



UDC:615.27:612.017.1

**Munira TEMIROVA,**  
Andijon davlat universiteti tayanch doktoranti  
E-mail: [muniratemiroya00@gmail.com](mailto:muniratemiroya00@gmail.com)

QUAF dotsenti I.Muhammedov taqrizi asosida

**SCREENING STUDIES TO DETERMINE THE IMMUNOTROPIC ACTIVITY OF SUBSTANCES 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16**

Annotation

In this study, the immunotropic activity of eight new chemical substances coded 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG1.5, 17 and 16 was evaluated in vivo in mice. The substances were administered orally once, and after 48 hours their effects on the number of nucleated cells (NC) in immune organs - thymus, spleen and axillary lymph nodes - as well as macrophage count in the peritoneal fluid were determined. The results showed that AD-3, GS4/2, EB-2 and AK-42 stimulated phagocytic activity by increasing macrophage numbers (RI=1.6–3.04). Analysis of central and peripheral immune organs confirmed that GS4/2, AG1.5 and 17 activate T-cell immunity. Comparative evaluation demonstrated that GS4/2, AG1.5 and 17 possess pronounced immunotropic activity, 35, AD-3 and EB-2 exhibit moderate activity, while AK-42 and 16 showed no significant effect.

**Keywords:** immunotropic activity, screening studies, in vivo, immunomodulators, macrophages, thymus, spleen, lymph nodes, nucleated cells, phagocytosis, experimental mice, biologically active substances, immune organs, stimulation index (RI).

**СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ВЕЩЕСТВ 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16**

Аннотация

В данном исследовании иммунотропная активность 8 новых химических субстанций с кодами 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG1,5, 17 и 16 была оценена in vivo на мышах. Субстанции вводили однократно перорально, и через 48 часов определяли их влияние на количество ядерсодержащих клеток (ЯК) в органах иммунной системы — тимусе, селезенке и подмышечных лимфатических узлах, а также на число макрофагов в перитонеальной жидкости брюшной полости. Результаты показали, что субстанции AD-3, GS4/2, EB-2 и AK-42 стимулируют фагоцитарную активность за счёт увеличения числа макрофагов (RI=1,6–3,04). Анализ центральных и периферических иммунных органов подтвердил способность субстанций GS4/2, AG1,5 и 17 активировать Т-клеточный иммунитет. Сравнительный анализ показал, что GS4/2, AG1,5 и 17 обладают выраженной иммунотропной активностью, 35, AD-3 и EB-2 — умеренной активностью, тогда как AK-42 и 16 не проявляют значимого эффекта.

**Ключевые слова:** иммунотропная активность, скрининговые исследования, in vivo, иммуномодуляторы, макрофаги, тимус, селезенка, лимфатические узлы, ядерсодержащие клетки, фагоцитоз, экспериментальные мыши, биологически активные вещества, органы иммунитета, индекс стимуляции (RI).

**35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16 SUBSTANSIYALARINING IMMUNOTROP FAOLLIGINI ANIQLASH BO'YICHA SKRINING TADQIQOTLARI**

Annotatsiya

Ushbu tadqiqotda 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG1,5, 17 va 16 8 ta yangi kimyoviy substansiyalarning immunotrop faolligi sichqonlarda in vivo sharoitida baholandi. Substansiyalar bir marta peroral kiritilib, 48 soatdan so'ng immun tizimi organlari - timus, qora taloq va qo'ltiq osti limfa tugunlaridagi yadro tutuvchi hujayralar (YaH) hamda qorin bo'shlig'i peritonal suyuqligidagi makrofaglar soniga ta'siri aniqlandi. Tadqiqot natijalari AD-3, GS4/2, EB-2 va AK-42 substansiyalari makrofaglar sonini oshirish orqali fagotsitar faollikni rag'batlantirishini ko'rsatdi (RI=1,6–3,04). Timus va periferik immun organlar tahlili GS4/2, AG1,5 va 17 substansiyalari T-hujayraviy immunitetni faollashtirish xususiyatiga ega ekanligini tasdiqladi. Qiyosiy tahlilga ko'ra GS4/2, AG1,5 va 17 yuqori immunotrop faollikka, 35, AD-3 va EB-2 o'rtacha faollikka, AK-42 va 16 esa sezilarli faollikka ega emasligi aniqlandi.

**Kalit so'zlar:** immunotrop faollik, skrinig tadqiqotlari, in vivo, immunomodulyatorlar, makrofaglar, timus, taloq, limfa tugunlari, yadro tutuvchi hujayralar, fagotsitoz, eksperimental sichqonlar, biologik faol substansiyalar, immunitet organlari, rag'batlantirish indeksi (RI).

**Kirish.** Immun tizimi organizmni infeksion agentlar, o'sma hujayralari va ekzogen antigenlardan himoya qiluvchi yuqori darajada tashkil topgan regulyator tizim hisoblanadi. U tug'ma va orttirilgan immunitetdan iborat bo'lib, hujayraviy va gumoral javob reaksiyalarini qamrab oladi [1]. Immun tizim faoliyatini sitokinlar, immunokompetent hujayralar va gumoral omillar orqali nazorat qilinadi [2]. Immun tizim faoliyatini o'zgartirish xususiyatiga ega bo'lgan tabiiy yoki sintetik birikmalar immunotrop moddalar deb ataladi. Ular immun javobni kuchaytirishi, pasaytirishi yoki me'yorlashtirishi mumkin [4]. Immunotrop ta'sirning asosiy mexanizmlari quyidagilardan iborat: makrofaglar aktivlashuvi, T-limfotsitlar proliferatsiyasi, V-limfotsitlar differentsiatsiyasi, sitokinlar sintezi (IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) fagotsitoz faolligining ortishi [10]. Yangi biologik faol moddalarni izlash zarurati. So'nggi yillarda immunitet pasayishi bilan bog'liq kasalliklar — virusli infeksiyalar, autoimmun patologiyalar va

onkologik kasalliklar ko'paymoqda. Shu sabab yangi immunomodulyator dori vositalarini izlash farmakologiyaning dolzarb yo'nalishiga aylandi. Yangi sintez qilingan kimyoviy birikmalarning farmakologik istiqbolini baholashda birinchi bosqich - skrining tadqiqotlari hisoblanadi. Skrining natijalari potensial dorivor nomzodlarni saralash imkonini beradi [3]. Tajribalar ko'rsatishicha, minglab sintez qilingan birikmalardan faqat 1–2 tasi klinik amaliyotga kiritiladi [7]. Immunotrop faollikni baholash usullari. Immunologik tadqiqotlarda *in vitro* va *in vivo* modellar kompleks qo'llaniladi. *In vitro* usullar. Hujayra darajasida immun reaksiyani baholash usullari: limfotsitlar blasttransformatsiya reaksiyasi nitrosiniy tetrazoliy (NBT) test fagotsitoz indeksi sitokinlarni ELISA usulida aniqlash komplement tizimi faolligi. Ushbu usullar tezkor va kam xarajatli bo'lib, ko'p sonli substansiyalarni dastlabki baholash imkonini beradi [5]. *In vivo* usullar. Organizm darajasidagi immun reaksiyani baholash: gumoral immunitet (antitelo titri) hujayraviiy immunitet (kechikkan gipersezuvchanlik reaksiyasi) timus va taloq indeksleri leykotsitar formula fagotsitar faollik Bu usullar moddaning haqiqiy biologik ta'sirini ko'rsatadi [1]. Kimyoviy birikmalarning immunotrop xususiyatlari Geterosiklik va azot saqlovchi birikmalar immun tizimiga ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ayniqsa pirimidin, azin, amid va karbon kislotalar hosilalari makrofag aktivatorlari hisoblanadi [4]. Laboratoriya kodlari bilan belgilangan yangi substansiyalar (35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16) dastlab skrining tadqiqotlarida tekshiriladi. Faol namunalarning keyingi chuqur farmakologik tadqiqotlarga tanlab olinadi [3]. Skrining tadqiqotlarining ahamiyati Immunotrop faollikni baholash quyidagilarga imkon beradi: dorivor nomzodlarni saralash toksik moddalarni erta chiqarib tashlash ta'sir mexanizmini taxmin qilish dozani belgilash [7]

**Tadqiqotlarining maqsadi:** Ajratib olingan 35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16 substansiyalarni sichqonlarda biologik faollik, toksiklik darajasi immun tizimga ta'siri va farmakologik istiqbollarni baholashga qaratilgan.

**Tadqiqot metodologiyasi.** Ushbu (35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG-1,5, 17, 16) 8ta substansiyalarning immunotrop faolligi biologiya metodlari bilan sichqonlarda *in vivo* sharoitida timus, qora taloq, qo'ltiq osti limfa tuguni kabi immunitet organlarining yadro tutuvchi hujayralari, shuningdek, qorin bo'shlig'i peritonial suyuqligidagi makrofaglar sonini ko'paytirish xossasiga ko'ra immunotrop faolligi bo'yicha skrining o'tkazildi. Berilgan 8ta substansiyalarning faolligi tanasining o'rtacha massasi  $20,50 \pm 0,93$  g.ni tashkil etgan hayvonlarda tekshirildi. Sog'lom hayvonlarga og'iz orqali oshqozoniga 0,9% NaCl, tajriba guruhi hayvonlariga substansiyalar bir marta 1 ml dan og'iz orqali kiritildi.

Natijalar 48 soatdan so'ng sog'lom va tajriba guruhi sichqonlari immun tizimi organlarining YaH (yadroli hujayralari) o'rganildi. Tadqiqot yakunida hayvonlarning tana vazni o'lchandi, tajriba o'tkazishdan 5 daqiqa avval peritonial suyuqlikni tekshirish uchun hayvonlarga qorin bo'shlig'i orqali 2 ml 0,9% NaCl eritmasi kiritildi.

Hayvonlar dekapitatsiya usulida efilri narkoz ostida so'yildi va qorin bo'shlig'i suyuqligidan 20,0 mkl olindi. Hayvonlar timusi, qora talog'i va qo'ltiq osti limfa tugunlari olindi va vazni o'lchandi, so'ngra bu organlar 0,9% NaCl eritmasida ezildi va kapron elakdan o'tkazilib, hujayralari aralashmalari tayyorlandi (100 mg organlar massasiga 20 ml eritma ishlatildi). Dozator yordamida hujayralar aralashmasidan 20,0 mkl olinib, 0,4 ml 3% sirka kislotali probirkalarga solindi (suyultirish darajasi x20). YaH mikroskop ostida 10x40 kattalikda qonning shakliy elementlari uchun qo'llaniladigan Goryaev kamerasida (TU 64-1-816-77, 851 modeli) sanab chiqildi. YaH soni (T)  $T = a \cdot v \cdot 4000000 / b$  formulasi bo'yicha hisoblandi, bunda a – kameradagi 100 ta katta kvadratdagi YaH soni; b – kichik kvadratdagi YaH soni; v – suyultirish darajasi (x20); 4000000 – kichik kvadrat hajmidan 1 mlga katta bo'lgan kattalik. So'ngra immunitet organlari YaHning o'rtacha soni  $T_{sr.k} = T \cdot V / n$  formulasi yordamida hisoblandi, bunda: T – 1 ml hujayralar aralashmasidagi YaH soni; V – hujayralar aralashmasi mldagi hajmi; n – guruhdagi hayvonlar soni sifatida olindi.

Tekshirilayotgan moddaning immunitet organlari hujayralariga ta'sir darajasini tajriba guruhlarining immunitet organlari hujayralari o'rtacha ko'rsatkichining sog'lom hayvonlar guruhining xuddi shunday ko'rsatkichiga nisbati ( $T_{o'rtch.tajr.} / T_{o'rtch.sog'}$ ) bo'yicha aniqlandi va rag'batlantirish indeksi sifatida belgilandi (RI).

**Tahlil va natijalar.** Berilgan 8ta substansiyalarning immunotrop faolligini aniqlash bo'yicha skrining tadqiqotlari davomida moddaning organizm rezistentligini ta'minlovchi fagotsitlarga ta'sirining qiyosiy tahlili o'tkazildi. Olib borilgan tadqiqotlar sog'lom sichqonlar qorin bo'shlig'i suyuqligidagi makrofaglar soni  $60 \pm 2,45 \cdot 10^6 / \text{ml}$ ni tashkil etishini ko'rsatdi. 8ta substansiya kateter yordamida hayvonlar og'zi orqali oshqozoniga bir marta kiritish bilan ularning makrofaglar soniga ta'siri asosida sog'lom hayvonlar guruhiga nisbatan rag'batlantirish indeksleri hisoblandi: 8ta substansiyadan 4tasi, ya'ni AD-3, GS4/2, EB-2 va AK-42 larning rag'batlantirish indeksi mos ravishda 3,04; 1,6; 1,7 va 2,6 ni tashkil etdi, qolgan 4ta substansiyalarning, ya'ni 35, AG1,5, 16 va 17, rag'batlantirish indeksi mos ravishda 0,8; 0,75; 0,8 va 0,54 ni tashkil etdi. Olingan natijalar 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval

35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG1,5, 17, 16 substansiyalarining sichqonlar qorin bo'shlig'i suyuqligidagi makrofaglar soniga ta'siri ( $M \pm m$ ; n=6)

Preparat nomi va dozasi	Tadqiqot o'tkazilishi vaqti, soat	$10^6 / \text{ml}$ da makrofaglar soni	Rag'batlantirish indeksi (RI), Taj./Sog'.
Sog'lom hayvonlar guruhi	48	$60 \pm 2,45$	-
35	48	$47,50 \pm 3,39$	0,8
AD-3	48	$182,50 \pm 3,67$	3,04
GS4/2	48	$94,67 \pm 4,12$	1,6
EB-2	48	$102,0 \pm 1,10$	1,7
AK-42	48	$157,17 \pm 5,58$	2,6
AG1,5	48	$45,0 \pm 7,07$	0,75
16	48	$47,50 \pm 1,22$	0,8
17	48	$32,50 \pm 1,22$	0,54

Shuningdek, 8ta substansiyaning immunitetning markaziy (timus) va ustki (qora taloq, limfa tugunlari) organlari umumiy hujayralar soniga ta'siri o'rganildi. 2-jadvalda keltirilgan natijalarga ko'ra, o'rganilgan substansiyalarning barchasi ta'sirida hayvonlar organizmidagi hujayraviiy immunitetni ta'minlovchi timusdagi T-hujayralari – timotsitlar soni ortgan ( $RI = 3,2 - 0,98$ ). Bu ko'rsatkich substansiyalarning, ayniqsa, AG1,5 va 17 larning hujayralarni rag'batlantirish faolligining yuqoriligini ko'rsatadi.

2-jadval

35, AD-3, GS4/2, EB-2, AK-42, AG1,5, 17, 16 substansiyalarini og'iz orqali kiritishda immunitet organlari massasi va yah soniga ta'siri (m±m; n=6)

Tadqiqot vaqti - 48 soat								
Timus			Qora taloq			Limfa tuguni		
mg	10 <sup>9</sup> /timus	RI, T/S	mg	10 <sup>9</sup> /qora taloq	RI, T/S	mg	10 <sup>9</sup> / limfa tuguni	RI, T/S
Sog'lom hayvonlar guruhi								
80,0±0,03	266,6±4,61	-	140±0,02	230,8±0,85	-	20±0,01	110±0,01	-
35								
40±0,01	371,67±14,33**	1,3	190±0,01	164,67±2,71	0,71	20±0,01	48,83±2,61	0,44
AD-3								
40±0,01	205,5±5,09	1,3	180±0,01	535,83±2,09**	2,3	10±0,01	56,67±4,40	0,51
GS4/2								
80,0±0,01	375,83±15,06**	1,4	200±0,01	661,67±2,68**	2,8	10±0,01	73,50±3,00	0,66
EB-2								
75,0±12,73	337,50±2,75**	1,3	160±0,01	523,33±17,3**	2,3	22±12,7	48,50±2,45	0,44
AK-42								
40,0±0,01	263,83±4,00	0,98	160±10,15	132,67±2,65	0,6	10±0,01	38,83±2,61	0,35
AG1,5								
68,0±5,66	850±9,80**	3,2	190±0,06	500±7,71**	2,16	10±0,01	90±0,01	0,81
16								
45,0±7,42	254,17±4,34	0,95	265±13,42	134,17±2,61	0,58	10,3±0,83	55,0±2,00	0,5
17								
75,0±0,01	594,17±10,62**	2,2	180±0,01	412,83±5,26**	1,7	20±0,01	98,50±2,35	0,9

\*\*r<0,0005 - sog'lom hayvonlar guruhi natijalariga nisbatan

**Xulosa va takliflar.** Tadqiqotlarimizning uchinchi bosqichida substansiyalarning taloq YaH soniga ta'sirining qiyosiy tahlili o'tkazildi. O'tkazilgan tadqiqotlar AD-3, GS4/2, EB-2, AG1,5 va 17larning sichqonlar taloq splenotsitlariga sezilarli ta'sir qilishini ko'rsatdi. O'tkazilgan tadqiqotlarning natijalariga ko'ra, GS4/2, AG1,5 va 17 substansiyalari limfa tugunlari massasiga va YaHlar soniga nisbatan sezilarli ta'sir ko'rsatishi aniqlandi. O'rganilgan 8ta substansiyadan 3tasi, ya'ni GS4/2, AG1,5 va 17 immunotrop faollikka ega deyish mumkin. Qolgan substansiyalardan yana 2tasi 35, AD-3 va EB-2 qisman faol, 3tasi, ya'ni AK-42 va 16 esa sezilarli faollikka ega emas deb topildi.

#### ADABIYOTLAR

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2021). Cellular and molecular immunology (10th ed.). Elsevier.
2. Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R., & Roitt, I. M. (2017). Roitt's essential immunology (13th ed.). Wiley Blackwell.
3. Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. (2018). Immunobiology: The immune system in health and disease (9th ed.). Garland Science.
4. Kindt, T. J., Goldsby, R. A., Osborne, B. A., & Kuby, J. (2019). Kuby immunology (8th ed.). W.H. Freeman.
5. Lydyard, P., Whelan, A., & Fanger, M. (2011). Instant notes in immunology (2nd ed.). Garland Science.
6. Plotkin, S., Orenstein, W., Offit, P., & Edwards, K. (2018). Plotkin's vaccines (7th ed.). Elsevier.
7. Rang, H. P., Ritter, J. M., Flower, R. J., & Henderson, G. (2020). Rang and Dale's pharmacology (9th ed.). Elsevier.
8. Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (2010). Fundamentals of inflammation. Cambridge University Press.
9. Seymour, G. J., Ford, P. J., Cullinan, M. P., Leishman, S., & Yamazaki, K. (2007). Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(Suppl 4), 3–10.
10. Zhang, J., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27–37.