

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МУХИТДИНОВ БАХТИЁР ИКРОМОВИЧ

**СУЛЬФАТЛАНГАН ПОЛИСАХАРИДЛАР СИНТЕЗИ ВА УЛАРНИНГ
ТОБАМОВИРУСЛАРГА ҚАРШИ АНТИВИРУС ФАОЛЛИГИНИ
ЎРГАНИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент - 2018

**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**

Мухитдинов Бахтиёр Икромович

Сульфатланган полисахаридлар синтези ва уларнинг тобамовирусларга қарши
антивирус фаоллигини ўрганиш..... 3

Мухитдинов Бахтиёр Икромович

Синтез сульфатированных полисахаридов и изучение их антивирусной
активности против тобамовирусов..... 21

Muhitdinov Bahtiyor Ikromovich

Synthesis of sulfated polysaccharides and study of their antiviral activity against
tobamoviruses..... 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

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

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МУХИТДИНОВ БАХТИЁР ИКРОМОВИЧ

**СУЛЬФАТЛАНГАН ПОЛИСАХАРИДЛАР СИНТЕЗИ ВА УЛАРНИНГ
ТОБАМОВИРУСЛАРГА ҚАРШИ АНТИВИРУС ФАОЛЛИГИНИ
ЎРГАНИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент - 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.PhD/К19 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

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

Илмий раҳбар:	Тураев Аббасхан Сабирханович кимё фанлари доктори, академик
Расмий оппонентлар:	Мавлянов Саидмухтар Максудович кимё фанлари доктори, профессор Азизов Умархон Мухтарович кимё фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	Умумий ва ноорганик кимё институти

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2018 йил «___» _____ соат ___ 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 (_____ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83.Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

Диссертация автореферати 2018 йил «___» _____ да тарқатилди.
(2018 йил _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси)

Ш.И.Салихов

Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Б.Н.Бабаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби в.б., к.ф.д.

А.А.Ахунов

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

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда ўсимликларнинг турли касалликларига қарши курашишда ўсимлик ва одам организмига ножўя таъсири кам бўлган, юқори самарали таъсирга эга препаратларни яратиш муҳим вазифалардан биридир. Ҳозирда биоорганик кимё, микробиология, ўсимлик патологияси, қишлоқ хўжалиги соҳаларининг ривожланиши турли ўсимлик касалликларига қарши қўлланилувчи, ножўя таъсири кам бўлган, ўсимликларнинг фитопатогенларга қарши табиий ҳимоя тизимларини фаоллаштирувчи янги авлоддаги препаратлар яратиш имконини бермоқда.

Бугунги кунда, дунёда тобамовируслар ўсимликларни зарарлаш даражаси ва кенг тарқалганлигига кўра салмоқли ўрин эгаллайди. Тобамовируслар ўсимликларда ҳосил сифатига салбий таъсир қилади, ҳосилдорликни камайтиради, уларнинг патогенларга қарши ҳимоя тизимини кучсизлантириш ҳисобига ўсиши ва бошқа касалликларга чидамлилигини сусайтиради. Ҳозирда тобамовирусларга қарши самарали препарат қишлоқ хўжалиги амалиётида қўлланилмаслиги сабабли, ушбу вирусларга қарши биологик фаол бирикмаларни тадқиқ қилиш долзарб масалалардан бири ҳисобланади. Табиий полисахарид сульфат ҳосилаларининг ҳайвон ва ўсимлик вирусларига қарши юқори фаоллик намоён қилиши, ўсимликларнинг вирусларга қарши ҳимоя механизмларини фаоллаштириши ва элиситор фаоллик кўрсатиши, уларнинг кам захарлилиги аниқланган. Шу сабабли, ушбу бирикмаларнинг ўсимлик вирусларига қарши биологик фаолликларини тадқиқ қилиш ва улар асосида самарали препаратлар яратиш йўналишларида изланишлар олиб борилмоқда.

Мамлакатимизда қишлоқ хўжалигини модернизациялаш ва жадал ривожлантириш, озиқ-овқат экинларини турли касалликлардан ҳимоя қилишнинг замонавий ҳамда юқори самарали усуллари ва воситаларини ишлаб чиқиш, уларни амалиётга кенг тадбиқ қилиш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 3 йўналишида «қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини сақлаш, ташиш ва сотиш, агрокимё, молиявий ва бошқа замонавий бозор хизматлари кўрсатиш инфратузилмасини янада кенгайтириш» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу вазифаларни бажаришда ўсимликларнинг вирусли касалликларига қарши фитопрепаратларни яратиш ва қишлоқ хўжалиги амалиётига жорий қилиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2016 йил 24 октябрдаги ПҚ-2640-сонли «Ўсимликларни ҳимоя қилиш ва қишлоқ хўжалигига агрокимёвий хизматларни кўрсатиш тизимини такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарори ҳамда Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» ги Фармонида

белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация ишида олиб борилган тадқиқотлар муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф муҳитни муҳофаза қилиш» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Полисахаридларнинг сульфатланган ҳосилаларини тадқиқ этиш, уларнинг ўсимликларда вирусга қарши ва элиситор фаоллигини ўрганиш борасида хорижлик олимлар томонидан қатор изланишлар олиб борилган. Жумладан, D.Peschel ва B.Saake илмий изланишларида сульфатланган полисахаридларнинг гетероген синтези усуллари ишлаб чиқилган. J.Wang томонидан денгиз сув ўтларидан ажратиб олинган табиий сульфатланган полисахаридлар тобамовирусларга қарши антивирус фаоллик намоён қилиши (*in vitro*) аниқланган. J.Vera томонидан сульфатланган олигосахаридларнинг ўсимликларда тобамовирусларга қарши элиситор фаоллик механизмлари аниқланган. МДХ давлатларида V.Nagorskaya ва L.Lapshina томонларидан сульфатланган полисахаридларни тобамовирусларга қарши антивирус фаолликларини тадқиқ қилишга бағишланган илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Мамлакатимизда биологик фаол полисахарид ҳосилалари синтези, уларнинг тузилишини ўрганиш, улар асосида ўсимликларнинг замбуруғли, бактерияли касалликларига қарши самарали таъсирга эга бирикмаларни излаш ва уларнинг биологик фаолликларини тадқиқ қилиш бўйича илмий изланишлар Биоорганик кимё институти, Полимерлар кимёси ва физикаси институти, Тошкент кимё технология институтиларида, академик Ш.И. Салихов, академик С.Ш. Рашидова, проф. А.А. Ахунов, академик А.С. Тураев, проф. Г.Р. Раҳманбердиев, проф. А.А. Сарымсаков раҳбарлигида олиб борилмоқда.

Тобамовирусларга қарши биологик фаол бирикмаларни тадқиқ қилишга оид сўнгги адабиётларда сув ўтларидан ажратилган, табиий сульфатланган полисахарид таркибига эга бирикмаларнинг тобамовирусларга қарши фаоллиги кўрсатилган. Кимёвий усулда олинган полисахаридлар сульфат ҳосилаларининг тобамовирусларга қарши антивирус ва элиситор фаолликлари ўрганилмаган.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-А10-Т154 «Тамаки мозаикаси вирусига қарши Биосульфоцел» маҳаллий препарати ишлаб чиқариш (2009-2011), ФБ-Т097 «Нишон-органлар учун янги доривор воситалар олиш мақсадида модификацияланган полисахаридлар синтези ва уларнинг биологик

функциялари» (2012-2016) мавзусидаги амалий ва фундаментал лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади молекуляр катталиклари ва макромолекула конформацияси билан фарқ қилувчи полисахарид сульфат ҳосилаларини (сульфат целлюлоза ҳосилалари мисолида) синтези ҳамда уларнинг тобамовирусларига қарши антивирус ва элиситор фаолликлари, фаолликнинг молекуляр катталикларга боғлиқлигини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

молекуляр масса, сульфат гуруҳларининг алмашилиш даражаси, макромолекула конформацияси бўйича фарқ қилувчи полисахарид сульфат ҳосилаларини синтез усулларини ишлаб чиқиш:

- целлюлозани изопропанол ва пиридин муҳитида сульфат кислота, пиридин олтингугурт (VI) оксид комплекси (SO_3/Py) ва пиридин хлорсульфон кислота комплекси ($\text{HSO}_3\text{Cl}/\text{Py}$) билан гетероген сульфатлаш;

- целлюлозани диметилацетамид литий хлорид комплекси (DMA/LiCl, ионли суюқлик) муҳитида пиридин олтингугурт (VI) оксид комплекси (SO_3/Py) билан гомоген сульфатлаш;

целлюлоза сульфат ҳосилаларини сувли муҳитда, икки валентли мис ионлари иштирокида водород пероксид билан радикал деполимерлаш орқали целлюлоза сульфат олигомерларини олиниш усулларини ишлаб чиқиш;

целлюлоза сульфат ва унинг олигомерлари молекуляр катталиклари ва конформацион ўзига ҳосликларини физик-кимёвий усуллар (^{13}C ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия, вискозиметрия, гель-хроматография, элемент анализ) билан аниқлаш;

целлюлоза сульфат ва унинг олигомерларини ўсимлик тобамовирусларига қарши антивирус ва элиситор фаолликларини *in vitro* ва *in vivo* шароитлари аниқлаш, вирусга қарши ва элиситор фаолликларнинг молекуляр катталикларга боғлиқлигини аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида целлюлоза, молекуляр масса, сульфат гуруҳларининг алмашилиш даражаси, макромолекула конформацияси бўйича фарқ қилувчи целлюлоза сульфат ҳосилалари ва целлюлоза сульфат олигосахаридлари, тобамовируслар (тамаки мозаикаси вируси ва помидор мозаикаси вируси), *N. glutinosa* ўсимлиги, фенилаланин-аммиак-лиаза, ўсимликнинг умумий фенол бирикмалари олинган.

Тадқиқотнинг предмети целлюлоза сульфат ҳосилалари синтези, реакция давомида молекуляр катталикларининг ўзгариши, тузилиши, эритмадаги конформацияси, тобамовирусларга қарши антивирус фаоллиги, структура-фаоллик боғлиқликлари, целлюлоза сульфат олигомерларини олиш, молекуляр катталиклари, тузилиши, ўсимликларда тобамовирусларга қарши элиситор фаоллиги, структура-фаоллик боғлиқликларини аниқлаш ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот ишида биоорганик кимё усуллари (полисахаридларни кимёвий модификациялаш, деполимерлаш тозалаш),

бирикмаларнинг кимёвий структураларини аниқлаш (УБ-, ИҚ-, ЯМР-спектроскопия, гель хроматография, вискозиметрия, элемент анализ) ва антивирус фаолликни аниқлаш (электрон микроскопия, ярим-барг), элиситор фаолликни аниқлаш (биринчи фермент фаоллиги ва иккиламчи метаболитлар умумий миқдорини аниқлаш) усуллари қўлланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

целлюлозанинг моно-, ди-, трисульфат ҳосилалари гомоген шароитда синтез қилинган, сульфатланиш кинетикаси, мақбул реакция шароитлари ва гидроксил гуруҳларнинг сульфатланиш имкониятлари аниқланган;

целлюлоза сульфат ҳосилаларининг эритмадаги конформацияси, сульфат гуруҳлари миқдорининг макромолекула конформациясига таъсири аниқланган;

целлюлоза сульфат ҳосилаларининг радикал деполимерланиш реакциясида сульфат гуруҳларининг сақланиши ва гликозид боғларининг селектив парчаланиши исботланган;

целлюлоза сульфат ва уни олигомерларининг тобамовирусларга қарши антивирус ва элиситор фаолликлари, таъсир механизмлари, молекуляр катталиклар билан фаолликлар орасидаги ўзаро боғлиқликлар аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

молекуляр катталиклари турлича бўлган, тобамовирусларга қарши антивирус фаолликка эга полисахаридларнинг моно-, ди- ва трисульфат ҳосилаларини олишга имкон берувчи, ДМА/LiCl муҳитида SO_3/Py билан гомоген сульфатлаш усули (сульфат целлюлоза ҳосилалари мисолида) ишлаб чиқилган;

аниқланган вискозиметрик константалар целлюлоза сульфат ҳосилалари молекуляр массасини капилляр вискозиметрия усули ёрдамида аниқлаш имконини берган;

сульфатланган полисахарид ҳосилаларини сувли муҳитда, икки валентли мис ионлари иштирокида водород пероксид билан радикал деполимерлаш орқали сульфатланган олигосахаридларни олиниш усуллари (сульфат целлюлоза ҳосилалари мисолида) ишлаб чиқилган;

диссертация ишини бажарилиши натижасида олинган целлюлоза сульфат ҳосилалари ва уларнинг олигосахаридлари ўсимлик вирусларига қарши препаратлар яратилишида потенциал объектлиги аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги уларнинг замонавий физик-кимёвий тадқиқот усуллари қўллаш орқали олинганлиги билан тасдиқланади. Олинган маълумотларни статистик қайта ишлаш Стъудент критерияси ёрдамида ўртача қийматнинг ишонччилик интервали оралик қийматларини ҳисоблаган ҳолда олиб борилди. Олинган натижаларнинг исботи мутахассисларнинг эксперт баҳолари, тадқиқот натижаларининг амалга оширилиши, уларнинг республика ва халқаро конференциялардаги муҳокамаси бўлиб, натижаларнинг юқори импакт-факторли рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши ва патент олиниши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти моно-, ди- ва триалмашинган целлюлоза сульфат ҳосилаларини олиш учун гомоген сульфатлаш усули таклиф қилинганлиги, сульфатланган олигосахаридлар олиш учун радикал деполимерлаш усуллари таклиф қилинганлиги, целлюлоза сульфат ҳосилаларининг вискозиметрик константалари ва конформациялари аниқланганлиги, целлюлоза сульфат ҳосилаларининг тобамовирусларга қарши антивирус фаоликлари аниқланганлиги, сульфатланган олигосахаридларнинг ўсимликларда тобамовирусларга қарши элиситор фаоликлари аниқланганлиги ҳисобланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, аниқланган вискозиметрик константалардан фойдаланиб, целлюлоза сульфат ҳосилаларининг молекуляр массаларини капилляр вискозиметрия усули ёрдамида аниқланади. Таклиф қилинган усуллар ҳамда аниқланган механизмлардан сульфатланган полисахаридлар асосида янги антивирус воситалар яратишда фойдаланиш мумкин. Тадқиқот натижалари целлюлоза сульфат ва унинг олигомерлари асосида тобамовирусларга қарши самарали препарат яратиш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Сульфатланган полисахаридлар синтези ва уларнинг тобамовирусларга қарши антивирус фаолигини ўрганиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

ўсимлик баргларидаги тамаки мозаикаси вируси ингибитори учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№ IAP 04603, 12.10.2010). Натижада ўсимлик тобамовирусларига қарши антивирус препарат яратиш имконини берган;

сабзаёт экинларида тобамовирусларга қарши химоя реакцияларининг стимулятори учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№ IAP 20140378, 04.04.2018). Натижада ўсимликларнинг вирусли касалликларига қарши элиситор препарат ишлаб чиқиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 5 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 17 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 4 таси Республика ва 1 таси хорижий журналларда нашр этилган, шунингдек, 2 та патент олинган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 125 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

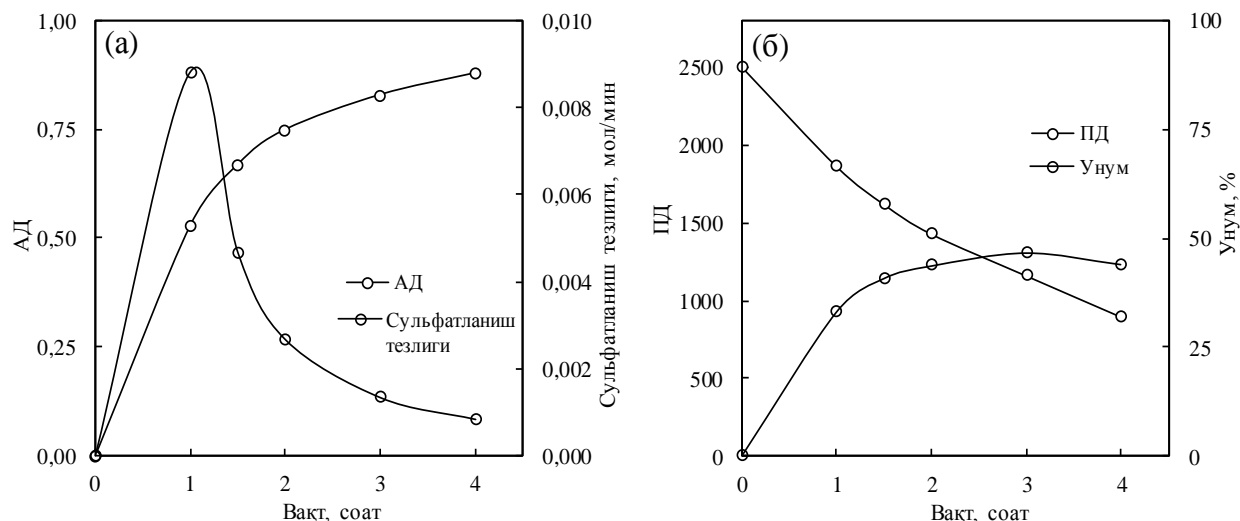
Диссертациянинг **«Сульфатланган полисахаридлар синтези, сульфатланган олигосахаридлар олиш, уларнинг тобамовирусларга қарши биологик фаолликлари бўйича замонавий тадқиқотлар»** деб номланган биринчи бобида диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар ва муаммонинг ўрганилганлик даражаси батафсил таҳлил қилинган, сульфатланган полисахаридларнинг синтези, олигосахаридларнинг олиниши, тобамовирусларнинг тузилиши, ўсимликларнинг ҳимоя механизмлари, сульфатланган поли-, олигосахаридларнинг тобамовирусларга қарши биологик фаолликлари бўйича замонавий тадқиқот натижалари келтирилган.

Диссертациянинг **«Сульфатланган полисахаридлар синтези, сульфатланган олигосахаридларнинг олиниши, уларни физик-кимёвий ва биологик тадқиқ қилиш усуллари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш босқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва усуллар, хусусан, сульфатланган полисахаридларнинг гетероген ва гомоген синтези, сульфатланган олигосахаридларни фракциялаш ва радикал деполимерлаш, сульфатланган поли- ва олигосахаридларнинг молекуляр катталиклари ва структураларини аниқлаш, сульфатланган полисахаридларнинг тобамовирусларга қарши антивирус фаоллигини аниқлаш, сульфатланган олигосахаридларнинг ўсимликларда тобамовирусларга қарши элиситор фаоллигини аниқлаш, «Биосульфоцел» намунавий препаратининг фармакотоксикологик хусусиятларини аниқлаш усуллари келтирилган.

Диссертациянинг **«Сульфатланган полисахаридлар синтези, сульфатланган олигосахаридларнинг олиниши, уларнинг физик-кимёвий хоссалари»** деб номланган учинчи бобида молекуляр катталиклари турлича бўлган целлюлоза сульфат ҳосилаларининг гетероген ва гомоген синтези, молекуляр тузилишлари ва конформацияларини аниқлаш, сульфатланган олигосахаридларни фракциялаш ва радикал деполимерлаш, молекуляр тузилишларини аниқлаш натижалари келтирилган.

Целлюлозани (ПД=2500) H_2SO_4 билан изопропанол муҳитида гетероген сульфатлаш орқали турли молекуляр катталикдаги (АД=0,38-0,92, ПД=1891-880) моносульфат ҳосилалар олинди. Тадқиқот натижалари шуни кўрсатадики, маҳсулот АД қийматининг ортишида сульфатловчи реагент

миқдори ва ҳарорат асосий омиллар ҳисобланади. Сульфатланиш тезлиги дастлабки 1-2 соат давомида юқори бўлади. Лекин реакция муҳити кучли кислотали ҳамда сульфат кислота таркибидаги ва эфирланишда ҳосил бўлган ортиқча сув ҳисобига кучли деэтерификация ва деполимерланиш жараёни кузатилади (1-расм).

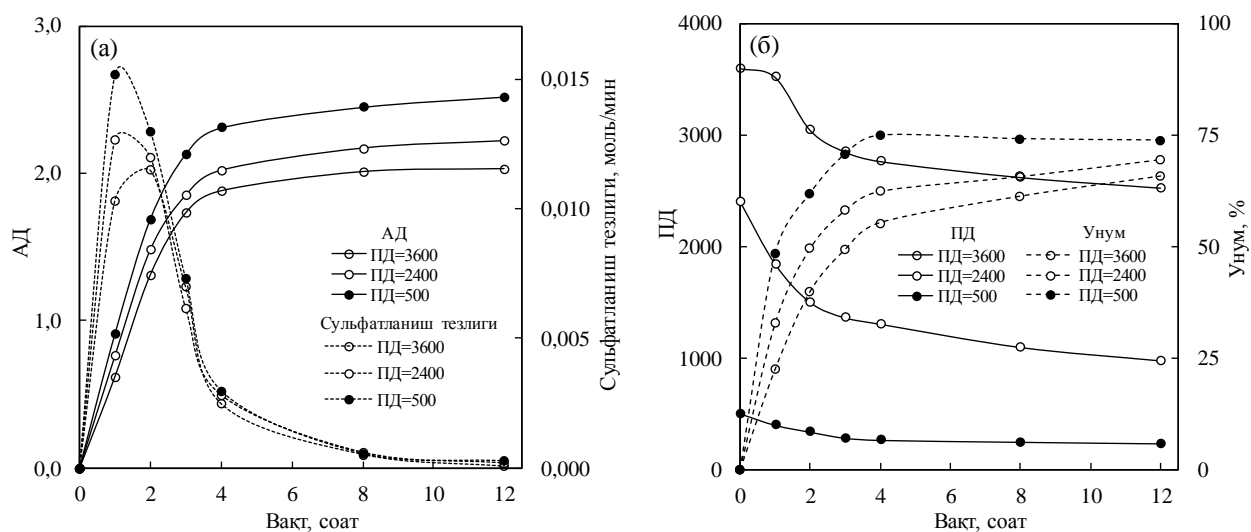


1-расм. Целлюлозани H_2SO_4 билан изопропанол муҳитида гетероген сульфатлаш давомида АД қиймати ва сульфатланиш тезлиги (а) ҳамда ПД қиймати ва маҳсулот унумининг (б) ўзгариши (H_2SO_4 3,0 моль/моль АГБ, ҳарорат $+5^\circ C$)

Ушбу қўшимча эффектлар ҳисобига целлюлозани H_2SO_4 билан изопропанол муҳитида гетероген сульфатлаш орқали АД қиймати юқори бўлган целлюлоза сульфат ҳосилаларини олиш имкони йўқ ва бунда асосан моносульфат ҳосилалар паст унум ($< 50\%$) билан олиш мумкин. Целлюлоза АГБ ларидаги углерод атомларининг сульфатланиш имконияти $C-6 > C-2 > C-3$ тартибида камайиб боради ва ушбу усулда асосан C-6 алмашинган сульфат ҳосилалар олиш мумкин.

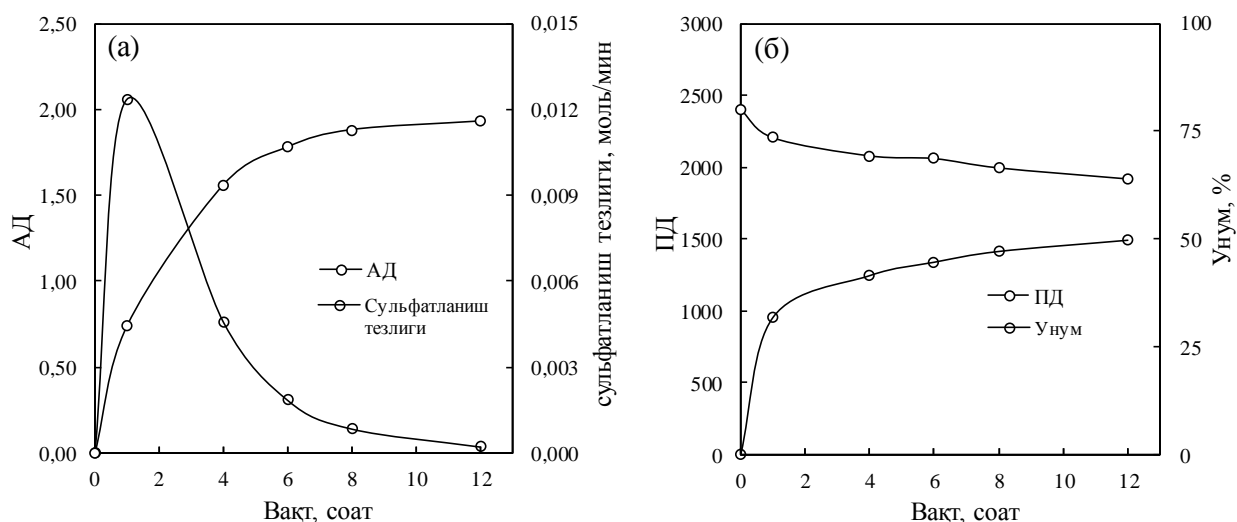
Целлюлоза намуналарини (ПД=500, 2400, 3600) HSO_3Cl/Py билан Py муҳитида гетероген сульфатлаш орқали турли молекуляр катталиқдаги (АД=0,62-2,52, ПД=234-3520) моно-, ди-, трисульфат ҳосилалар олинди. Тадқиқот натижалари шуни кўрсатадики, гетероген сульфатлашда целлюлозанинг сульфатланиш имконияти унинг ПД қийматига ҳам боғлиқ. ПД қийматининг ортиши гетероген шароитда целлюлозанинг сульфатланиш имкониятини камайтиради. Целлюлоза намуналарининг сульфатланиш имкониятлари (АД, АД_{хус}, сульфатланиш тезлиги ва унум) ПД қийматлари бўйича $500 > 2400 > 3600$ тартибида камайиб бориши аниқланди. Целлюлоза ушбу усулда 1-3 соат давомида сульфатланганда сувда тўлиқ эримайдиган маҳсулот олинishi мумкин. Юқори сульфатланиш тезлиги дастлабки 3-4 соат давомида кузатилади. Реакция давомида ПД қиймати сезиларли даражада (4 соатда ўртача 38,6%) камаяди. Деполимерланиш даражаси ҳам целлюлоза ПД қийматлари бўйича $500 > 2400 > 3600$ тартибида камайиб бориши аниқланди

(2-расм). Целлюлоза АГБ ларидаги углерод атомларининг сульфатланиш имконияти $C-6 > C-2 > C-3$ тартибида камайиб боради.



2-расм. Целлюлозани $\text{HSO}_3\text{Cl}/\text{Py}$ билан Py муҳитида гетероген сульфатлаш давомида АД ва сульфатланиш тезлиги (а) ҳамда ПД ва унумнинг (б) ўзгариши ($\text{HSO}_3\text{Cl}/\text{Py}$ 9,0 моль/моль АГБ, ҳарорат 80°C)

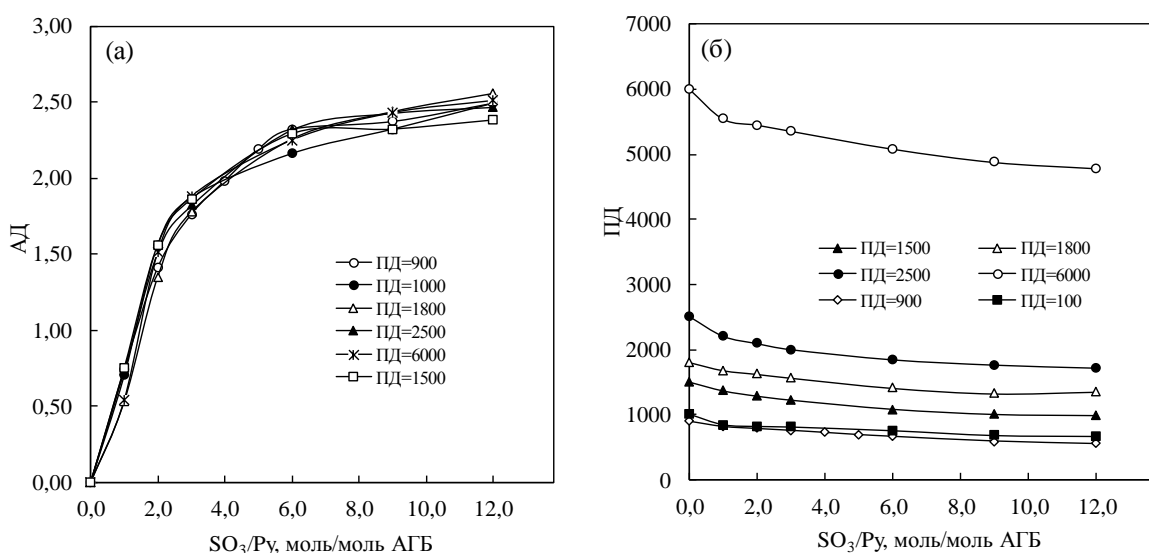
Целлюлозани (ПД=2500) SO_3/Py билан Py муҳитида гетероген сульфатлаш орқали турли молекуляр катталиқдаги (АД=0,36-1,93, ПД=2343-1922) моно- ва дисульфат ҳосилалар олинди. Тадқиқот натижалари шуни кўрсатадики, маҳсулот АД қийматининг ортишида сульфатловчи реагент миқдори ва ҳарорат асосий омиллар ҳисобланади. Сульфатланиш тезлиги дастлабки 1-6 соат давомида юқори бўлади. Лекин реакция муҳити кучсиз ишқорий бўлганилиги учун реакция давомида полисахарид занжирида кам даражадаги (12 соатда ўртача 23,1%) деполимерланиш кузатилди (3-расм).



3-расм. Целлюлозани SO_3/Py билан гетероген сульфатлаш давомида АД ва сульфатланиш тезлиги (а) ҳамда ПД ва унумнинг (б) ўзгариши (SO_3/Py 9,0 моль/моль АГБ, ҳарорат 80°C)

Целлюлозани ушбу усулда сульфатлаш орқали моно- ва дисульфат ҳосилалар паст унум (< 50%) билан олиниши мумкин. Целлюлоза АГБ ларидаги углерод атомларининг сульфатланиш имконияти С-6 > С-2 > С-3 тартибида камайиб боради ва ушбу усулда асосан С-6 ва С-2 алмашинган сульфат ҳосилалар олиш мумкин.

Целлюлоза намуналарини (ПД=900-6000) SO_3/Py билан ДМА/LiCl муҳитида гомоген сульфатлаш орқали турли молекуляр катталиқдаги (АД=0,23-2,56, ПД=584-5540) моно-, ди- ва трисульфат ҳосилалар олинди. Тадқиқот натижаларига кўра, маҳсулотнинг АД қийматини бошқаришда сульфатловчи реагент миқдори ва ҳарорат асосий омиллар ҳисобланади. Сульфатланиш тезлиги дастлабки 1-4 соат давомида юқори бўлади. Реакция муҳити кучсиз ишқорий бўлганилиги учун реакция давомида полисахарид занжирида кам даражадаги (4 соатда ўртача 23,7%) деполимерланиш кузатилди. Целлюлозани гомоген сульфатлаш орқали моно-, ди- ва трисульфат ҳосилалар юқори унум (70-80%) билан олиниши мумкин (4-расм).



4-расм. Целлюлоза намуналарини SO_3/Py билан ДМА/LiCl муҳитида гомоген сульфатлашда сульфатловчи реагент миқдори ортиши билан маҳсулот АД (а) ва ПД (б) қийматларининг ўзгариши (ҳарорат 80°C, вақт 4 соат)

Гомоген сульфатлашда ҳам целлюлоза АГБ ларидаги углерод атомларининг сульфатланиш имконияти С-6 > С-2 > С-3 тартибида камайиб боради ва ушбу усулда С-6, С-2, С-3 алмашинган сульфат ҳосилалар олиш мумкин. Реакция целлюлоза эритмасида олиб борилгани учун ПД қиймати турлича (500-6000) бўлган целлюлоза намуналарининг сульфатланиш имкониятлари бир хил бўлади.

Целлюлоза сульфат ҳосилаларининг гетероген ва гомоген синтези натижаларини солиштирма таҳлили натижалари ДМА/LiCl муҳитида гомоген сульфатлаш реакцияси барча кўрсаткичлар бўйича гетероген сульфатлаш реакцияларига нисбатан устун эканлигини кўрсатди (1-жадвал).

**Гетероген ва гомоген сульфатлаш усулларининг макбул шароитларида
целлюлозанинг сульфатланиш имкониятлари**

Сульфатлаш усули	СРМ*	Ҳарорат, °С	Вақт, соат	АД	ДПД, %**	Унум, %
H ₂ SO ₄ / (CH ₃)СНОН гетероген	3	5	3	0,83	53,7	46,7
SO ₃ /Py / Py гетероген	9	80	12	1,93	23,1	49,7
HSO ₃ Cl/Py / Py гетероген	9	80	4	2,07	38,6	72,2
SO ₃ /Py / ДМА/LiCl гомоген	6	80	4	2,27	23,7	73,8

Изох: (*) - сульфатловчи реагент миқдори, моль/моль АГБ; (**) - деполимерланиш даражаси, %

Тадқиқ қилинган гетероген ва гомоген сульфатлаш реакцияларида сульфатланиш тезлиги реакциянинг дастлабки вақтлари (1-6 соат) давомида юқори бўлади. Углерод атомларидаги гидроксил гуруҳларининг реакцион қобилияти С-6 > С-2 > С-3 тартибида камайиб боради.

Целлюлоза сульфат ҳосилаларининг структуралари ИҚ- ва ¹³С ЯМР-спектроскопия усуллари ёрдамида аниқланди. Натижалар реакция давомида кўшимча маҳсулотлар ҳосил бўлмаганлигини кўрсатди. Целлюлоза сульфат ҳосилаларида С-2, С-3, С-6 углерод атомларининг сульфатланиш даражалари ¹³С ЯМР-спектроскопия усуллари ёрдамида аниқланди. Целлюлоза сульфат ҳосилалари ИҚ-спектрларида О–Н (3400 см⁻¹) ва Н–С–Н (2900 см⁻¹), С–О–С (1060 см⁻¹), С–О–С β-глюкозид боғ (894 см⁻¹), С–О–S (818 см⁻¹), О=S=O (1257 см⁻¹) валент тебранишларига ҳос ютилишлар аниқланди. Целлюлоза сульфат ҳосилалари ¹³С ЯМР-спектрларида С-1 (102,2 м.у.), С-1' (100,2 м.у.), С-2s, С-3s (79-82 м.у.), С-4 (78,3 м.у.), С-4' (77,8 м.у.), С-2, 3, 5, 5' (71-76 м.у.), С-6s (66,7 м.у.), С-6 (60,3 м.у.) углерод атомларига ҳос сигналлар аниқланди.

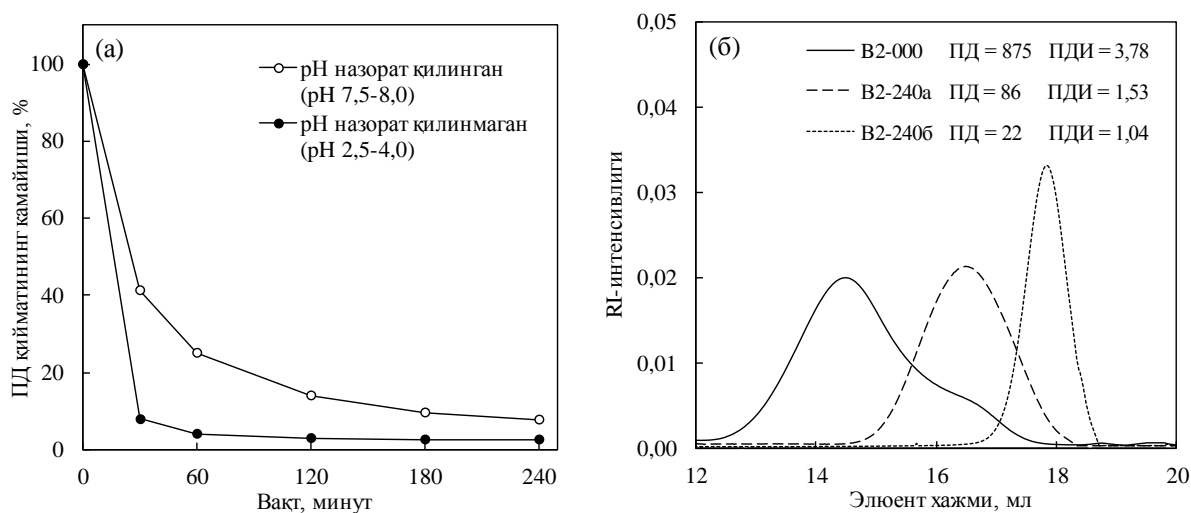
Тадқиқотлар натижасида СЦ-На намуналарининг (АД=0,3-3,0) эритмалари (0,1 М NaNO₃, 25°С) учун вискозиметрик константалари аниқланди ва улар асосида қуйидаги МХКС тенгламалари тузилди:

АД (0,3-0,5)	$[\eta]=5,85 \times 10^{-6} \cdot M^{1,0}$	дл/г
АД (0,5-1,0)	$[\eta]=6,22 \times 10^{-6} \cdot M^{0,99}$	дл/г
АД (1,0-1,5)	$[\eta]=9,10 \times 10^{-6} \cdot M^{0,95}$	дл/г
АД (1,5-2,0)	$[\eta]=1,14 \times 10^{-5} \cdot M^{0,92}$	дл/г
АД (2,0-2,5)	$[\eta]=1,85 \times 10^{-5} \cdot M^{0,88}$	дл/г
АД (2,0-3,0)	$[\eta]=2,25 \times 10^{-5} \cdot M^{0,86}$	дл/г

Ушбу МХКС тенгламалари дан фойдаланиб, СЦ-На намунасининг (АД=0,3-3,0) ММ сини капилляр вискозиметрия усули ёрдамида экспресс аниқлаш мумкин. СЦ-На намуналарининг экспонент α қийматлари 1,0-0,86 оралиғида бўлиши ва улар сувли эритмаларда ярим эгилувчан конформация намоён қилиши аниқланди. СЦ-На АД қийматининг ортиши билан занжирнинг эгилувчанлиги ортиши аниқланди.

Гель фильтрлаш хроматография усулида сульфатланган полисахариларни фракциялаш орқали сульфат гуруҳларини сақлаган ҳолда кичикроқ ММ ли намуналар олиш мумкин. Лекин фракциялар сони кўп бўлганлиги сабабли улар паст унум билан олинади. Бундан ташқари, қуйи молекуляр олигосахаридлар олиш учун фракцияланадиган сульфат ҳосиланинг ПД қиймати олинандиган олигосахарид ПД қийматига яқинроқ бўлиши талаб қилинади.

Целлюлоза сульфат ҳосилаларини радикал деполимерлаш орқали ММ си 32200 дан 6500 Да гача бўлган сульфатланган олигосахаридлар олинди. Деполимерланиш кислотали (рН 2,5-4,0) шароитда ишқорий (рН 7,5-8,0) шароитдагига нисбатан деярли 2 марта тезроқ содир бўлди. Шунингдек, кислотали (рН 2,5-4,0) шароитда ПД қиймати кичик ва қисқа молекуляр массавий тақсимланишга эга олигосахаридлар олинди (5-расм).



5-расм. Целлюлоза сульфат ҳосилаларини деполимерлаш давомида ПД қийматининг камайиши (а), дастлабки целлюлоза сульфат ва унинг деполимерланиш маҳсулотлари гель хроматограммалари (б) (элюент, сув/0,1 М NaNO₃)

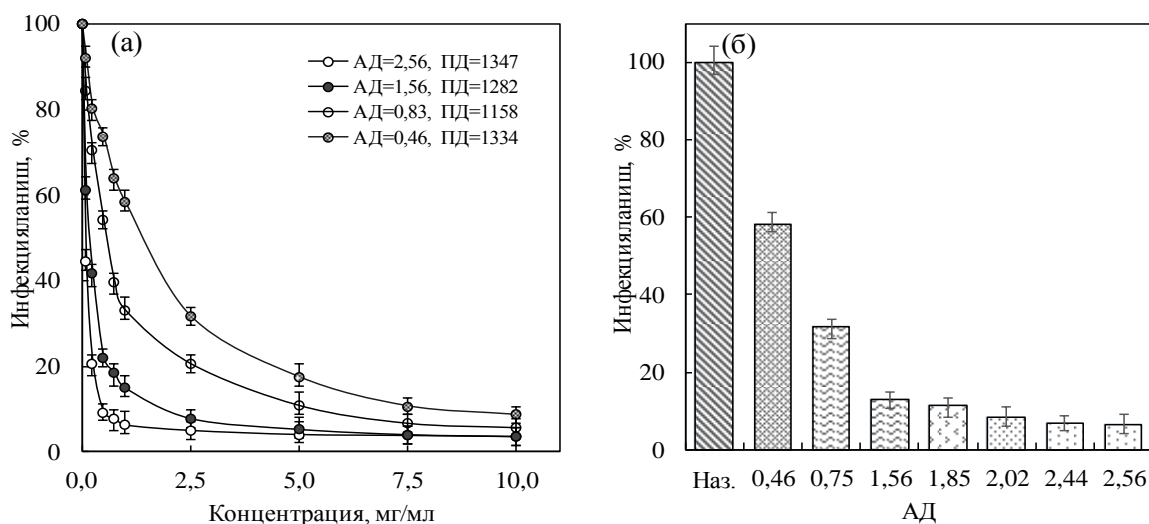
Деполимерлаш давомида, кам миқдорда десульфатланиш кузатилади. Деполимерланиш (ўртача сонли ПД си бўйича) ва десульфатланиш тезликларининг ўзаро нисбатлари ишқорий (рН 7,5-8,0) ва кислотали шароитларда тегишлича 3650:1 ва 3840:1 ни ташкил қилди. Деполимерланиш давомида углерод атомларининг $A_{D_{\text{хус}}}$ қийматлари ҳам рН муҳитга боғлиқ ҳолда турлича ўзгарди. С-6 углерод атомларидаги сульфат гуруҳлари юқори барқарорлик намоён қилди ва углерод атомларининг десульфатланиши ишқорий шароитда (рН 7,5-8,0) С-6 < С-3 < С-2, кислотали шароитда (рН 2,5-4,0) эса С-6 < С-2 < С-3 тартибда бўлиши аниқланди. Олинган намуналарнинг структураларини ўрганиш натижалари ўрганилган шароитларда оксидланган ҳосилалар ҳосил бўлмаганлигини ва полисахарид занжирида қўшимча оксидланиш реакциялари содир бўлмаганлигини кўрсатди.

Целлюлоза сульфат олигосахаридларининг структуралари ИҚ- ва ¹³С ЯМР-спектроскопия усуллари ёрдамида аниқланди. С-2, С-3, С-6 углерод

атомларининг сульфатланиш даражалари ^{13}C ЯМР-спектроскопия усули ёрдамида аниқланди. ИҚ-спектрларда $\text{O}-\text{H}$ (3400 см^{-1}), $\text{H}-\text{C}-\text{H}$ (2900 см^{-1}), $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (1060 см^{-1}), $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ β -глюкозид боғ (894 см^{-1}), $\text{C}-\text{O}-\text{S}$ (818 см^{-1}), $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ (1257 см^{-1}) валент тебранишларига ҳос ютилишлар аниқланди. ^{13}C ЯМР-спектрларда $\text{C}-1$ (102,2 м.у.), $\text{C}-1'$ (100,2 м.у.), $\text{C}-2\text{s}$, $\text{C}-3\text{s}$ (79-82 м.у.), $\text{C}-4$ (78,3 м.у.), $\text{C}-4'$ (77,8 м.у.), $\text{C}-2$, 3, 5, 5' (71-76 м.у.), $\text{C}-6\text{s}$ (66,7 м.у.), $\text{C}-6$ (60,3 м.у.), $\text{C}-1$ (β -ОҚБ) (94,9 м.у.), $\text{C}-1'$ (β -ОҚБ) (92,9 м.у.), $\text{C}-2$, 3, 5, $\text{C}-5'$ (α -ОҚБ) (68,5-71 м.у.), $\text{C}-1$ (α -ОҚБ) (90,5 м.у.), $\text{C}-1'$ (α -ОҚБ) (87,5 м.у.), $\text{C}-4$ (α -ОҚБ, β -ОҚБ) (77-79,5 м.у.), $\text{C}-4$ (ҚОБ) (67,3 м.у.) атомларига ҳос сигналлар аниқланди.

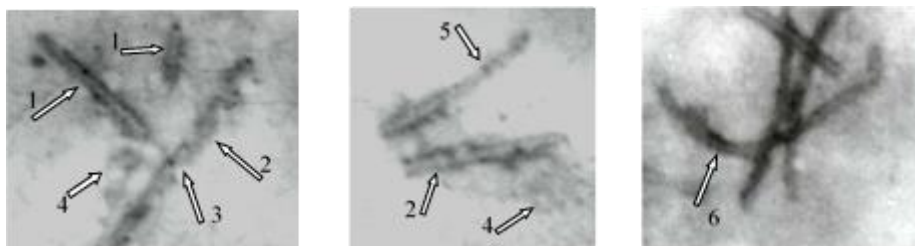
Диссертациянинг «Сульфатланган поли- ва олигосахаридларнинг тобамовирусларга қарши биологик фаолликлари» деб номланган тўртинчи бобида сульфатланган полисахаридларнинг тобамовирусларга қарши антивирус фаолликлари, сульфатланган олигосахаридларнинг ўсимликларда тобамовирусларга қарши элиситор фаолликлари, сульфатланган поли- ва олигосахаридлар асосида тобамовирусларга қарши препаратнинг тажриба намунасига оид тадқиқот натижалари келтирилган.

Тадқиқот натижалари целлюлоза сульфат ҳосилаларининг тобамовирусларга қарши юқори антивирус фаоллик намоеън қилишини кўрсатади. Вирус инфекциясини $90\pm 5\%$ ингибирлаш учун етарли бўлган концентрация АД қиймати 1,50 дан юқори бўлган намуналар учун 0,5-1,0 мг/мл, АД қиймати 1,5 дан кичик бўлган намуналар учун эса 5,0-7,5 мг/мл ни ташкил қилди. Сульфатланган полисахаридларнинг тобамовирусларга қарши биологик фаоллигида полисахарид занжиридаги сульфат гуруҳлари миқдори ва занжир узунлиги асосий омиллар эканлигини аниқланди. АД қиймати 1,50 дан, ПД қиймати эса 337 дан юқори бўлган намуналар 1,0 мг/мл концентрацияларда юқори фаоллик намоеън қилди (6-расм).



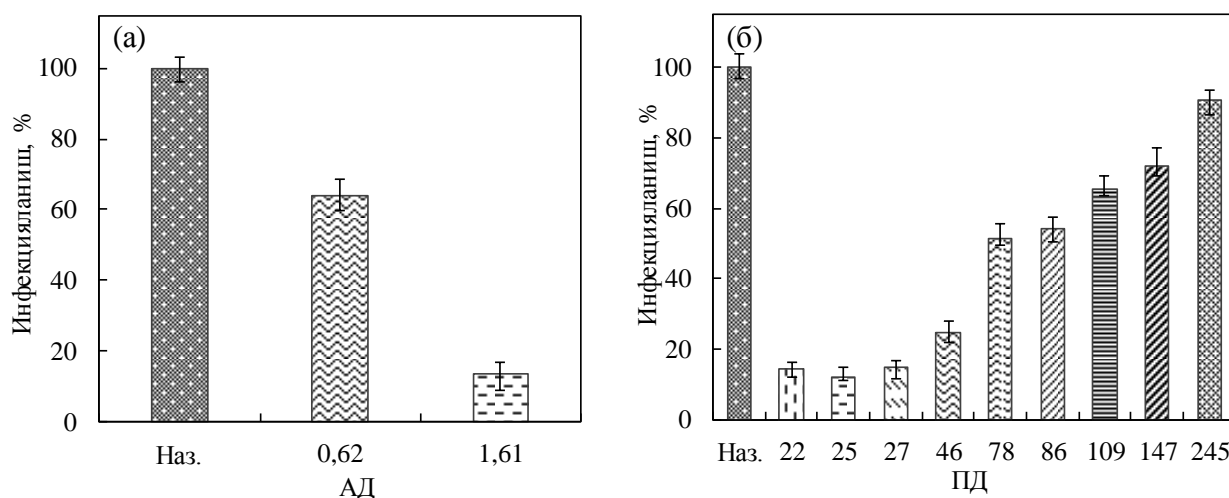
6-расм. Целлюлоза сульфат ҳосилаларининг ТМВ га қарши антивирус фаолликларига концентрация (а) ва АД қийматларининг (б) таъсири (концентрация (а) 0,10-10,0 мг/мл, концентрация (б) 1,0 мг/мл, $P\leq 0,05$)

Олинган натижалар целлюлоза сульфат ҳосилалари эритмада ТМВ оқсил қобиғи билан бевосита таъсирлашишини ва деструкциялашини кўрсатади. Целлюлоза сульфат ҳосилалари таъсирида ТМВ вирионларининг ўзаро яқин масофаларни эгаллаб, агрегацияланиши ҳолатлари кузатилади, оқсил қобиғидаги суббирликлараро ўзаро тортишув мувозанати бузилади. Натижада оқсил қобиғида емирилиб ингичкалашиш, синиш, бўкиш, деструкцияланиш, вирус таёқчаларининг айрим қисмлари билан ўзаро бирикиб қолиши кузатилади (7-расм). Сульфат ҳосилалар АД қийматининг ортиши билан уларнинг ТМВ оқсил қобиғини зарарловчи таъсири ортади, оқсил қобиғи чуқур деструкцияланади.



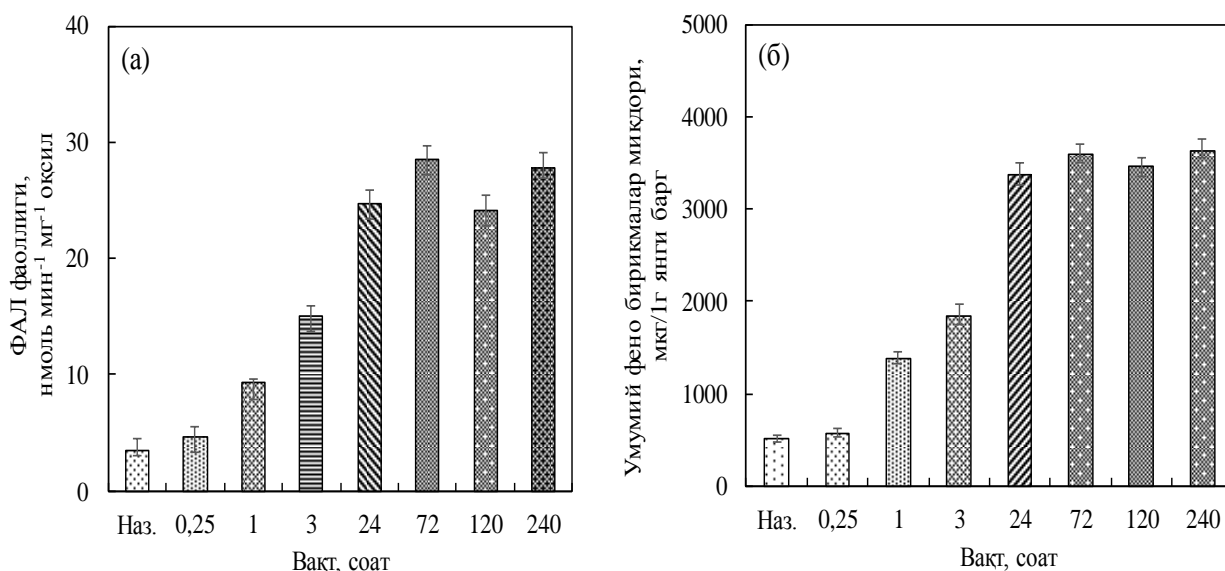
7-расм. Целлюлоза сульфат ҳосилалари таъсирида ТМВ оқсил қобиғидаги ўзгаришлар (СЦ-На АД=1,56, 2,02; (1)-синган вирион; (2)-оқсил қобиғининг бўкиши; (3)-оқсил қобиғининг емирилиши; (4)-20S протеинлар; (5)-оқсил қобиғининг ингичкалашиши; (6)-вирионнинг эгилиши)

Натижалардан кўринадики, целлюлоза сульфат ҳосилалари асосидаги сульфатланган олигосахаридлар ўсимликларда тобамовирусларга қарши юқори элиситор фаоллик намоён қилади. Элиситор фаоллик концентрация ва АД қийматлари ортириши ҳамда ПД қийматлари камайиши билан ортиб боради (8-расм). АД қийматлари 1,54-1,64, ПД қийматлари 22-46 бўлган (ММ=7000-15100 Да) целлюлоза сульфат олигосахаридлари 1,0 мг/мл концентрацияда юқори фаоллик (75,2-88,2%) намоён қилиши аниқланди.



8-расм. Сульфатланган олигосахаридларнинг *N. glutinosa* ўсимлигида ТМВ га қарши элиситор фаоллигини АД га (а) ва ПД га (б) боғлиқлиги (сульфатланган олигосахарид 1,0 мг/мл, АД=1,54, ПД=22, ММ=7000 Да, $P \leq 0,05$)

Сульфатланган олигосахарид билан ишлов берилгандан кейин 24-240 соат давомида юқори фаоллик (85,9-90,9%) сақланиши аниқланди. Шунингдек, целлюлоза сульфат олигосахариди таъсирида ўсимликларда ТМВ келтириб чиқарган некротик доғларнинг диаметри камайиши аниқланди. Сульфатланган олигосахарид билан ишлов берилгандан кейинги вақтларда ТМВ га қарши элиситор фаоллигининг ортиши ва сақланиш муддатлари ўсимликларда ФАЛ фаоллиги ва умумий фенол бирикмалар миқдорининг ортиши ва сақланиш муддатлари билан мос келди (9-расм).



9-расм. Сульфатланган олигосахарид билан ишлов берилгандан кейинги вақт давомида *N. glutinosa* ўсимлигида ФАЛ фаоллиги (а) ва умумий фенол бирикмалар миқдорининг ўзгариши (б) (сульфатланган олигосахарид АД=1,54, ПД=22, ММ=7000 Да, $P \leq 0,05$)

Целлюлоза сульфат ва целлюлоза сульфат олигосахаридлари асосида ўсимликларнинг тобамовирусларига қарши препаратнинг таъриба намунаси (кейинги ўринларда препарат) таёрланди ва «Биосульфоцел» деб номланди. Препарат таъсирида ўсимлик тўқималарининг зарарланиши кузатилмади. Препарат субстанцияси VI синф нисбатан зарарсиз моддаларга кириши ($LD_{50} \geq 15000$ мг/кг) аниқланди. Ёлиқ дала шароитида препарат билан ишлов берилган ўсимликларнинг янги ривожланган баргларида вирус билан зарарланиш белгилари йўқолди, касалланишнинг дастлабки босқичларида зарарланиш сезиларли даражада камайди, вакцинация эффекти кузатилди. Очиқ дала шароитида препарат билан ишлов берилган ўсимликларда вақт ўтиши билан ПМВ билан боғлиқ касаллик белгилари назоратга нисбатан сезиларли даражада камайди ва 30 кундан кейин касаллик белгиларининг кескин камайиши кузатилди (10-расм).



10-расм. ПМВ билан касалланган ва препарат билан ишлов берилган помидор ўсимлиги (а), унинг меваси (в). ПМВ билан касалланган ва дистилланган сув билан ишлов берилган (назорат) помидор ўсимлиги (б), унинг меваси (г)

Шунингдек, препарат билан ишлов берилган помидор ўсимлиги мевалари соғлом бўлиб, уларда касаллик белгилари аниқланмади. Препарат билан ишлов берилган помидор ўсимликларининг вирус билан касалланиш даражаси назоратга нисбатан 32,58% гача камайганлиги, ҳосилдорлиги эса 23,92% гача ортиши аниқланди (2-жадвал).

2-жадвал

Очиқ дала шароитидаги дала тажрибалари натижалари

№	ПМВ билан касалланиш тури	Тажриба	ПМВ билан касалланиш даражаси, %	Ҳосилдорлик, %	Биомасса, г	Ўртача бўйи, см
1	Табиий	Назорат-1	100	100	36,85±5,7	37,3±6,2
2	касалланган	Тажриба-1	29,88±3,4	116,27±4,5	65,32±3,3	53,7±5,5
3	Сунъий	Назорат-2	100	100	30,88±6,8	36,0±6,5
4	касалланган	Тажриба-2	32,58±5,1	123,92±3,9	61,20±4,8	58,4±5,9

ХУЛОСАЛАР

1. SO_3/Pu билан DMA/LiCl муҳитида целлюлозани гомоген сульфатлаш орқали моно-, ди- ва трисульфат целлюлоза ҳосилалари синтез қилинди, сульфатланиш кинетикаси ва мақбул реакция шароитлари аниқланди. Углерод атомларидаги гидроксил гуруҳларнинг сульфатланиш реакцияларидаги фаоллиги $\text{C-3} < \text{C-2} < \text{C-6}$ тартибида ортиб бориши ^{13}C ЯМР спектроскопия усулида исботланди. Ушбу гомоген сульфатлаш реакцияси барча кўрсаткичлар бўйича гетероген сульфатлаш реакцияларига нисбатан устун эканлиги аниқланди.

2. Целлюлоза сульфат ҳосилаларининг ($\text{AD}=0,3-3,0$) вискозиметрик константалари аниқланди, улар целлюлоза сульфат ҳосилаларининг ММ сини

капилляр вискозиметрия усулида аниқлаш имконини беради. Целлюлоза сульфат ҳосилаларининг ($AD=0,3-3,0$) экспонент α қийматлари 1,0-0,86 оралиғида бўлиши ва улар сувли эритмаларда ярим эгилувчан конформацияга эга бўлиши, AD қийматининг ортиши билан макромолекуланинг эгилувчанлиги ортиши аниқланди.

3. Целлюлоза сульфат ҳосилаларини $Cu(II)$ иони иштирокида водород пероксид билан радикал деполимерлаш орқали целлюлоза сульфат олигосахаридлари олинди. Деполимерланиш реакциясида гликозид боғларининг селектив парчаланиши, сульфат гуруҳлари алмашиниш даражаси деярли ўзгармаслиги (деполимерланиш: десульфатланиш, 3650-3840:1) аниқланди.

4. Целлюлоза сульфат ва унинг олигомерлари тобамовирусларга қарши антивирус ва элиситор фаоллик намоён қилиши аниқланди. Сульфат целлюлоза ҳосилаларининг алмашиниш даражаси ва молекуляр массаси ортиши билан вирусга қарши фаоллик ортиши, олигосахаридларда эса молекуляр массанинг камайиши билан элиситор фаоллик ортиши аниқланди. Вирусга қарши фаоллик вирус оксил қобиғининг деструкцияланиши, элиситор фаоллик эса ўсимликларда фенилпропаноид йўллариининг фаолланиши ҳисобига содир бўлиши аниқланди.

5. Целлюлоза сульфат ва унинг олигосахаридлари асосида тобамовирусларга қарши препарат намунаси («Биосульфоцел») тайёрланди. «Биосульфоцел» намунавий препарати билан ишлов берилган помидор ўсимликларининг вирус билан касалланиш даражаси назоратга нисбатан 32,58% гача камайганлиги, ҳосилдорлиги эса 23,92% гача ортиши аниқланди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017. К/В/Т. 37.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ, НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА,
ИНСТИТУТЕ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

МУХИТДИНОВ БАХТИЁР ИКРОМОВИЧ

**СИНТЕЗ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И ИЗУЧЕНИЕ
ИХ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТИВ ТОБАМОВИРУСОВ**

02.00.10 - Биоорганическая химия

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

Ташкент - 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2017.1.PhD/К19.

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

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

Научный руководитель:	Тураев Аббасхан Сабирханович доктор химических наук, академик
Официальные оппоненты:	Мавлянов Саидмухтар Максудович доктор химических наук, профессор Азизов Умархон Мухтарович доктор химических наук, профессор
Ведущая организация:	Институт общей и неорганической химии

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 при Институте биоорганической химии, Национальном университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ Узбекистана (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 № ___). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru).

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2018 г.
(реестр протокола рассылки № «___» от _____ 2018 г).

Ш.И.Салихов

Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., академик

Б.Н.Бабаев

и.о. Ученого секретаря Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.х.н.

А.А.Ахунов

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

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире создание высокоэффективных препаратов с низкой токсичностью на растения и организм человека в борьбе против различных заболеваний растений является одной из важнейших задач. В настоящее время развитие в областях биоорганической химии, микробиологии, растительной патологии, сельского хозяйства дало возможность создания препаратов нового поколения, применяемых против различных заболеваний растений, с низкой токсичностью, активирующих естественные защитные системы против фитопатогенов растений.

На сегодняшний день, в мире тобамовирусы по широте распространения и степени заражения растений занимают значительное место. Тобамовирусы растений отрицательно действуют на качество урожая, снижают урожайность, за счет ослабления защитной системы против патогенов ослабляют их рост и устойчивость к другим заболеваниям. В настоящее время в сельскохозяйственной практике отсутствуют эффективные препараты против тобамовирусов, в связи с чем, изучение противовирусных биологически активных соединений является одной из актуальных задач. Установлены проявление высокой активности природных сульфатпроизводных полисахаридов против вирусов растительного и животного происхождения, активация защитных механизмов против вирусов растений и проявление элиситорной активности, их низкая токсичность. В связи с этим проводятся исследования по изучению биологической активности соединений против вирусов растений и созданию на их основе эффективных противовирусных препаратов.

В нашей стране предприняты широкомасштабные меры по модернизации и ускоренному развитию сельского хозяйства, разработке современных и высокоэффективных методов и средств защиты продовольственных культур от различных заболеваний, их широкой реализации в практику и достигаются определенные результаты. Конкретные задачи в реализации этой работы предусмотрены Стратегией действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан в 3 направлении «дальнейшее расширение инфраструктуры по хранению, транспортировке и сбыту сельскохозяйственной продукции, оказанию агрохимических, финансовых и других современных рыночных услуг». При выполнении данных задач важную роль играет создание и внедрение в сельскохозяйственную практику фитопрепаратов против вирусных заболеваний растений.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-2640 от 24 октября 2016 года «О мерах по совершенствованию системы защиты растений и агрохимического обслуживания сельского хозяйства», Указе Президента Республики

Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», 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 приоритетным направлением развития науки и технологий Республики V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Зарубежными учеными проводились исследования по изучению сульфатированных производных целлюлозы, их противовирусной и элиситорной активности. В научных исследованиях D.Peschel и B.Saake разработаны методы гетерогенного синтеза сульфатированных полисахаридов. J.Wang показал проявление антивирусной активности (*in vitro*) сульфатированных полисахаридов, выделенных из морских водорослей, против тобамовирусов. J.Vega показаны механизмы элиситорной активности сульфатированных олигосахаридов против тобамовирусов растений. В странах СНГ, V.Nagorskaya и L.Lapshina проводят научные исследования, посвященные изучению антивирусной активности сульфатированных полисахаридов против тобамовирусов.

В нашей стране, в Институте биоорганической химии, Институте химии и физики полимеров, Ташкентском химико-технологическом институте под руководством академика Ш.И. Салихова, академика С.Ш. Рашидовой, профессора А.А. Ахунова, академика А.С. Тураева, профессора Г.Р. Рахманбердиева, профессора А.А. Сарымсакова, проводятся научные исследования по синтезу производных полисахаридов, изучению их строения, поиску соединений на их основе, эффективных против грибковых, бактериальных заболеваний растений, и изучению их биологической активности.

Научные результаты, полученные в данной области, показывают проявление элиситорной активности против тобамовирусов сульфат полисахаридов, выделенных из морских водорослей. Противовирусная и элиситорная активности сульфатпроизводных полисахаридов, полученных методом химического синтеза, не изучены.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами исследовательского учреждения, где выполнена работа. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ, прикладных и фундаментальных проектов Института биоорганической химии ФА-А10-Т154 «Разработка отечественного препарата «Биосульфоцел» против вируса табачной мозаики» (2009-2011), ФА-Ф6-Т097 «Синтез и исследование биологической функции модифицированных полисахаридов с целью получения новых лекарственных средств к органам-мишеням» (2012-2016).

Целью диссертационной работы является синтез сульфатпроизводных полисахаридов (на примере производных сульфат целлюлозы),

различающихся молекулярными параметрами и конформацией макромолекулы, и установление их антивирусной и элиситорной активности против тобамовирусов, зависимости активности от молекулярных параметров.

Задачи исследования:

разработка методов синтеза сульфатпроизводных полисахаридов, различающихся по молекулярной массе, степени замещения сульфатных групп, конформации макромолекулы:

-путем гетерогенного сульфатирования целлюлозы в присутствии изопропанола и пиридина, в среде сульфатирующего агента – серной кислоты или комплексов пиридин-триокись серы (SO_3/Py) и хлорсульфоновой кислоты;

-путем гомогенного сульфатирования целлюлозы в присутствии комплекса пиридин-триокись серы (SO_3/Py) в среде диметилацетамид-литий хлорид (DMA/LiCl) (ионная жидкость);

разработка методов получения олигомеров сульфат целлюлозы, в водной среде, путем радикальной деполимеризации сульфатпроизводных целлюлозы, в присутствии ионов двухвалентной меди с перекисью водорода;

установление молекулярных параметров и конформационных особенностей сульфат целлюлозы и ее олигомеров физико-химическими методами (^{13}C ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия, вискозиметрия, гель хроматография, элементный анализ);

определение, в условиях *in vitro* и *in vivo*, противовирусной и элиситорной активности сульфата целлюлозы и их олигомеров против тобамовирусов растений, установление зависимости противовирусной и элиситорной активности от молекулярных параметров сульфата целлюлозы.

Объектами исследования являются целлюлоза, сульфат целлюлоза (различающиеся по молекулярной массе, степени замещения сульфатных групп, конформации макромолекулы), олиго сульфат целлюлоза, вирус табачной мозаики, вирус томатной мозаики, растение *N. glutinosa*, фенилаланин-аммиак-лиаза, общие фенольные соединения растений.

Предмет исследования составляют синтез сульфатпроизводных целлюлозы, изменение молекулярных параметров в процессе реакции, строение, конформация в растворе, антивирусная активность против тобамовирусов, взаимосвязь структура-активность, получение сульфатированных олигомеров целлюлозы, молекулярные параметры, строение, элиситорная активность против тобамовирусов растений, определение взаимосвязи структура-активность.

Методы исследования. В исследовании применены методы биоорганической химии (химическая модификация полисахаридов, деполимеризация, очистка); определения химической структуры соединений (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия, гель хроматография, вискозиметрия, элементный анализ); определения антивирусной активности (электронная

микроскопия, пол-листа); определения элиситорной активности (определение активности первого фермента и общее количество вторичных метаболитов).

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

синтезированы моно-, ди-, трисульфатпроизводные целлюлозы в гомогенных условиях, установлены кинетика сульфатирования, оптимальные условия реакции и сульфатирующая способность гидроксильных групп;

установлены конформация в водных растворах сульфатпроизводных целлюлозы, влияние количества сульфатных групп на конформацию макромолекулы;

доказано сохранение сульфатных групп и селективное расщепление гликозидной связи в реакции радикальной деполимеризации сульфатпроизводных целлюлозы;

установлены антивирусная и элиситорная активности сульфат целлюлозы и ее олигомеров против тобамовирусов, их механизм действия, взаимосвязь между активностью и молекулярными параметрами.

Практические результаты исследования состоят в следующем:

разработаны методы гомогенного сульфатирования (на примере производных сульфат целлюлозы) в присутствии комплекса SO_3/Py в среде ДМА/LiCl (ионная жидкость), позволяющие получать моно-, ди- и трисульфатпроизводные полисахаридов, имеющие различные молекулярные параметры, проявляющие антивирусную активность против тобамовирусов;

установленные вискозиметрические константы дают возможность определения молекулярной массы сульфатпроизводных целлюлозы методом капиллярной вискозиметрии;

разработаны методы получения сульфатированных олигосахаридов путем радикальной деполимеризации сульфатированных производных полисахаридов в присутствии ионов двухвалентной меди с перекисью водорода в водной среде (на примере сульфатпроизводных целлюлозы);

установлено, что полученные, в результате выполнения диссертационной работы, сульфатпроизводные целлюлозы и их олигосахариды являются потенциальными объектами в создании препаратов против вирусов растений.

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. Подтверждением полученных результатов служат экспертные оценки специалистов, практическая реализация результатов исследований, обсуждение результатов исследований на республиканских и международных научных конференциях, публикация результатов исследований в рецензируемых научных изданиях с высоким импакт-фактором и получение патента.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость полученных результатов заключается в том, что предложены гомогенный метод сульфатирования для получения сульфатпроизводных моно-, ди- и тризамещенной целлюлозы, методы радикальной деполимеризации для получения сульфатированных олигосахаридов, определены вискозиметрические константы и конформации сульфатпроизводных целлюлозы, установлена антивирусная активность сульфатпроизводных целлюлозы против тобамовирусов, элиситорная активность сульфатированных олигосахаридов против тобамовирусов растений.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том, что, с использованием найденных вискозиметрических констант методом капиллярной вискозиметрии, установлены молекулярные массы сульфатпроизводных целлюлозы. Из предложенных методов, а также установленных механизмов возможно создание новых антивирусных средств на основе сульфатированных полисахаридов. Результаты исследований дадут возможность создания эффективного препарата против тобамовирусов на основе сульфат целлюлозы и ее олигомеров.

Внедрение результатов исследования. На основе результатов исследований по синтезу сульфатированных полисахаридов и изучению их антивирусной активности против тобамовирусов:

получен патент на изобретение Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан (№ IAP 04603, 12.10.2010) на ингибитор вируса табачной мозаики на листьях растений. В результате появилась возможность создания антивирусного препарата против тобамовирусов растений;

получен патент на изобретение Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан (№ IAP 20140378, 04.04.2018) на стимулятор защитных реакций у овощных культур против тобамовирусов. В результате дало возможность разработки элиситорного препарата против вирусных заболеваний растений.

Апробация результатов работы. Результаты данного исследования были обсуждены на 5 международных и 5 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 17 научных работ. Из них 5 научных статей, в том числе 4 в республиканских и 1 в международном журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций, получено 2 патента.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 125 страниц.

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, приведены внедрение результатов исследования в практику, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Синтез сульфатированных полисахаридов, получение сульфатированных олигосахаридов, современные исследования по их биологической активности против тобамовирусов»** проведен подробный обзор научных исследований по теме диссертации и степени изученности проблемы, приведены данные результатов современных исследований по синтезу сульфатированных полисахаридов, получению олигосахаридов, строению тобамовирусов, защитным механизмам растений, биологической активности сульфатированных поли-, олигосахаридов против тобамовирусов.

Во второй главе диссертации **«Синтез сульфатированных полисахаридов, получение сульфатированных олигосахаридов, их физико-химические методы исследования»** приведены этапы проведения исследований, использованные материалы и методы, в частности, гетерогенный и гомогенный синтез сульфатированных полисахаридов, фракционирование и радикальная деполимеризация сульфатированных олигосахаридов, определение молекулярной и структурной характеристики сульфатированных поли- и олигосахаридов, определение антивирусной активности сульфатированных полисахаридов против тобамовирусов, определение элиситорной активности сульфатированных олигосахаридов против тобамовирусов растений, методы определения фармакотоксикологических свойств опытных образцов препарата «Биосульфоцел».

В третьей главе диссертации **«Синтез сульфатированных полисахаридов, получение сульфатированных олигосахаридов, их физико-химические свойства»** представлены результаты по гетерогенному и гомогенному синтезу сульфатпроизводных целлюлозы с различными молекулярными параметрами, по определению молекулярного строения и конформаций, фракционированию и радикальной деполимеризации сульфатированных олигосахаридов, определению молекулярного строения.

Получены моносulfатпроизводные с различными молекулярными параметрами ($СЗ=0,38-0,92$, $СП=1891-880$) с помощью гетерогенного сульфатирования целлюлозы ($СП=2500$) в присутствии H_2SO_4 в среде изопропанола. Результаты показали, что в увеличении $СЗ$ продукта

основными факторами являются количество сульфатирующего реагента и температура. В первые 1-2 часа достигается высокая скорость сульфатирования. Однако за счет сильной кислотной среды реакции и излишка воды, содержащейся в составе серной кислоты и образованной при этерификации, наблюдается процесс сильной дезэтерификации и деполимеризации (рис.1).

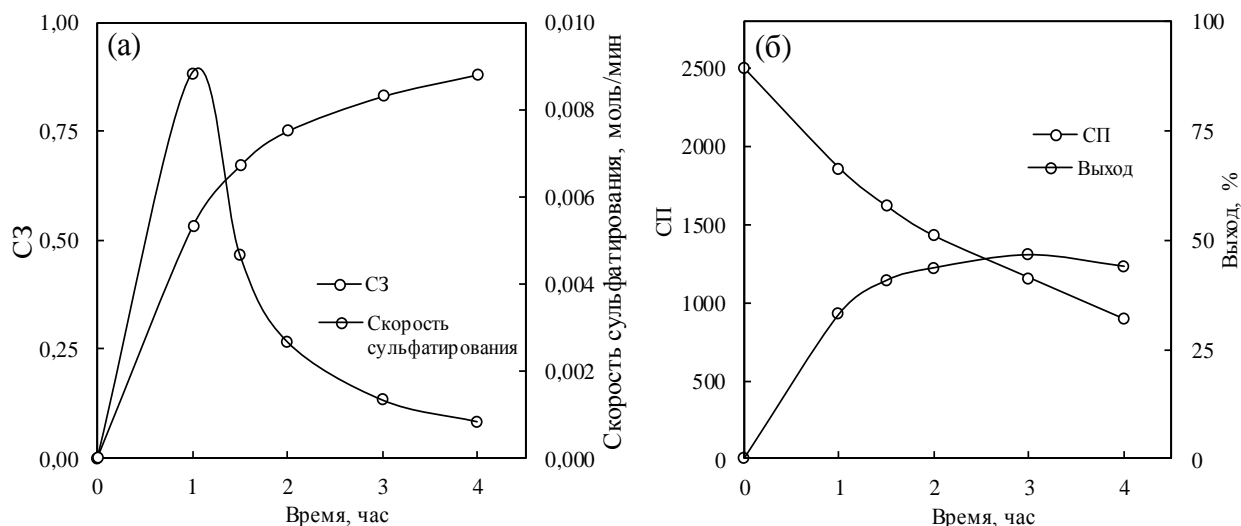


Рис.1. Изменение СЗ и скорости реакции (а), а также СП и выхода продукта (б) при гетерогенном сульфатировании целлюлозы с H_2SO_4 в среде изопропанола

За счет побочных процессов при гетерогенном сульфатировании с H_2SO_4 в среде изопропанола невозможно получить сульфатпроизводные целлюлозы с высокой СЗ, при этом возможно получение моносulfатпроизводных с низким выходом ($< 50\%$). Сульфатирующая способность атомов углерода в АГЕ целлюлозы уменьшается в ряду $C-6 > C-2 > C-3$; этим методом возможно получение C-6 замещенных сульфатпроизводных.

Получены моно-, ди-, трисульфатпроизводные с различными молекулярными параметрами ($СЗ=0,62-2,52$, $СП=234-3520$) при гетерогенном сульфатировании образцов целлюлозы ($СП=500, 2400, 3600$) комплексом HSO_3Cl/Pu в среде Pu . В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что сульфатирующая способность целлюлозы при гетерогенном сульфатировании зависит от ее СП. В гетерогенных условиях с увеличением СП уменьшается сульфатирующая способность целлюлозы. Установлено уменьшение сульфатирующей способности образцов целлюлозы ($СЗ, СЗ_{час}$, скорость сульфатирования и выход) по значениям СП в ряду $500 > 2400 > 3600$. При сульфатировании целлюлозы данным методом в течение 1-3 часов возможно получение частично растворимого в воде продукта. В течение первых 3-4 часов наблюдается высокая скорость сульфатирования. В ходе реакции СП в значительной степени уменьшается (при 4 часах в среднем $38,6\%$). Наблюдается уменьшение значения степени деполимеризации, а также СП

целлюлозы в ряду $500 > 2400 > 3600$ (рис.2). Сульфатирующая способность атомов углерода в АГЕ целлюлозы уменьшается в ряду $C-6 > C-2 > C-3$.

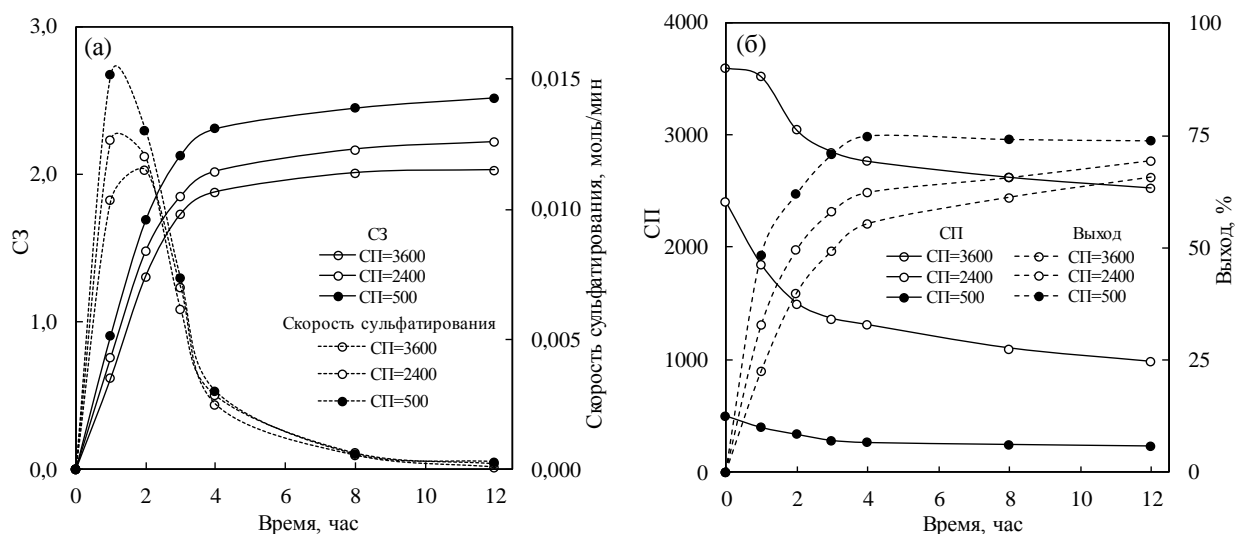


Рис.2. Изменение $C3$ и скорости реакции (а), $СП$ и выхода (б) при гетерогенном сульфатировании целлюлозы комплексом HSO_3Cl/Pu в среде Pu (HSO_3Cl/Pu 9,0 моль/моль АГЕ, температура $80^\circ C$)

Гетерогенным сульфатированием целлюлозы ($СП=2500$) комплексом SO_3/Pu в среде Pu получены моно- и дисульфатпроизводные с различными молекулярными параметрами ($C3=0,36-1,93$, $СП=2343-1922$). Результаты исследования показали, что в увеличении $C3$ продукта основными факторами являются количество сульфатирующего реагента и температура. В течение первых 1-6 часов достигается высокая скорость сульфатирования. Однако по причине слабощелочной среды реакции, в полисахаридной цепи наблюдалась незначительная деполимеризация (при 12 часах в среднем 23,1 %) (рис.3).

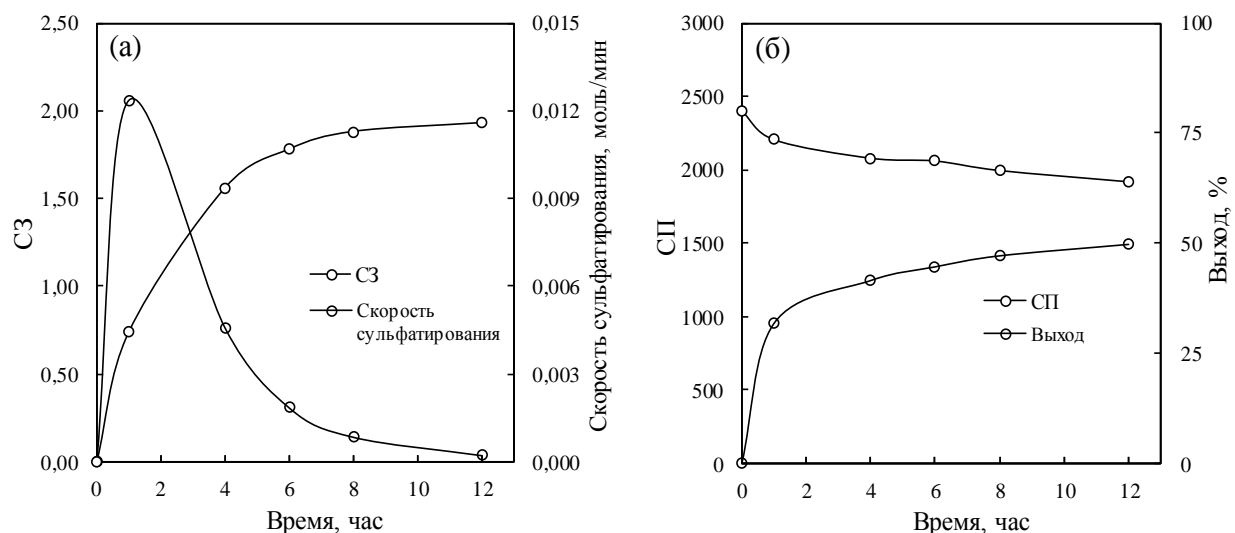


Рис.3. Изменение $C3$ и скорости реакции (а), $СП$ и выхода (б) при гетерогенном сульфатировании целлюлозы комплексом SO_3/Pu (SO_3/Pu 9,0 моль/моль АГБ, температура $80^\circ C$)

При сульфатировании целлюлозы данным способом возможно получение моно- и дисульфатпроизводных с низким выходом (<50%). Сульфатирующая способность атомов углерода в АГЕ целлюлозы уменьшается в ряду С-6 > С-2 > С-3, данным методом возможно получение С-6 и С-2 замещенных сульфатпроизводных.

При гомогенном сульфатировании образцов целлюлозы (СП=900-6000) комплексом SO_3/Py в среде ДМА/ LiCl получены моно-, ди- и трисульфатпроизводные с различными молекулярными параметрами (СЗ=0,23-2,56, СП=584-5540). Из результатов исследования видно, что основными факторами, контролирующими значение СЗ, являются количество сульфатирующего реагента и температура. В первые 1-4 часа наблюдается высокая скорость сульфатирования. За счет слабощелочной среды реакции, в полисахаридной цепи наблюдалась незначительная деполимеризация (при 4 часах в среднем 23,7 %). При гомогенном сульфатировании целлюлозы возможно получение моно-, ди- и трисульфатпроизводных с высоким выходом (70-80%) (рис.4).

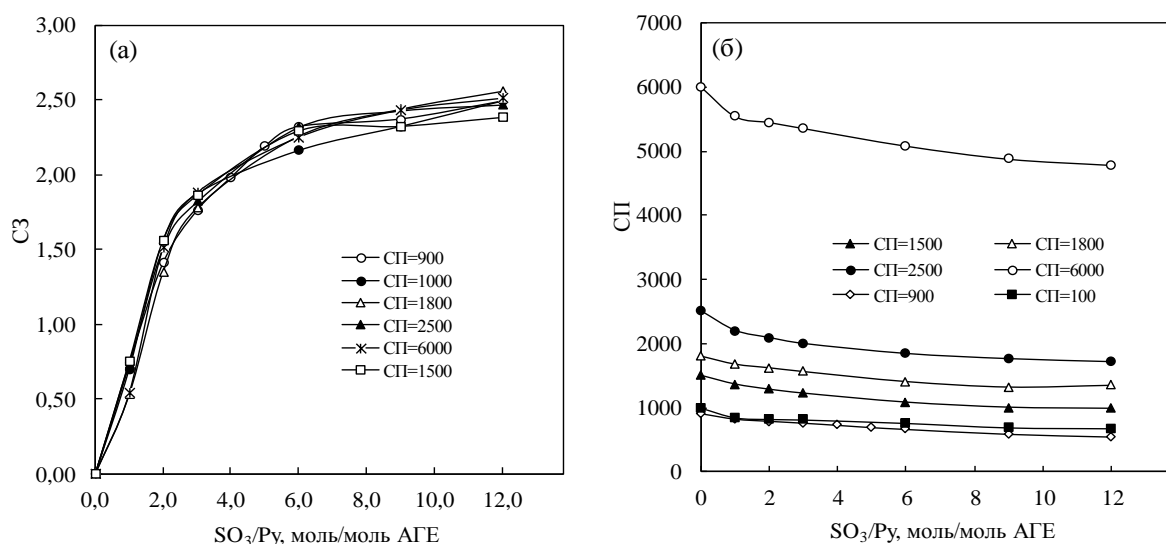


Рис.4. Изменение СЗ (а) и СП (б) с увеличением количества сульфатирующего реагента при гомогенном сульфатировании образцов целлюлозы комплексом SO_3/Py в среде ДМА/ LiCl (температура 80°C , продолжительность 4 часа)

При гомогенном сульфатировании сульфатирующая способность атомов углерода в АГЕ целлюлозы также уменьшается в ряду С-6 > С-2 > С-3, данным методом возможно получение С-6, С-2, С-3 замещенных сульфатпроизводных. За счет протекания реакции в растворе целлюлозы, сульфатирующая способность образцов целлюлозы с различной СП (500-6000) одинакова.

Результаты сравнительного анализа гетерогенного и гомогенного синтеза сульфатпроизводных целлюлозы показали, что реакция гомогенного сульфатирования в среде ДМА/ LiCl по всем показателям превосходит реакции гетерогенного сульфатирования (таблица 1).

Сульфатирующая способность целлюлозы при оптимальных условиях методами гетерогенного и гомогенного сульфатирования

Метод сульфатирования	КСР*	Температура, °С	Время, час	СЗ	СДП, %**	Выход, %
H ₂ SO ₄ / (CH ₃)СНОН гетерогенный	3	5	3	0,83	53,7	46,7
SO ₃ /Py / Py гетерогенный	9	80	12	1,93	23,1	49,7
HSO ₃ Cl/Py / Py гетерогенный	9	80	4	2,07	38,6	72,2
SO ₃ /Py / ДМА/LiCl гомогенный	6	80	4	2,27	23,7	73,8

Примечание: (*) – количество сульфатирующего реагента, моль/моль АГЕ; (**) – степень деполимеризации, %

В изученных гетерогенных и гомогенных реакциях сульфатирования в течение первых 1-6 часов достигается высокая скорость сульфатирования. Реакционная способность гидроксильных групп атомов углерода уменьшается в ряду С-6 > С-2 > С-3.

Методами ИК- и ¹³С ЯМР-спектроскопии установлена структура сульфатпроизводных целлюлозы. Результаты показали, что в ходе реакции не происходит образования побочных продуктов. Степень сульфатирования атомов углерода С-2, С-3, С-6 сульфатпроизводных целлюлозы определена методом ¹³С ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектрах сульфатпроизводных целлюлозы определены полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям О–Н (3400 см⁻¹), Н–С–Н (2900 см⁻¹), С–О–С (1060 см⁻¹), С–О–С β-глюкозидной связи (894 см⁻¹), С–О–S (818 см⁻¹), O=S=O (1257 см⁻¹). В ¹³С ЯМР-спектрах сульфатпроизводных целлюлозы определены сигналы, соответствующие атомам углерода С-1 (102,2 м.у.), С-1' (100,2 м.у.), С-2s, С-3s (79-82 м.у.), С-4 (78,3 м.у.), С-4' (77,8 м.у.), С-2, 3, 5, 5' (71-76 м.у.), С-6s (66,7 м.у.), С-6 (60,3 м.у.).

В результате исследований определены вискозиметрические константы для растворов образцов Na-СЦ (СЗ=0,3-3,0) (0,1 М NaNO₃, 25°С) и на их основе составлены нижеследующие уравнения МХКС:

СЗ (0,3-0,5)	$[\eta]=5,85 \times 10^{-6} \cdot M^{1,0}$	дл/г
СЗ (0,5-1,0)	$[\eta]=6,22 \times 10^{-6} \cdot M^{0,99}$	дл/г
СЗ (1,0-1,5)	$[\eta]=9,10 \times 10^{-6} \cdot M^{0,95}$	дл/г
СЗ (1,5-2,0)	$[\eta]=1,14 \times 10^{-5} \cdot M^{0,92}$	дл/г
СЗ (2,0-2,5)	$[\eta]=1,85 \times 10^{-5} \cdot M^{0,88}$	дл/г
СЗ (2,0-3,0)	$[\eta]=2,25 \times 10^{-5} \cdot M^{0,86}$	дл/г

Используя данные уравнения МХКС, методом капиллярной вискозиметрии возможно экспресс определение ММ образцов Na-СЦ. Установлено, что значения экспонента α образцов Na-СЦ находятся в пределе 1,0-0,86, и в водных растворах они представлены полугибкой конформацией. С увеличением значений СЗ, увеличивается гибкость цепи.

С помощью фракционирования сульфатированных полисахаридов методом гель-фильтрующей хроматографии возможно получение образцов с меньшей ММ с сохранением сульфатных групп. Однако за счет большого количества фракций они получены с низким выходом. Кроме того, для получения низкомолекулярных фракций необходимо, чтобы значение СП фракционированных сульфатпроизводных было близким по значению СП получаемых олигосахаридов.

Путем радикальной деполимеризации сульфатпроизводных целлюлозы получены сульфатированные олигосахариды с ММ от 32200 до 6500 Да. Деполимеризация в кислотных условиях (рН 2,5-4,0) по сравнению с щелочным условием (рН 7,5-8,0) происходит почти в 2 раза быстрее. Также в кислотных условиях (рН 2,5-4,0) получены олигосахариды с низкой СП и коротким молекулярно-массовым распределением (рис.5).

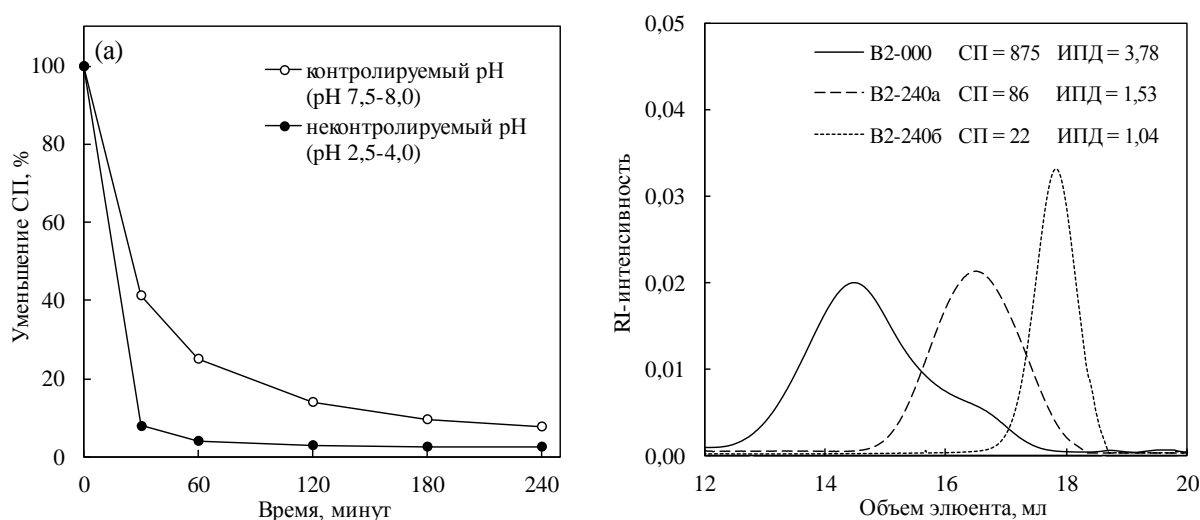


Рис.5. Уменьшение СП в процессе деполимеризации сульфатпроизводных целлюлозы (а), гель-хроматограммы исходной сульфат целлюлозы и продуктов ее деполимеризации (элюент, вода/0,1 М NaNO₃)

В процессе деполимеризации наблюдается незначительное десульфатирование. Соотношение скоростей деполимеризации (по среднему значению СП) и десульфатирования в щелочных (рН 7,5-8,0) и кислотных условиях составило 3650:1 и 3840:1, соответственно. В процессе деполимеризации также наблюдалось изменение в показателях $SZ_{\text{час}}$ в зависимости от рН среды. Сульфатные группы атомов углерода при С-6 проявляют высокую стабильность. Установлено, что десульфатирование атомов углерода в щелочных условиях (рН 7,5-8,0) происходит в ряду С-6<С-3<С-2, а в кислотных условиях (рН 2,5-4,0) – в ряду С-6<С-2<С-3. Результаты по изучению структуры полученных образцов показали, что в изученных условиях не наблюдается появления окисленных производных и побочных реакций окисления в полисахаридной цепи.

Методами ИК- и ¹³С ЯМР-спектроскопии установлена структура олигосахаридов сульфатцеллюлозы. Степень сульфатирования атомов

углерода C-2, C-3, C-6 определена методом ^{13}C ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектрах установлены поглощения, соответствующие валентным колебаниям O–H (3400 см^{-1}), H–C–H (2900 см^{-1}), C–O–C (1060 см^{-1}), C–O–C β -глюкозидной связи (894 см^{-1}), C–O–S (818 см^{-1}), O=S=O (1257 см^{-1}). В ^{13}C ЯМР-спектрах установлены сигналы, соответствующие атомам углерода C-1 (102,2 м.у.), C-1' (100,2 м.у.), C-2s, C-3s (79-82 м.у.), C-4 (78,3 м.у.), C-4' (77,8 м.у.), C-2, 3, 5, 5' (71-76 м.у.), C-6s (66,7 м.у.), C-6 (60,3 м.у.), C-1 (β - НВПЕ) (94,9 м.у.), C-1' (β - НВПЕ) (92,9 м.у.), C-2, 3, 5, C-5' (α - НВПЕ) (68,5-71 м.у.), C-1 (α - НВПЕ) (90,5 м.у.), C-1' (α - НВПЕ) (87,5 м.у.), C-4 (α - НВПЕ, β - НВПЕ) (77-79,5 м.у.), C-4 (НВПЕ) (67,3 м.у.).

В четвертой главе диссертации «Биологическая активность сульфатированных поли- и олигосахаридов против тобамовирусов» представлены результаты исследования по антивирусной активности сульфатированных полисахаридов против тобамовирусов, элиситорная активность сульфатированных олигосахаридов против тобамовирусов растений, получению опытных образцов препарата против тобамовирусов на основе сульфатированных поли- и олигосахаридов.

Результаты исследования показывают проявление высокой антивирусной активности сульфатпроизводных целлюлозы против тобамовирусов. Достаточная концентрация для $90\pm 5\%$ ингибирования вирусной инфекции образцов со СЗ выше 1,5 составила 0,5-1,0 мг/мл, образцов со СЗ ниже 1,5 составила 5,0-7,5 мг/мл. Установлено, что в проявлении биологической активности сульфатированных полисахаридов основными факторами являются количество сульфатных групп в полисахаридной цепи и длина цепи. Образцы со СЗ выше 1,50, СП выше 337 при концентрации 1,0 мг/мл проявили высокую активность (рис.6).

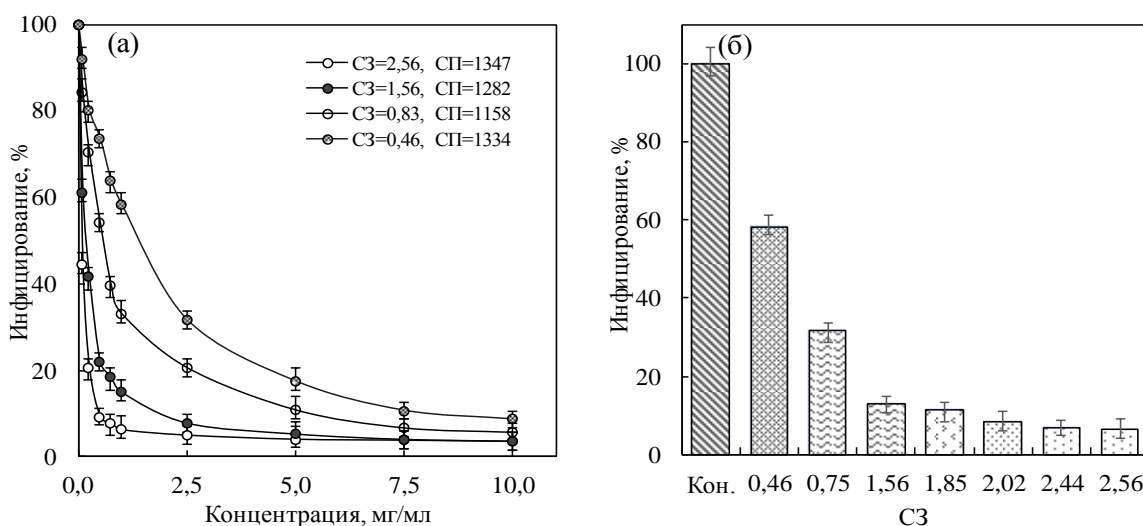


Рис.6. Влияние концентрации (а) и СЗ (б) на антивирусную активность сульфатпроизводных целлюлозы против ВТМ (концентрация (а) 0,10-10,0 мг/мл, концентрация (б) 1,0 мг/мл, $P\leq 0,05$)

Полученные результаты показывают непосредственное взаимодействие и деструктирование белковой оболочки ВТМ под действием сульфатпроизводных целлюлозы в растворе. Под действием сульфатпроизводных при расположении вирионов ВТМ на взаимоблизком расстоянии, наблюдается агрегирование, разрушается баланс напряжений субъединиц белковой оболочки. В результате в белковой оболочке наблюдается утончение, разлом, изгиб, деструкция, слипание друг с другом некоторых частей вирусных палочек (рис.7). С увеличением значения СЗ сульфатпроизводных повышается их ингибирующее действие на белковую оболочку ВТМ, которая глубже подвергается деструкции.

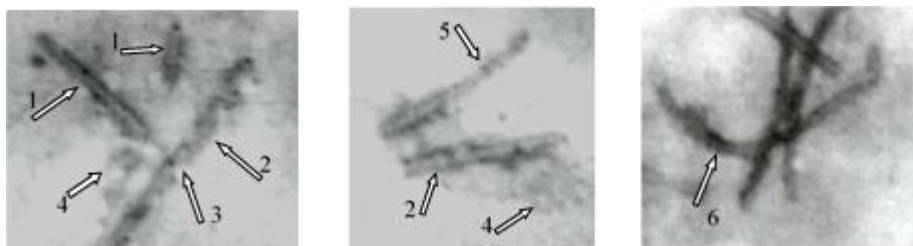


Рис.7. Изменения в белковой оболочке ВТМ под действием сульфатпроизводных целлюлозы (Na-СЦ СЗ=1,56, 2,02; (1)-разрушенный вирион; (2)-изгиб белковой оболочки; (3)-разрушение белковой оболочки; (4)-20S протеины; (5)-утончение белковой оболочки; (6)-прогиб вириона)

Из результатов видно, что сульфатированные олигосахариды на основе сульфатпроизводных целлюлозы проявляют высокую элиситорную активность против тобамовирусов растений. Элиситорная активность повышается с увеличением концентрации и СЗ, а также с уменьшением СП (рис.8). Установлено проявление высокой активности (75,2-88,2%) сульфатолигосахаридов целлюлозы (ММ=7000-15100 Да) со СЗ 1,54-1,64, СП 22-46, при концентрации 1,0 мг/мл.

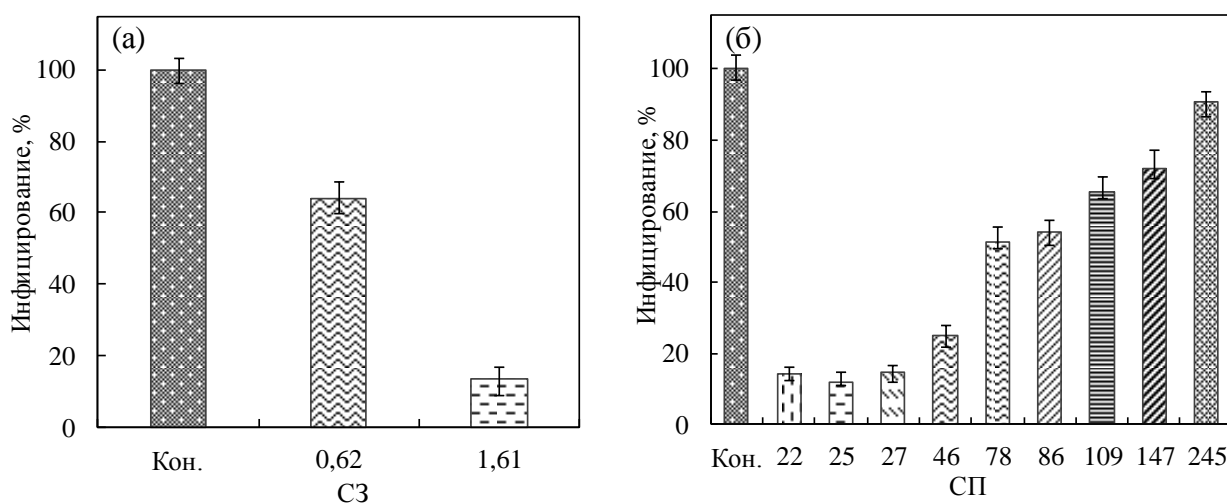


Рис.8. Зависимость элиситорной активности сульфатированных олигосахаридов против ВТМ растения *N.glutinosa* от СЗ и СП (сульфатированный олигосахарид 1,0 мг/мл, СЗ=1,54, СП=22, ММ=7000 Да, $P \leq 0,05$)

После обработки сульфатированными олигосахаридами показано сохранение высокой активности (85,9-90,9%) в течение 24-240 часов. Также обнаружено, что под действием сульфатолигосахаридов целлюлозы у растений уменьшается диаметр некротических пятен, образованных ВТМ. После обработки сульфатированными олигосахаридами увеличение элиситорной активности против ВТМ и сроки сохранения соответствовали активности фенилаланин-аммиак-лиазы (ФАЛ) у растений, увеличению количества фенольных соединений и срокам их сохранения (рис. 9).

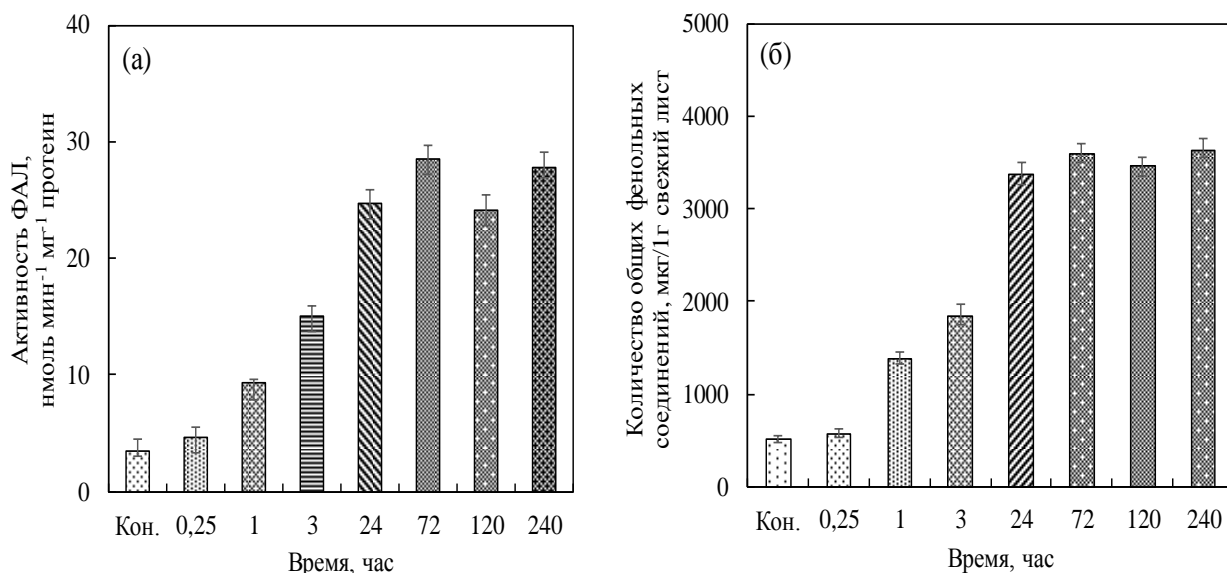


Рис. 9. Активность ФАЛ растения *N.glutinosa* после обработки сульфатированными олигосахаридами (а) и изменение общего количества фенольных соединений (б) (сульфатированный олигосахарид СЗ=1,54, СП=22, ММ=7000 Да, $P \leq 0,05$)

На основе сульфат целлюлозы и сульфатолигосахаридов целлюлозы получен опытный образец препарата против тобамовирусов растений (далее препарат), названный «Биосульфоцел». Под действием препарата инфицирования растительных тканей не наблюдалось. Установлено, что субстанция препарата относится к VI классу относительно безвредных веществ ($LD_{50} \geq 15000$ мг/кг). У новых развитых листьев растений, обработанных препаратом «Биосульфоцел», в закрытых полевых условиях исчезли признаки инфицирования вирусом, на начальном этапе инфицирования существенно уменьшилась степень поражения, наблюдался эффект вакцинации. У растений, обработанных препаратом в открытых полевых условиях, по сравнению с контролем со временем существенно снизились признаки инфицирования, связанные с ВПМ, через 30 дней наблюдалось их резкое уменьшение (рис.10).

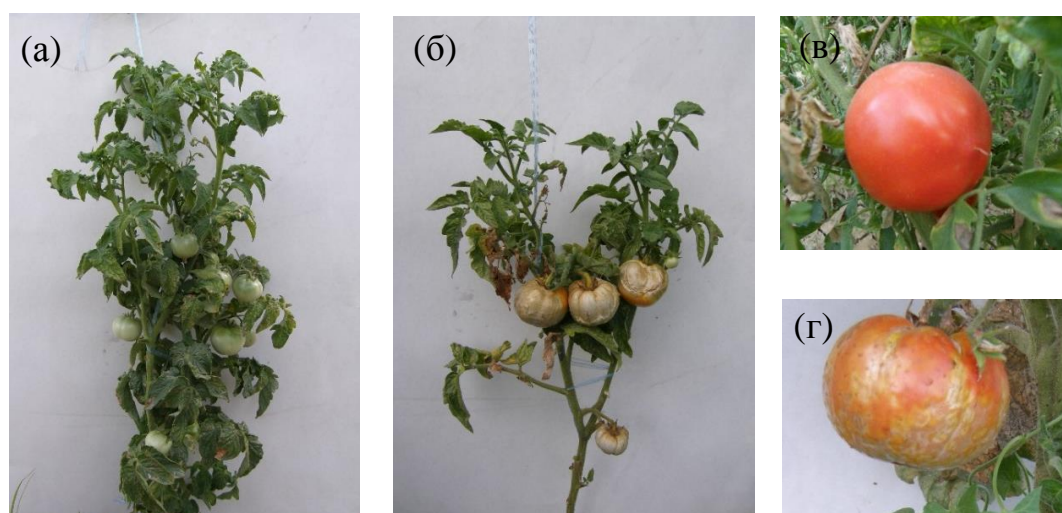


Рис. 10. Растения томата, пораженные ВПМ и обработанные препаратом (а), их плоды (в). Растения томата, пораженные ВПМ и обработанные дистиллированной водой (контроль) (б), их плоды (г)

Также были видны явные отличия между обработанными и необработанными препаратом плодами растения. У обработанного препаратом растения томата плоды были здоровыми, признаки инфицирования не обнаруживались. Установлено, что у растения томата, обработанного препаратом, степень инфицирования снизилась до 32,58 % по сравнению с контролем, а урожайность повысилась до 23,92 % (таблица 2).

Таблица 2

Результаты полевых испытаний в открытых полевых условиях

№	Тип инфицирования с ВПМ	Опыт	Степень инфицирования с ВПМ, %	Урожайность, %	Биомасса, г	Средний рост, см
1	Естественно инфицированные	Контроль-1	100	100	36,85±5,7	37,3±6,2
2	Искусственно инфицированные	Опыт-1	29,88±3,4	116,27±4,5	65,32±3,3	53,7±5,5
3	Естественно инфицированные	Контроль-2	100	100	30,88±6,8	36,0±6,5
4	Искусственно инфицированные	Опыт-2	32,58±5,1	123,92±3,9	61,20±4,8	58,4±5,9

ВЫВОДЫ

1. Синтезированы моно-, ди- и трисульфатпроизводные целлюлозы методом гомогенного сульфатирования целлюлозы комплексом SO_3/Pu в среде ДМА/ LiCl , установлены кинетика сульфатирования и оптимальные условия реакции. Методом ^{13}C ЯМР спектроскопии доказано увеличение активности гидроксильных групп атомов углерода в реакциях сульфатирования в ряду $\text{C-3} < \text{C-2} < \text{C-6}$. Реакции гомогенного сульфатирования по всем показателям превосходят реакции гетерогенного сульфатирования.

2. Определены вискозиметрические константы сульфатпроизводных целлюлозы ($\text{CЗ}=0,3-3,0$), которые предоставляют возможность определения

ММ сульфатпроизводных целлюлозы методом капиллярной вискозиметрии. Установлено, что значения экспонента α сульфатпроизводных целлюлозы ($C_3=0,3-3,0$) находятся в пределе 1,0-0,86, и в водных растворах они представлены полугибкой конформацией, с увеличением значений C_3 , увеличивается гибкость макромолекулы.

3. Получены олигомеры сульфат целлюлозы путем радикальной деполимеризации сульфатпроизводных целлюлозы в присутствии ионов $Cu(II)$ с перекисью водорода. Установлено, что при реакции деполимеризации происходит селективное расщепление гликозидных связей, C_3 сульфатных групп почти не изменяется (деполимеризация:десульфатирование 3650-3840:1).

4. Установлено проявление антивирусной и элиситорной активности сульфатцеллюлозы и ее олигомеров против тобамовирусов растений. С увеличением степени замещения и молекулярной массы сульфата целлюлозы противовирусная активность возрастает, тогда как с уменьшением молекулярной массы сульфата целлюлозы, в случае олигомеров наблюдается увеличение элиситорной активности. Установлено, что антивирусная активность проявляется за счет деструкции белковой оболочки вируса, элиситорная активность - за счет активации фенилпропаноидных путей у растений.

5. Получен опытный образец препарата («Биосульфоцел») против тобамовирусов на основе сульфат целлюлозы и ее олигосахаридов. Установлено, что у растения томата, обработанного препаратом «Биосульфоцел», степень инфицирования снизилась до 32,58 % по сравнению с контролем, а урожайность повысилась до 23,92 %.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AND
THE INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

MUHITDINOV BAHTIYOR IKROMOVICH

**SYNTHESIS OF SULFATED POLYSACCHARIDES AND STUDY OF
THEIR ANTIVIRAL ACTIVITY AGAINST TOBAMOVIRUSES**

02.00.10 – Bioorganic chemistry

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

Tashkent - 2018

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 B2017.1.PhD/K19.

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) and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

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

Official opponents: **Mavlyanov Saidmukhtar Maksudovich**
doctor of chemical sciences, professor

Azizov Umarkhon Mukhtarovich
doctor of chemical sciences, professor

Leading organization: **Institute of General and Inorganic Chemistry**

Defense will take place on _____ 2018 year ____ at the meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan and the Institute of Chemistry of Plant Substances at the following 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: bahrom-nur@rambler.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on «__» _____ 2018.
(protocol at the register No _____ dated ____ 2018).

Sh.I.Salikhov

Chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., academician

B.N.Babaev

Acting Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.Ch.Sc.

A.A.Akhunov

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

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is the synthesis of sulfate derivatives of polysaccharides (by the example of cellulose sulfate derivatives), differing in molecular parameters and the conformation of the macromolecule, and determining their antiviral and elicitor activities against tobamoviruses, dependence of activities on the molecular parameters.

The object of the research work were cellulose, cellulose sulfate (differing in molecular weight, the degree of substitution of sulfate groups, macromolecular conformation), oligo cellulose sulfate, tobacco mosaic virus, tomato mosaic virus, *N. glutinosa* plant, phenylalanine ammonia-lyase, total phenolic compounds of the plant.

Scientific novelty of the research work:

mono-, di-, trisulfate derivatives of cellulose were synthesized under homogeneous conditions, kinetics of sulfation, optimal reaction conditions and the sulfating ability of the hydroxyl groups were determined;

conformation in aqueous solutions of sulfate derivatives of cellulose, the effect of the amount of sulfate groups on the conformation of the macromolecule were evaluated;

the preservation of sulfate groups and the selective cleavage of the glycosidic bond in the radical depolymerization of sulfate cellulose derivatives have been proven;

antiviral and elicitor activities of cellulose sulfate and its oligomers against tobamoviruses, their mechanism of action, the relationship between activity and molecular parameters were determined.

Implementation of the research results. On the basis of results on synthesis of sulfated polysaccharides and the study of their antiviral activity against tobamoviruses:

patent of the Agency for Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan (No. IAP 04603, 12.10.2010) for the invention tobacco mosaic virus inhibitor on plant leaves was received. The results have made it possible to create an antiviral preparation against plant tobamoviruses;

patent of the Agency for Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan (No. IAP 20140378, 04.04.2018) for the invention stimulator of defensive reactions against tobamoviruses in vegetable plants was received. The results have made it possible to design an elicitor preparation against plant viral diseases.

The structure and volume of the thesis. Containing 125 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. Мухитдинов Б.И. Препаративное фракционирование сульфатов целлюлозы // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2011. Махсус сон. –Б.76-79. (02.00.00. №6).

2. Мухитдинов Б.И., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С. Синтез сульфатпроизводных целлюлозы с применением комплекса пиридин - оксид серы (VI) // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2013. № 4. –Б.14-18. (02.00.00. №6).

3. Мухитдинов Б.И., Нормакхаматов Н.С., Тураев А.С., Азимова Л.Б. Синтез сложных эфиров моно- и дисахаридов и изучение их молекулярных параметров // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2013. №2. –Б.15-19. (02.00.00. №6).

4. Normakhamatov N.S., Muhitdinov B.I., Churkina K.M., Turaev A.S. New approaches to generation of antibacterial and antiviral drugs based on the modified polysaccharides // Ўзбекистон биология журнали. Тошкент, 2017. №6. –Б.6-8. (03.00.00. №5)

5. Muhitdinov, B., Heinze, T., Normakhamatov, N., Turaev, A. Preparation of sodium cellulose sulfate oligomers by free-radical depolymerization // Carbohydrate Polymers. Oxford (England), 2017. Vol.173. –P.631-637. (IF №4, Journal Citation Reports, 4.811)

6. Патент РУз № IAP 04603. Тураев А.С., Нормакхаматов Н.С., Мухитдинов Б.И., Чуркина К.М., Кадирова З.Н. «Ингибитор вируса табачной мозаики на листьях растений». 12.10.2010. // Расмий ахборотнома. –2011. –№1.

7. Патент РУз № IAP 20140378. Тураев А.С., Нормакхаматов Н.С., Мухитдинов Б.И., Чуркина К.М. «Стимулятор защитных реакций у овощных культур против тобамовирусов». 10.09.2014. // Ихтирога патент бериш тўғрисида қарор №4853. –04.04.2018.

II бўлим (II часть; Part II)

1. Muhitdinov B.I., Churkina K.M., Normakhamatov N.S., Turaev A.S. Synthesis and molecular characteristics of sulfated cellulose // Bioorganik kimyo muammolari VI Respublika yosh kimyogarlari konferensiyasi. Namangan, 2009. – В.17-18.

2. Normakhamatov N.S., Churkina K.M., P. Mukhitdinov B., Mischnick P., Turaev A.S. Stability of polysaccharide sulfates dependence on their molecular parameters // Macro2010. Glasgow, United Kingdom, 2010. –P.853.

3. Muhitdinov B.I., Normakhamatov N.S., Kadyrova Z.N., Churkina K.M., Turaev A.S. Study of the effects of cellulose sulfate on the infectivity of tobacco mosaic virus // 9th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Xinjiang-Urumqi, China, 2011. –P.108-109.

4. Muhitdinov B.I., Normakhamatov N.S., Turayev A.S., Kadyrova Z.N. Biological activity of sodium cellulose sulfate on infectivity of tobacco mosaic virus in various pH values // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent-Bukhara, 2013. –P.334.

5. Мухитдинов Б.И., Нормакхаматов Н.С., Кадирова З.Н., Тураев А.С. Разработка метода очищения вируса табачной мозаики и подбор оптимальной концентрации для инокуляции *Nicotiana glutinosa* // Табиий бирикмалардан кишлоқ хўжалигида фойдаланиш истиқболлари. Гулистон, 2013. –Б.100.

6. Muhitdinov B.I., Normakhamatov N.S., Turayev A.S., Kadyrova Z.N. Effect of sodium cellulose sulfate on plant development in tomato plants // Биоорганик кимёни ривожлантиришнинг долзарб муаммолари. Тошкент, 2013. –Б.115-116.

7. Muhitdinov B., Wondraczek H., Normakhamatov N., Heinze Th., Turaev A. Homogenous sulfation as a safe method for preparation of sodium cellulose sulfates // 11th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Antalya, Turkey, 2015. –P.209.

8. Muhitdinov B., Normakhamatov N., Churkina K., Turayev A. Sodium cellulose sulfate as an antiviral agent for the tomato plant diseases induced by tomato mosaic virus // Scientific conference of PhD students with international participation. Nitra, Slovakia, 2016. –P.44.

9. Muhitdinov B.I., Churkina K.M., Normakhamatov N.S., Turayev A.S., Kadyrova Z.N. Inhibitory effect of sodium cellulose sulfate on the tobacco mosaic virus infection // Биоорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства. Ташкент, 2016. –С.27-28.

10. Нормакхаматов Н.С., Мухитдинов Б.И., Чуркина К.М., Азимова Л.Б., Амонова Д.М., Тураев А.С. Исследование комплексообразования между анионными полисахаридами и белками. // Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожига келажак. Тошкент, 2016. –Б.149.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журнали» таҳририятида таҳрирдан ўтказилди, унинг ўзбек, рус ва инглиз тили матнлари мос келади (10.05.2018).

Босишга рухсат этилди 10.05.2018 й. Бичими 60x84 1/16 Офсет қоғози. Ризограф усулда.
Times гарнитураси. Шартли босма табоғи 2.75.
Адади 100 нусхада. Буюртма № 14/05.

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