

УДК 591.1.(575.1)

ЎСИМЛИК АЛКАЛОИДЛАРИ - 15-АЦЕТОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИН ВА 15-ГИДРОКСИАЗОМЕТИН АТИЗИННИНГ КАЛАМУШ ЮРАГИ ПАПИЛЛЯР МУСКУЛИ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -АЛМАШИНУВЧИ ТИЗИМИГА ТАЪСИРИ

А.Э.Зайнабиддинов, Ш.Ю. Рустамов, Б.Т.Салимов, П.Б.Усманов

ЎЗР ФА Биоорганик кимё институти

Калит сўзлар: папилляр мускул, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим, Ca^{2+} иони, 15-ацетоксиазометин атизин, 15-гидроксиазометин атизин.

Маълумки, кардиомиоцитларда нормал физиологик ҳолатда $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим Na^+ ионларини хужайрага киритиб, Ca^{2+} ионларини хужайра ташқарисига чиқарувчи асосий тизим ҳисобланади [1]. Бироқ бундан ташқари нофизиологик ҳолатларда $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизимнинг тесқари режимда ишлаши натижасида Ca^{2+} ионларининг хужайра ичкарасига кириши Ca^{2+} концентрациясини меъеридан ортиб кетишига олиб келади ва бунинг натижасида юрак – қон томир тизимида юзага келувчи касалликларни келтириб чиқаради [2, 3]. ЎЗР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институтида ўсимликларнинг *Aconitum zeravshanicum* туридан ажратиб олинган 15-ацетоксиазометин атизин (15-ААА) ва 15-гидроксиазометин атизин (15-ГАА) каламуш юраги папилляр мускули препаратларида аниқ кўринадиган инотроп фаолликка эга эканлигини аниқлаган эдик [4]. Яни 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидлари папилляр мускул қисқариш кучини камайтиради ва бу ҳолат кардиомиоцит мембранасида жойлашган Na^+ -каналларини блоклаши натижасида пайдо бўлади. Кардиомиоцит Na^+ -каналларини блокланиши цитозолда $[\text{Na}^+]$; миқдорининг камайишига олиб келади ва бу ташқаридан Ca^{2+} ионларининг киришини сусайтириб юрак мускули қисқариш кучини камайтиради. Ушбу 15-ААА ва 15-ГАА таъсирида папилляр мускул қисқариш кучининг камайиши $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим Ca^{2+} транспортига таъсири билан боғлиқ бўлиши мумкин. Шунинг учун ушбу тадқиқотнинг мақсади 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидларининг папилляр мускул $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизимга таъсирини ўрганиш ҳисобланади.

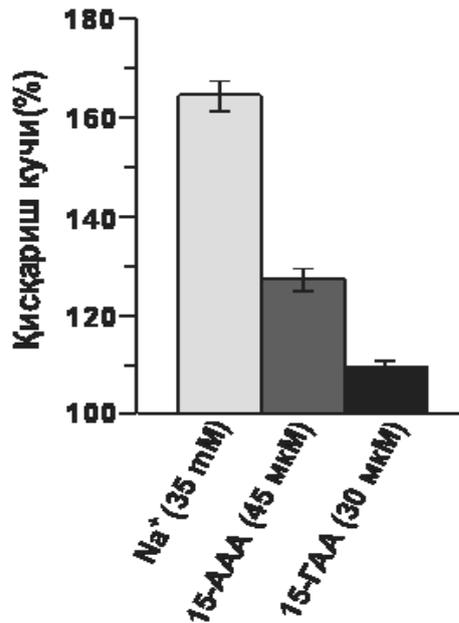
Материал ва методлар. Тажрибалар оқ, зотсиз каламушлар (200-250 гр.) юраги ўнг қоринчасидан ажратиб олинган ҳамда махсус тажриба камерасига жойлаштирилган папилляр мускул препаратларида (диаметри 0,5-0,8 мм, узунлиги 1-3 мм) олиб борилди. Перфузиялаш учун қуйидаги таркибдаги Кребс эритмасидан фойдаланилди (мМ): NaCl -118; KCl -4,7; CaCl_2 -2,5; MgSO_4 -1,2; KH_2PO_4 -1,1; глюкоза-5,5; NaHCO_3 -25, рН-7,4. Эритмалар 35°C ҳароратда карбоген (O_2 - 95%, CO_2 - 5%) билан оксигенланган. Папилляр мускул препарати тажриба камерасига маҳкамланди ва иккинчи учи билан F30 изометрик датчиги (Hugo Sachs, Германия) илгагига боғланди. Мускул препарати ЭСЛ-2 стимулятори ва Pt-электродлар ёрдамида 0,1-5 Гц частотада, 10 мс давомийликдаги, поғона даражасидан 20% ортувчи ток кучи билан кўзғатилди. Мускуллар қисқаришини изометрик режимда кучайтиргич (ГАМ-А) ва TZ 4620 самописеци (Чехия) ёрдамида қайд қилинди. Тажрибада алкалоидларни папилляр мускул $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизими орқали Ca^{2+} ионлари транспортига таъсирини ўрганишда кенг қўлланилувчи стандарт усулдан фойдаландик. Бунда нормал Кребс эритмаси таркибдаги NaCl 118 мМни 75 мМ дан 35 мМ гача камайтириб ўрнига эквиволяр холин хлорид қўшиш йўли билан амалга оширилди. Тажрибада ташқаридан Ca^{2+} ионларини потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлар орқали киришини йўқ қилиш

мақсадида унинг блокатори – нифедипин (10 мкМ)дан фойдаланилди. Шунингдек, тажрибада алкалоидларнинг папилляр мускул қисқаришига таъсирида $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим ролини аниқлашда унинг блокатори – амилорид (15 мкМ)дан фойдаланилди.

Олинган натижаларни жамланди ва Corel Draw компьютер дастури ёрдамида қайта ишланди. Бунда қисқариш жавобларининг амплитудасини максимал жавобга нисбатан фоизларда ифодаланди ва 4-6 та турли тажрибаларнинг ўртача қийматлари ҳисобланди ($n=4-6$). $P<0,05$ ва $P<0,01$ қийматлари статистик аҳамиятли фарқларни кўрсатади.

Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили. 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидларининг папилляр мускул қисқариш фаоллигига таъсирида $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизимнинг функциясини ўрганишда, тажрибада нормал Кребс эритмаси таркибдаги $[\text{Na}^+]_o$ миқдорини камайтириб, ўрнига эквиволяр холин хлоридга алмаштириш йўли билан амалга оширилди. Папилляр мускул препаратини 30 минут давомида нормал Кребс эритмаси муҳитида инкубация қилиб, кейин ушбу Na^+ ионлари миқдори камайтирилган эритма шароитига ўтказганимизда мускул қисқариш кучи $[\text{Na}^+]_o$ миқдорининг камайиши билан паралел ҳолда ортиб бориши кузатилди ва $[\text{Na}^+]_o$ 35 мМ да максимал қисқариш кузатилиб назоратдан (назорат 100% деб қабул қилинган) $181,7\pm 6,9\%$ га ортиши қайд қилинди. Ушбу ҳолатда $[\text{Na}^+]_o$ миқдорининг камайтирилиши ҳисобига кардиомиоцит мембранаси деполяризацияга учрайди ва натижада $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим тескари режимга ўтади ва Na^+ ионларини ҳужайра ташқарисига чиқариб Ca^{2+} ионларини ҳужайра ичига киритиши ҳисобига қисқариш кучини ортиши кузатилади [5]. Ушбу шароитда муҳитга нифедипин кўшилганда папилляр мускул қисқариши асосан $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим орқали ҳужайрага кирувчи Ca^{2+} ионлари ҳисобига амалга ошади. Тажрибада 10 мкМ нифедипин иштирокисиз папилляр мускул қисқариш кучи $181,7\pm 6,9\%$ дан муҳитига 10 мкМ нифедипин кўшилганда $164,3\pm 6,3\%$ га камайиши аниқланди. Шу шароитда 15-АААнинг папилляр мускул қисқаришига нисбатан дозага боғлиқ таъсири 3 мкМ дан бошлаб 45 мкМ концентрацияда максимал таъсир эффекти аниқланди ва папилляр мускул қисқариш кучини $164,3\pm 6,3\%$ дан $127,2\pm 4,8\%$ гача камайтириши кузатилди.

Шунингдек, тажрибада 15-ГААнинг ҳам муҳитда Na^+ ионлари миқдори камайтирилиши ҳисобига чақирилган папилляр мускул қисқаришига нисбатан дозага боғлиқ ҳолда таъсири аниқланди ва ушбу алкалоиднинг максимал концентрацияси 30 мкМ таъсирида мускул қисқариш кучи $164,3\pm 6,3\%$ дан $109,1\pm 3,9\%$ гача камайиши кузатилди (1-расм).

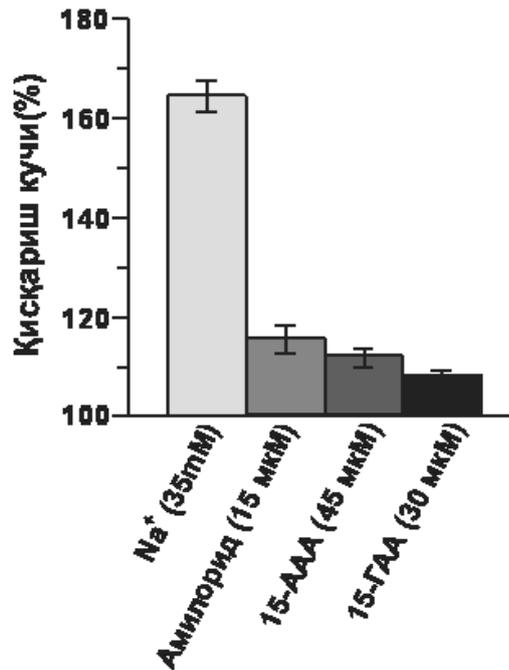


1-расм. 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидларининг Кребс эритмаси таркибидан Na⁺ ионлари миқдори камайтирилиши ҳисобига чақирилган каламуш юраги папилляр мускули қисқариш кучига таъсири. Ордината ўқида – мускул қисқариш кучи, назоратда 100% деб қабул қилинган. Муҳитда Кребс эритмаси таркибидаги [Na⁺]_o 35 мМга камайтирилган ва 10 мкМ нифедипин қўшилган. Препаратни қўзғатиш частотаси 0,5 Гц. Барча ҳолатларда P < 0,05 (n = 6).

Олинган натижалар таҳлиliga кўра, Na⁺ ионлари миқдори камайтирилган Кребс эритмаси инкубациясидан сўнг 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидлари таъсирида папилляр мускул қисқариш кучини камайиши ушбу алкалоидларнинг Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизим орқали ҳужайрага Ca²⁺ ионлари киришининг камайишига таъсири билан изохлашимиз мумкин.

Юқорида келтирилган фикрларга қўшимча қилиш ва янада ойдинлик киритиш мақсадида ушбу алкалоидларни Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизими блокатори – амилорид билан солиштирдик. Амилорид Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизимни блок қилиб кардиомиоцитларга Ca²⁺ ионларни киришини камайтиради ва натижада папилляр мускулнинг қисқарувчан фаоллиги сусаяди [6]. Тажрибаларимизда Na⁺ ионлари миқдори камайтирилган Кребс эритмаси инкубациясидан сўнг папилляр мускул қисқариш кучига амилоридни таъсирини кузатганимизда у дозага боғлиқ ҳолда таъсир кўрсатиб 15 мкМ концентрацияда мускул қисқариш кучини 164,3±6,3% дан 115,4±5,9% гача камайтириши кузатилди. Ушбу шароитда 15-АААнинг (45 мкМ) таъсирини ўрганганимизда папилляр мускул қисқариш кучи 115,4±5,9% дан 111,7±3,9% гача камайиши аниқланди.

Шунингдек, тажрибада Na⁺ ионлари миқдори камайтирилган Кребс эритмаси инкубациясидан сўнг 15-ГААнинг 30 мкМ концентрацияси таъсирида папилляр мускул қисқариш кучи амилорид мавжуд шароитда 115,4±5,9% дан 107,8±3,2% гача камайиши кузатилди (2-расм).



2-расм. 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидларининг Кребс эритмаси таркибидан Na⁺ ионлари миқдори камайтирилиши ҳисобига чақирилган каламуш юраги папилляр мускули қисқариш кучига амилорид мавжуд шароитда таъсири. Ордината ўқида – мускул қисқариш кучи, назоратда 100% деб қабул қилинган. Муҳитда Кребс эритмаси таркибидаги [Na⁺]_o 35 мМга камайтирилган ва 10 мкМ нифедипин қўшилган. Препаратни кўзғатиш частотаси 0,5 Гц. Барча ҳолатларда P < 0,05 (n = 6).

Ушбу тажрибада олинган натижалар шуни кўрсатадики амилорид мавжуд шароитда 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидлари папилляр мускул қисқариш кучини кўшимча камайтириш хусусиятига эга. Бу ушбу алкалоидлар Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизимини блок қилиб ушбу тизим орқали хужайрага Ca²⁺ ионлари киришини камайтиришидан далолат беради.

Олинган натижаларнинг кўрсатишича, ўрганилган 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидлар Кребс эритмасида Na⁺ ионлари миқдорининг камайтирилиши ҳисобига чақирилган папилляр мускуллар қисқариш кучини сезиларли равишда пасайтирди. Бундан шундай хулоса чиқариш мумкинки, потенциалга боғлиқ Ca²⁺-каналли блокатори нифедипин мавжуд шароитда папилляр мускул қисқариши Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизим орқали кирувчи Ca²⁺ ионлари ҳисобига амалга ошади ва бунда ўрганилаётган алкалоидлар Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизими билан ўзаро таъсирлашиб, Ca²⁺ ионларини киришини камайишига таъсир этаётганлиги ҳақида хулоса қилиш мумкин.

Шу билан бирга ушбу тадқиқотлар 15-ААА ва 15-ГАА алкалоидлари Na⁺/Ca²⁺- алмашинувчи тизимининг тескари режимда ишлашига таъсири мавжуд эканлигидан далолат беради. Шубҳасиз алкалоидларнинг ушбу хусусияти муҳим амалий аҳамиятга эга бўлиб, юрак қон-томир тизими касалликларини олдини олиш ва даволашда янги самарали антиаритмик воситаларни яратишда қўлланиши мумкин.

Фойдаланилган адабиётлар рўҳати

1. Blaustein M., Lederer W.J. Sodium/calcium exchange: its physiological implications // *Physiol. Rev.* – 1999. – V. 79. – P. 763-854.
2. Shigekawa M., Iwamoto T. Cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchange. Molecular and pharmacological aspects // *Circ. Res.* – 2001. – V. 88. – P. 864-869.
3. Pogwizd S., Schlotthauer K., Li L. et al. Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current and residual β -adrenergic responsiveness // *Circ. Res.* – 2001. – V. 88. – P. 1159-1167.
4. Зайнобиддинов А.Э., Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Салимов Б.Т. Характеристика инотропной активности производных дитерпенового алкалоида атизина, 15-гидроксиазометин атизина и 15-ацетоксиазометин атизина // *Узб. биол. журн.* – 2011. – №6. – Б.13–16
5. Wettwer E., Himmel H., Ravens U. Amiloride derivatives as blockers of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange: effects on mechanical and electrical function of guinea-pig myocardium // *Pharmacol.Toxicol.* - 1992. – V. 71. – P. 95 – 102.
6. S Luciani, S Bova, G Cargnelli, P Debetto. Effects of amiloride on the cardiovascular system: Role of Na/Ca exchange // *Pharmacological Research.* – 1992. – V. 25. – P. 303-310.

РЕЗЮМЕ

Отрицательное инотропное действие изученных алкалоидов на сократительную активность папиллярной мышцы обеспечивается за счет уменьшения поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через систему $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника.

SUMMARY

The negative inotropic action of the investigated alkaloids on the contractile activity of the papillary muscles is provided by reducing the inward Ca^{2+} current in cardiomyocytes, through the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange system.