаришлар ўрганилди. Сульфатловчи реагент ва вақт ўзгармаган ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ГКБ, 1 соат) шароитда ҳароратнинг ортиши билан олинган маҳсулотнинг АД қийматлари ҳам ортиб борди. Ҳарорат  $80^\circ\text{C}$  гача оширилганда, маҳсулотнинг АД қиймати 0,36 гача кескин ортиб бориши, ҳароратнинг кейинги  $90^\circ\text{C}$  гача оширилишида эса маҳсулот АД қийматининг 0,37 гача кам ўзгариши кузатилди. Шунингдек, реакция ҳароратни  $40^\circ\text{C}$  дан  $90^\circ\text{C}$  гача оширилиши олинган маҳсулот ПД қийматининг 48 дан 46 гача камайишига олиб келди ҳамда реакция унуми 20,33-25,94% ни ташкил қилди. Ушбу ҳолат реакцияда полисахарид занжирида кам даражадаги деполимерланиш содир бўлишини кўрсатади.



**3-расм.** Кичик молекуляр массали гиалурон кислотани  $\text{SO}_3/\text{Py}$  билан сульфатлаш давомида АД ва сульфатланиш тезлиги (а) ҳамда ПД ва унумининг (б) ўзгариши ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ГКБ, ҳарорат  $80^\circ\text{C}$ )

Сульфатловчи реагент миқдори ва ҳарорат ўзгармаган ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ГКБ,  $80^\circ\text{C}$ ) шароитда кичик молекуляр массали гиалурон кислота намунаси 12 соат давомида сульфатланганда, реакциянинг дастлабки

вақтларида олинган намуналарнинг АД қийматида кескин ортиш кузатилди. Реакция давомийлигининг сульфатланиш тезлигига таъсири ўрганилганда, сульфатланиш тезлиги ҳам реакциянинг дастлабки 4 соати давомида юқори бўлиши, реакциянинг дастлабки 1 соати давомида эса максимал қийматга (0,00605 моль/мин) эга бўлиши аниқланди. Реакциянинг кейинги вақтларида сульфатланиш тезлигида камайиш кузатилди ва бу кўрсаткич 6-12 соат оралигида минимал қийматларда бўлиши кузатилди (3(а)-расм). Реакция давомида полисахарид занжирининг ПД қийматида қисман камайиш кузатилди. Шунингдек, ушбу реакцияда маҳсулот унуми асосан дастлабки 4 соат давомида кескин ортиб борди ва 37,5% ни ташкил қилди, кейинги вақтларда эса кам ўзгарди ва ушбу кўрсаткич 12 соатда 41,2% гача ортиши аниқланди (3(б)-расм). Олинган натижалар шуни кўрсатдики, маҳсулотнинг АД қиймати, сульфатланиш тезлиги ва унумининг ўсиш суратлари дастлабки 4 соат давомида юқори бўлади, кейинги вақтларда эса кам ўзгаради. Тадқиқотларнинг кейинги босқичида сульфатлаш реакциялари аниқланган макбул ҳарорат ва вақт (80°C, 4 соат) бўйича SO<sub>3</sub>/Py нинг 1,0-16,0 моль/моль ГҚБ миқдорлари билан олиб борилди. Бунда SO<sub>3</sub>/Py миқдори 6,0 моль/моль ГҚБ гача оширилганда, олинган маҳсулотнинг АД қийматларида 2,36 гача кескин ортиш кузатилди. Сульфатловчи реагент миқдорини кейинги оширилишларида АД қийматлари кам ўзгарди ва SO<sub>3</sub>/Py миқдори 16,0 моль/моль ГҚБ гача оширилганда, АД қиймати 2,66 бўлган сульфат ҳосилалар олинди (4(а)-расм).

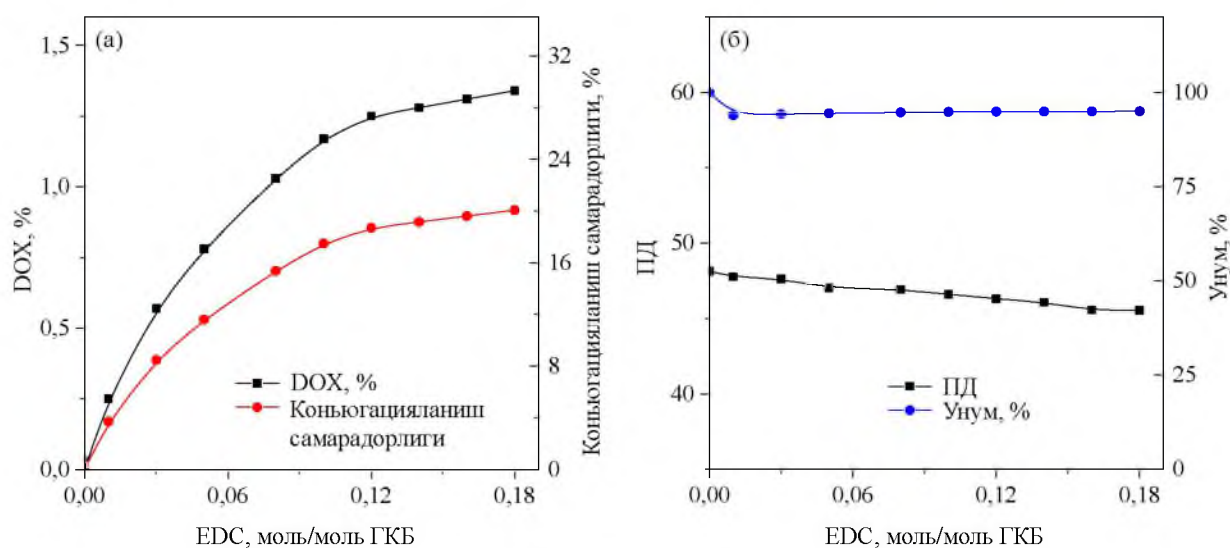


4-расм. Кичик молекуляр массали гиалурон кислотани SO<sub>3</sub>/Py билан пиридин муҳитида сульфатлашда сульфатловчи реагент миқдори ортиши билан маҳсулот АД ва сульфатланиш тезлиги (а) ҳамда ПД ва унумининг (б) ўзгариши (ҳарорат 80°C, вақт 4 соат)

Натижалар SO<sub>3</sub>/Py миқдори 6,0 моль/моль ГҚБ гача оширилганда гиалурон кислотатадаги –ОН гуруҳларининг асосий қисми (58,95%) сульфатланишини кўрсатди. Реакцияда сульфатловчи реагент миқдорининг оширилиши билан намуналарнинг ПД қиймати камайиб борди, лекин кескин камайиши кузатилмади (4(б)-расм). Тадқиқотларнинг кейинги босқичида



доксорубицин миқдори ва вақт ўзгармаган (0,05 моль/моль ГКБ, 24 соат) шароитларда EDC миқдорининг ортиши билан конъюгат таркибида доксорубицин миқдорининг ортиши кузатилди. Бунда EDC миқдори 0,12 моль/моль ГКБ гача оширилиши билан олинган маҳсулот таркибидаги доксорубицин миқдори 1,25% гача кескин ортиб бориши кузатилди. EDC миқдорининг 0,18 моль/моль ГКБ гача оширилишида эса олинган маҳсулот таркибида доксорубицин миқдори 1,34% гача кам даражада ўзгариб борди. EDC миқдорининг конъюгацияланиш самарадорлигига таъсири ўрганилганда, унинг EDC миқдорига мос равишда ортиб бориши кузатилди (6(a)-расм). Бундан ташқари EDC миқдорининг маҳсулот ПД қийматига ҳамда реакция унумига таъсири ўрганилганда, EDC миқдори ортиши билан олинган конъюгатларнинг ПД қиймати 48 дан 46 гача кам ўзгариши, реакция унумининг эса 93,89 дан 94,93% гача ортиши кузатилди (6(б)-расм).

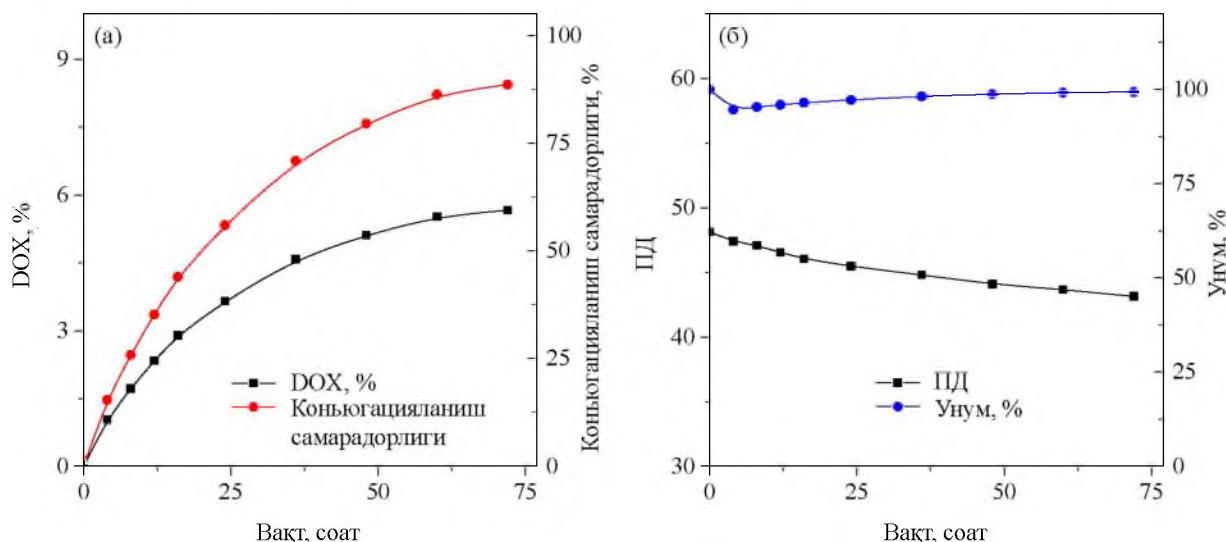


**6-расм. Кичик молекуляр массали гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари таркибидаги доксорубицин миқдорининг EDC миқдорига боғлиқлиги (а) ҳамда унумидаги (б) ўзгаришлар (DOX 0,05 моль/моль ГКБ, NHS 0,01 моль/моль ГКБ, 24 соат)**

Тадқиқотларда EDC, доксорубицин миқдори ҳамда реакция давомийлиги ўзгармаган (EDC 0,12 моль/моль ГКБ; DOX 0,05 моль/моль ГКБ; 24 соат) шароитларида NHS миқдорининг 0,2 моль/моль ГКБ гача оширилиши олинган маҳсулот таркибида доксорубицин миқдорининг 3,65% гача кескин ортиши, NHS миқдорининг 0,35 моль/моль ГКБ гача кейинги оширилишида эса олинган маҳсулот таркибида доксорубицин миқдорининг кам (3,82%) ўзгариши кузатилди. Шунингдек тадқиқотларда NHS миқдорининг ортиши конъюгацияланиш самарадорлигининг кескин ортишига олиб келди. NHS миқдори оширилиши билан олинган маҳсулотларнинг ПД қиймат 48 дан 45 гача камайиши, реакция унуми эса 94,84% дан 97,38% гача ортиши кузатилди. Доксорубицин миқдори ва ҳарорат ўзгармаган (DOX 0,05 моль/моль ГКБ, 25°C) шароитларда реакция давомийлиги ортиши билан, олинган маҳсулот таркибида доксорубицин миқдорининг ортиши кузатилди (7(a)-расм). Конъюгацияланиш самарадорлигини вақтга боғлиқлиги текширилганда, ушбу



кўрсаткич ҳам маҳсулот таркибидаги доксорубицин миқдорига мос равишда дастлабки 48 соат давомида 79,54% гача жадал ортиши, кейинги вақтлар давомида эса 88,61% гача нисбатан кам ўзгариши маълум бўлди. Тадқиқотларда 72 соатдан кейин олинган маҳсулотнинг ПД қиймати 48 дан 43 гача камайганлиги аниқланди (7(б)-расм). Олиб борилган реакцияларда 4-72 соат давомида гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари 94,63-99,28% унум билан олиниши аниқланди.



**7-расм. Кичик молекуляр массали гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилаларини олиш реакцияси давомида маҳсулот таркибидаги (а) доксорубицин миқдори ва конъюгацияланиш самарадорлиги ҳамда (б) ПД қиймати ва унумдаги ўзгаришлар (DOX 0,05 моль/моль ГКБ, ҳарорат 25°C)**

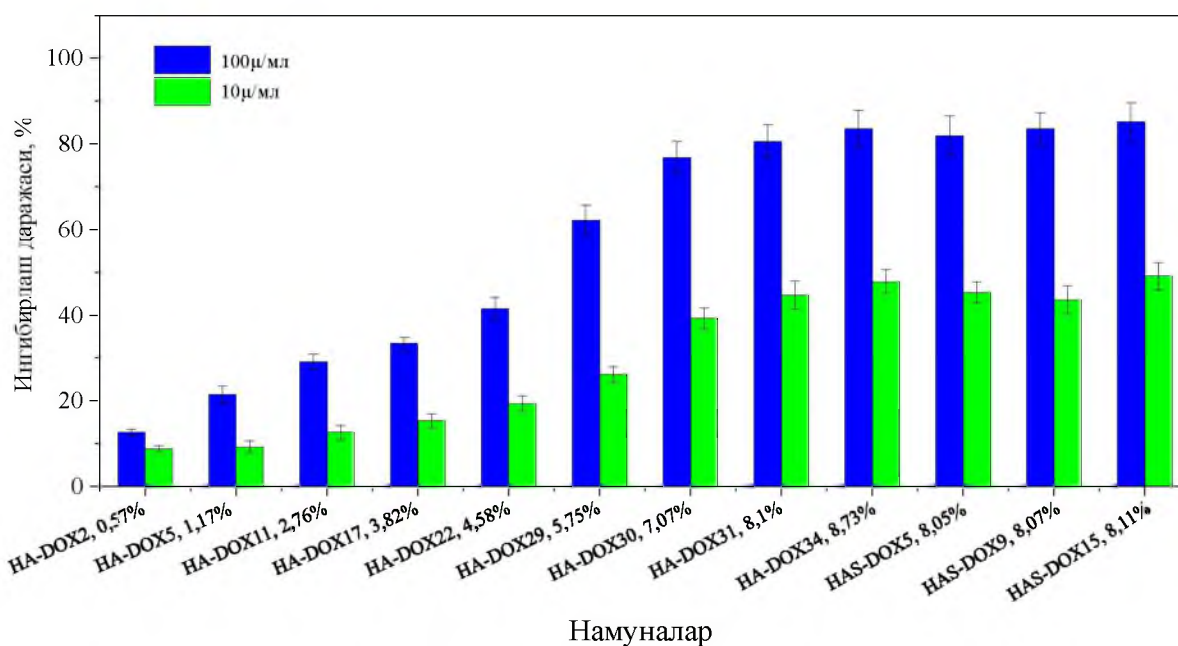
Реакция давомийлиги ва активловчи реагентлар (EDC, NHS) миқдори ўзгармаган (48 соат, EDC 0,12 моль/моль ГКБ; NHS 0,2 моль/моль ГКБ) шароитларда доксорубициннинг турли миқдорлари (0,01-0,2 моль/моль ГКБ) билан таркибида 1,19-8,73% доксорубицин тутган намуналар олинди.

Шундай қилиб, гиалурон кислотани доксорубицин билан модификациялаш реакциялари ПД қиймати 48 ( $M_w=19,3$  кДа) бўлган гиалурон кислота намунаси ва ПД қиймати 47-46 ( $M_w=20,6-29,5$  кДа, АД=0,36-2,36) сульфатланган гиалурон кислота намуналари билан EDC нинг 0,01-0,18 моль/моль ГКБ, NHS нинг 0,01-0,35 моль/моль ГКБ, ҳамда доксорубициннинг 0,05-0,2 моль/моль ГКБ миқдорларида 25°C ҳароратда, 4-72 соат давомида олиб борилди ва турли молекуляр катталиқдаги ( $M_w=29,9-18,3$  кДа, ПД=47-43, DOX=0,25-8,73%, унум 99,8-86,22%) доксорубицин тутган ҳосилалар олинди. Доксорубицин тутган гиалурон кислота намуналарининг структуралари УБ-, ИҚ- ва  $^{13}\text{C}$  ЯМР- спектроскопия усуллари ёрдамида тадқиқ қилинди. Натижалар доксорубицин билан модификацияланган гиалурон кислота ва унинг сульфатланган ҳосилалари таркибида доксорубицин тутишини, цитотоксик бирикма гиалурон кислота занжирининг глюкоурон кислота қолдиги карбоксил гуруҳлари билан амид боғлари (-CO-NH-) орқали боғланишини кўрсатди.

Диссертациянинг «Гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотани доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларининг ўсмага қарши биологик фаолликлари» деб номланган тўртинчи бобида гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари, *in vivo* фаолликлари ва фармако-токсикологик хусусиятларига оид тадқиқот натижалари келтирилган.

Кичик молекуляр массали гиалурон кислотани доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари таркибидаги доксорубицин эритма рН муҳитига боғлиқ ҳолда ажралиши аниқланди. Бунда намуналар таркибидаги доксорубицин қон рН муҳитида (рН 7,4) кам даражада (34,61-37,93%, 24 соат) ажралган ҳолда ўсма ҳужайралари/тўқималарининг рН муҳитларида (рН 5,0-6,8) тез (52,57-79,33%, 24 соат) ажралиб чиқиши кузатилди. Сульфатланган гиалурон кислота занжиридан доксорубицин нисбатан секин ажралиши аниқланди.

Кичик молекуляр массали гиалурон кислотани доксорубицин билан модификацияланган ҳосилалари таркибидаги цитотоксик бирикма миқдорининг ортиши билан уларнинг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари ортиши аниқланди (8-расм).



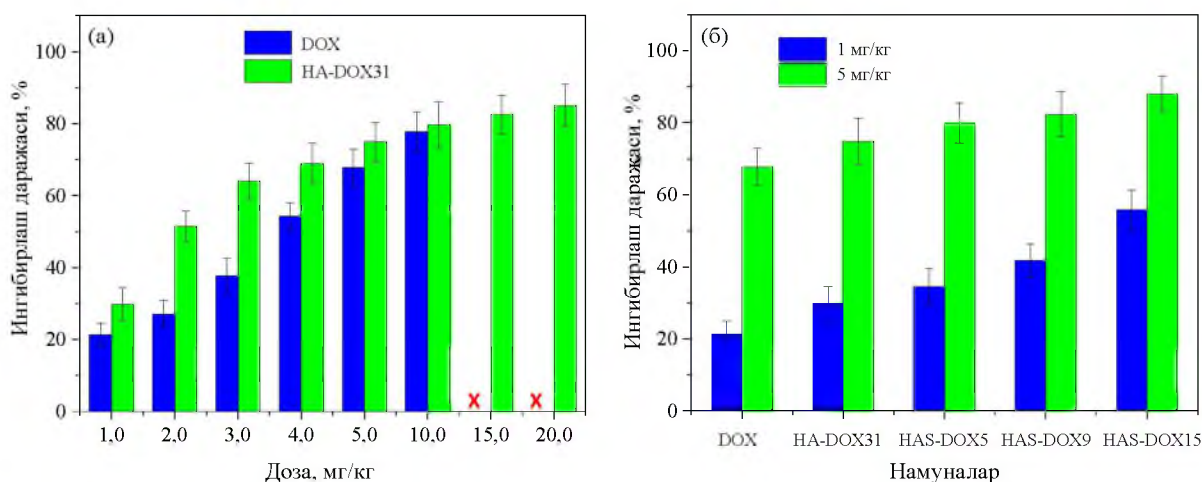
**8-расм.** Гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларининг ўсмага қарши *in vitro* фаолликлари. Расмда гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган (HA-DOX-2-34) ҳамда сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилаларининг (HAS-DOX-5-9-15) биологик фаолликлари келтирилган

Таркибида 7,07-8,73% доксорубицин тутган гиалурон кислота ҳосилалари ўсма ҳужайралари (Hela) ўсишини юқори даражада (76,81-83,46%) ингибирлаши кузатилди. Сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари (HAS-DOX15, DOX=8,11%) сульфатланмаган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилаларига (HA-DOX31, DOX=8,10%)

нисбатан юқори *in vitro* биологик фаоллик (мос равишда 80,51 ва 85,15%, Hela) намоён қилди.

Ҳайвонларда олиб борилган (*in vivo*) тадқиқотларда гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосиласи (HA-DOX31) эркин доксорубицинга нисбатан юқори биологик фаоллик (DOX 67,76%, HA-DOX31 74,88%, ҳажм, 5мг/кг) кўрсатди ва ҳайвонларда ўлимнинг камайиши (DOX 60%, HA-DOX31 20%, 5мг/кг) кузатилди.

Юқори даражада сульфатланган, таркибида доксорубицин тутган ҳосилалар (HAS-DOX9, HAS-DOX15) эркин доксорубицин ва сульфатланмаган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилаларига (HA-DOX31) нисбатан юқори биологик фаоллик (DOX 67,76%, HA-DOX31 74,88%, HAS-DOX9 82,35%, HAS-DOX15 88,05%, ҳажм, 5мг/кг) кўрсатди ҳамда улар қўлланилганда ҳайвонларда ўлим ҳолатлари билан боғлиқ захарли таъсирларнинг кескин камайиши (DOX 60%, HA-DOX31 20%, HAS-DOX9 0%, HAS-DOX15 0%, 5мг/кг) аниқланди. Натижалар сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган намуналарига нисбатан истикболлироқ эканлигини кўрсатди (9(а,б)-расм).



**9-расм. Гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин билан модификацияланган ҳосилаларининг ўсмага қарши *in vivo* фаолликлари.** Расмда DOX ва гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган HA-DOX-31 ҳосиласи (а) ҳамда сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган HAS-DOX15 (б) ҳосиласининг ўсмага қарши фаолликлари келтирилган

Ўткир захарлиликни ўрганиш натижалари эркин доксорубицин, HA-DOX31, HAS-DOX15 намуналарининг ЛД<sub>50</sub> қийматлари мос равишда 58, 4470 ва 5200 мг/кг ни ташкил қилишини, гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари эркин доксорубицинга нисбатан деярли 77-90 марта кам захарли эканлигини кўрсатди. Тадқиқотларда HA-DOX31 ва HAS-DOX15 намуналари нисбатан зарарсиз бирикмаларнинг VI синфига, доксорубицин препарати эса ўртача захарли бирикмаларнинг III синфига кириши аниқланди.

## ХУЛОСАЛАР

1. Гиалурон кислотани кислотали деполимерлаш реакциялари тадқиқ қилинди ва бунда полисахарид занжирининг асосий структураси сақланиши аниқланди. Гиалурон кислотани цитотоксик бирикмалар билан модификацияланган ҳосилалари тайёрлаш учун керакли молекуляр катталиқдаги гиалурон кислоталар олишнинг мақбул шароитлари тавсия этилди.

2. Кичик молекуляр массали гиалурон кислоталарнинг сульфатланган ҳосилаларини олиш усули, юқори сульфатланиш даражасидаги ( $AD=2,66-0,22$ ) ҳосилалар олишнинг мақбул шароитлари ишлаб чиқилди. Полисахарид занжиридаги углерод атомларининг сульфатланиш фаоллиги  $NAcCluC6 > GluAC2 > NAcCluC4 > GluAC3$  тартибда ўзгариб бориши аниқланди.

3. Гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотани доксорубицин билан модификациялаш реакциялари тадқиқ қилинди ва таркибда  $0,25-8,73\%$  доксорубицин тутган ҳосилалар олинди. Доксорубицин GluA карбоксил гуруҳлари билан амид (-CO-NH-) боғлари орқали боғланиши аниқланди, таркибда юқори даражада цитотоксик бирикма тутган ҳосилалар олишнинг мақбул шароитлари ишлаб чиқилди.

4. Модификацияланган ҳосилалардаги доксорубицин ўсма хужайралари рН муҳитида (рН 5,0-6,8) тез ажралиши аниқланди. Сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари (HAS-DOX15, DOX=8,11%) сульфатланмаган ҳосилаларга (HA-DOX31, DOX=8,10%) нисбатан юқори (*in vitro*) фаоллик (мос равишда 85,15%, 80,51%) намоён қилиши кўрсатилди.

5. Ҳайвонларда ўтказилган (*in vivo*) тадқиқотларда гиалурон кислота ва сульфатланган гиалурон кислотанинг доксорубицин тутган ҳосилалари эркин доксорубицинга нисбатан юқори (DOX 67,76% < HA-DOX31 74,88% < HAS-DOX15 88,05%, 5мг/кг) фаоллик кўрсатди, улар таъсирида ҳайвонлар ўлимининг кескин камайиши аниқланди. Юқори фаоллик кўрсатган ҳосилалар (HA-DOX31, HAS-DOX15) ўсмага қарши дори воситалари яратиш учун истиқболли намуналар сифатида тавсия этилди.

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

---

**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**КИРГИЗБАЕВ ХУСНИДДИН ХАСАНБАЕВИЧ**

**ИЗУЧЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ С ДОКСОРУБИЦИНОМ И ИХ  
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ**

**02.00.10 - Биоорганическая химия**

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

**Ташкент - 2022**

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2021.2.PhD/K241.

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

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

**Научный руководитель:** Мухитдинов Бахтиёр Икромович  
доктор философии (PhD) по химическим наукам,  
старший научный сотрудник

**Официальные оппоненты:** Бобоев Бахром Нуриллаевич  
доктор химических наук, старший научный  
сотрудник

Мирзаахмедов Шарофиддин Яшинович  
кандидат химических наук, старший научный  
сотрудник

**Ведущая организация:** Ўзбекский научно-исследовательский химико-  
фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «29» марта 2022 года в 10<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № 243). (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: «24» марта 2022 г.  
(реестр протокола рассылки № «Н1» от 24 марта 2022 г).



*Sh. N. Salikhov*

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

*N. R. Khoshimova*

**Н.Р.Хошимова**  
Ученый секретарь Научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.б.н.

*M. B. Gafurov*

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

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

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире возрастает потребность в водорастворимых, биоразлагаемых, малотоксичных и эффективных препаратах на основе природных биополимеров в борьбе со злокачественными опухолями. В связи с этим важное значение имеет разработка и внедрение противоопухолевых препаратов нового поколения на основе полисахаридов и их модифицированных цитотоксическими соединениями производных.

На сегодняшний день в мире необратимые побочные эффекты, возникающие в результате неспецифического действия противоопухолевых лекарственных средств, во многих случаях ограничивают их применение в практической медицине. Учитывая комплементарное взаимодействие гиалуроновой кислоты с высокоэкспрессионными рецепторами в опухолевых клетках, ведутся фундаментальные исследования по получению производных на основе данных полисахаридов, обладающих противоопухолевой активностью, малым количеством побочных действий на организм. В связи с этим актуальным является синтез водорастворимых, малотоксичных производных, обладающих противоопухолевым, направленным действием, путем химической модификации гиалуроновой кислоты цитотоксическими соединениями, изучение молекулярных параметров, структурных, физико-химических, биологических и фармакологических свойств, а также разработка эффективных противоопухолевых лекарственных средств на их основе.

В нашей республике проводятся масштабные мероприятия по созданию новых лекарственных препаратов на основе местного природного сырья, проведению обширных научных исследований и развитию местной фармацевтической промышленности. Конкретные задачи в реализации данной работы предусмотрены в Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан<sup>1</sup> и Концепции развития науки<sup>2</sup> до 2030 года «...увеличить производство в фармацевтической отрасли...». В связи с этим важное значение имеет исследование биологически активных веществ местного растительного и животного сырья, изучение их структуры и активности, а также создание на их основе новых эффективных препаратов.

Данное диссертационное исследование в определенной степени послужит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Указе Президента Республики Узбекистан от 17 февраля 2017 года № УП-2789 «О мерах по дальнейшему совершенствованию деятельности Академии наук, организации, управления и финансирования научно-исследовательской деятельности» и

---

<sup>1</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан».

<sup>2</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 29 октября 2020 года № УП-6097 «Об утверждении Концепции развития науки до 2030 года».

Указе Президента Республики Узбекистан от 12 августа 2020 года № УП-4805 «О мерах по повышению качества непрерывного образования и результативности науки по направлениям «химия» и «биология»», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

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

#### **Степень изученности проблемы.**

Зарубежными учеными проведен ряд исследований по изучению гиалуроновой кислоты и ее модифицированных производных, изучению их противоопухолевой биологической активности. В частности, E.J. Oh и его коллегами изучены реакции амидирования при химической модификации гиалуроновой кислоты по карбоксильным группам. В исследованиях J.J. Young и его коллег показано, что внутримолекулярные гидрогели на основе гиалуроновой кислоты прочнее и устойчивее к ферментативной деградации в условиях *in vitro*. R. Bergman и его коллегами разработан метод амидирования гиалуроновой кислоты с использованием 2-хлор-диметокси-1,3,5-триамина. G. Huerta-Angeles и его коллегами показано, что 1,1-карбонилимидазол также может быть использован в качестве реагента для активации карбоксильных групп при получении модифицированных производных гиалуроновой кислоты первичными аминами по карбоксильным группам. J.E. Prata и его коллегами показано, что реакции модификации карбоксильных групп полисахарида глицидилметакрилатом эффективны при получении метакрилат производных гиалуроновой кислоты. S.A. Bencherif и его коллегами установлено, что данная реакция протекает в основном с карбоксильными группами полисахарида, в то время как вторичная транс-этерификация гидроксильных групп является обратимым процессом. В исследованиях J.N. Zhang и его коллег по изучению реакций модификации по гидроксильным группам гиалуроновой кислоты показано, что внутримолекулярные и межмолекулярные сшитые производные могут быть получены путем модификации гидроксильных групп полисахарида диглицидиловым эфиром бутандиола. M.N. Collins и его коллегами установлено, что путем химической модификации гидроксильных групп гиалуроновой кислоты дивинилсульфоном могут быть получены как внутримолекулярные, так и межмолекулярные сшитые производные. S. Banerji и его коллегами изучены кристаллы октамера гиалуроновой кислоты с двумя различными конформациями (A, B) с рецептором CD44 и установлено, что взаимодействие происходит в основном в области, где расположены 5-8 моносахаридных остатков олигосахаридной цепи. H. Lee и его коллегами путем диспергирования в водной среде производных гиалуроновой кислоты, модифицированных паклитакселом, получены наномицеллы и установлена их биологическая активность *in vitro*.



В нашей стране научные исследования по синтезу биологически активных производных полисахаридов, изучению их структуры, получению эффективных соединений на их основе 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 Рашидовой С.Ш., академика Тураева А.С., профессора Сарымсакова А.А. и профессора Рахманбердиева Г.Р.

Несмотря на то, что были получены модифицированные производные гиалуроновой кислоты с некоторыми цитотоксическими соединениями, реакции модификации и оптимальные условия реакции недостаточно изучены и требуют дальнейших исследований. В связи с этим актуальным является получение производных гиалуроновой кислоты, содержащих цитотоксические соединения, непосредственно в виде биоконъюгатов, изучение биологической активности, так как они перспективны для хранения и получения различных лекарственных форм.

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

**Целью исследования** является получение модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты, изучение условий реакций, а также противоопухолевой биологической активности и фармако-токсикологических свойств.

**Задачи исследования** заключаются в следующем:

получение низкомолекулярных гиалуронанов путём деполимеризации гиалуроновой кислоты, установление их структурных параметров;

получение сульфатированных производных гиалуроновой кислоты и определение их молекулярных параметров и структуры;

получение модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты, определение молекулярных параметров и структуры;

установление противоопухолевой биологической активности и фармако-токсикологических свойств модифицированных производных гиалуроновой кислоты.

**Объектами исследования** являются гиалуроновая кислота, низкомолекулярные гиалуроновые кислоты, сульфат производные гиалуроновой кислоты, модифицированные доксорубицин производные гиалуроновой кислоты, модифицированные доксорубицин производные

сульфатированной гиалуроновой кислоты, их противоопухолевая биологическая активность и фармако-токсикологические свойства.

**Предметом исследований** является получение низкомолекулярных гиалуроновых кислот, сульфатированных производных гиалуроновой кислоты, синтез модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и ее сульфатированных производных, условия реакций, молекулярные структуры и определение биологической активности.

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

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

установлены изменения полисахаридной цепи в реакции кислотной деполимеризации гиалуроновой кислоты, оптимальные условия реакции для получения низкомолекулярных гиалуронанов;

разработаны метод гомогенного синтеза сульфатированных производных гиалуроновой кислоты, оптимальные условия реакции для получения сульфат производных с высокой степенью сульфатирования;

синтезированы модифицированные доксорубицин производные гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты, строение которых доказано физико-химическими методами;

установлена противоопухолевая биологическая активность, фармакотоксикологические свойства, взаимосвязь структура-активность модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты.

**Практические результаты исследования** состоят в следующем:

разработан метод кислотной деполимеризации и его оптимальные условия, позволяющие получить низкомолекулярную гиалуроновую кислоту и олигогиалуронаны из высокомолекулярной гиалуроновой кислоты;

разработаны методы гомогенного сульфатирования низкомолекулярных гиалуроновых кислот пиридином/оксидом серы (VI) в среде пиридина с получением высокосульфатированных производных;

разработаны методы получения модифицированных доксорубицин производных путем одностадийной конъюгации низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и ее сульфатированных образцов;

установлено, что доксорубицинсодержащие производные гиалуроновой кислоты обладают низкой токсичностью и высокой биологической активностью, а также являются потенциальным объектом при разработке противоопухолевых препаратов.

**Достоверность результатов исследований** подтверждается тем, что при изучении полученных производных использованы современные физико-химические и биологические методы исследований; результаты исследований

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

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования заключается в том, что для получения низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и олигогиалуронана предложен метод кислотной деполимеризации, для получения сульфатированных производных гиалуроновой кислоты разработан способ гомогенного сульфатирования низкомолекулярной гиалуроновой кислоты в среде пиридина, предложен способ модификации доксорубицином образцов низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и её сульфатированных производных, получены производные, в составе которых доксорубицин связан с полисахаридной цепью посредством амидных связей, установлены их молекулярные параметры, молекулярные структуры, противоопухолевая биологическая активность и фармако-токсикологические свойства.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что предложенные способы позволили получить низкомолекулярную гиалуроновую кислоту, её сульфатированные производные и модифицированные производные, содержащие доксорубицин. Предложенные методы и установленная биологическая активность могут быть использованы для создания нового поколения противоопухолевых препаратов на основе полисахаридов. Результаты исследования послужат получению эффективных противоопухолевых препаратов на основе производных гиалуроновой кислоты, содержащих цитотоксические соединения.

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

получен патент на изобретение Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан на биоконъюгат на основе олигогиалуроновой и фолиевой кислот и доксорубицина, обладающий противоопухолевым действием (№ IAP 06578, 2021). В результате появилась возможность создания эффективного таргетного лекарственного средства против злокачественных новообразований;

гиалуроновая кислота, методы получения и полученные образцы ее сульфатированных и модифицированных доксорубицинов производных использованы в проекте “International Science and Technology Center Projects” Синьцзянского института физики и химии Китайской академии наук при изучении различных противоопухолевых активностей (справка Синьцзянского института физики и химии Китайской академии наук). В результате появилась возможность установления механизмов противоопухолевой активности производных полисахаридов.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования обсуждены на 4 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 3 статьи, в том числе 1 в зарубежной и 2 в республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации, получен 1 патент.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 112 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

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

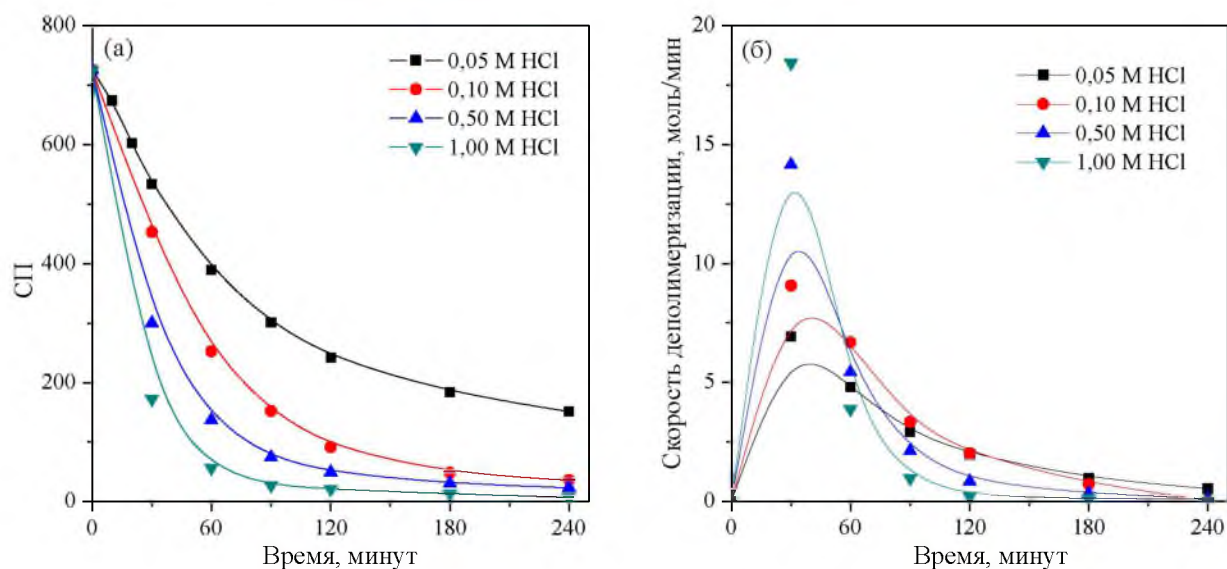
В первой главе диссертации **«Анализ литературы по структуре, свойствам гиалуроновой кислоты и её модификации с цитотоксическими соединениями»** подробно проанализированы научные исследования по теме диссертации и степень изученности проблемы, приведены научные результаты последних лет по гиалуроновой кислоте и её природным источникам, биологическим функциям, физико-химическим свойствам, модифицированным производным и их способам получения, доксорубицину, его механизмам противоопухолевой биологической активности и побочным действиям на организм, структурным особенностям химической модификации гиалуроновой кислоты с доксорубицином, взаимодействию с клеточными лектинами, методам химической модификации полисахаридов с цитотоксическими соединениями.

Во второй главе диссертации **«Синтез производных гиалуроновой кислоты, модифицированных доксорубицином, их физико-химические и биологические методы исследования»** представлены этапы проведения исследований, материалы и методы, использованные при их осуществлении, в частности, получение низкомолекулярной гиалуроновой кислоты, синтез сульфатированных производных гиалуроновой кислоты, синтез модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты, определение молекулярных параметров и структур гиалуроновой кислоты и ее модифицированных производных, методы определения их биологической активности.

В третьей главе диссертации **«Синтез модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и их физико-химические свойства»** представлены результаты по получению низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и исследованию структур, синтезу

сульфатированных производных гиалуроновой кислоты и определению их структур, синтезу модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и её сульфатированных производных и определению их структур.

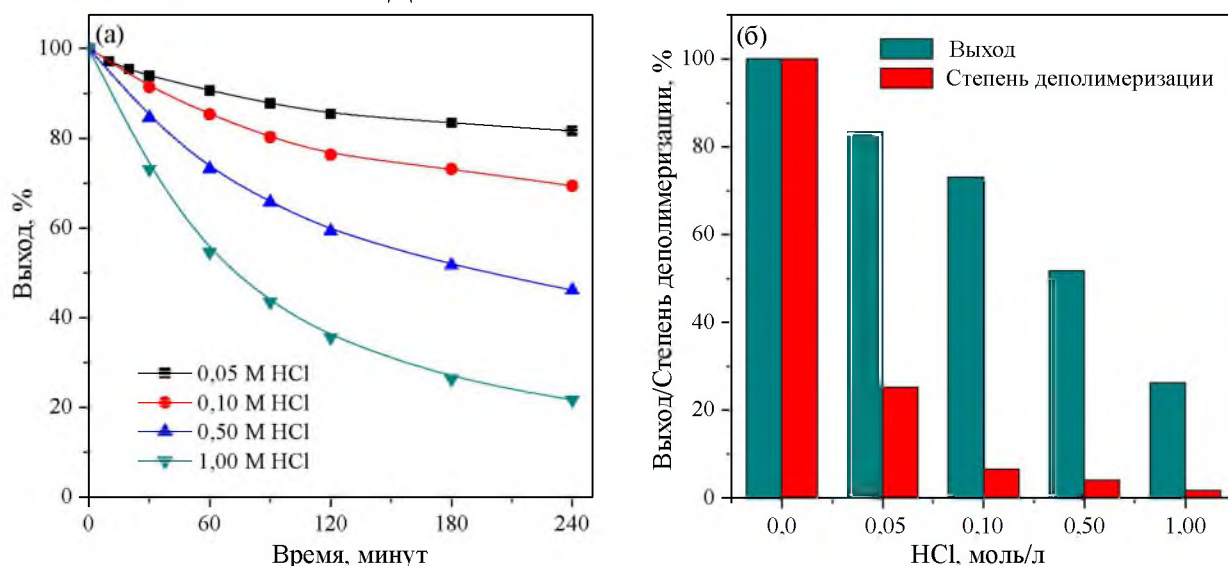
Реакции кислотной деполимеризации гиалуроновой кислоты впервые были подробно исследованы с целью изучения возможности использования метода кислотной деполимеризации при получении низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и олигогиалуронанов. В исследованиях по получению противоопухолевых модифицированных производных на основе гиалуроновой кислоты и доксорубицина были подготовлены образцы с оптимальными молекулярно-массовыми параметрами. Исследования по кислотной деполимеризации гиалуроновой кислоты в присутствии соляной кислоты проводили с образцом гиалуроновой кислоты со СП 725 ( $M_w=290,6$  кДа). Были проанализированы значения  $M_w$  и СП, структурные изменения, скорость деполимеризации и изменение выхода продукта, образующегося в ходе реакции деполимеризации. В условиях неизменной концентрации кислоты и температуры ( $HCl$  0,05-1,0 моль/л,  $80^\circ C$ ) по мере увеличения продолжительности деполимеризации наблюдалось снижение СП полученных продуктов. Полученные результаты также показали, что степень деполимеризации макромолекулы гиалуроновой кислоты была высокой в начальное время реакции (10-30 мин) и снижалась в последующий промежуток времени (рис. 1(а)).



**Рисунок 1. Изменение СП (а) и скорости деполимеризации (б) в процессе реакции деполимеризации гиалуроновой кислоты в присутствии соляной кислоты ( $HCl$  0,05-1,0 моль/л,  $80^\circ C$ )**

Показано, что скорость деполимеризации высока в первые 10–30 мин после начала реакции, а затем снижается (рис. 1(б)). Также при анализе индекса полидисперсности (ИПД) образцов, полученных в разные моменты времени в условиях неизменной концентрации кислоты и температуры ( $HCl$

0,05-1,0 моль/л, 80 °С), установлено, что значение ИПД полученных в процессе реакции продуктов вначале увеличивалось и со временем уменьшалось, данные изменения были явно выражены при исследованиях с более высокими концентрациями растворов кислоты. Результаты исследования показывают, что продукты, полученные на ранних стадиях процесса деполимеризации, резко отличаются по значениям СП, разница между их значениями СП со временем уменьшается и стремится к однородности. При изучении влияния концентрации кислоты на молекулярные параметры продуктов деполимеризации в условиях неизменного времени и температуры (30-240 мин, 80 °С) было установлено, что по мере увеличения концентрации соляной кислоты значения СП продуктов деполимеризации резко снижаются (рис. 2(а)). Исследования показали, что скорость деполимеризации также возрастает в зависимости от концентрации кислоты. Различия в скоростях деполимеризации очевидно проявлялись на ранних стадиях реакции (рис. 2(б)). В исследованиях в результате проведения реакции деполимеризации с более концентрированными растворами соляной кислоты в условиях неизменного времени и температуры также были получены образцы с меньшим значением ИПД.

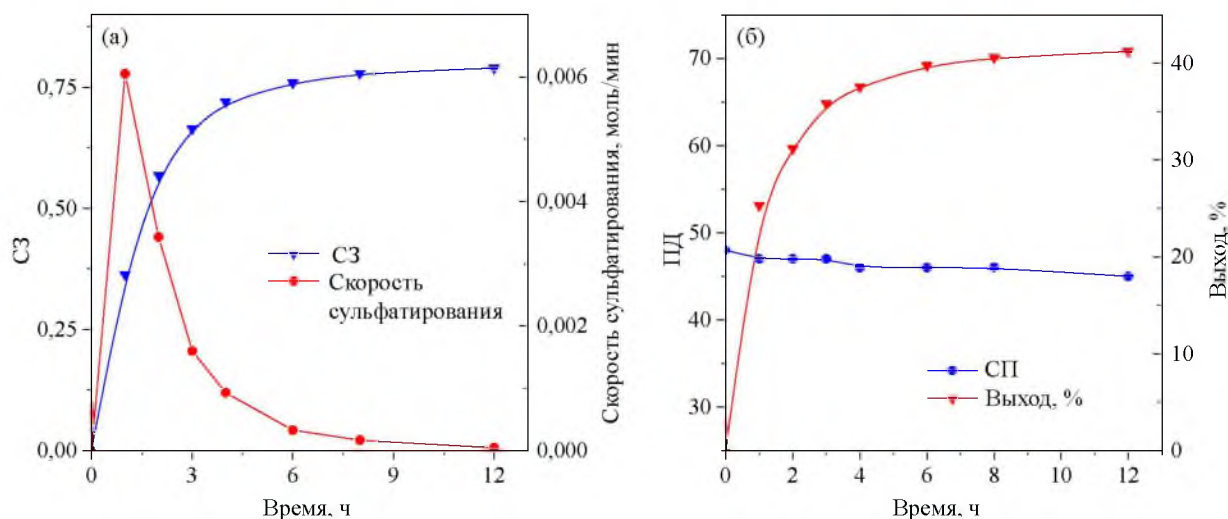


**Рисунок 2.** Изменение выхода продукта (а) (б) в процессе реакции деполимеризации гиалуроновой кислоты в присутствии соляной кислоты (HCl 0,05-1,0 моль/л, 80 °С)

Таким образом, проведены исследования по кислотной деполимеризации гиалуроновой кислоты со СП 725 ( $M_w=290,6$  кДа) растворами соляной кислоты с концентрацией 0,05–1,0 моль/л, при температуре 80 °С, в течение 10–240 мин, и получены низкомолекулярная гиалуроновая кислота и олигогиалуронаны с различными молекулярными параметрами ( $M_w=270,2-2,8$  кДа, СП=674-7, ИПД=3,17-1,55, выход 97,1-21,7%). Подобраны оптимальные условия реакции (HCl 0,1 моль/л, температура 80 °С, продолжительность реакции 180-240 минут). Результаты ИК- и ЯМР-спектроскопических исследований показали, что в реакции кислотной деполимеризации

сохраняется основная структура гиалуроновой кислоты, не происходит дополнительных реакций в полисахаридной цепи, распад полисахаридной цепи происходит за счет разрыва гликозидных связей.

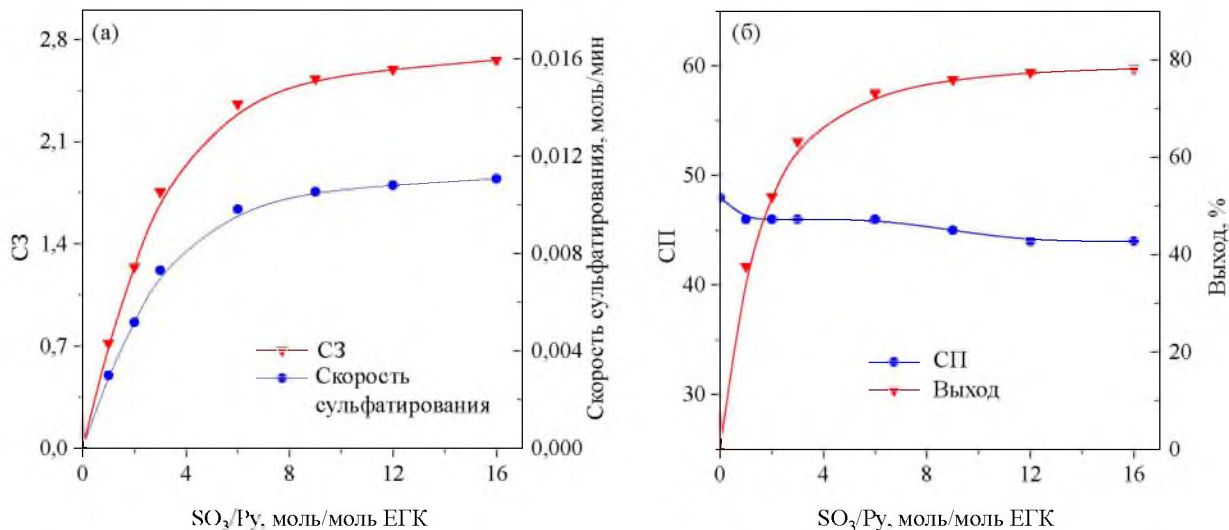
Впервые подробно изучены реакции сульфатирования низкомолекулярной гиалуроновой кислоты с использованием  $\text{SO}_3/\text{Py}$ . В ходе исследований также были подготовлены сульфатированные образцы с оптимальными молекулярными параметрами для получения противоопухолевых модифицированных производных на основе гиалуроновой кислоты и доксорубина. Реакции сульфатирования проведены с образцом низкомолекулярной гиалуроновой кислоты со СП 48 ( $M_w=19,3$  кДа) при температуре  $40-90^\circ\text{C}$ , в течение  $1-12$  ч, с  $1,0-12,0$  моль/моль ЕГК  $\text{SO}_3/\text{Py}$  в среде Py или DMSO. В исследованиях изучено влияние температуры, продолжительности реакции, количества сульфатирующего реагента и среды на сульфатирование низкомолекулярной гиалуроновой кислоты. В ходе реакции изучены значения СЗ и СП продукта, скорость сульфатирования, изменение выхода продукта. Значения СЗ полученного продукта также увеличивались с повышением температуры в условиях неизменного количества сульфатирующего реагента и времени ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ЕГК, 1 ч). При повышении температуры до  $80^\circ\text{C}$  СЗ продукта резко увеличилась до 0,36, а при дальнейшем повышении температуры до  $90^\circ\text{C}$  наблюдалось незначительное изменение СЗ продукта до 0,37. Также повышение температуры реакции с 40 до  $90^\circ\text{C}$  привело к снижению СП полученного продукта с 48 до 46, а выход реакции составил 20,33-25,94%. Данное условие указывает на то, что в реакции происходит низкая степень деполимеризации полисахаридной цепи.



**Рисунок 3.** Изменение СЗ и скорости сульфатирования (а) и СП и выхода (б) при сульфатировании низкомолекулярной гиалуроновой кислоты с помощью  $\text{SO}_3/\text{Py}$  ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ЕГК, температура  $80^\circ\text{C}$ )

При сульфатировании низкомолекулярного образца гиалуроновой кислоты в течение 12 ч в условиях неизменного количества сульфатирующего реагента и температуры ( $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0 моль/моль ЕГК,  $80^\circ\text{C}$ ) наблюдалось резкое

увеличение СЗ полученных образцов в начальной стадии реакции. При изучении влияния продолжительности реакции на скорость сульфатирования было установлено, что скорость сульфатирования также была высокой в течение первых 4 часов реакции, а в течение первого часа реакции она имела максимальное значение (0,00605 моль/мин). На более поздних стадиях реакции наблюдалось снижение скорости сульфатирования, причем эта величина находилась на минимальных значениях в интервале 6–12 ч (рис. 3(а)). В ходе реакции наблюдалось частичное снижение СП полисахаридной цепи. Также в этой реакции выход продукта резко увеличился в течение первых 4 часов и составил 37,5 %, незначительно изменился в последующий промежуток времени, а через 12 часов данный показатель увеличился до 41,2 % (рис. 3(б)). Полученные результаты показали, что СЗ продукта, скорость сульфатирования и характер роста выхода были высокими в течение первых 4 часов, и незначительно изменялись в последующий промежуток времени. На следующем этапе исследования проводили реакции сульфатирования с количеством  $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0–16,0 моль/моль ЕГК при установленных оптимальных значениях температуры и времени (80°C, 4 ч). При этом с увеличением количества  $\text{SO}_3/\text{Py}$  до 6,0 моль/моль ЕГК наблюдается резкое увеличение СЗ полученного продукта до 2,36. С последующим увеличением количества сульфатирующего реагента СЗ изменялась незначительно, а при увеличении количества  $\text{SO}_3/\text{Py}$  до 16,0 моль/моль ЕГК были получены сульфат производные со СЗ 2,66 (рис. 4 (а)).



**Рисунок 4.** Изменение СЗ продукта и скорости сульфатирования (а), а также СП и выхода (б) с увеличением количества сульфатирующего реагента при сульфатировании низкомолекулярной гиалуроновой кислоты  $\text{SO}_3/\text{Py}$  в среде пиридина (температура 80°C, продолжительность 4 часа)

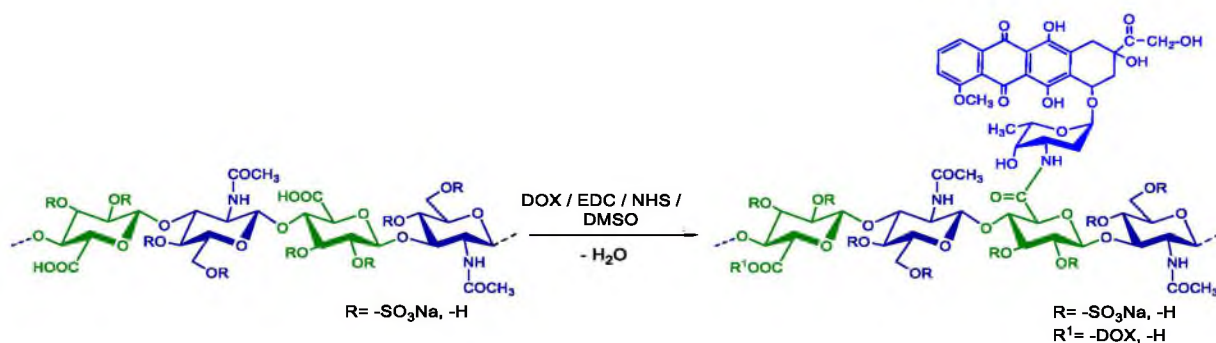
Результаты показали, что при увеличении количества  $\text{SO}_3/\text{Py}$  до 6,0 моль/моль ЕГК происходит сульфатирование основной части -ОН-групп гиалуроновой кислоты (58,95%). По мере увеличения количества сульфатирующего реагента в реакции СП образцов снижалась, однако резкого



снижения не наблюдалось (рис. 4(б)). На следующем этапе исследования реакцию проводили с различными количествами сульфатирующего реагента в среде DMSO. При проведении реакции с количеством  $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0–16,0 моль/моль ЕГК в условиях неизменной температуры и времени ( $80^\circ\text{C}$ , 4 ч) получены образцы со  $\text{CЗ}$  0,44–1,89. Результаты показали, что  $\text{CЗ}$  продуктов, полученных в реакциях сульфатирования, проведенных в среде пиридина, была выше, чем у образцов, полученных в среде DMSO, и СП продуктов изменялась незначительно.

Таким образом, проведены реакции сульфатирования с использованием  $\text{SO}_3/\text{Py}$  в среде  $\text{Py}/\text{DMSO}$  низкомолекулярной гиалуроновой кислоты со СП 48 ( $M_w=19,3$  кДа) при температуре  $40\text{--}90^\circ\text{C}$ , в течение 1-12 часов, с количеством  $\text{SO}_3/\text{Py}$  1,0-12,0 моль/моль ЕГК и получены сульфатированные производные с различными молекулярными параметрами ( $M_w=29,7\text{--}7,1$  кДа, СП=48-12,  $\text{CЗ}=2,66\text{--}0,22$ , выход 78, 17-13,91 %). Установлены оптимальные условия реакции (среда  $\text{Py}$ ,  $\text{SO}_3/\text{Py}$  6,0 моль/моль ЕГК, температура  $80^\circ\text{C}$ , продолжительность реакции 4 ч). ИК- и ЯМР-спектроскопические исследования показали, что в реакции сульфатирования сульфатные группы располагаются в атомах углерода  $\text{C6}'$ ,  $\text{C4}'$  остатка *N*-ацетилглюкозамина полисахаридной цепи и атомы углерода  $\text{C2}$ ,  $\text{C3}$  остатка глюкуроновой кислоты, сульфатирование происходит в основном в атомах углерода  $\text{C6}'$  остатка *N*-ацетилглюкозамина.

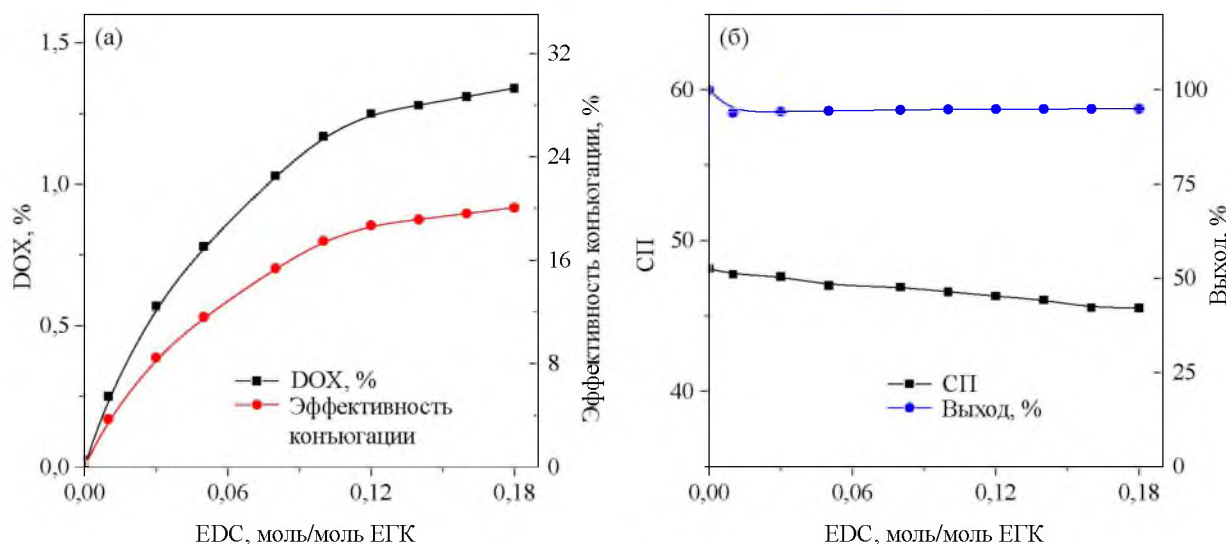
Изучены реакции нуклеофильного замещения низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и ее сульфатированных производных с доксорубицином, влияние условий реакции на молекулярные параметры полученного продукта (рис. 5). В исследованиях также изучена возможность получения доксорубицинсодержащих производных низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты и подготовлены образцы для исследования их биологической активности.



**Рисунок 5. Реакция конъюгации гиалуроновой кислоты и сульфатированных производных гиалуроновой кислоты с доксорубицином**

Реакции модификации с образцами гиалуроновой кислоты со СП 48 ( $M_w=19,3$  кДа) и сульфатированной гиалуроновой кислоты со СП 47-46 ( $M_w=20,6\text{--}29,5$  кДа,  $\text{CЗ}=0,36\text{--}2,36$ ) проведены с количеством EDC 0,01-0,18 моль/моль ЕГК, 0,01-0,35 моль/моль ЕГК NHS и 0,05-0,2 моль/моль ЕГК

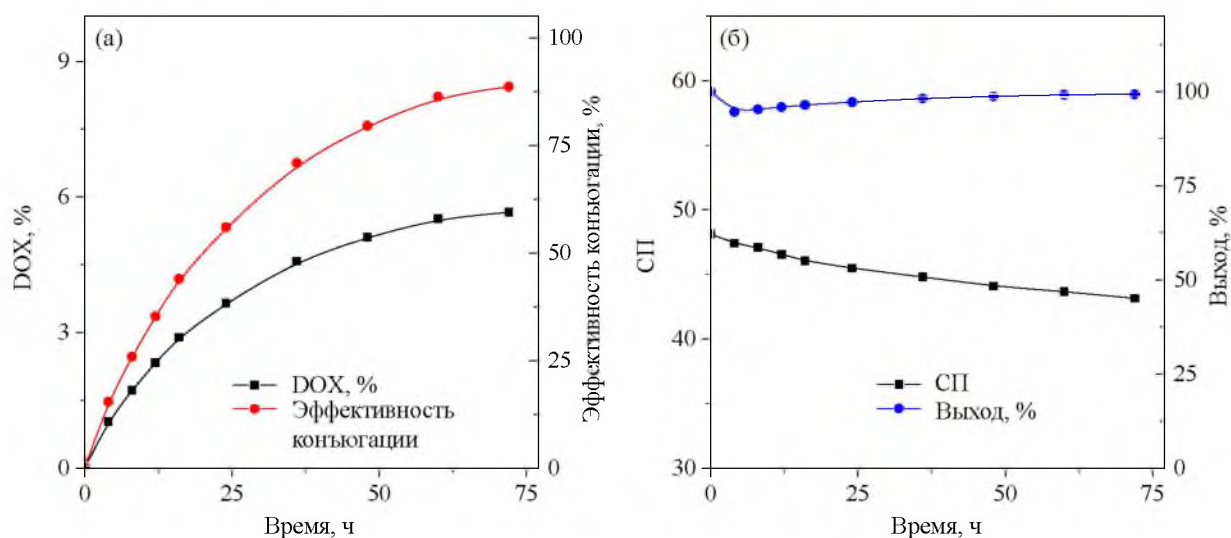
доксорубицина при 25°C в течение 4-72 часов. На начальном этапе исследования при неизменном количестве доксорубицина и времени (0,05 моль/моль ЕГК, 24 часа) по мере увеличения количества EDC наблюдалось увеличение количества доксорубицина в составе конъюгата. При этом с увеличением количества EDC до 0,12 моль/моль ЕГК наблюдалось резкое увеличение количества доксорубицина в составе полученного продукта до 1,25%. При увеличении EDC до 0,18 моль/моль ЕГК содержание доксорубицина в составе полученного продукта изменилось незначительно до 1,34%. При изучении влияния количества EDC на эффективность конъюгации наблюдалось ее возрастание пропорционально количеству EDC (рис. 6(а)). Кроме того, при изучении влияния количества EDC на величину СП продукта и выход реакции, по мере увеличения количества EDC наблюдалось незначительное изменение СП полученных конъюгатов с 48 до 46, и увеличение выхода реакции с 93,89 до 94,93% (рис. 6 (б)).



**Рисунок 6. Зависимость количества EDC от содержания доксорубицина в доксорубицин производных низкомолекулярной гиалуроновой кислоты (а) и изменения выхода (б) (DOX 0,05 моль/моль ЕГК, NHS 0,01 моль/моль ЕГК, 24 часа)**

Исследования показали, что в условиях с неизменным количеством EDC, доксорубицина и продолжительности реакции (EDC 0,12 моль/моль ЕГК; DOX 0,05 моль/моль ЕГК; 24 часа) при увеличении количества NHS до 0,2 моль/моль ЕГК наблюдалось резкое возрастание количества доксорубицина в составе продукта до 3,65%, при последующем же увеличении количества NHS до 0,35 моль/моль ЕГК содержание доксорубицина изменялось незначительно (3,82%). Также в исследовании увеличение количества NHS приводило к резкому увеличению эффективности конъюгации. С увеличением количества NHS СП полученных продуктов уменьшалась с 48 до 45, а выход реакции возрастал с 94,84 до 97,38%. С увеличением продолжительности реакции в условиях с неизменным количеством доксорубицина и температуры (DOX 0,05 моль/моль ЕГК, 25°C), наблюдалось увеличение количества доксорубицина в образующемся продукте (рис. 7(а)). При изучении

зависимости эффективности конъюгации от времени было установлено, что данный показатель также быстро увеличивался до 79,54% в первые 48 часов пропорционально количеству доксорубина в продукте и относительно незначительно до 88,61% в последующий промежуток времени. В исследованиях установлено, что СП продукта, полученного через 72 часа, уменьшилась с 48 до 43 (рис. 7 (б)). Установлено, что в проведенных реакциях в течение 4-72 часов, получены доксорубинсодержащие производные гиалуроновой кислоты с выходом 94,63-99,28%.



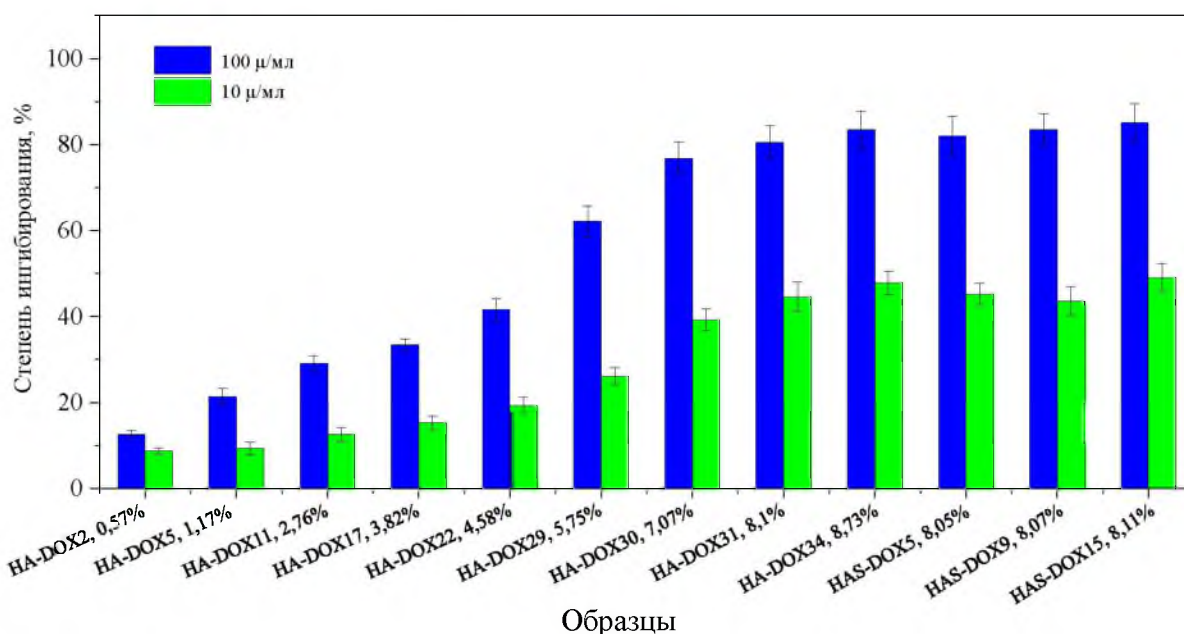
**Рисунок 7. Изменения (а) содержания доксорубина в составе продукта и эффективности конъюгации и (б) величины СП и выхода продукта в реакции получения доксорубинсодержащих производных низкомолекулярной гиалуроновой кислоты (DOX 0,05 моль/моль ЕГК, температура 25 °С)**

В условиях с неизменным временем и количеством активирующих реагентов (EDC, NHS) (48 ч, EDC 0,12 моль/моль ЕГК; NHS 0,2 моль/моль ЕГК) с различным количеством доксорубина (0,01-0,2 моль/моль ЕГК) получены образцы, содержащие в составе 1,19-8,73% доксорубина.

Таким образом, проведены реакции модификации гиалуроновой кислоты с доксорубином образцов гиалуроновой кислоты со СП 48 ( $M_w=19,3$  кДа) и сульфатированной гиалуроновой кислоты со СП 47–46 ( $M_w=20,6–29,5$  кДа,  $SZ=0,36–2,36$ ) при температуре 25 °С, в течение 4-72 часа, с количеством EDC 0,01-0,18 моль/моль ЕГК, NHS 0,01-0,35 моль/моль ЕГК и доксорубина 0,05-0,2 моль/моль ЕГК и получены доксорубинсодержащие производные с различными молекулярными параметрами ( $M_w=29,9-18,3$  кДа, СП=47-43, DOX=0,25-8,73%, выход 99,8-86,22%). Структуру образцов гиалуроновой кислоты, содержащих доксорубин, исследовали методами УФ-, ИК- и  $^{13}C$  ЯМР-спектроскопии. Результаты показали, что модифицированные доксорубином производные гиалуроновой кислоты и её сульфатированных производных, содержат доксорубин, цитотоксическое соединение связано с карбоксильными группами остатка глюконовой кислоты цепи гиалуроновой кислоты посредством амидных связей (-CO-NH-).

В четвертой главе диссертации «Противоопухолевая биологическая активность модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты» представлены результаты исследования противоопухолевой активности *in vitro*, активности *in vivo* и фармако-токсикологических свойств.

Установлено высвобождение доксорубицина в составе модифицированных доксорубицин производных низкомолекулярной гиалуроновой кислоты в зависимости от pH среды раствора. При этом, несмотря на то, что доксорубицин в составе образцов высвобождался в кровь при pH среды (pH 7,4) на низком уровне (34,61-37,93%, 24 часа), в pH средах опухолевых клеток/тканей (pH 5,0-6,8) наблюдалось его быстрое высвобождение (52,57-79,33%, 24 часа). Установлено относительно медленное высвобождение доксорубицина из цепи сульфатированной гиалуроновой кислоты. Установлено, что по мере увеличения количества цитотоксического соединения в составе модифицированных доксорубицин производных низкомолекулярной гиалуроновой кислоты повышается их противоопухолевая активность *in vitro* (рис. 8).



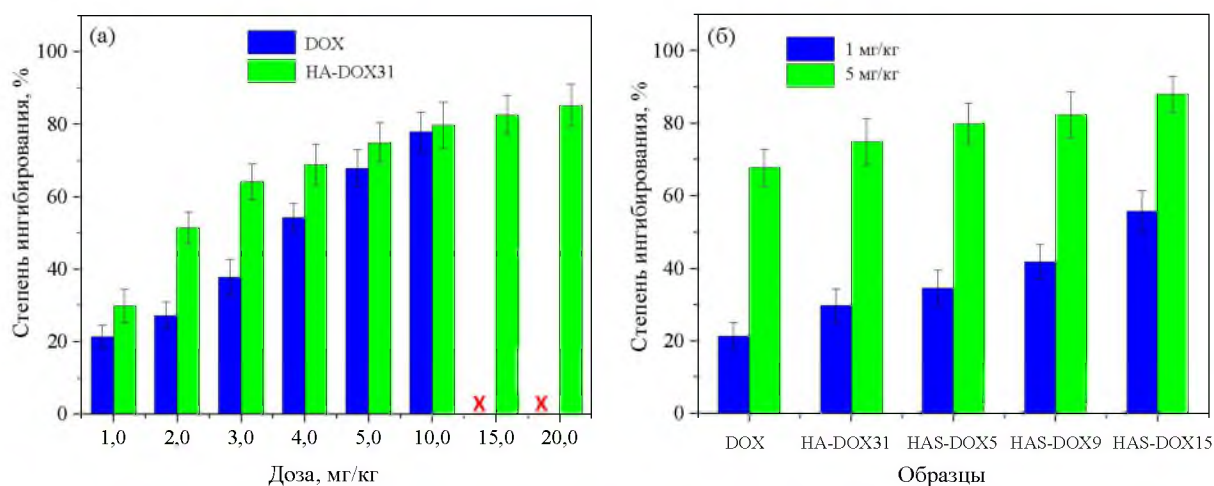
**Рисунок 8.** Противоопухолевая активность *in vitro* модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты. На рисунке представлена биологическая активность доксорубицинсодержащих производных гиалуроновой кислоты (HA-DOX-2-34) и доксорубицинсодержащих производных сульфатированной гиалуроновой кислоты (HAS-DOX-5-9-15).

Отмечено, что производные гиалуроновой кислоты, содержащие 7,07-8,73% доксорубицина, ингибируют рост опухолевых клеток (Hela) с высокой степенью (76,81-83,46%). Доксорубицинсодержащие производные сульфатированной гиалуроновой кислоты (HAS-DOX15, DOX=8,11%) обладают более высокой биологической активностью *in vitro* (80,51 и 85,15%,

Hela, соответственно), чем доксорубицинсодержащие производные несulfатированной гиалуроновой кислоты (HA-DOX31, DOX=8,10%).

В исследованиях (*in vivo*) на животных доксорубицинсодержащее производное гиалуроновой кислоты (HA-DOX31) показало более высокую биологическую активность (DOX 67,76%, HA-DOX31 74,88%, объем, 5 мг/кг), чем свободный доксорубицин, и снижение смертности у животных (DOX 60%, HA-DOX31 20%, 5 мг/кг).

Установлено, что высокосulfатированные доксорубицинсодержащие производные (HAS-DOX9, HAS-DOX15) обладают более высокой биологической активностью (DOX 67,76%, HA-DOX31 74,88%, HA-DOX9 82,35 %, HAS-DOX15 88,05 %, объем, 5 мг/кг), чем свободный доксорубицин и несulfатированные доксорубицинсодержащие производные гиалуроновой кислоты, и при их применении наблюдается резкое снижение токсического действия, связанного с гибелью животных (DOX 60 %, HA-DOX31 20 %, HAS-DOX9 0%, HAS-DOX15 0%, 5 мг/кг). Результаты показали, что доксорубицинсодержащие производные sulfатированной гиалуроновой кислоты более перспективны, чем доксорубицинсодержащие образцы гиалуроновой кислоты (рис. 9(а, б)).



**Рисунок 9. Противоопухолевая активность *in vivo* модифицированных доксорубицин производных гиалуроновой кислоты и sulfатированной гиалуроновой кислоты.** На рисунке показана противоопухолевая активность DOX, доксорубицинсодержащего производного гиалуроновой кислоты HA-DOX-31 (а) и доксорубицинсодержащего производного sulfатированной гиалуроновой кислоты HAS-DOX15 (б)

Результаты изучения острой токсичности показали, что значения LD<sub>50</sub> образцов свободного доксорубицина, HA-DOX31, HAS-DOX15 составили 58, 4470 и 5200 мг/кг, соответственно, доксорубицинсодержащие производные гиалуроновой кислоты почти 77-90 раз менее токсичны, чем свободный доксорубицин. Исследованиями установлено, что образцы HA-DOX31 и HAS-DOX15 относятся к VI классу относительно безвредных соединений, а препарат доксорубицин относится к III классу умеренно токсичных соединений.

## ВЫВОДЫ

1. Изучены реакции кислотной деполимеризации гиалуроновой кислоты и установлено, что основная структура полисахаридной цепи сохраняется. Рекомендованы оптимальные условия получения гиалуроновых кислот с необходимыми молекулярными параметрами для получения модифицированных производных гиалуроновой кислоты с цитотоксическими соединениями.

2. Разработаны метод получения сульфатированных производных низкомолекулярных гиалуроновых кислот, оптимальные условия для получения высокосульфатированных производных ( $C_3=2,66-0,22$ ). Установлено, что сульфатирующая активность атомов углерода в полисахаридной цепи изменяется в ряду  $NAcCluC_6 > GluAC_2 > NAcCluC_4 > GluAC_3$ .

3. Исследованы реакции модификации гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты доксорубицином и получены производные, содержащие 0,25-8,73% доксорубицина в их составе. Установлено, что доксорубицин связывается с карбоксильными группами GluA посредством амидных (-CO-NH-) связей, и разработаны оптимальные условия получения производных, содержащих высокоцитотоксические соединения.

4. Установлено быстрое высвобождение доксорубицина модифицированных производных в рН среде опухолевых клеток (рН 5,0-6,8). Доксорубицинсодержащие производные сульфатированной гиалуроновой кислоты (HAS-DOX15, DOX=8,11%) обладают более высокой (*in vitro*) активностью (85,15%, 80,51%, соответственно), чем несulfатированные производные (HA-DOX31, DOX=8,10%).

5. В исследованиях на животных *in vivo* показано, что доксорубицинсодержащие производные гиалуроновой кислоты и сульфатированной гиалуроновой кислоты обладают более высокой активностью, чем свободный доксорубицин (DOX 67,76% < HA-DOX31 74,88% < HAS-DOX15 88,05%, 5 мг/кг), установлено резкое снижение гибели животных под их влиянием. Высокоактивные производные (HA-DOX31, HAS-DOX15) рекомендованы в качестве перспективных образцов для создания противоопухолевых препаратов.

**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**

**KIRGIZBAYEV HUSNIDDIN HASANBAYEVICH**

**STUDY OF MODIFIED DERIVATIVES OF HYALURONIC ACID WITH  
DOXORUBICIN AND THEIR ANTI-TUMOR ACTIVITY**

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

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

**Tashkent - 2022**

**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/K241.**

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:** **Muhitdinov Bahtiyor Ikromovich**  
doctor of philosophy (PhD) in chemical sciences, senior researcher

**Official opponents:** **Boboyev Baxrom Nurillayevich**  
doctor of chemical sciences, senior scientific researcher

**Mirzaahmedov Sharofiddin Yashinovich**  
candidate of chemical sciences, senior scientific researcher

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

Defense will take place on 29<sup>th</sup> March 2022 year 10<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 «24» March 2022.  
(protocol at the register No 1 dated 24 March, 2022).



*Sh.I. Salikhov*

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

*N.R. Khashimova*

**N.R. Khashimova**  
Acting scientific secretary of scientific council on award of scientific degrees, D.B.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 obtaining doxorubicin-modified derivatives of hyaluronic acid, determination of reaction conditions and anti-tumor biological activity and pharmacotoxicological properties.

**The object of the research work** were hyaluronic acid, low molecular weight hyaluronic acids, sulfated hyaluronic acid derivatives, doxorubicin-modified derivatives of hyaluronic acid, doxorubicin-modified derivatives of sulfated hyaluronic acid, their anti-tumor biological activity and pharmacotoxicological properties.

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

changes in the polysaccharide chain in the acid depolymerization reaction of hyaluronic acid, the optimal reaction conditions for the production of low molecular weight hyaluronans were determined;

a method for homogeneous synthesis of sulfated hyaluronic acid derivatives, optimal reaction conditions for obtaining sulfate derivatives with high degree of sulfation have been developed;

modified derivatives of hyaluronic acid and sulfated hyaluronic acid with doxorubicin were synthesized, the structure of which was proved using physicochemical methods;

anti-tumor biological activity, pharmacotoxicological properties, structure-activity correlations of hyaluronic acid derivatives modified with doxorubicin were determined.

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

patent of the Intellectual Property Agency of the Republic of Uzbekistan (№ IAP 06578, 2021) for the invention of bioconjugate based on oligohyaluronic and folic acids and doxorubicin with anti-tumor effect was received. The results have made it possible to develop effective, targeted drugs against malignant neoplasms;

preparing methods of hyaluronic acid, its sulfated and doxorubicin-modified derivatives and samples obtained were used in the International Science and Technology Center Projects of the Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Institute of Physics and Chemistry to determine the activity against various tumors (reference letter of Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Institute of Physics and Chemistry). The results have made it possible to determine the mechanisms of antitumor activity of polysaccharide derivatives.

**The structure and volume of the thesis.** Containing 112 pages of text, the dissertation has introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendixes.

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

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Қирғизбаев Х.Х., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Тураев А.С., Бойдедаев А.А., Бекмирзаев Ж.Н., Синдаров Б.А. Гиалурон кислотани деполимерлаш реакцияларини ўрганиш // Наманган давлат университети илмий ахборотномаси, 2021. № 8. –Б.52-59. (02.00.00. №18).

2. Қирғизбаев Х.Х., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Тураев А.С., Бойдедаев А.А., Синдаров Б.А., Бекмирзаев Ж.Н. Кичик молекуляр массали гиалуронанларнинг структураларини ўрганиш // Ўзбекистон миллий университети хабарлари, 2021. № 3. –Б.240-244. (02.00.00. №12).

3. Kirgizbaev H.H., Mukhitdinov B.I., Turaev A.S., Normakhamatov N.S., Amonova D.M., Boydedayev A.A. Synthesis and characterization of low molecular weight hyaluronan sulfates // International Journal of Materials and Chemistry 2021. №2. –P.10-16. (02.00.00. №13).

4. Патент РУз № IAP 06578. Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Қирғизбаев Х.Х., Филатова А.В. «Биоконъюгат на основе олигогиалуроновой и фолиевой кислот и доxorубицина, обладающий противоопухолевым действием». 21.09.2021. // Интеллектуал мулк агентлиги расмий ахборотномаси –2021. –№10. –Б.32.

**II Бўлим (II часть; Part II)**

1. Kirgizbayev H.H., Muhitdinov B.I., Amonova D.M. Preparation and characterization of low molecular weight chitosans // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR, FBFS and FHLE SUA in Nitra with international participation Nitra, Slovak Republic, 2019. –P.72.

2. Kirgizbayev H.H., Muhitdinov B.I., Amonova D.M., Turaev A.S., Huang Y., Normakhamatov N.S, Khashimova Z.S., Wang H. Preparation, characterization and antitumor property of doxorubicin-derivatized hyaluronans // 14<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent, 2021. –P.183.

3. Kirgizbayev H.H., Muhitdinov B.I., Boydedayev A.A., Turaev A.S., Amonova D.M., Huang Y., Baratov Q.R., Wang H. Acid-assisted preparation, characterization and wound healing activity of low molecular weight hyaluronans // 14<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent, 2021. –P.184.

4. Bekmirzayev J.N., Muhitdinov B.I., Sindarov B.A., Turaev A.S., Huang Y., Amonova D.M., Kirgizbayev H.H., Wang H. Preparation and characterization of hyaluronic acid-based nanoparticles for cancer drug delivery // 14<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent, 2021. –P 186.

5. Sindarov B.A., Muhitdinov B.I., Bekmirzayev J.N., Amonova D.M., Kirgizbayev H.H., Turaev A.S., Huang Y. Synthesis and characterization of

hydrophobically functionalized hyaluronan derivatives // Илмий-амалий конференция материаллари тўплами. Тошкент, 2021. –Б.95.

6. Kirgizbayev H.H., Muhitdinov B.I., Amonova D.M., Turaev A.S., Huang Y. Preparation and characterization of low molecular weight hyaluronans // Илмий-амалий конференция материаллари тўплами. Тошкент, 2021. –Б.97.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журнали» тахририятида тахрирдан ўтказилиб, ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

Босмахона лицензияси:



9338

Бичими: 84x60 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. «Times New Roman» гарнитураси.  
Ракамли босма усулда босилди.  
Шартли босма табоги: 2,5. Адади 100 дона. Буюртма № 25/22.

Гувоҳнома № 851684.  
«Тирографф» МЧЖ босмахонасида чоп этилган.  
Босмахона манзили: 100011, Тошкент ш., Беруний кўчаси, 83-уй.