

Төслийн нэр: ***“Монгол орны зарим ургамал ба мөөгний гетерополисахаридын химийн бүтэц болон хавдрын эсрэг идэвхийн судалгаа”***

Төслийн дугаар: 18-54-91005

Хамрах хүрээ, код: 04-210 Бүтцийн ба функциональ геномик

Удирдагч: Проф. Ш.Наранмандах

Үндсэн гүйцэтгэгчдийн тоо: 9

1. PhD. Ш.Наранмандах, МУИС, ШУС, БУС
2. PhD. Ж.Ганбаатар, Хими хими –технологийн хүрээлэн, ЭШАА
3. Головченко В.В. ОХУ, Коми Физиологийн хүрээлэн, ЭШАА
4. Ветязив Ф.В. ОХУ, Коми Физиологийн хүрээлэн, ЭШАА
5. Ольга П.А. ОХУ, Коми Физиологийн хүрээлэн, ЭШАА
6. Б.Ундраа, МУИС, ШУС, БУС, магистрант
7. Ц.Уранчимэг, МУИС, ШУС, БУС
8. Б.Сэмжид, МУИС, ШУС, БУС
9. Г.Халиун, МУИС, ШУС, БУС

## ТӨСЛӨӨС ГАРСАН ҮР ДҮНГИЙН БАТАЛГААЖИЛТ

- Олон улсын IF бүхий ЭШ-ний сэтгүүлд хэвлүүлсэн өгүүлэл: 2
- Дотоодын мэргэжлийн ЭШ-ний сэтгүүлд хэвлүүлсэн өгүүлэл: 3
- Олон улсын ЭШ-ний хурлын эмхэтгэлд хэвлүүлсэн бүтээл: 5
- Дотоодын ЭШ-ний хурлын эмхэтгэлд хэвлүүлсэн бүтээл: 3
- Нэг сэдэвт зохиол 1
- Хамгаалуулсан магистрын судалгааны ажил: 1
- Хамгаалуулсан бакалаврын судалгааны ажил: 3

### • **Олон улсын IF бүхий ЭШ-ний сэтгүүлд хэвлүүлсэн өгүүлэл:**

1. V.V.Golovchenko D.S.Khramova, **N.Shinen**, G.Jamsranjav, A.O.Chzhov, A.S.Shashkov “Structure characterization of the mannofucogalactan isolated from fruit bodies of Quinine conk *Fomitopsis officinalis*” Carbohydrate Polymers 199 (**Impact factor: 5.158**) <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.103> 2018. 161-169. *Хавсралт 2.*
2. V.V.Golovchenko, **Sh.Naranmandakh** J.Ganbaatar, A.Yu.Prilepskii, G.L.Burygin, A.O. Chizhov, A.S. Shashkov. “Structural investigation and comparative cytotoxic activity of water-soluble polysaccharides from fruit bodies of the medicinal fungus quinine conk” *Phytochemistry*\_\_\_Volume 175 (2020) 112313 (**Impact factor: 3.044**) <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112313> 2020. Article112313. *Хавсралт 3.*

### • **Дотоодын мэргэжлийн ЭШ-ний сэтгүүлд хэвлүүлсэн өгүүлэл:**

1. Ш.Наранмандах В.В.Головченко О.А.Патова Т.Дэгиймаа, Ш.Сонинхүү. Монгол орны гурван зүйл мөөгний полисахаридын судалгааны дүн. ШУА Хими, хими технологийн хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний бүтээл. №6. 2018. 46-50. *Хавсралт 4.*
2. Ш.Наранмандах, Ш.Сонинхүү. “Study of biological activity of the White mushroom *Tricholoma mongolicum* Imai” Монголын уламжлалт анагаах ухаан. Цуврал 9, Дугаар 1. 2018. 6-9. *Хавсралт 5.*
3. Ш.Наранмандах, Ц.Өлзийтогтох, В.В.Головченко, А.П.Ольга. “Бета-глюканы хорт хавдрын эсэд үйлчлэх механизмын талаарх таамаглал” хэвлэлийн тойм өгүүлэл. “Монголын анагаах ухаан” 3(189) *Quartely Journal of Mongolian Academy of Medical sciences.* 2019.62-68. *Хавсралт 6.*

### • **Олон улсын ЭШ-ний хурлын эмхэтгэлд хэвлүүлсэн бүтээл:**

1. Naranmandakh Sh, Undraa B, Chinzorig R. Determination of minimal inhibition concentration of bacterial growth of the ethanolic extract and the chloroformic fraction from the Agarikon *Fomitopsis officinalis* (Vill.ex Fr.). The International Conference on Traditional Mongolian Medicine, Ulaanbaatar 2019, 96-97. *Хавсралт 7.*

2. Naranmandakh Sh, Geriletu G. Study of biological activity of the white mushroom *Tricholoma mongolicum* Imai. The International Conference on Traditional Mongolian Medicine, Ulaanbaatar 2019, 95. *Хавсралт 8*.
3. Geriletu G Naranmandakh Sh, Enkhzaya D Tserendagva D. The effect of ointment from the Agarikon *Fomitopsis officinalis* (Vill.ex Fr.) on the open wound. The International Conference on Traditional Mongolian Medicine, Ulaanbaatar 2019, 88. *Хавсралт 9*.
4. V.V.Golovchenko, D.S. Khramova, F.V. Vityazev, O.A. Patova, Sh.Naranmandakh, J. Ganbaatar, Sh. Tsooj. "Investigation of Physiologically active polysaccharides of plants and mushrooms of Mongolia for the rational use and preservation of biological resources" Proceedings of the international conference dedicated to the 50<sup>th</sup> anniversary of JRMKBE RAS & MAS. Moscow, 2019. 276-278. *Хавсралт 10*.
5. Naranmandakh Sh, Khulan G, Anujin G. Results of phytochemical studies of the *Thalictrum foetidum* L. growing in the Gobi region of Mongolia. "Access to Mongolian bioresources" International online symposium. 2021. 11. *Хавсралт 11*.

**Дотоодын ЭШ-ний хурлын эмхэтгэлд хэвлүүлсэн бүтээл:**

1. Sh.Naranmandakh V.V.Golovchenko. Polysaccharide composition of the onion *Allium polyrhizum* Turcz. ex Regel. "Хими-2018" эрдэм шинжилгээний бага хурлын илтгэлийн хураангуй. 2018.25. *Хавсралт 12*.
2. Ш.Наранмандах В.В.Головченко О.А. Патова Т.Дэгиймаа Ш.Сонинхүү. Монгол орны гурван зүйл мөөгний полисахаридын судалгааны дүн. "Хими-2018" эрдэм шинжилгээний бага хурлын илтгэлийн хураангуй. 2018.50. *Хавсралт 13*.
3. Ш.Наранмандах, Ж.Ганбаатар, В.В. Головченко, Г.Халиун. Талын цагаан мөөг – (*LEUCOCALOCYBE MONGOLICA* (S. IMAI) X.D. YU & Y.J. YAO)-ний полисахаридын химийн найрлагын судалгааны дүн. "Хими-2020" эрдэм шинжилгээний бага хурал. 2020.25. *Хавсралт 14*.

**Нэг сэдэвт зохиол:**

1. Ш.Наранмандах. "Монгол орны эмийн зарим мөөгний химийн найрлагын судалгаа" *Хавсралт 20*

**Хамгаалуулсан магистрын судалгааны ажил:**

1. Б.Ундраа "Агил мөөгний хандтай гелин түрхлэгийн фармакологийн судалгаа" 2020. *Хавсралт 15*.

**Хамгаалуулсан бакалаврын судалгааны ажил: Хавсралт 16-18.**

2. Б.Сэмжид. "Жинхэнэ тосондой *Suillus luteus* мөөгний полисахаридын судалгаа" 2019.
3. Г.Халиун "Талын цагаан мөөг-(*LEUCOCALOCYBE MONGOLICA* (S. IMAI) X.D. YU & Y.J. YAO)-нөөс ялгасан полисахаридын химийн найрлагын судалгаа" 2020.
4. Г.Анужин. "Монгол орны үмхий буржгар (*Thalictrum Foetidum* L.)-ын фитохимийн болон бактерийн эсрэг идэвхит нэгдлийн судалгаа" 2020.

## ТОВЧ ТАНИЛЦУУЛГА:

Хавдрын өвчлөл нь үхэлд хүргэдэг үзүүлэлтээрээ дэлхийд тэргүүлдэг байна. Дэлхийн янз бүрийн улс үндэстнүүдийн уламжлалт анагаах ухаанд, түүний дотор монгол ба төвдийн уламжлалт эмчилгээнд хавдрын төрлийн өвчнүүдийг эмчлэхийн тулд эмийн ургамал болон мөөгийг өргөнөөр хэрэглэж иржээ. Эрдэмтдийн судалгааны дүнгээс харахад эмийн ургамлуудыг хавдрын эмчилгээнд нэмэлт байдлаар хэрэглэдэг болох нь батлагдсан. Полисахаридууд нь биологийн өндөр идэвхтэй бөгөөд харьцангуй бага хоруу чанартай юм.

Орчин үеийн эмчилгээний аргуудын дутагдалтай тал нь хүний дархлааг сулруулдаг явдал байдаг. Гэтэл полисахаридууд физиологийн өргөн үйлчлэлийг үзүүлэхийн зэрэгцээ организмын дархлаа сэргээх идэвхтэй байдгаараа онцгой анхаарал татдаг. Судалгаагаар полисахаридууд хавдрын эсүүдэд шууд нөлөөлөхийн зэрэгцээ организмын янз бүрийн дархлалын урвалыг идэвхижүүлэх замаар тойруу үйлчилгээ үзүүлдэг нь тогтоогдоод байна. Полисахаридуудыг хавдрын эсрэг эмчилгээнд хэрэглэхдээ хавдрын эсрэг хэрэглэгддэг уламжлалт эм бэлдмэлүүдтэй хавсран хослуулж хэрэглэж байна. Полисахаридуудын хавдрын эсрэг үйлчлэлийг эсийг шууд хордуулж үйлчлэх, дархлааны системийг сэргээж үйлчлэх, синергетик эффект үзүүлж үйлчлэх гэсэн 3 үндсэн механизмаар явагддаг гэж таамаглаж байна. Мөөгний полисахаридуудын хавдрын эсрэг үйлдэл нь организмын янз бүрийн дархлааны хариу урвалуудыг идэвхжүүлсний үр дүн юм. Тухайлбал, полисахаридууд нь хавдрын эсүүдийг устгах үйлчлэл үзүүлдэг төрөлх хядагч эсүүд болон Т лимфоцитүүдийг бэлтгэхэд чухал нөлөөтэй цитокаинуудыг үүсгэж макрофагуудыг идэвхижүүлдэг болохыг тогтоогоод байна. Полисахаридууд эзэн биеийг хамгаалах үүрэг бүхий CSF ([колони үүсэлтийг өдөөдөг факторыг нийлэгжүүлэгч эс), ИЛ-1 и ИЛ-3-ийн хэмжээг мэдэгдэхүйц нэмэгдүүлэх ба энэ нь дархлааны эсүүдийн өсөлт, дифференциаци ба тархалтыг идэвхжүүлдэг. Одоогийн байдлаар полисахаридын бүтэц ба хавдрын эсрэг үйлдлийн хоорондын харилцан холбоо бага судлагдсан байна. Мөн мөөгний физиологийн идэвх нь полисахаридын бүтцээс хэрхэн хамаардаг талаарх судалгааны ажил хангалтгүй байна.

Монгол оронд монгол ба Төвдийн уламжлалт анагаах ухаанд өргөн хэрэглэгддэг эмийн ургамал ба мөөгийн зүйлүүд олон ургадаг хэдий ч, тэдгээр нь бага судлагдаад байна. Иймд эдгээр эмийн зүйлийг нарийвчлан судалж, шинэ төрлийн эмийн бэлдмэлийг нээн илрүүлэх чиглэлийн судалгааг орчин үеийн судалгааны багаж төхөөрөмж, арга аргачлалыг хэрэглэн дэлхийн түвшинд гүйцэтгэх нэн шаардлагатай байгаа юм.

Бид ургамлын полисахаридын бүтэц, физиологийн идэвхийг орчин үеийн сонгодог аргуудыг хэрэглэн дэлхийн түвшинд судалж байна. Өмнө гүйцэтгэсэн хамтын судалгааны дүнд Монгол оронд ургадаг зарим зүйлийн ургамлын полисахаридын бүтцийн судалгааг гүйцэтгэж үр дүнгээ "Carbohydrate Research" ба "Food Chemistry" сэтгүүлд хэвлүүлсэн болно.

Шинээр гүйцэтгэсэн судалгааг амжилттай гүйцэтгэсэнээр Монгол оронд ургадаг эмийн ургамал ба базидиомицет мөөгний талаарх чухал шинжлэх ухааны ач холбогдолтой мэдээлэл гарган авах болно. Гарган авсан мэдээлэлд тулгуурлан полисахаридын хавдрын эсрэг үйлдлийн боломжит механизмыг нээн илрүүлэх боломж бүрдэх юм. Тухайн ажил байгалийн ба нөхөн сэргээгдэх түүхий эдийг зохистой ашиглах арга замыг олох боломжийг нээж өгөх юм.

## **ШИНЖЛЭХ УХААНЫ СУУРЬ АСУУДЛЫГ ШИЙДЭХЭД ЧИГЛЭГДСЭН ЗОРИЛГО, ЗОРИЛТ:**

Төслийн үндсэн зорилго нь байгалийн нөхөн сэргээгдэх түүхий эд (ургамал, мөөгнөөс)-ээс хавдрын эсрэг өндөр идэвхтэй шинэ бэлдмэлийг эрж хайх, гарган авах явдал юм.

Түүнчлэн полисахаридын бүтэц ба биологийн идэвхийн хоорондын уялдаа холбоог тайлбарлахад чиглэгдэнэ.

### **Төслийн зорилтууд**

1. Монгол оронд ургадаг анагаах ухаанд өргөн хэрэглэгддэг ургамал ба мөөгнөөс гомо- ба гетерополисахаридыг ялган авч судлах
2. Цэврээр ялган авсан полисахаридын химийн найрлага, молекулын масс болон бүтцийг судлан тогтоох
3. Цэврээр ялган авсан полисахаридыг эсийн пролифератив үйл ажиллагааг саатуулдаг хорт хавдрын эсүүд дээр туршиж, хавдрын эсрэг идэвхтэй полисахаридуудыг илрүүлэх, хавдрын эсрэг идэвхийг нь судлан тодорхойлох

### **Судалгааны зорилтыг шийдвэрлэхэд чиглэгдсэн арга зүй болон алхмууд:**

Тавьсан зорилтыг шийдэхийн тулд юуны өмнө полисахаридыг түүхий эдээс хандлах тохиромжтой арга зүйг боловсруулах юм. Үүнийг хэрэгжүүлэхийн тулд хандлах процессийн гол гидродинамик хүчин зүйлсийг судласан. Эдгээрт түүхий эдийн жижиглэлтийн тохиромжтой хэмжээг тогтоох, хандлах хугацааг тогтоох, хандлах уусмалыг сонгох, температурын горимыг тогтоох, түүхий эд-хандлагч хоёрын зохистой харьцааг тогтоох зэрэг судалгааг гүйцэтгэв. Түүхий эдээс полисахаридыг хандлах процессыг явуулахдаа халаалтын явцад доорхи уусгагчуудыг ашигласан. Үүнд: усаар хандлах (усанд уусдаг полисахаридуудыг хандлахын тулд), хелатжуулагч агент ба органик эсвэл эрдэс хүчил агуулсан усан уусмалаар хандлах (пектины бодисуудыг хандлахын тулд), шүлтийн усан уусмалаар хандлах (гемицеллюлозыг хандлахын тулд).

Ургамлаас ялган авсан өтгөрүүлсэн хандаас полисахаридыг этилийн спиртээр коагуляцид оруулах замаар ялган авсан. Гарган авсан полисахаридын моносахаридын бүрдэл болон уургийн хольцыг тодорхойлсон. Моносахаридын найрлагыг фотоколориметрийн аргаар (полисахаридын нүүрс-усны хэлхээн дэхь уроны хүчлүүдийн үлдэгдлийг тодорхойлох) ба Хий-шингэний хроматографийн аргаар (ХШХ), полисахаридыг 2М трифторцууны хүчлээр хүчиллэг гидролизд оруулаад дараа нь дериватизацийн (уламжлал үүсгэх) шинжилгээнд оруулж полисахаридын нүүрс-усны хэлхээн дэх саармаг моносахаридуудын үлдэгдлийг тодорхойлсон. Уургийн үлдэгдлийг Лоурын фотоколориметрийн аргаар тодорхойлно. Гарган авсан полисахаридуудын молекул масс, моносахаридын бүрдлийг тодорхойлохын тулд Өндөр мэдрэмжит шингэний хроматографийн (ӨМШХ) аргыг хэрэглэсэн. Дараагийн шатанд доорхи ажлуудыг хийсэн. Үүнд:

- Полисахаридуудын хавдрын эсрэг идэвхийг тодорхойлох. Үүний тулд амьтны эсийн амьсгалын идэвхид полисахарид хэрхэн нөлөөлж буйг Колориметрийн МТТ-тестийн аргаар явуулна. Энэхүү арга нь МТТ (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил] – 2,5дифенилтетразол бромид) урвалжийг ашиглан тоон тодорхойлолт хийхэд үндэслэдэг. Хавдрын эсрэг идэвхийг тодорхойлох туршилтанд хүний умайн хүзүүний хавдрын эс-HeLa-ийг ашигласан.

- Төгсгөлийн шатанд хавдрын эсрэг идэвх үзүүлсэн полисахаридуудын бүтцийг нарийвчлан тогтоох ажлыг хийсэн. Бүтцийн судалгааны ажлуудыг хийхийн тулд орчин үеийн нүүрс-усны бүтцийн химийн аргуудыг ашиглан тогтоов. Эдгээр аргуудад: хүчлийн ба ферментийн гидролиз, метилжүүлэх арга, периодатын исэлдэлтийн арга, Смитийн задаргааны арга, янз бүрийн хроматографийн аргууд, ХШХ, ӨМШХ, физик–химийн аргууд, ЦСР-ын спектроскопи, хромато-масс-спектрометрийн арга (ХШХ-МС).
- Хавдрын эсрэг идэвх үзүүлсэн полисахаридуудын бүтцийн тодорхойлох судалгааг гүйцэтгэсэн. Үүний тулд хавдрын эсрэг идэвхтэй байсан полисахаридын нүүрс-усны хэлхээг хүчлийн ба ферментийн гидролизд оруулж фрагментжуулсны дараагаар найрлагыг тогтоов.

### **Ургамал болон мөөгний полисахаридын судалгааны одоогийн нөхцөл байдал**

Янз бүрийн улс үндэстнүүдийн уламжлалт анагаах ухаанд, түүний дотор монгол ба төвдийн уламжлалт эмчилгээнд хавдрын өвчнүүдийг эмчлэхийн тулд эмийн ургамал болон мөөгийг өргөнөөр хэрэглэж иржээ. Дэлхийн эрдэмтдийн явуулсан судалгааны дүнгээс харахад эмийн ургамлуудыг хавдрын эмчилгээнд нэмэлт байдлаар хэрэглэдэг нь батлагдсан. Полисахаридууд нь биологийн өндөр идэвхтэй бөгөөд харьцангуй бага хоруу чанартай юм. [Schepetkin I.A. and Quinn M. T. Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential // *Int. Immunopharmacol.* 2006. V. 6(3), P. 317-333].

Полисахаридууд физиологийн өргөн үйлчлэлийг үзүүлэхийн зэрэгцээ организмын дархлааг сэргээх идэвхтэй байдгаараа онцгой анхаарал татдаг. Судалгаагаар полисахаридууд хавдрын эсүүдэд шууд нөлөөлөхийн зэрэгцээ организмын янз бүрийн дархлалын урвалыг идэвхижүүлэх замаар тойруу үйлчилгээ үзүүлдэг нь тогтоогдсон. Полисахаридуудыг хавдрын эсрэг эмчилгээнд хэрэглэхдээ хавдрын эсрэг хэрэглэгддэг уламжлалт эм бэлдмэлүүдтэй хавсран хослуулж хэрэглэж байна.

Полисахаридуудын хавдрын эсрэг үйлчлэлийг 3 үндсэн механизмаар явагддаг гэж таамаглаж байна. Үүнд: эсийг шууд хордуулах чанар, дархлааны системийг сэргээх, синергетик эффе́кт гэх мэт.

Полисахаридуудын эсийг шууд хордуулах механизм нь хавдрын эсийн апоптозын индукцыг нэмэгдүүлж, хавдрын инвази, адгез ба метастазд оруулах процессыг ихэсгэдэг. Ирээдүйтэй хавдрын эсрэг бэлдмэл бий болгох үндсэн шалгуур шинж нь хавдрын эсийн тархалтыг сонгомлоор удаашруулах явдал юм.

Ийм төрлийн үйлчлэлийг кактусын полисахаридууд [Li W., Wu D. et al. Anti-tumor effect of cactus polysaccharides on lung squamous carcinoma cells (SK-MES-1) // *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2014. V.11. P.99-104], хятад гааны полисахаридууд [Yang X., Yang Y., et al. Anti-tumor effect of polysaccharides from *Scutellaria barbata* D. Don on the 95-D xenograft model via inhibition of the Cmet pathway // *J. Pharmacol. Sci.* 2014. V. 125. P. 255-263], сафлорууд [Li J.-Y., Yu J., et al. Safflower polysaccharide induces NSCLC cell apoptosis by inhibition of the Akt pathway // *Oncology reports.* 2016. V. 36. P.147-154]; будагт омелийн полисахаридууд [Chai Y. and Zhao M. Purification, characterization and anti-proliferation activities of polysaccharides extracted from *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 149. P. 121–130] тус тус үзүүлдэг байна.

Хятадын таксиллын шилбэ ба ункарийн [Zhang L., Koyyalamudi S.R., et al. Immunomodulatory activities of polysaccharides isolated from *Taxillus chinensis* and *Uncaria rhynchophylla* // *Carbohydr. Polym.* 2013. P. 1458–1465], кадсурын [Wang H., Deng X., et al. The

in vitro immunomodulatory activity of a polysaccharide isolated from *Kadsura marmorata* // Carbohydr. Polym. 2013. P. 253-265], хятадын володушийн *Bupleurum chinense* [Songa X., Ren T., et al. Anti-tumor and immunomodulatory activities induced by an alkali-extracted polysaccharide BCAP-1 from *Bupleurum chinense* via NF- $\kappa$ B signaling pathway // Int. J. Biol. Macromol. 2017. V. 95. P. 357-362] хавдрын эсрэг идэвх нь тэдгээрийн дархлаа сэргээх үйлдэлтэй холбоотой юм. Хунчирын полисахаридууд in vivo нөхцөлд гепатокарциномын H22 хавдрын эсийн өсөлтийг идэвхтэй зогсоодог, тэгэхдээ ИЛ-2, ИЛ-12, ФНО-[альфа]-ын шүүрлийг ихэсгэж, ИЛ-10-ын шүүрлийг бууруулдаг [Yang B., Xiao B., Sun T. Antitumor and immunomodulatory activity of *Astragalus membranaceus* polysaccharides in H22 tumor-bearing mice // Int. J. Biolog. Macromol. 2013. V.62. P. 287–290].

Полисахаридуудын хавдрын эсрэг үйлдэл хэд хэдэн механизмаар хэрэгждэг.

Анарын хальсны галактоманнан хүний (A375, HCT116, HepG2) эс, хулганы (DLA и EAC) хавдрын эсэд цитохоруу чанар үзүүлдэг ба доксорубицинтай (цитотоксик хавдрын эсрэг агент) хавсруулан хэрэглэвэл хавдрын биед үзүүлэх сөрөг нөлөөллийг багасгаж наслалтыг мэдэгдэхүйц нэмэгдүүлдэг. [Joseph M.M., Aravind S.R., et al. A galactomannan polysaccharide from *Punica granatum* imparts in vitro and in vivo anticancer activity// Carbohydr. Polym. 2013. V.98. P.1466–1475].

Цооргоны пектинт полисахарид – ангелан нь дархлааны В-эсүүд ба макрофагийг идэвхжүүлэх, хавдрын эсийн адгезийг сааруулах, хавдрын өсөлтийг зогсоох үйлчилгээ үзүүлдэг. [Han S.B., Lee C.W., et al. Pectic polysaccharide isolated from *Angelica gigas* Nakai inhibits melanoma cell metastasis and growth by directly preventing cell adhesion and activating host immune functions // Cancer Letters. 2006. V. 243, P. 264–273].

Полисахаридуудыг уламжлалт хавдрын эсрэг бэлдмэлүүдтэй хослуулан хэрэглэхэд дан ганц бэлдмэл хэрэглэснээс илүү үр нөлөө үзүүлдэг. Ялангуяа мөөгний полисахарид ихээхэн анхаарал татдаг. Тэдгээр нь хавдрын эсэд шууд үйлчилдэггүй, харин организмын дархлааны урвалыг идэвхижүүлэх замаар хавдрын эсрэг үйлчилдгийг илрүүлсэн. Полисахаридын хавдрын эсрэг үйлчлэл нь цитокинууд хавдрын эсийг таньж илрүүлснээр лимфоцит олширч, Т-эс, макрофагын хариу урвалыг хүчтэй болгодгийн үр дүн юм [Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides (Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. V. 60. P. 258–274; Hobbs C. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.(Agaricomycetideae)). A literature review // Int. J. Med. Mush-rooms. 2000.V.2. P. 287–302; Hamuro J., Chihara G. Lentinan, a T-cell oriented immuno-potentiator: its experimental and clinical applications and possible mechanism of immune modulation. In: Fenichel R.L., Chirigos M.A. (eds) Immunomodulation agents and their mechanisms. Dekker, New York. 1985. P.409–436]. Полисахаридууд CSF-үүсгэгч эсийн (колони үүсэлтийг дэмжигч хүчин зүйл) тоо ба “эзэн” биеийн хамгаалах механизмыг хариуцдаг дархлааны чадвартай эсийн өсөлт, хуваагдал, олшролт ИЛ-1 и ИЛ-3-ыг мэдэгдэхүйцээр ихсэхийг дэмждэг [Hamuro J., Chihara G. Lentinan, a T-cell oriented immuno-potentiator: its experimental and clinical applications and possible mechanism of immune modulation. In: Fenichel R.L., Chirigos M.A. (eds) Immunomodulation agents and their mechanisms. Dekker, New York, 1985 P.409–436). Мөөгний полисахарид байгалийн хядагч эс, Т-эс, В-эсийн олшролыг дэмждэг, мөн дархлааны тогтолцооны макрофаг хамааралт урвалын үйл явцыг нэмэгдүүлдэг [Chen Sh. Ch., Lu M.-K., Cheng J.-J., Wang D. L.; Antiangiogenic activities of polysaccharides isolated from medicinal fungi // FEMS Microbiology Letters. 2005. V. 249. P. 247-254; Cheng J.-J., Lin Ch.-Yu., Lur H.-Sh., Chen H.-P., Lu M.-K. Properties and biological functions of polysaccharides and

ethanolic extracts isolated from medicinal fungus, *Fomitopsis pinicola* // Process Biochem. 2008. V. 43. P. 829–834]. Хятадын уламжлалт анагаах ухаанд өргөн хэрэглэгддэг кордицепс *Cordyceps sinensis* мөөгний полисахарид нь дархлааны тогтолцоог засч, хавдрын эсрэг болон исэлдэлтийн эсрэг идэвхитэйг тогтоосон байна [Chen J., Zhang W., Lu T., Li J., Zheng Y., Kong L. Morphological and genetic characterization of a cultivated *Cordyceps sinensis* fungus and its polysaccharide component possessing antioxidant property in H22 tumor-bearing mice // Life Scien. 2006. V. 78. P. 2742–2748]. Тэдгээрийн ихэнх нь 1,3- ба 1.6-холбоостой [бета]-глюканы бүлэгт багтана.

Хүнсний мөөг *Pleurotus eryngii*-ийн полисахаридыг сульфатжуулан модификацид оруулахад түүний үрэвслийн эсрэг болон нөхөн сэргээх чадвар үлэмж нэмэгддэгийг тогтоосон [Li S. and Shah N.P. Anti-inflammatory and anti-proliferative activities of natural and sulphonated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* // J. Functional Foods. 2016. V. 23. P. 80–86].

### Төслийг хэрэгжүүлэх явцад хүрсэн хамгийн чухал үр дүнгүүд

Энэхүү судалгаанд Ази номхон далайн орнуудын ардын уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгддэг, монгол оронд ургадаг дөрвөн зүйлийн хүнсний болон эмийн мөөг болох Монгол хүрээмэг (*Leucocalocybe mongolica* S. Imai X.D. Yu & Y.J. Yao), жинхэнэ тосондой (*Suillus luteus* L.), чага (*Inonotus obliquus* Ach. ex Pers.), хар модны агил (*Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bondartsev & Singer) зэрэг базидиомицетууд, мөн 11 зүйлийн зэрлэг олон наст ургамлууд болох том навчит дэгд (*Gentiana macrophylla* Pall.), долгионтсон гишүүнэ (*Rheum rhabbarum* L.), цоохор саадгана (*Cypripedium guttatum* Sw.), одой хайлаас (*Ulmus pumila* L.), Алтайн сонгино (*Allium altaicum* Pall), бор бударгана (*Salsola passerina* Bunge), ланцуйн тарваган шийр (*Thermopsis lanceolate* R. Br.), хавтаг навчит хус (*Betula platyphylla* Sukacz), улаан гоёо (*Cynomorium songaricum* Rupr.), цацагт үлд өвс (*Orostachys thyrsoiflora* Fisch), хатгуурт үлд өвс (*Orostachys spinose* (L.) C.A. Meyer). зэрэг ургамлуудаас полисахаридыг хүчил, шүлтээр ээлжлэн боловсруулах замаар ялган авсан. Полисахаридыг ялган авахдаа ургамлын материалыг хүйтэн, халуун, хүчиллэгжүүлсэн (pH 3.5 хүртэл) ус, оксалат аммонийн 0.7%-ийн усан уусмал, ба натрийн карбонат 0.5%-ийн усан уусмал, натрийн гидроксид 0.5%-ийн усан уусмалаар дэс дараалан боловсруулж, полисахаридын фракцуудыг ялган авсан.

Судалгааны дүнд базидиомицет мөөгүүдийг калийн гидроксид 2%-ийн усан уусмалаар 0° болон 90° хэмд хандлаж, полисахаридыг ялган авахад фракцуудын гарц 1.57-6.26% хооронд хэлбэлздэгийг тодорхойлов (агаарын хуурай жинд). Халуун усаар хандлан гаргасан полисахаридын фракцуудын гарц хамгийн их байв.

Судалгаагаар базидиомицет мөөгүүдийн полисахаридын бүтцийн үндсэн бүрэлдэхүүн хэсэг болох D-глюкозын үлдэгдлийг таньж тодорхойлсон. Тус тусад нь ялган авсан бие даасан полисахаридын бүтэц бүрэлдэхүүний моносахаридын үлдэгдлийг тодорхойлоход рамноз, галактоз, манноз, ксилоз, фукоз зэрэг үлдэгдлээс тогтож байсан. Монгол хүрээмэг мөөгний усан ханднаас Фелингийн уусмалаар тунадасжуулан ялгасан полисахарид нь 10% рамнозын үлдэгдэл нь агуулж байсан нь мөөгний полисахаридад ховор тохиолдол байлаа. Жинхэнэ тосондой мөөгний үрт биеэс ялган авсан хүйтэн усаар хандлан авсан гетерополисахаридууд нь ихээхэн хэмжээний глюкозын үлдэгдэл агуулж байсан. Үүнд: манноз (20% хүртэл), галактоз (10% хүртэл), фукоз (9% хүртэл); буцалсан ус ба хүйтэн шүлтийн уусмалаар хандлах үед гомоглюканууд хандлагддаг. Харин шүлтийн уусмалаар

халуун нөхцөлд хандлахад гетерополисахаридууд хандлагддаг болохыг тогтоов. Гетерополисахаридын найрлаганд глюкоз, манноз ба ксилоз (2 : 2 : 1) гэсэн харьцаатай агуулагдаж байв. Бүтцийн нарийвчилсан судалгааны дүнд агил мөөгний полисахарид нь салбарласан 1,3-[бета]-глюкан полисахарид бөгөөд энэ нь Конго улаан будагтай колориметрийн шинжилгээгээр тогтоогдсон, гурвалсан спираль бүхий конформацитай, хажуугийн гинж нь 1,3-холбогдсон [бета]-D глюкопиранозын үлдэгдэлээс үүссэн 1,6-[бета]-D-глюкан; маннофукогалактан ба фукозилжуулсан [бета]-ксило-1,3-[альфа]-маннан юм.

Ургамлын дээжүүдээс улаан гоёо ба хатгуурт үлд өвс хоёр нь полисахаридын гарц хамгийн их буюу 49.85 ба 48.91% тус тус байв. Полисахаридын гарц хамгийн багатай нь хавтаг навчит хусны навч, бор бударгана, ланцуйн тарваган шийр 13.04%, 13.24% ба 14.58% тус тус гарцтай байв (агаарын хуурай жинд). Цацагт үлд өвсний газрын дээд хэсэг болон хусны навчны усанд уусдаг полисахаридууд нь полисахаридын нийт гарцын дийлэнх хувийг (10.95 ба 18.84%) бүрдүүлдэг. Хатгуурт үлд өвс, ланцуйн тарваган шийрийн навч, алтайн сонгины өвснөөс аммонийн оксалатаар хандлан авсан полисахаридууд хамгийн их гарцтай буюу 18.56%, 11.45% ба 4.4% тус тус байв. Бор бударганы газрын дээд хэсгээс полисахаридуудыг содын уусмалаар 7.44%-ийн, улаан гоёоноос шүлтийн уусмалаар 18.50%-ийн гарцтай ялгаж авсан нь бусад фракцуудаас илүү өндөр байв.

Судалгааны дүнд ургамлын материалаас ялган авсан ихэнх полисахаридын үндсэн бүтцийн бүрэлдэхүүн хэсэг 1,4-[альфа]-D-галактуронан болохыг батлав. Түүнчлэн полисахаридын нүүрс-устөрөгчийн хажуугийн гинжин хэлхээнд арабиноз ба галактозын үлдэгдэл бүхий рамногалактуронан-I бараг тэнцүү хэмжээгээр агуулагдаж байгааг тогтоосон. Ялгаатай онцлог зүйл бол хавтаг навчит хусны навчнаас ялгасан полисахаридууд нүүрс-усны гинжийн бүтцийн ихэнх хэсгийг рамногалактуронан I бүрдүүлж байгаа явдал байв.

Улаан гоёоны зонхилох полисахарид нь 1,4-[альфа]-D-глюкан (амилоз) бөгөөд харин рамногалактуронан-I полисахаридыг бага агуулагддаг полисахарид болохыг анхны полисахаридын фракцуудын амилолизийн дараа тогтоосон болно. Улаан гоёо ба бор бударганы рамногалактуронан-I полисахарид нь хажуугийн хэлхээндээ арабинозын үлдэгдэл ихээр агуулагддаг өвөрмөц шинж чанартай байгааг тогтоосон.

Бүх ялган авсан полисахаридын фракцууд нь диализаар зайлуулж болох нилээд хэмжээний уураг агуулж байсан. Ланцуйн тарваган шийр болон улаан гоёоноос ялгасан полисахаридын фракцид 50-60%-ийн уургийн агууламж илэрсэн. Ишэндээ олон тооны жижиг цэцэг ихтэй ургамал цацагт үлд өвснөөс ялгасан полисахаридын фракцад уургийн агууламж 18-20% байгааг тодорхойлсон. Ургамлын материалаас ялгасан хандыг протеазаар боловсруулах нь уургийн агууламжийг 2-3% хүртэл бууруулах боломжийг олгосон. Харин улаан гоёоноос хүйтэн усаар болон содын уусмалаар хандлаж ялгасан полисахаридын фракц дахь уургийн агууламж уураггүйжүүлэлтийн дүнд 11% ба 8% болж буурсан.

Ялган авсан полисахаридын фракцуудын нэгэн төрлийн байдлыг сайжруулж цэвэрлэхийн тулд этилийн спиртээр хэсэгчлэн тунадасжуулах аргыг хэрэглэсэн. 72% спиртээр тунадасжуулах нь хамгийн их үр дүнтэй байсан.

Цаашид DEAE-целлюлоз (ОН- хэлбэр) бүхий ион солилцооны баганаар NaCl уусмалын концентрацийг 0.01M-оос 0.5 M хүртэл изократик горимоор нэмэгдүүлэн угаах замаар полисахаридын фракцуудыг цэвэршүүлсэн. Судалгааны явцад полисахаридын фракцуудыг 0.1 M концентрацитай уусмалаар NaCl угаах үед гардаг полисахаридууд

давамгайлж байгааг ажиглав. Улаан гоёо, ланцуйн тарваган шийр, хатгуурт үлд өвснөөс хүйтэн усаар хандлан авсан полисахаридын фракцын гарц 26-32% (баганад өгсөн дээжийн жинд тооцоход) байв.

Цацагт үлд өвс, бор бударганы хүйтэн усан ханд дахь полисахаридын фракцын гарц нь 40% ба 43% байв. Харин Алтайн сонгины өвсний усанд уусдаг полисахаридуудын фракцыг 0.2 М NaCl-оор угааж ялган авсан полисахаридын фракц зонхилох хэсэг нь бөгөөд гарц 44% байв. Улаан гоёоны зонхилох фракц нь 0.01М NaCl-оор угаах үед ялгаран гарч байсан.

Базидимицет мөөгнөөс ялгасан усанд уусдаг полисахаридын молекулын дундаж масс (МВ) нь 700-2200 кДа хооронд хэлбэлзэж байгааг тогтоов. Энэ нь 300 кДа хүртэл байдаг ургамлын полисахаридын МВ-ээс хамаагүй өндөр байв. Хавтаг навчит хусны навчнаас ялгаж авсан полисахаридуудын Mw нь 300-1500 кДа хооронд хэлбэлзэж байсан нь онцлог байв.

Бүх ялган авсан полисахаридын фракцууд нь ихээхэн гетероген шинжтэй буюу (2.1-7.9) болохыг тодорхойлов.

Полисахаридын бүтцийн талаархи мэдээллийг NMR спектроскопи, Хромато-масс спектрометрийн багажаар полисахаридын бүрэн метилжүүлсэн бүтээгдэхүүнийг тодорхойлох замаар гаргаж авсан.

Полисахаридын хорт хавдрын эсийн үйл ажиллагаанд үзүүлэх нөлөөг колориметрийн МТТ тест ашиглан үнэлэв. Олж авсан полисахаридын биологийн идэвхийг хүний умайн хүзүүний хорт хавдрын эс HeLa, уушигны хорт хавдрын эс A549, хүний 12 нугалаа гэдэсний аденокарцинома эс HuTu-80, хүний шулуун гэдэсний аденокарцинома эс CaCo-2 зэрэг хорт хавдрын дөрвөн төрлийн эсийн өсгөвөр дээр МТТ тестийн өргөн хүрээний концентрацид судалсан (50 мкг/мл-ээс 1 мг/мл хүртэл).

Агил мөөг, монгол хүрээмэг, жинхэнэ тосондой мөөгнөөс ялгасан глюкануудыг HeLa эс дээр туршихад хортой нөлөө илэрсэн. Полисахаридуудыг 50-1000 мкг/мл концентрацийн мужид туршсан (полисахарид тус бүрээр 10 өөр концентрациар судалсан: 1000, 800; 700, 600, 500; 400; 300; 200; 100; цаг). Глюканы EC<sub>50</sub>-ийн утгыг 350-600 мкг/мл, EC<sub>90</sub> - 550-800 мкг/мл концентрацийн мужид тодорхойлсон. Агил мөөгний 1,3-[бета]-глюкан нь хамгийн өндөр идэвхтэй байсан. Түүний IC<sub>50</sub> утга 318 ± 47 мкг/мл байсан нь түүний идэвх өндөртэйг харуулж байна. Энэ нь ихэнх хорт хавдрын эсийн эргэн тойронд 200 мкг/мл концентрацитай апоптозын биет үүсэхийг өдөөдөг нь батлагдсан. Бусад судалсан полисахаридын хувьд 800 ба 1000 мкг/мл концентрацид ч HeLa эсийн өсгөвөрт цитотоксик нөлөө илрээгүй.

Ургамлын полисахаридын хувьд HuTu-80 ба CaCo-2 эсүүдэд үзүүлэх хор хөнөөлийг тодорхойлсон. Полисахаридуудыг 50-800 мкг/мл концентрацийн мужид туршсан (полисахарид тус бүрээр 7 өөр концентрациар судалсан: 800; 500; 400; 300; 200; 100; 50 мкг/мл), хяналтыг 24, 48 ба 72 цагийн хугацаанд хийсэн. Судалгааны үр дүнд бор бударгана, хавтаг навчит хусны навч, ланцуйн тарваган шийр, цацагт үлд өвс, хатгуурт үлд өвс, улаан гоёо, алтайн сонгины өвснөөс ялгасан пектин нэмэхэд эсэд хортой нөлөө үзүүлж байгааг илрүүлсэн. Тэдгээрийн хувьд EC<sub>50</sub>-ийн утга 450-600 мкг/мл концентрацийн үед, EC<sub>90</sub> -ийн утга 700-800 мкг/мл концентрацийн үед тодорхойлогдсон. Пектинүүдийн концентрацийг 200 мкг/мл хүртэл бууруулахад флюоресценцийн микроскопоор зөвхөн хавтаг навчит хусны навчнаас ялгаж авсан рамногалактуронанд, Алтайн сонгины өвснөөс ялгаж авсан галактуронанд хяналтын өсгөвөрийн ялгаа илэрсэн. Бусад судалсан полисахаридын хувьд HuTu-80 болон CaCo-2 эсийн өсгөвөрт цитотоксик нөлөө илрээгүй. Полисахаридтай эсийн инкубацийн хугацааг 24-72 цаг хүртэл нэмэгдүүлэхэд мэдэгдэхүйц ялгаа олдоогүй.

Уушигны хорт хавдрын A549 эс дээр хийсэн судалгааны хувьд 30-1000 мкг/мл концентрацитай (полисахарид тус бүрээр 7 өөр концентрациар судалсан: 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25 мкг/мл), полисахаридидууд нь цитотоксик нөлөө үзүүлээгүй.

### **Төслийг хамтран хэрэгжүүлэх явцад гарган авсан үр дүнг дэлхийн түвшинтэй харьцуулах нь**

Базидиомицетууд нь фармакопей, уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгдэж ирсэн чухал ач холбогдолтой гэж үздэг биологийн идэвхт бодисын байгалийн нөөц юм. Тэдгээр нь биологийн идэвхтэй хоёрдогч метаболитууд болон полисахаридуудыг нийлэгжүүлж байдаг [Grienke et al. European medicinal polypores – a modern view on traditional uses // J. Ethnopharmacol. 2014. V.154. P. 564– 583; Meng, Liang, Luo. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities // Carbohydr. Res. 2016. V. 424. P. 30–41].

Мөөгний полисахарид 1,3-[бета]-глюканууд нь биологийн хамгийн өндөр идэвхтэй болохыг судлаачид тогтоогоод байна [Villares et al. Structural features and healthy properties of polysaccharides occurring in mushrooms // Agriculture. V. 2. P. 452–471; Ferreira et al. Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities // Phytochemistry. 2015. V. 114. P. 38–55; Khan & Gani Biological and pharmaceutical activities of mushroom  $\beta$ - glucan discussed as a potential functional food ingredient // Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre. 2018. V. 16. P. 1–13].

Бидний судалгааны үр дүнд агил мөөг, монгол хүрээмэг, жинхэнэ тосондой мөөгнөөс ялган авсан [бета]-глюканууд нь умайн хүзүүний хорт хавдрын эс HeLa-д цитотоксик нөлөө үзүүлдэг болохыг тогтоосон. Тэдгээрийн EC<sub>50</sub> утга 350-600 мкг/мл, EC<sub>90</sub> утга 550-800 мкг/мл байв. Агил мөөгний 1,3-[бета]-глюканы IC<sub>50</sub> утга 318 ± 47 мкг/мл байсан бөгөөд хамгийн өндөр идэвхтэй байсан.

Мөөгний глюкануудын хорт хавдрын эсд үзүүлэх нөлөө харилцан адилгүй байдаг ба тэдгээрийн IC<sub>50</sub> нь 165-аас 2000 хооронд хэлбэлздэгийг судлаачид тогтоосон байдаг [Khan et al. Polysaccharides as potential anticancer agents – a review of their progress // Carbohydr. Polym. 2019. V. 210. P. 412–428]. Базидомицет мөөгний үрт биеэс бидний ялгаж авсан гетерополисахаридууд болох маннофукогалактан, фукозилат [бета]-ксило-1,3-[альфа]-маннан, 1,3-[альфа]-D-маннаныуд нь HeLa эсийн амьдрах чадварыг 50 мкг/мл-ээс 1 мг/мл хүртэл хүрээнд судалсан концентрацийн үед дарангуйлдаггүй болно.

Зарим базидомицет мөөгний биологийн идэвхт гетерополисахаридуудын хорт хавдрын эсрэг болон дархлалын тогтолцооны нөлөөг урьд өмнө илрүүлсэн байдаг [Smiderle et al. A 3-O-methylated mannogalactan from *Pleurotus pulmonarius*: structure and antinociceptive effect // Phytochemistry. V. 69, P. 2731– 2736; Ruthes et al. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects // Carbohydr. Polym. 2016. V. 136. P. 358–375].

*Boletus edulis* -аас ялгасан глюкоз, галактоз, рамнозын үлдэгдэл бүхий гетерополисахарид нь Ренка хулганад үүсгэсэн бөөрний хорт хавдрын эсийн эсрэг үйлдлийг судалж илрүүлсэн байдаг [Wang et al. Characterization of a watersoluble polysaccharide from *Boletus edulis* and its antitumor and immunomodulatory activities on renal cancer in mice // Carbohydr. Polym. 2014. V. 105. P. 127–134].

Бид Конго улаан будагтай колориметрийн туршилтын үр дүнд мөөгнөөс ялгасан глюканыуд нь гурвалсан спираль конформацитай байгааг тодорхойлсон. Гурвалсан спираль конформаци бүтэц нь [бета]-глюканыудын хавдрын эсрэг үйлдлийг тодорхойлдог шинж болохыг судлаачид тогтоосон [Wang et al. Beta-glucans: Relationships between modification, conformation and functional activities // *Molecules*. 2017. V. 2(2). P. 257-260; Devi & Maiti. Immunomodulatory and anticancer properties of pharmacologically relevant mushroom glycans // *Recent Pat. Biotechnol.* 2016. V. 10(1). P. 72–78; Meng, Liang, Luo. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities // *Carbohydr. Res.* 2016. V. 424. P. 30–41].

Сонирхолтой нь, 1,3-[бета]-глюкантай төстэй үндсэн гинжин бүтэцдээ 1,3-[альфа]-маннан агуулсан байвал гурвалсан спираль конформацийг үүсгэх ба энэ нь мөн 1,3-[бета]-глюкантай адилаар хавдрын эсрэг үйлдэлтэй байх боломжтойг судалсан байдаг [Zhang et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. V. 18. P. 4–19].

Бидний судалгааны дүнд агил мөөгний [бета]-D-глюкопиранозын 1,6-холбогдсон үлдэгдлээс үүссэн хажуугийн гинж бүхий 1,3-[бета]-D-глюкан нь HeLa эсүүдэд цитотоксик нөлөөгүй болохыг харуулсан. Хажуугийн гинжин хэлхээнд 1,6, 1,4, 1,2-холбогдсон [бета]-глюкозын үлдэгдэл бүхий 1,3-[бета]-глюканыуд хавдрын эсрэг үйлдэлтэй байгааг судалгаагаар тогтоож байсан [Devi & Maiti. Immunomodulatory and anti-cancer properties of pharmacologically relevant mushroom glycans // *Recent Pat. Biotechnol.* 2016. V. 10(1). P. 72–78; Snarr, Qureshi, Sheppard. Immune recognition of fungal polysaccharides // *J. Fungi*. 2017. V. 3(3). P. 47-50]. Бидний судалгаанд хамрагдсан глюканд цитотоксик нөлөө байхгүй байгаа нь түүний бага молекул жинтэй нь (Mw 411 кДа) холбоотой байж болох юм. Бусад судлагдсан [бета]-глюканыудын Mw нь 800-2200 кДа байсан. Өмнө нь гарсан өгөгдөл нь [бета]-глюканыудын үйл ажиллагаа нь тэдний молекул жингээс ихээхэн хамааралтай байдаг талаар тайлбарласан байдаг. Дүрмээр бол өндөр молекул жинтэй глюканыуд (500-аас 2000 кДа хүртэл) хавдрын эсрэг идэвхтэй байсныг тогтоосон байдаг [Mizuno et al. Antitumor activity and chemical modification of polysaccharides from *Niohshimeiji* mushroom // *Tricholoma giganteum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* V. 60, P. 30–33] бага молекул жинтэй глюканыудаас илүү хавдрын эсийн өсөлтийг дарангуйлах нь илүү үр дүнтэй байдаг [Zhang et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. V. 18. P. 4–19; Zong et al. Anticancer polysaccharides from natural resources: a review of recent research. *Carbohydr. Polym.* 2012. V.90. P. 1395– 1410; Meng et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 424. P. 30–41].

Бага молекул жинтэй глюканыуд нь өндөр молекул жинтэй [бета]-глюканыудтай холбогдож, тэдгээрийн үйл ажиллагаанд саад учруулдаг. [Hayashi N., Shoubayashi et al. Hydrothermal processing of beta-glucan from *Aureobasidium pullulans* produces a low molecular weight reagent that regulates inflammatory responses induced by TLR ligands // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019. V. 11(2). P. 318–322]

Базидиомицет мөөгний полисахаридын хорт хавдрын эсүүдэд үзүүлэх нөлөөллийн механизм нь плейотроп юм. [Khan et al. An antitumor, branched (1→3)-β-D-glucan from a water extract of fruiting bodies of *Cryptopus volvatus* // *Carbohydr. Res.* V. 263. P. 111–121] Үүнд эсийн мөчлөгийн саатал, митохондрийн мембраны деполяризаци, азотын ислийн биосинтезийн замууд, дархлааны үйл явцыг идэвхжүүлэх хүчин зүйлүүд (TNF-α үйлдвэрлэл,

цитокинууд болон бусад иммуномодуляторууд) орно. [Meng et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities // Carbohydr. Polym. 2016. V. 424. P. 30–41]

*Pleurotus nebrodensis* хясаа мөөгний базидиомицетын полисахарид нь G2/M үе шатанд эсийн мөчлөгийг зогсоож, цитокин үүсгэдэг болохыг харуулсан [Cui et al. *Pleurotus nebrodensis* polysaccharide induces apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells // Carbohydr. Polym. 2014. V.104, P. 246–252]. Бидний хийсэн туршилтаар HeLa эсийг 200 мкг/мл [бета]-глюканд өртөхөд эсийн эргэн тойронд апоптозын биетүүд үүссэн. Энэ нөлөө нь судлагдсан [бета]-глюкануудын эсийн мөчлөгийг зогсоох чадвартай холбоотой гэж бид санал болгож байна. IC<sub>50</sub>-аас доош концентрацитай апоптозын бие үүсэхийг *Cordyceps militaris* basidiomycetes-ийн гурван полисахаридын хувьд өмнө тайлбарласан бөгөөд G0/G1 үе шатанд эсийн мөчлөг зогссонтой холбоотой юм. [Chen et al. *Cordyceps militaris* polysaccharide triggers apoptosis and G0/G1 cell arrest in cancer cells // J. Asia Pac. Entomol. 2015. V. 18. P. 433–438]

Бүтцийн хувьд ялгаатай β-глюканууд нь өөр өөр рецептортой холбогддог тул эзэн биеийн хариу урвалууд нь эрс ялгаатай байдаг. Тэд Дектин-1, нэмэлт рецептор (CR3), TLR-2/6 зэрэг хэд хэдэн дархлааны рецепторуудад үйлчилж, төрөлхийн болон олдмол хариу урвалыг өдөөж, фагоцитозыг сайжруулдаг. Төрөл бүрийн рецепторын харилцан үйлчлэл нь полисахаридын үйл ажиллагааны боломжит механизмыг тайлбарладаг [Xiao, Zhou, Zhang. Fungal polysaccharides // Adv. Pharmacol. 2020. V. 87. P. 277–299]. Өнөөдрийг хүртэл мөөгний глюканууд нь хавдрын эсрэг эмийг бий болгоход онцгой ач холбогдолтой бөгөөд тэдгээрийн хэд хэдэн төрлийн бэлдмэл худалдаанд гарсан бөгөөд эмнэлзүйн практикт хавдрын эсрэг эм болгон ашиглаж байна. Жишээлбэл, *Lentinula edodes*-ийн мицель хэмээх шийтаке мөөгний глюканууд [Zhang et al. Advances in lentinan: isolation, structure, chain conformation and bioactivities // Food Hydrocoll. 2011. V. 25(2). P. 196–206], *Schizophyllum commune*-аас гаралтай шизофиллан, *Trametes versicolor* мөөгний крестин зэрэг болно [He et al. *Grifola frondosa* polysaccharide: a review of antitumor and other biological activity studies in China // Discov. Med. 2018. V. 25(138). P. 159–176; Li et al. Molecular basis for *Poria cocos* mushroom polysaccharide used as an antitumour drug in China // J. Cell Mol Med. 2019. V. 23(1). P.4–20].

Мөн олон тооны ургамлын полисахаридууд нь хорт хавдрын эсийн өсөлтийг дарангуйлдаг нь батлагдсан бөгөөд эдгээр нь ирээдүйтэй хавдрын эсрэг эмчилгээний шинж чанартай юм. Кактусын полисахарид [Li et al. Anti-tumor effect of cactus polysaccharides on lung squamous carcinoma cells (SK-MES1) // Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. 2014. V. 11. P. 99–104], гүргэмийн полисахарид [Li et al. Safflower polysaccharide induces NSCLC cell apoptosis by inhibition of the Akt pathway // Oncology reports. 2016. V. 36. P.147–154], өнгөт ометын пектин полисахарид [Chai and Zhao. Purification, characterization and anti-proliferation activities of polysaccharides extracted from *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai // Carbohydr. Polym. 2016. V. 149. P. 121–130], хятад *Angelica sinensis*-ийн полисахарид [Cao et al. A novel polysaccharide, isolated from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels induces the apoptosis of cervical cancer HeLa cells through an intrinsic apoptotic pathway // Phytomedicine. 2010. V. 17(8–9). P. 598–605] тус тус дээрхтэй ижил төстэй нөлөө үзүүлдэг.

*Lycium barbarum* полисахаридууд нь янз бүрийн хорт хавдрын эсүүдийн эсрэг үйлдэл үзүүлж, in vivo туршилтын хулганы хавдрын өсөлтийг саатуулж, хүний давсагны хорт хавдар BIU87 хорт хавдрын эсийн өсөлтийг in vitro дарангуйлдаг болохыг тогтоожээ [Ke et al. Extraction, purification of *Lycium barbarum* polysaccharides and bioactivity of purified fraction // Carbohydr. Polym. 2011. V. 86(1). P. 136–141; Xie et al. Recent advances in bioactive

polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, *Plantago* spp., and *Morus* spp.: Structures and functionalities // *Food Hydrocoll.* 2016. V. 60. P. 148–160]. *Sparganii* үндэслэг ишний полисахарид нь ER $\alpha$ -зуучлалын замаар хөхний хорт хавдрын ZR-75-1 эсүүдэд апоптозыг өдөөдөг [Wu, Sun, Wang. Selective estrogen receptor modulator: A novel polysaccharide from *Sparganii* Rhizoma induces apoptosis in breast cancer cells// *Carbohydr. Polym.* 2017. V. 163. P. 199– 207]. Хятадын баруун өмнөд хэсэгт халуун усанд ургадаг *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja эмийн ургамлаас ялгасан полисахарид нь HeLa эсийн өсөлтийг дарангуйлдаг байна [Xie et al. Purification: physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves // *Food Chem.* 2013. V. 136. P. 1453–1460].

*Dimocarpus longan*-аас ялгасан усанд уусдаг полисахарид нь гол төлөв рамноз, манноз, арабиноз, галактоз, глюкозын үлдэгдлээс бүрддэг (2.4: 1.5: 2.3: 5.6: 6.5 молийн харьцаатай), хавдрын өсөлтийг in vivo болон ксенографт A549 дарангуйлдаг, апоптозыг өдөөдөг болохыг тогтоосон [Wang et al. Antitumor activity of a polysaccharide from longan seed on lung cancer cell line A549 in vitro and in vivo // *Tumour Biol.* 2014. V. 35(7). P. 7259–66]. Чихрийн манжингийн пектин нь хорт хавдрын хэд хэдэн эсийн эсрэг дарангуйлах үйлдэлтэй бөгөөд саармаг нүүрс-устөрөгчийн хажуугийн гинжтэй харилцан үйлчилснээр бүдүүн гэдэсний хорт хавдрын эсийн апоптозыг өдөөдөг болох нь батлагдсан [Maxwell et al. Modified sugar beet pectin induces apoptosis of colon cancer cells via an interaction with the neutral sugar sidechains // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 136. P. 923–929].

Бид Ази-Номхон далайн бүс нутгийн орнуудын ардын болон албан ёсны анагаах ухаанд ихээр ашигладаг, зэрлэг ургаж буй арван зүйлийн олон наст ургамлаас ялган авсан полисахаридын цитотоксик нөлөөг судалсан. Үүнд: том навчит дэгд *Gentiana macrophylla*, Долгионтсон гишүүн *Rheum rhabarbarum*, одой хайлаас *Ulmus pumila*, Алтайн сонгино *Allium altaicum*, бор бударгана *Salsola passerina*, ланцуйн тарваган шийр *Thermopsis lanceolate*, хавтаг навчит хусны навч *Betula platyphylla*, улаан гоёо *Cynomorium soongaricum*-ийн газрын хэсэг, цацагт үлд өвс *Orostachys thyrsoiflora* ба хатгуурт үлд өвс *Orostachys spinose* зэрэг ургамлууд болно. Судалгаагаар бор бударгана, ланцуйн тарваган шийр, хавтаг навчит хусны навч, улаан гоёо цацагт үлд өвс ба хатгуурт үлд өвснөөс ялгасан пектинүүд хавдрын эсүүдэд хор нөлөө үзүүлж байгааг тодорхойлов. Тэдгээрийн EC<sub>50</sub> утгууд 450-600 мкг/мл-ийн концентрацийн мужид тодорхойлогдсон. EC<sub>90</sub> утга нь 700-800 мкг/мл байсан. Хавтаг навчит хусны навчны болон алтайн сонгины пектин - рамногалактуронан нь концентрацийг 200 мкг/мл хүртэл бууруулахад хавдрын эсрэг үйлдэл хэвээр хадгалж байсан.

Ийнхүү судалгааны үр дүнд бор бударгана, хавтаг навчит хусны навч, ланцуйн тарваган шийр, цацагт үлд өвс, хатгуурт үлд өвс, улаан гоёоноос ялгасан пектинүүд хавдрын өвөрмөц эс дээр хортой үйлдэл үзүүлдгийг тогтоосон.

Улаан гоёо, алтай сонгины полисахарид хүний арван хоёр нугасны HuTu-80 ба хүний шулуун гэдэсний аденокарцинома CaCo-2, МТТ тестээр шалгахад хортой үйлдэл үзүүлсэн. Харин уушигны хорт хавдрын A549 эсийн агууламж 30-аас 1000 мкг хооронд хэлбэлзэж байх үед ялгасан полисахаридууд нь цитотоксик нөлөө үзүүлээгүй. Рамногалактуронан I ба гомогалактуронаныг агуулсан пектин полисахарид нь HepG2 эсийн өсөлтийг мэдэгдэхүйц дарангуйлдаг боловч хавдрын бус эсийн эсрэг цитотоксик чанар нь мэдэгдэхүйц бага байдаг [Ji et al. Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from jujube fruit (*Zizyphus jujuba* Mill.): A review // *Food Chem.* 2017. V. 227. P. 349–357]

Хунчираас ялгасан полисахарид нь дэлүүний лимфоцитын тоо, IL-2, NK эсийн идэвхжил, цусан дахь LgA, LgG, LgM-ийн түвшинг нэмэгдүүлэх замаар ходоодны хорт хавдартай хархуудын дархлааны идэвхийг идэвхжүүлдгийг батласан [Li et al. Extraction, characterization of Astragalus polysaccharides and its immune modulating activities in rats with gastric cancer // Carbohydr. Polym. 2009. V. 78(4). P. 738–742]. Игсэсэн *Morchella esculenta* шар буурцгийн цэвэршүүлсэн полисахаридын фракцууд нь хүний элэгний эс (HepG-2) болон умайн хүзүүний хорт хавдрын HeLa эсийг in vitro-д хүчтэй дарангуйлах нөлөө үзүүлээд зогсохгүй RAW 264.7 макрофаг эсийг идэвхжүүлэхэд өндөр үзүүлэлттэй байсан [Li et al. Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchella esculenta* // Int. J. Biol. Macromol. 2017. V. 96. P. 26–34].

*Sanguisorba officinalis* L.-ийн үндэснээс ялгасан усанд уусдаг полисахаридын хавдрын эсрэг үйлдлийг 50, 100, 200 мг/кг тунгаар дархлаажуулахад полисахарид нь хулганын дархлааг сэргээх замаар шилжүүлэн суулгасан хулганы хавдрын өсөлтийг дарангуйлж, спленоцитын тархалт, макрофагуудын фагоцитоз, ийлдэс дэх IL-2 цитокины үйлдвэрлэлийг дэмжиж байсан. Саркома 180 агуулсан хулганад TNF- $\alpha$  ба IFN- $\gamma$  180. Саркома 180 эсийн эсрэг шууд цитотоксик идэвх ажиглагдаагүй [Cai et al. Antitumor and immunomodulating activities of a polysaccharide from the root of *Sanguisorba officinalis* L // Int. J. Biol. Macromol. 2012. V. 51(4). P. 484–488]. Одоогийн байдлаар полисахаридын хорт хавдрын эсийн өсгөвөрт үзүүлэх цитотоксик нөлөөний талаарх мэдээлэл байдаг, жишээлбэл, эдгээр биополимеруудын янз бүрийн ангиллын бие даасан төлөөлөгчид. Бидний олж авсан мэдээлэл энэ жагсаалтыг өргөжүүлсэн. Полисахаридын хавдрын эсрэг үйл ажиллагааг судлах нь чухал чиглэл хэвээр байгаа бөгөөд энэ чиглэлээр олж авсан мэдээлэл нь хорт хавдрыг эмчлэх шинэ боломжийг олгож магадгүй юм.

### **Төслийг хэрэгжүүлэхэд хэрэглэсэн шинэлэг арга барил, шинэлэг байдал**

Базидиомицет мөөг болон ургамлын материалаас полисахаридыг шат дараалан ялган авах аргачлалыг хэрэглэн полисахаридын фракцуудыг ялган авсан. Ялган авах оновчтой аргачлал нөхцлийг боловсруулсан. Агаарын хуурай болгосон ургамлын материал ба базидиомицет мөөгийг 0.1 мм хэмжээтэй болтол нунтаглана. Харин шинэхэн түүсэн хураасан ургамлын материалыг 1.0 см ширхэгийн хэмжээтэйгээр жижиглэн хэрчинэ. Хандлахын өмнө бүх материалыг 95% этилийн спиртээр боловсруулна. Ургамлын материалаас полисахарид ялгаж авахдаа эхлээд усаар (80 °C, 6 цаг), дараа нь аммонийн оксалатын уусмалаар (0.7%, 70 °C, 6 цаг), дараа нь карбонатын уусмалаар (0.5%, 60 °C, 3 цаг), натрийн гидроксидын уусмалаар 0.5%, 60°C, 3 цаг) шат дараалан хандлаж, полисахаридын фракцуудыг гаргаж авсан.

Базидиомицет мөөгүүдийг эхлээд усаар (80 °C, 4 цаг), 2%-ийн калийн гидроксидын уусмалаар 0°C-т 24 цаг, дараа нь 90°C-т 4 цаг хандласан.

Ялган авсан полисахаридуудыг цэвэршүүлэхийн тулд полисахаридын фракцыг вакуум нэрэгчид өтгөрүүлсэн хандыг этилийн спиртээр коагуляцид оруулж тунадасжуулан ялгаж аваад усанд уусгаж, гилгэр хальсан мембранд нэрсэн усны эсрэг диализид оруулах аргыг бид ашиглаж хольц нэгдлүүдээс салгасан. Мөн бүх дээжийг протеаза ферментээр боловсруулж, полисахаридтай холбогдоогүй уургийг зайлуулсан.

Полисахаридын нүүрс-усны гинжийг бүрдүүлж байгаа саармаг моносахаридын үлдэгдлийг тодорхойлохдоо полисахаридыг 2M трифтор цууны хүчлээр гидролизд оруулсны дараа үүссэн моносахаридыг ангижруулж, ацетилжуулсан. Үүссэн полиолын ацетатыг Хий-шингэний хроматографийн аргаар таньж тодорхойлсон. Тооны агууламжийг

тооцоолохдоо мио-инозитолаг дотоод стандарт болгон ашиглан харьцуулан тооцоолсон. Ялган авсан полисахаридын фракцууд дахь нүүрс-усны агууламж, уроны хүчлийн үлдэгдэл, уургийн хольцын агууламжийг фотоколориметрийн аргаар тодорхойлсон. Уроны хүчлийн үлдэгдлийн агууламжийг тодорхойлохын тулд 1,4-альфа-D-полигалактуроны хүчлийн стандарт бодисоор байгуулсан жиших муруйг ашигласан ба дээжүүдийн шингээлтийг 400 ба 450 нм долгионы уртад нэгэн зэрэг хэмжилт хийж тодорхойлсон.

Уургийн хольцын агууламжийг тодорхойлохын тулд үхрийн ийлдэсний альбуминаар байгуулсан жиших муруйг ашигласан, хэмжилтийг 750 нм долгионы уртад хийсэн.

Ялган авсан полисахаридын фракцуудын полимерын молекулын шинж чанарыг тодорхойлдог үзүүлэлт болох полидиспержилтийн зэрэг, дундаж молекул масс ба молекул массын дундаж тоон үзүүлэлт зэргийг Өндөр мэдрэмжит шингэний хроматографийн аргаар Shodex OHpak SB-баганыг ашиглан гүйцэтгэж, үр дүнг 804 HQ, LCsolution программ хангамж болон дээжийн молекул жингийн тархалтын муруйг ашиглан олсон (Mw 1.3, 6, 12, 22, 50, 110, 200, 400, 800 кДа-тай пулланууд) (Флука, Герман).

Бүтцийн судалгаанд хэрэглэгдэх полисахаридын дээж бэлтгэхийн тулд 1,4-альфа D-полигалактуроноза ферментийн гидролиз болон трифтор цууны хүчлийн янз бүрийн концентраци бүхий уусмалаар (0.1-ээс 1.0 М хүртэл) хэсэгчилсэн хүчлийн гидролизд оруулах аргыг ашигласан.

Полисахаридын фракцуудын нэгэн төрлийн байдлыг сайжруулж цэвэрлэхийн тулд янз бүрийн хэмжээтэй мембранаар (Mw 300, 100, 50, 10 kDa -тай молекулуудад тохирох нүх сүвтэй мембран) дамжуулан шүүх ультрафилтрацийн аргыг хэрэглэсэн. Мөн DEAE-целлюлоз (ОН - хэлбэр) шингээгчээр дүүргэсэн ион-солилцооны хроматографийг ашигласан. Судалгааны үр дүнд Mw/Mn нь (1.2-2.2)-тэй багц полисахаридыг ялган авсан.

Полисахаридын бүтцийг дэлхий нийтэд зөвшөөрөгдсөн NMR аргаар тодорхойлсон.

Полисахаридын хорт хавдрын эсд үзүүлэх нөлөөг колориметрийн МТТ тест аргаар үнэлсэн. Энэ арга нь амьд эс дэх митохондрийн ферментүүд 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ)-тэй задрах явцад үүссэн хөх өнгөтэй формазааныг хэмжихэд үндэслэсэн тоон тодорхойлолтын арга юм.

Эсийн амьдрах чадварыг үнэлэхдээ полисахарид эс болон пропиридиум иодид ба акридин улбартай нэгэн зэрэг урвалд ороход үүссэн өнгөтэй эсийг бүртгэдэг флюоресцент микроскопыг ашигласан.

Хавдрын эсрэг идэвхийн судалгаанд дөрвөн төрлийн шугаман эсийг ашигласан. Үүнд:

- хүний умайн хүзүүний хорт хавдрын эс HeLa,
- A549 уушигны хорт хавдрын эс,
- хүний арван хоёр нугасны HуTu-80 аденокарцинома эс
- хүний шулуун гэдэсний аденокарцинома CaCo-2.

# **ХАВСРАЛТУУД**