

UO‘K 54.052: 543.07

## **LISHAYNIKLARDAN IMMUNOMODULYATORLARNI AJRATIB OLISH VA SARATON HUYAYRALARI INGIBITORI SIFATIDA TADQIQ ETISH**

Abdumuminova R.N.<sup>1</sup>, Sharoyko V.V.<sup>2</sup>, Xolmurodova D.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Samarqand davlat tibbiyot universiteti,

<sup>2</sup> Pavlov nomidagi 1-Sankt-Peterburg davlat tibbiyot universiteti

### *РЕЗЮМЕ*

**Актуальность.** Лишайники синтезируют уникальные вторичные метаболиты, представляющие интерес как потенциальные противоопухолевые агенты.

**Цель исследования.** Оценить биологическую активность и перспективы применения атранорина – ингибитора АКТ-киназы, выделенного из лишайников, для лечения миелодиспластического синдрома.

**Материал и методы.** Атранорин выделяли методом флэш-хроматографии и идентифицировали с применением УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и элементного анализа. Биосовместимость, цитотоксичность, генотоксичность и антиоксидантную активность изучали на клеточных линиях ECV340 и HEK293. Проведены молекулярный докинг, молекулярная динамика и прогноз ADMET. Проточной цитометрией оценивали экспрессию PD-L1 и TIM-3 в линиях THP-1, Mono-Mac-1, KG-1 и клетках костного мозга человека.

**Результаты.** Атранорин проявил цитотоксическую и иммуномодулирующую активность и оказывал влияние на экспрессию PD-L1 и TIM-3. Компьютерный анализ подтвердил взаимодействие с АКТ-киназой и приемлемые прогнозируемые фармакокинетические свойства.

**Заключение.** Атранорин является перспективным природным соединением с потенциальной противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью и требует дальнейших доклинических исследований.

**Ключевые слова:** атранорин, биосовместимость, цитотоксичность, генотоксичность, АКТ-киназа, проточная цитометрия.

Hozirgi vaqtda 800 dan ortiq ikkilamchi lishaynik metabolitlari ma’lum [1,2]. Lishaynik tarkibidagi aromatik metabolitlarining aksariyati (taxminan 500 ta birlikma) asetat-polimalonat biosintezi jarayonida hosil bo’ladi, bu biosintezi tashkil etilishi va mexanizmi jihatidan yog’ kislotasi sintazalariga juda o’xshash

### *SUMMARY*

**Background.** Lichens synthesize unique secondary metabolites that may serve as promising sources of anticancer agents.

**Objective.** To evaluate the biological activity and therapeutic potential of atranorin – an AKT kinase inhibitor isolated from lichens – for the treatment of myelodysplastic syndrome.

**Materials and methods.** Atranorin was isolated by flash chromatography and identified using UV, IR, and NMR spectroscopy, mass spectrometry, and elemental analysis. Biocompatibility, cytotoxicity, genotoxicity, and antioxidant activity were assessed in ECV340 and HEK293 cell lines. Molecular docking, molecular dynamics, and ADMET prediction were performed. Flow cytometry was used to analyze PD-L1 and TIM-3 expression in THP-1, Mono-Mac-1, KG-1 cell lines and human bone marrow cells.

**Results.** Atranorin demonstrated cytotoxic and immunomodulatory effects and influenced PD-L1 and TIM-3 expression. Computational analysis supported its interaction with AKT kinase and acceptable predicted pharmacokinetic properties.

**Conclusion.** Atranorin is a promising lichen-derived metabolite with potential anticancer and immunomodulatory activity, requiring further preclinical investigation.

**Keywords:** atranorine, biocompatibility, cytotoxicity, genotoxicity, AKT kinase, flow cytometry.

bo’lgan poliketid sintaz fermentlari (PKS) ishtirokida sodir bo’ladi [3]. Asetat-polimalonat biosintezi yo’li orqali hosil bo’lgan lishaynik metabolitlarining eng ko’p sonli sinflari depsidlar va depsidonlar bo’lib, ular orsinol yoki β-orsinol tipidagi ikki yoki undan kam uchraydigan uch fenol halqalar oddiy va efer bog’lanishlari

birlashtirish orqali hosil bo'ladi [5]. Atranorin (1-rasm)  $\beta$  -orsinol tipidagi depsidlarga tegishli va ko'pincha Cladoniaceae, Parmeliaceae, Streocaulaceae va boshqa ko'plab lishaynik oilalarida asosiy metabolit hisoblanadi [1,2,4]. Ushbu birikma birinchi marta 1898 yilda O. Gesse tomonidan ajratilgan va o'shandan beri uning xususiyatlari, farmakologik va biologik faolligini o'rganish dolzarb bo'lib qolmoda. Birinchi nashr etilgan tadqiqotlardan biri bu depsidning sil va stafilokokk mikobakteriyalariga nisbatan zaif faolligini ko'rsatgan [8]. Atranorinning antibakterial faolligi turli mualliflar tomonidan o'rganilgan va Atranorin *Staphylococcus aureus*, *E. coli* va *Klebsiella pneumoniae* uchun aniq bakteritsid xususiyatlarini ko'rsatgan bo'lsa-da, uning faolligi streptomitsin, levofloksatsin, eritromitsin va gentamitsin kabi antibiotiklardan past edi [1, 2,5,6,7]. Gepatit C virusi (GCV) bo'yicha atranorinning virusga qarshi faolligi bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, depsid IC50 22,3 mkm bo'lgan GCV ga nisbatan faol, nazorat sifatida ishlatiladigan erlotinib va telaprevirda esa IC50 mos ravishda 0,64 va 0,18 mkm bo'lgan [8]. Atranorinning sitotoksik faolligi bir qator o'simta va normal hujayralarga nisbatan o'rganilgan [11,12]. Atranorin o'simta va normal hujayra liniyalarida apoptozni rag'batlantirishi ko'rsatilgan. Oddiy kalamush gepatotsitlarida atranorinning kaspaz-3 faolligiga ta'sirini o'rganish erta apoptoz fermenti faolligining o'rta o'sishini aniqladi [11]. Shu bilan birga, boshqa tadqiqotlar natijalari shuni ko'rsatdiki, atranorin apoptozda ishtirok etadigan oqsillarning (Bcl-2, Bax, Hsp70 va boshqalar) ifodalanishiga ta'sir qilmaydi va kaspaza-3 faolligini oshirmaydi [13]. Miyelodisplastik sindrom barcha xavfli kasalliklarning taxminan 1% ni tashkil qiladi, ammo shunga qaramay, sezilarli o'lim bilan bog'liq. Masalan, Yevropa va AQShda tasniflash tizimlarini ishlab chiqish tufayli ushbu kasallikni epidemiologik baholash qiyin bo'lib qolmoqda, ammo umumiy kasallanish 60 yoshdan oshgan 100 000 kishiga taxminan besh holatni tashkil qiladi va yosh keksayishi bilan ortadi [14-15]. Bugungi kunda PDL-1 va TIM3 oqsillarining ifodalanishiga ta'sir qiluvchi miyelodisplastik sindromni davolash uchun AKT kinaz ingibitorlarining rivojlantirish dolzarbdir. Ilgari atranorin AKT kinaz ingibitori ekanligi isbotlangan [16]. Shuni aytish o'rinliki, bugungi kunga qadar O'rta Osiyo jumladan Respublikamizda ham atranorinni lishayniklarda ajratib olish va uni identifikatsiyalash amalga oshirilmagan. Biz taklif etayotgan mazkur usul tadqiqotlarimizda 99,9%ni tashkil etdi. Atranorin gemolizga olib kelmasligi, zaif proagregant faolligini ko'rsatishi, inson zardobidagi albumin (HSA) ( $K_b = 7,6 \times 10^4$  M-1) va dizoksiribonuklein kislota (DNK) ( $K_b = 2,88 \times 10^4$  M-1) bilan barqaror kompleks hosil qilishi va 2,2-Difenil-1-pikrilgidrazil (DPPH) va 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat (ABTS) radikallari bilan model reaksiyalarida aniq antiradikal xususiyatlarga ega ekanligi va sitotoksik emasligi isbotlangan (o'simta bo'lmagan hujayra liniyalariga nisbatan ECV340 va HEK293) va genotoksiklikni ko'rsatmaydi. Ushbu

tadqiqotda PD-L1 va TIM-3 ning AKTga bog'liq ifodasining pasayishi natijasi ekanligi aniqlandi.

#### MATERIALLAR VA USULLAR

Atranorinni aniqlash YaMR spektroskopiyasi, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, IQ spektrometriya va elementar tahlil UB spektroskopiyasi, mass-spektrometriyasi yordamida amalga oshirildi. Atranorinning analitik tozaligi Agilent 1290 firmasining (AQSh) yuqori samarali suyuqlik xromatografida aniqlandi. IQ spektri Varian 7000 FT-IR spektrometrida (AQSh) kaliy bromid tabletkalari ishtirokida amalga oshirildi. Inson qoni namunalari (qizil qon tanachalari, trombotsitlar, periferik qon mononuklear hujayralari va suyak iligi yadrosi hujayralari) yordamida o'tkazilgan tadqiqot birinchi Sankt-Peterburg davlat tibbiyot universitetining ahloqiy qoidalari asosida amalga oshirildi. Rozilik xati shakli 22-32 yoshdagi ko'ngillilardan (erkaklar, n = 22, ayollar qatnashmagan) olingan, ular Akad. I.P. Pavlov nomidagi birinchi Sankt-Peterburg davlat tibbiyot universitetining klinik laboratoriyasi markazi xodimlari tomonidan jalb etilgan. Tadqiqot ishida ishlatiladigan hujayra liniyalari Rossiya fanlar akademiyasi sitologiya institutining Rossiya hujayra oziqa muhiti to'plami tomonidan taqdim etilgan.

#### TADDIQOT NATIJALARI

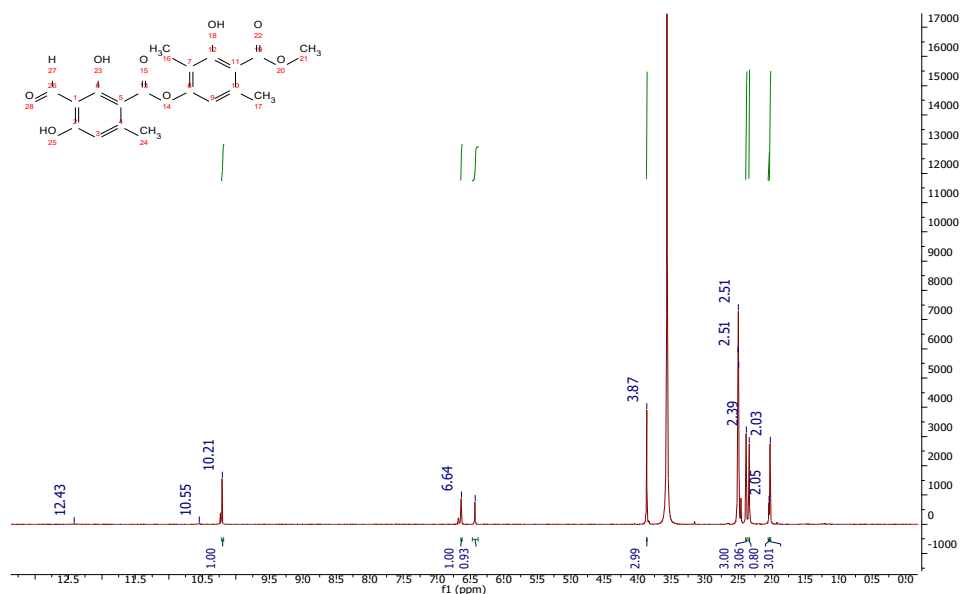
Tadqiqotimiz bir nechta bosqichni o'z ichiga olgan bo'lib, dastlab lishaynikdan (Cladoniya) ikkilamchi metabolit tarkibiga kiruvchi atranorinni ajratib olish va aniqlashga asoslangan.

Atranorinni aniqlash YaMR spektroskopiyasi, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, IQ spektrometriya va elementar tahlil UB spektroskopiyasi, mass-spektrometriyasi yordamida amalga oshirildi.  $^1H$  (400 MHz),  $^{13}C\{^1H\}$  spektrlari Bruker Avance (Germaniya) spektrometrida yozib olingan. Deyterirlangan DMSO tarkibidagi atranorinning YaMR spektri quyidagi 1-rasmda keltirilgan.

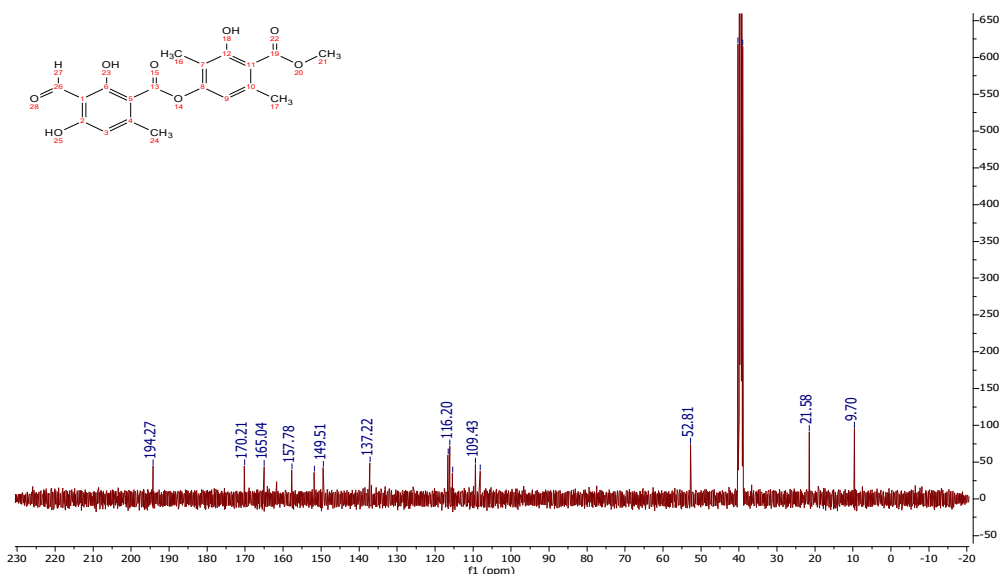
1-rasmda quyidagi qiymatlar tahlil qilish uchun olindi:  $^1H$  (400 MGts, DMSO)  $\delta$  12.43 (s,  $^1H$ , OH), 10.55 (s,  $^1H$ , OH), 10.21 (s,  $^1H$ , OH), 6.64 (s,  $^1H$ , CHAr), 6.44 (s,  $^1H$ , CHAr), 3.87 (s, 3H, CH3), 2.39 (s, 3H, CH3), 2.35 (s, 3H, CH3), 2.03 (s, 3H, CH3).

2-rasmda quyidagi qiymatlar tahlil qilish uchun olindi: YaMR  $^{13}C$  (101 MGts, DMSO)  $\delta$  194.27, 170.21, 165.04, 157.78, 151.83, 149.51, 137.22, 116.64, 116.20, 115.48, 109.43, 108.19, 52.81, 21.58, 9.70. Ajratilgan atranorin ionlashtiruvchi nurlanish (IES-ionlashtiruvchi elektrosprey) bilan Agilent 6538 UHD (SAA) to'rt-qutbli parvoz vaqti (qTOF) tezlik mas-spektrometrida mass spektrometrimolekulalarning yuqori aniqlikdagi, aniq massasini o'lchash usuliga amal qildi. IES ijobiy va salbiy kapillyardagi kuchlanish 2,5 kv; kapillyar harorati 350 °C; atomizatoridagi gaz bosimi 45 psi; qurituvchi gaz (azot) harorati 225 °C; oqim tezligi 5 l/min qurituvchi gazni tashkil etdi. MS/MS rejimida 100-1000 m/s massa diapazonida faqat salbiy issiqlik effekti stansiyalari bilan hosil bo'lgan ionlar to'qnashuv natijasida kelib chiqadigan qo'shimcha dissotsiatsiya

qayd etilgan. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi va elektrosprey bilan parvoz vaqti mass-spektrometriyasi ma'lumotlari jadvalda keltirilgan.



1-rasm. Atranorinning YAMR-spektri. 1H YaMR-spektri.



2-rasm. Atranorinning <sup>13</sup>C YaMR-spektri.

**Elektro sprej usuli bilan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasiva parvoz vaqtimass-spektrometriyasi yordamida olingan atranorinning xususiyatlari. (M-atranorin(C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>).t<sub>R</sub>-ushlab turish vaqti)**

Tahlil	tR/min	Molekulyar formulasi	Ion [M- H]-m/z	Δ/ppm*
Atranorin	31.6	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	373.0929	0.03

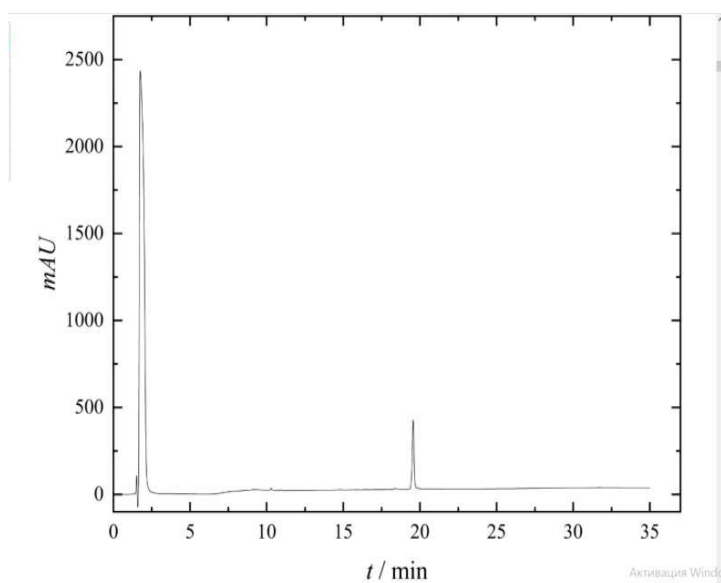
\*Ionlarning hisoblangan va kuzatilgan massalari oʻrtasidagi tafovut.

Jadvaldan koʻrinib turibdiki, manfiy elektrospreyda atranorin (M) [M- H]-molekulyar ionlari hosil boʻlgan.

Atranorinning analitik tozaligi Agilent 1290 firmasining (AQSh) yuqori samarali suyuqlik xromatografida aniqlangan. Chumoli kislota va asetonitrilning 0,1% suvdagi eritmasi aralashmasi

harakatlanuvchi faza sifatida ishlatilgan; tahlil 300 ml/min ≈ 1 oqim tezligida va 10°C ustun haroratida 40 daqiqa davomida asetonitril ulushining 10 dan 100% gacha oshishi bilan gradient elutsiya rejimida oʻtkazildi. SB-C18 (150 × 2,1 mm, 3,5 mikron). Kiritilgan namunaning hajmi 5 ml edi. Aniqlash 250 nm toʻlqin uzunligida

amalgam oshirildi. Atranorin xromatogrammasini tahlil qilish shuni ko'rsatadiki, ajratilgan mahsulotning tozaligi 99,9% ni tashkil qiladi (3-rasm).



3-rasm. Gradient elutsiya rejimida chumoli kislotasi va asetonitrilning 0,1% suvdagi eritmasi aralashmasida yuqori samarali suyuqlik xromatografi usuli bilan olingan atranorin xromatogrammasi.

Tadqiqot davomida lishaynik (*Cladonia*) tarkibidagi ikkilamchi metabolit bo'lgan atranorinning biomaslashuvchanlik va biologik faolligini aniqlash amalga oshirildi. Bunga ko'ra oktan-1-ol-H<sub>2</sub>O tizimida atranorinning tarqalishi Lauda et 20 (Germaniya, tebranish chastotasi 200 rpm) termostat sheykri yordamida 298,15 K haroratda 5 soat davomida o'rganildi. Tajriba uchun deionizatsiyalangan suvda atranorin eritmasi (C=0,013 g/l ≈ 1) tayyorlandi, unga teng miqdordagi oktan-1-ol (5 ml) qo'shildi. Suvli fazadagi atranorin eritmasining optik zichligi SF-2000 (Rossiya) spektrofotometri 250 nm to'lqin uzunligida o'lchandi. Hammasi bo'lib 5 ta parallel o'lchov o'tkazildi.

Trombotsitlar agregatsiyasini o'rganish uchun qon natriy sitrat: qon 1:9 (h/h) nisbatida stabilizator sifatida natriy sitratni (C=0,129 mkm) o'z ichiga olgan vakuum naychalari tanlandi. Trombotsitlarga boy plazmadagi (TBP) trombotsitlar agregatsiyasi adinozin difosfat (ADF) (C=0,005 g/l), kollagen (C=20 g/l) va epinefrin (C=0,005 g/l) agregatsiya induktorlari ishtirokida o'rganildi [17]. Atranorinning RatCol (kalamush dumlaridan ajratilgan kollagen) bilan bog'lanishi bo'yicha tadqiqot Solar CM2203 (Belarus) spektrofluorimetri yordamida o'tkazildi. Nur spektrlari 290 nm qo'zg'alish to'lqin uzunligida 310-350 nm to'lqin uzunligi oralig'ida qayd etilgan. O'lchovlar 298,1, 302,1, 306,2, 310,0, 314,3 K haroratda o'tkazildi. Haroratni nazorat qilish aniqligi  $\Delta T = \pm 0,3$  K ni tashkil etdi. RatCol konsentratsiyasi 10 mikronni tashkil etdi, atranorin konsentratsiyasi 130 mikron oralig'ida 5 mikron qadam bilan o'zgarib turdi. Atranorinning inson zardobidagi albumin (HSA) esteraza faolligiga ta'siri Allsheng mikroplanshetli fotometr (Xitoy) yordamida 405 nm to'lqin uzunligida baholandi. Buning uchun izopropanolda 4-nitrofenilatsetat (NPA),

PBSda HSA va atranorin (pH 7.02) eritmalar tayyorlandi.

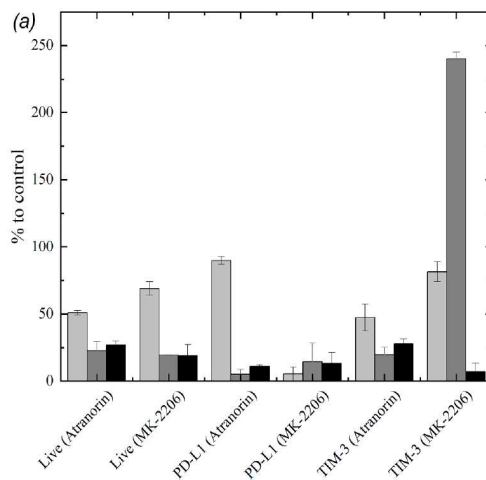
Atranorinning DNK va HSA bilan bog'lanishining termodinamik xususiyatlarini o'rganish ishda tasvirlangan usul bo'yicha 1 ml oltin o'lchash yacheykasi bilan jihozlangan TA Instruments Nano ITC 2G (AQSh) mikrokalorimetridan foydalangan holda izotermik titrlash kalorimetriyasi (ITK) usuli bilan amalga oshirildi [19]. Olingan eksperimental ma'lumotlardan atranorinning DNK va HSA bilan o'zaro ta'siri parametrlari termodinamik mustaqil bog'lanish modeli (Independent model) yordamida hisoblab chiqilgan [19].

Genotoksiklikni o'rganish uchun pBR322 plazmid (Thermo Fisher Scientific, AQSh) *Escherichia coli* DH5 alfa bakteriyalar shtammida ko'paytirildi va MidiPrep kit plazmidlar to'plami (Evrogen, Rossiya) yordamida ajratildi [19]. Atranorin konsentratsiyasi 10-100 mikron oralig'ida o'zgarib turdi; namunalar 37°C haroratda 15 soat davomida inkubatsiya qilindi va 1% agaroz gelda elektroforez usuli bilan tahlil qilindi. Shuningdek, atranorinning genotoksikligi ishqoriy mikrogelda elektroforez yordamida inson periferik qon mononuklear hujayralari (PBMCs) DNK yaxlitligiga tekshirilayotgan moddalarning ta'sirini o'lchashga asoslangan DNK kometa tahlili orqali baholandi [18]. DNK kometalari floresan mikroskop Micromed 3 LUM (Rossiya) yordamida tasvirlangan. DNK dumlarining uzunligi CASP dasturi (1.2.2-versiya) yordamida o'lchandi. DNK dumi tarkibi vauning uzunligi eksperimental ravishda aniqlandi; DNK uchi impulsi undagi DNK foizining bosh markazi va dum orasidagi masofaga ko'paytirilishi sifatida hisoblab chiqilgan [20].

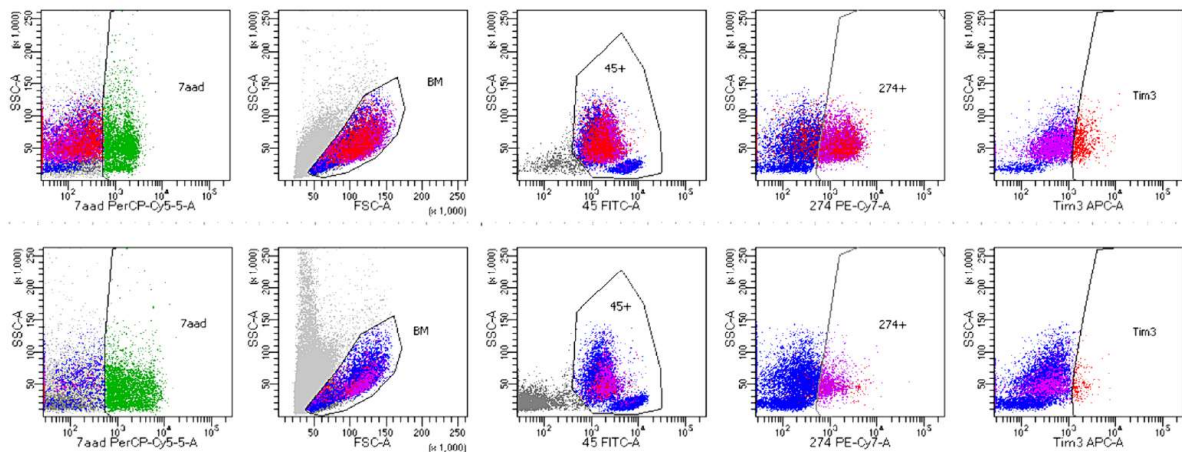
Tadqiqotning keyingi asosiy bajariladigan bosqichi oqim sitometriyasini aniqlash bo'lib, atranorinning TIM-3 va PD-L1 ifodasiga ta'siri KG-1, THP-1, Mono-

Mac-01 hujayra liniyalarida o'rganilgan. Hujayra yashovchanligini pasaytirishning quyidagi ko'rsatkichlari aniqlandi (4-rasm): KG-1 uchun yashovchanlik (90,92±2,85) % dan (64,60±16,15) % gacha, THP-1 uchun (88,6±5,30) % dan (20,45±6,43) % gacha, mono-MPC-1 uchun (81,73 ±2,40) % dan (22,10±2,76) % gacha kamaydi. KG-1 uchun PD-L1 darajasi (77,97±5,45) % dan (53,67±27,38) % gacha, THP-1 uchun - s (92,2±6,04) % dan (4,95±5,16) % gacha, Mono-Mac uchun-1 - s (97,87±0,25) % dan 26,87±4,87)% gacha. KG-1 uchun

TIM-3 darajasi (77,2±0,7)%dan (75,67±1,06)% gacha, Mono-Mac-1 uchun (43,77±1,01)% dan (4,77±0,85)% gacha, THP-1 uchun TIM-3 yetarli darajada taqdim etilmagan. Bir qator tajribalardan so'ng, faqat Mono-Mac-01, Tim-3 va PD-L1 uchun statistik ahamiyatga ega bo'ldi (PV qiymati = 0,0495). Qolgan oziqa muxitlari statistik ahamiyatga ega bo'lmadi. Shunga o'xshash natijalar atranorin ta'sirida inson suyak iligi hujayralarida olingan. TIM-3 va PD-L1 ifodasi mos ravishda 6,1 va 3,4 baravar kamaydi (4-rasm.).



4-rasm. Oqim sitometriyasi natijalari: nazoratga nisbatan tirik hujayralar soni, nazoratga nisbatan TIM-3 ifodasining pasayish darajasi, nazoratga nisbatan PD-L1 (och kulrang – KG-1, to'q kulrang-THP - 1, qora mono-Mac-1)



5-rasm. Atranorin bilan davolashda suyak iligida TIM-3 va PD-L1 ifodasi kamayish grafigi. Suyak iligi BM hujayralari, SSC-A ning lateral tarqalish maydoni, FSC-A ning oldinga tarqalish maydoni, 7aad-Aminoaktinomitsin D, PerCP-Cy5-5 - A-peridinin, xlorofill oqsili-Siyanin5. 5, FITC - A-Fluoresin-5-izotiyosiyanat, PE-Cy7-A-mintaqa fikoeritrin Siyanin7, Tim3 APC-allofikosiyenin TIM - 3, 45-CD45+-hujayralar, 274-CD274+ - hujayralar bilan konyugatsiya hosil qilgan monoklonal antitelo.

Ma'lum bo'lgan kichik molekullari AKT ingibitori MK-2206 digidroxlorid (30 μM) ham sinovdan o'tkazildi va shunga o'xshash ta'sir ko'rsatdi (4-rasm). KG-1 hujayra liniyasida MK-2206 qo'shilishi PD-L1 ifodasining (81,3±5,3)% dan (4,3± 4,2)% gacha, TIM-3 (82,9±4,6)% dan (21,9±7,6)% gacha (p = 0,006) pasayishiga olib keldi. THP-1 hujayra liniyasida 30 mkm MK-2206 ta'siridan keyin PD-L1 faolligining pasayishi

kuzatildi (87,4±20,04)% dan (12,5±12,1)% gacha (p=0,002). Mono-Mac-1 hujayra liniyasi MK-2206 ta'siridan keyin PD-L1 darajasining sezilarli darajada pasayishini (97,26±1,14) % dan (12,9±8,0) % gacha (p = 0,006), Mono-Mac-1 hujayra liniyalarida TIM-3 ifodasi (53,25±15,25) % dan (3,6±3,4) % gacha (p = 0,006) kamaydi (5-rasm).

## MUHOKAMA

Tadqiqot ishida lishayniklardan (Cladoniya) ajratib olingan ikkilamchi metabolit bo'lgan atranorin ilmiy rahbar prof. V.V. Sharoyko uslubiga ko'ra va ishtirokida amalga oshirildi. Bugungi kunga qadar ko'pgina olimlar tomonidan atranorinni ajratib olish samaradorligi past usullarga asoslangan, biz taklif etgan usulga ko'ra atranorin xromatogrammasini tahlil qilish shuni ko'rsatadiki, ajratilgan mahsulotning tozaligi 99,9% ni tashkil qildi. Oktan-1-ol-suv tizimida atranorinning tarqalish koeffitsiyenti quyidagi (1) formula bo'yicha hisoblab chiqilgan:

$$P_{ow} = \frac{c'_o}{c'_w} = \frac{c_w - c'_o}{c'_w}$$

bu yerda  $C_o'$  va  $C_w'$  -oktan-1-ol va suvdagi atranorin konsentratsiyasi, mos ravishda muvozanatga erishgandan so'ng,  $C_w$  - suvdagi atranorinning dastlabki konsentratsiyasi.

Atranorin uchun  $lgP_{ow}$ ning yakuniy qiymati 1,22 ni tashkil etdi. Olingan qiymat atranorinning lipofil xususiyatlarga ega ekanligini ko'rsatadi. 1 va +2 orasidagi  $lgP_{ow}$  qiymati og'iz orqali yuborish uchun mo'ljallangan moddalar uchun maqbul hisoblanadi [21].  $lgP_{ow}$  qiymati past bo'lsa, bog'lanish bo'ladi yomon hazm qilinadi va natijada bioamoslashuvchanlik past bo'ladi. Atranorinning gemomoslashuvchanligini o'rganish uchun uning spontan gemolizga ta'siri aniqlandi. 6-rasmda atranorin ishtirokida 1 va 3 soatdan keyin gemoliz darajasining konsentratsiyaga bog'liqligi ko'rsatilgan. Olingan natijalarni tahlil qilish shuni ko'rsatadiki, atranorinni 1-100 mikron konsentratsiyali diapazonda gemomoslashuvchan deb hisoblash mumkin, chunki gemoliz darajasi 5% dan oshmaydi. Atranorin o'tkir monositik leykemiya (THP-1), o'tkir miyeloid leykemiya (KG-1) va o'tkir Mono-Mac-1 monositik leykemiya o'simta hujayralariga qarshi sitotoksik ta'sir ko'rsatadi. Atranorinning sitotoksiklik tadqiqotlari ma'lumotlari oqim sitometriyasi usuli bilan olingan ma'lumotlarga mos keladi.

## XULOSA

Ushbu ishda bir qator lishayniklarning ikkilamchi aromatik metaboliti bo'lgan atranorinning biologik mosligi, genotoksikligini o'rganishda har tomonlama tadqiqotlar o'tkazildi. Murakkab kompleksli fizik-kimyoviy tahlil usullari yordamida tavsiflangan: UB, IQ, YaMR spektroskopiyasi, mass-spektroskopiya, elementar tahlillar amalga oshirildi. Biomoslashuvchanlik tadqiqoti pBR322 plazmidi va DNK kometa usuli yordamida gemomoslashuvchanlik, antiradikal faollik, ECV340 va HEK293 hujayra liniyalariga nisbatan sitotoksiklik va genotoksiklikni o'rganishni o'z ichiga oldi. Atranorin gemolizga olib kelmasligi, zaif proagregant faolligini ko'rsatishi, HSA ( $K_b = 7,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) va DNK ( $K_b = 2,88 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) bilan barqaror kompleks hosil qilishi va DPPH va ABTS radikalari bilan model reaksiyalarida aniq antiradikal xususiyatlarga ega ekanligi va sitotoksik emasligi isbotlangan (o'simta bo'lmagan

hujayra liniyalariga nisbatan ECV340 va HEK293) va genotoksiklikni ko'rsatmaydi. Ushbu tadqiqotda PD-L1 va TIM-3 ning AKTga bog'liq ifodasining pasayishi natijasi ekanligi aniqlandi. Bundan tashqari, atranorin-AKT komplekslarining molekulyar simulyatsiyalari atranorin molekulasining AKT3 ingibitorining allosterik qismida eng yuqori bog'lanish kuchiga ega oqsillar bilan barqaror o'zaro ta'sirini ko'rsatdi.

## ADABIYOTLAR

1. Abdelhalim A.O.E., et al., Graphene oxide enriched with oxygen-containing groups: on the way to an increase of antioxidant activity and biocompatibility, *Colloids Surf. B Biointerf.* (2021) 112232, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112232>.
2. Абдумунинова Р.Н., Шаройко В.В., Холмуродова Д.К. Атранорин - миелодиспластик синдромни даволаш учун янги самарали дори воситаси // *Фундаментал ва клиник тиббиёт ахборотномаси.* – 2025. – № 5(19). – Б. 47-51. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.16968415>
3. Cardile V, Graziano ACE, Avola R, Piovano M, Russo A. Potential anticancer activity of lichen secondary metabolite physodic acid. *Chem Biol Interact.* 2017 Feb 1;263:36-45. doi: 10.1016/j.cbi.2016.12.007. Epub 2016 Dec 21. PMID: 28012710.
4. Gaponenko I.N., et al., Biological evaluation and molecular dynamics simulation of water-soluble fullerene derivative C60[C(COOH)2]3, *Toxicol. Vitro* 62 (2020) 104683.
5. Gaponenko, I. N. et al. Biological evaluation and molecular dynamics simulation of water-soluble fullerene derivative C60[C(COOH)2]3. *Toxicology in Vitro* 62, 104683 (2020).
6. Greenberg P.L., et al., NCCN Guidelines® Insights: Myelodysplastic Syndromes, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines, *J. Natl. Comprehens. Cancer Network* 20 (2022) 106-117.
7. Harikrishnan A., et al., Atranorin, an antimicrobial metabolite from lichen Parmotrema rampoddense exhibited in vitro anti-breast cancer activity through interaction with Akt activity, *J. Biomol. Struct. Dyn.* 39 (2021) 1248-1258.
8. Kosanirc M., B. Rankovirc, T. Stanojkovirc, A. Ran'cic, N. Manojlovirc, Cladonia lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents, *LWT - Food Sci. Technol.* 59 (2014) 518-525.
9. Meshcheriakov, A. A. et al. Physicochemical properties, biological activity and biocompatibility of water-soluble C60-Hyp adduct. *Colloids Surf B Biointerfaces* 196, 111338 (2020).
10. Mikolaichuk, O. V. et al. Biocompatibility and bioactivity study of a cytostatic drug belonging to the group of alkylating agents of the triazine derivative class. *J Mol Liq* 343, 117630 (2021).
11. Pochkaeva E.I., et al., Isothermal calorimetric titration of human serum albumin with the fullerene

- C60-L-arginine adduct, *Russ. J. Gen. Chem.* 89 (2019) 1731-1733.
12. Rotter L.K., et al., Epidemiology and pathogenesis of myelodysplastic syndrome, *Cancer J. (United States)* 29 (2023) 111-121.
  13. Sharoyko V.V., et al., Synthesis, characterization and biocompatibility of glycine modified graphene oxide, Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures (2023) 1–12, <https://doi.org/10.1080/1536383X.2023.2279550>.
  14. Sharoyko, V. et al. Synthesis, characterization and biocompatibility of glycine modified graphene oxide. Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures LFNN (2023) doi:10.1080/1536383X.2023.2279550.
  15. Sharoyko, V. V. et al. Biocompatibility, antioxidant activity and collagen photoprotection properties of C60 fullerene adduct with L-methionine. *Nanomedicine*40, 102500 (2022).
  16. Shaw, A. L. et al. ATP-competitive and allosteric inhibitors induce differential conformational changes at the autoinhibitory interface of Akt1. *Structure*31, 343-354.e3 (2023).
  17. Strobe, Cory L. et al. “High-throughput in-silico prediction of ionization equilibria for pharmacokinetic modeling.” *The Science of the total environment* 615 (2018): 150-160.
  18. Studzinska-Sroka E., A. Galanty, W. Bylka, Atranorin - an interesting lichen secondary metabolite, *Mini-Rev. Med. Chem.* 17 (2017).
  19. Ureña-Vacas I, González-Burgos E, Divakar PK, Gómez-Serranillos MP. Lichen Depsidones with Biological Interest. *Planta Med.* 2022 Sep;88(11):855-880. doi: 10.1055/a-1482-6381. Epub 2021 May 25. PMID: 34034351.
  20. Zhang, Lei, Wei Di, Yu Hao, Li-Ning Wang, Yanru Deng and Jing-Jing Wang. “Phytochemical and chemotaxonomic study on the Lichen *Lethariella cladonioides*.” *Biochemical Systematics and Ecology* (2021).
-